



11 Número de publicación: 2 370 706

51 Int. Cl.:

A23K 1/00 (2006.01) A23K 1/16 (2006.01) A23K 1/18 (2006.01)

12 TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: 02713984 .9
- 96 Fecha de presentación: 23.04.2002
- Número de publicación de la solicitud: 1383395
 Fecha de publicación de la solicitud: 28.01.2004
- (54) Título: ADITIVO MEJORADO PARA PIENSOS PARA GANADO.
- 30 Prioridad: 24.04.2001 US 286276 P

73) Titular/es:

THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA UNIVERSITY-INDUSTRY LIAISON OFFICE, ICR ROOM 331, 2194 HEALTH SCIENCES MALL VANCOUVER, BRITISH COLUMBIA V6, CA

- 45 Fecha de publicación de la mención BOPI: 22.12.2011
- (72) Inventor/es:

CHENG, Kuo-Joan y SOLA, Joséc/o Anselmo Clavé

- (45) Fecha de la publicación del folleto de la patente: **22.12.2011**
- (74) Agente: de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 370 706 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

Aditivo mejorado para piensos para ganado

Campo de la invención

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

La presente invención se refiere en general a composiciones de pienso para rumiantes que contienen tensioactivos no iónicos, bien solos o en combinación con sustancias que favorecen la digestión, y a métodos para potenciar la eficiencia de utilización del pienso en el ganado rumiante. Más particularmente, esta invención se refiere a la estabilización de tensioactivos no iónicos en particular o aditivos de piensos de rumiantes.

Antecedentes de la invención

La fermentación anaeróbica se produce durante la digestión del rumiante, durante la cual se degradan las proteínas y carbohidratos. Es deseable en la digestión del rumiante ser capaces de controlar la actividad proteasa y carbohidrasa para optimizar el proceso digestivo.

Debido a que el pienso es un coste fundamental en la producción de rumiantes, favorecer la eficiencia digestiva continúa siendo un objetivo motor en la industria. Aunque los forrajes continúan siendo la principal fuente de alimento, en general se cree que la eficiencia de utilización del pienso por los rumiantes ha permanecido relativamente inalterada durante las dos últimas décadas. Las nuevas innovaciones que favorecen la eficiencia digestiva proporcionan un compromiso para las preocupaciones ambientales emergentes relativas a la contaminación del agua subterránea en la mayoría de las áreas lecheras. Sin embargo, se requiere un conocimiento profundo de los papeles del procesamiento del pienso y de la digestión bacteriana para manipular totalmente los procesos digestivos del rumen. Cheng et al. ("Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen" en Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants: Proceedings of the seventh international symposium on ruminant physiology, Tsuda, Ed., 1991) ha identificado los tres factores generales siguientes, que influencian la digestión microbiana de los piensos: (a) estructuras vegetales que regulan el acceso bacteriano a los nutrientes: (b) factores microbianos que controlan la adhesión y el desarrollo de consorcios microbianos digestivos; y (c) complejos de enzimas hidrolíticas orientadas de los microorganismos adherentes. Las prácticas de procesamiento de piensos, p.ej., molido, normalmente intentan incrementar la interacción enzima-sustrato mediante la exposición de sitios susceptibles de unión al sustrato.

La manipulación de la digestión en el rumen a fin de incrementar la eficiencia de utilización del pienso se ha logrado a través del uso de enzimas exógenas (Feng et al., "Effect of enzyme additives on *in situ* and *in vitro* degradation of mature cool-season grass forage," Anim. Sci. 70 (Suppl. 1): 309 (1996)) y compuestos tales como antibióticos ionóforos, inhibidores de la producción de metano, inhibidores de la proteolisis o desaminación y tampones (Jouany, "Methods of manipulating the microbial metabolism in the rumen,"Ann. Zootech. 43: 49-62 (1994)).

La eficiencia digestiva incrementada observada a través del uso de estos compuestos es el resultado de variaciones importantes en las vías de fermentación microbianas. Por ejemplo, el uso selectivo de antibióticos puede alterar la población microbiana del rumen y, en última instancia, influenciar los productos finales de la digestión. Los antibióticos, sin embargo, se usan sólo en animales productores de carne, debido al riesgo de transferencia del antibiótico a la leche. Las respuestas de producción de animales alimentados con enzimas exógenas han sido inconsistentes. Se ha demostrado que las enzimas exógenas incrementan (Beauchemin et al., "Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages,"Can. J. Anim. Sci. 75: 641- 644 (1995)), no afectan (Perry et al., .,"Effects of supplemental enzymes on nitrogen balance, digestibility of energy and nutrients and on growth and feed efficiency of cattle," J. Anim. Sci. 25: 760-764 (1966)), e incluso reducen (Svozil et al., "Application of a cellulolytic preparation in nutrition of lambs"Sbor. Fed Praci. VUVZ Prhrelice 22: 69- 78 (1989)) la eficiencia de crecimiento de los rumiantes alimentados con forraje o dietas basadas en concentrados. La inconsistencia se debe en parte a las numerosas preparaciones enzimáticas disponibles, a los métodos de aplicación, y a su interacción con diferentes tipos de dietas.

Se ha descubierto que los ácidos grasos de cadena larga y los homólogos halogenados de metano reducen la producción de metano en el rumen (Van Nevel et al., "Manipulation of rumen fermentation,"In: The Rumen Microbial Ecosystem., Ed. P. N. Hobson. Elsevier Applied Science, London, pp. 387 et seq. (1988)). La reducción en la producción de metano se asocia normalmente con una reducción en la desaminación de aminoácidos, particularmente aminoácidos de cadena ramificada y un incremento en la producción de ácido propiónico. La principal limitación con el uso de estos aditivos es que los microbios del rumen son capaces de adaptarse a ellos y degradarlos tras aproximadamente un mes de tratamiento. Otra desventaja es que el efecto beneficioso parece ser consistente sólo en dietas a base de forraje que favorecen la producción de metano.

Los tampones se usan principalmente en condiciones en las que el suministro de gran cantidad de grano puede inducir una fermentación activa y causar un exceso de producción de ácidos en el rumen. Actúan regulando y manteniendo el pH en niveles en los que los microorganismos celulolíticos pueden tener una efectividad máxima (pH = 6-7). La digestión de almidón y proteínas se reduce generalmente cuando se suministran los tampones, sin embargo, el efecto sobre la digestión de los carbohidratos de la pared celular es inconsistente (Jouany, ,"Methods of

manipulating the microbial metabolism in the rumen, Il Ann. Zootech. 43: 49-62 (1994)).

Los tensioactivos se han usado en la industria de procesamiento de alimentos como emulsionantes y extendedores (Griffin et al., "Surface Active Agents,"in Handbook of Food Additives. 2°a Ed., T. E. Furia, Ed., CRC Press, New York, New York, p 397 et seq. (1972)) y también como sustancias limpiadoras. La propiedad fisicoquímica mejor conocida de los tensioactivos es su actividad interfacial cuando se colocan en solución. Su capacidad de alinearse a las interfaces es un reflejo de su tendencia asumir la orientación energéticamente más estable. Un tipo de tensioactivo no iónico, los ésteres de poli(oxietilen sorbitán), se sintetiza mediante la adición, vía polimerización, de óxido de etileno a ésteres de ácido graso de sorbitán. Estos emulsionantes hidrófilos no iónicos son agentes antienvejecimiento y se usan por tanto en diversos productos de panadería. Se conocen ampliamente como polisorbatos. Los efectos del polisorbato Tween 80 sobre la hidrólisis de papel de periódico fueron investigados por Castanon et al., "Effects of the surfactant Tween 80 on enzymatic hydrolysis of newspaper, "Biotechnol. & Bioeng. 23: 1365 (1981).

US 5314852 A describe una composición de zeolita impregnada químicamente, que comprende nutrientes, que se puede usar para aplicaciones de pienso de rumiantes. Se puede usar cloruro de cetil-trimetil-amonio como recubrimiento para controlar la liberación.

Más recientemente, Shelford et al. patente US Nº 6.221.381, concedida el 24 de abril del 2001, describe que cuando se mezclan tensioactivos no iónicos en piensos de rumiantes a una concentración de aproximadamente 0,01 a 1% (p/p) y los piensos se suministran a rumiantes, se puede esperar una productividad significativamente más alta de estos animales. La mayor productividad se puede caracterizar por mayor rendimiento de leche. índice aumentado de incremento de peso, mayor eficiencia en la conversión del pienso en tejidos corporales o leche y/o reducción en la producción de estiércol. Esta patente también describe que cuando se combinan tensioactivos no iónicos a una concentración de aproximadamente 0,01 a 1% (p/p) con enzimas digestivas, como glicanasas, y se mezclan con piensos de rumiantes, los rumiantes que consumen dichos piensos presentan mayores eficiencias de conversión del pienso.y mayor productividad.

25 En una realización de la patente US Nº 6.221.381, el tensioactivo no iónico se recubre sobre un portador como celita, tierra de diatomeas o sílice, y se mezcla con el pienso antes de suministrarlo al animal. El tensioactivo recubre la superficie del portador para incrementar la unión de las enzimas y/o bacterias, una vez que el animal consume el pienso.

Aunque se ha descubierto que los métodos y composiciones de la patente US Nº 6.221.381 producen mejoras sustanciales en la producción de leche en ganado lechero y mejoras sustanciales en el incremento de peso en explotaciones ganaderas bovinas de engorde, se ha descubierto que los materiales tensioactivos no iónicos líquidos, que contienen cadenas de ácidos grasos insaturados, cuando se recubren sobre un portador particulado, están sometidos a una degradación rápida del tensioactivo y al desarrollo de enranciamiento. La presente invención proporciona composiciones y métodos mejorados que utilizan tensioactivos no iónicos estabilizados para prolongar sustancialmente la vida útil de almacenamiento de aditivos líquidos para piensos, que contienen tensioactivos y composiciones mejoradoras particuladas para piensos, recubiertas con tensioactivos. Las composiciones y métodos descritos en esta invención optimizan el proceso digestivo en animales rumiantes, incrementan la productividad de animales rumiantes, reducen la producción de desechos y, en última instancia, mejoran la rentabilidad.

Sumario de la invención

5

10

15

20

40

45

50

55

La presente invención proporciona métodos y composiciones, nuevos y sorprendentes para incrementar la eficiencia de utilización del pienso en animales rumiantes como ganado bovino, ovino, caprino, ciervos, bisontes, búfalo de agua y camellos. En particular, se ha descubierto que cuando se añaden materiales antioxidantes a los tensioactivos no iónicos de aditivos líquidos o particulados del tipo descrito en la patente US Nº 6.221.381, se produce un producto aditivo para pienso mejorado, que presenta una vida de almacenamiento sustancialmente prolongada. El producto aditivo para pienso particulado o líquido, mejorado se puede mezclar luego con piensos para rumiantes en cantidades que varían de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 g/vaca/día para aditivos para pienso líquidos de la invención y en cantidades que varían de aproximadamente 40 a aproximadamente 120 g/vaca/día para aditivos para pienso particulados, produciendo una productividad significativamente mayor en estos animales. La mayor productividad se puede caracterizar por mayor rendimiento de leche, mayor tasa de incremento de peso, mayor eficiencia en la conversión del pienso en tejidos corporales o leche, y/o en reducción de la producción de estiércol. También se ha descubierto que cuando los tensioactivos no iónicos estabilizados a una concentración de aproximadamente 0,01 a 1% (p/p) basada en la proporción del peso de tensioactivo en el aditivo del pienso al peso del pienso suministrado a los rumiantes, se combinan con enzimas digestivas, como glicanasas, y se mezclan con piensos para rumiantes, los animales rumiantes que consumen dicho pienso presentan eficiencias de conversión del pienso y productividad mayores.

En otros aspectos, la presente invención proporciona composiciones y métodos que modifican la fermentación en el rumen hacia mayor producción de ácido propiónico a expensas del ácido acético. Se produce menos calor durante el metabolismo del ácido propiónico en comparación con el producido durante el metabolismo del ácido acético. Por tanto, los métodos y composiciones de la invención se pueden usar para mitigar el efecto del estrés calorífico en

animales rumiantes.

5

20

25

30

35

40

En una realización preferida de la presente invención, se mezcla un tensioactivo no iónico con un antioxidante adecuado, y luego se recubre sobre un portador particulado como celita, tierra de diatomeas o sílice, para formar un material aditivo particulado para piensos. El aditivo para pienso se puede mezclar entonces con el pienso animal antes de suministrarlo a un animal. La mezcla de las partículas recubiertas con el pienso asegura la distribución uniforme del tensioactivo en la totalidad del material del pienso, para incrementar la unión de enzimas y/o bacterias una vez que el animal consume el pienso, mientras que la inclusión de un antioxidante en el recubrimiento incrementa sustancialmente la vida útil de almacenamiento del producto aditivo particulado para piensos.

Descripción detallada de la realización preferida

Según un aspecto de la presente invención, se proporcionan métodos y composiciones para mejorar la eficiencia de utilización del pienso en animales rumiantes, que comprenden añadir al pienso de los animales una cantidad suficiente de un aditivo para piensos particulado, recubierto con un tensioactivo no iónico, para mejorar la utilización del pienso por el animal. En este aspecto de la invención, el recubrimiento aditivo para piensos particulado comprende, además del tensioactivo, una cantidad suficiente de un material antioxidante para incrementar sustancialmente la vida útil de almacenamiento del aditivo para piensos particulado.

El término "eficiencia del pienso" o "utilización del pienso" o "conversión del pienso", según se usa aquí, significa la cantidad de pienso necesaria para obtener una cantidad determinada de incremento de peso o de producción de leche. En particular, la eficiencia o utilización del pienso expresa la eficiencia mediante la cual un animal convierte el pienso en incremento de peso o producción de leche. La eficiencia del pienso se expresa como la proporción de peso del pienso a incremento de peso (o producción de leche).

Aunque los términos "eficiencia del pienso" e "incremento de peso" se usan a menudo conjuntamente, existe una diferencia significativa entre los dos, como se puede observar en las definiciones anteriores. Específicamente, la determinación de la eficiencia del pienso depende de un incremento de peso o producción de leche determinados, mientras que la determinación del incremento de peso o producción de leche absolutos no depende de una eficiencia del pienso determinada. Las diferencias son especialmente significativas para un productor animal o un granjero lácteo. En particular, el incremento de peso o la producción de leche se pueden lograr con poco cambio, ninguno o incluso negativo en la eficiencia del pienso. Por tanto, para el productor animal, la obtención meramente de incrementos en el incremento de peso o en la producción de leche no tiene que ser necesariamente un método más económico para el crecimiento del animal. Aunque un productor tiene en cuenta numerosos factores en la determinación del coste de la producción, la eficiencia de utilización del pienso es probablemente el más importante y tiene el mayor impacto en coste por libra de carne producida.

Por tanto, en un aspecto de la invención, se proporcionan nuevos aditivos particulados para piensos y métodos para aumentar el incremento de peso en un animal rumiante para una cantidad determinada de pienso animal, que comprenden añadir al pienso una cantidad suficiente de un aditivo para piensos particulado para incrementar la ganancia de peso por el animal, en el que el aditivo particulado para piensos comprende un sustrato particular recubierto con un tensioactivo no iónico y un antioxidante. En otros aspectos adicionales de la invención, se proporcionan métodos y composiciones para incrementar la producción de leche por un animal rumiante, que comprenden añadir al pienso del animal una cantidad suficiente de un aditivo particulado para piensos para incrementar la producción de leche por el animal, en el que el aditivo particulado para piensos comprende un sustrato particulado recubierto con un tensioactivo no iónico y un antioxidante. En otros aspectos adicionales de la invención, se proporcionan métodos y composiciones para reducir los efectos adversos del estrés calorífico en un animal rumiante, que comprenden añadir al pienso del animal una cantidad suficiente de un tensioactivo no iónico recubierto sobre un portador particulado para incrementar la eficiencia de utilización del pienso, incrementar la ganancia de peso y/o incrementar la producción de leche por el animal.

En otro aspecto de la invención, se proporcionan nuevos aditivos líquidos para piensos y métodos, para incrementar la ganancia de peso en un animal rumiante para una cantidad determinada de pienso animal, que comprende añadir al pienso una cantidad suficiente de aditivo líquido para piensos para incrementar el incremento de peso del animal, en los que el aditivo para piensos comprende un tensioactivo no iónico y un antioxidante. En otros aspectos adicionales de la invención, se proporcionan métodos y composiciones para incrementar la producción de leche por un animal rumiante, los cuales comprenden añadir al pienso del animal una cantidad suficiente de un aditivo líquido para piensos para incrementar la producción de leche por el animal, en los que el aditivo para piensos comprende un tensioactivo no iónico y un antioxidante. En otros aspectos adicionales de la invención, se proporcionan métodos y composiciones para reducir los efectos adversos del estrés calorífico en un animal rumiante, que comprenden añadir al pienso del animal una cantidad suficiente de un tensioactivo no iónico para incrementar la eficiencia de utilización del pienso, incrementar la ganancia de peso y/o incrementar la producción de leche por el animal.

Según se usa aquí, el término "rumiante" significa un animal ungulado artiodáctilo que tiene un estómago complejo con 3 ó 4 cámaras, y que se caracteriza por masticar de nuevo lo que ya se ha tragado. Algunos ejemplos de rumiantes incluyen ganado vacuno, ovino, cabras, ciervos, bisontes, búfalo de agua y camellos.

Según se usa aguí "tensioactivo(s)" incluyen sustancias superficiales activas que son moléculas orgánicas u orgánicas u metálicas que presentan un comportamiento polar y de solubilidad que produce el fenómeno conocido como actividad superficial. El fenómeno reconocido más habitualmente a este respecto es la reducción de los límites entre dos fluidos inmiscibles. Los tensioactivos incluyen agentes superficiales activos, que actúan como emulsionantes, humectantes, disolventes, detergentes, agentes de suspensión, modificadores de la cristalización (tanto acuosos como no acuosos), complejantes, y de otras formas. Los tensioactivos más útiles en la práctica de la presente invención son los tensioactivos no iónicos, incluyendo, sin limitación, monooleato de poli(oxietilen-sorbitán) (Tween 60), trioleato de poli(oxietilen-sorbitán) (Tween 80), moestearato de poli(oxietilen-sorbitán), bromuros de alquiltrimetil-amonio, bromuro de dodecil-trimetil-amonio, bromuro de hexadecil-trimetil-amonio, bromuro de alquil-trimetilamonio mixto, bromuro de tetradecil-trimetil-amonio, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, bromuro de bencil-dimetil-dodecil-amonio, bromuro de bencil-dimetil-hexadecil-amonio, cloruro de bencil-trimetil-amonio, metóxido de bencil-trimetil-amonio, bromuro de cetil-piridinio, cloruro de cetil-piridinio, bromuro de cetil-tributilfosfonio, bromuro de cetil-trimetil-amonio, bromuro de decametonio, bromuro de dimetil-dioactadecil-amonio, cloruro de metil-benzetonio, cloruro mixto de trialquil-amonio y metilo, cloruro de metil-trioctilamonio, n,n',mb'-polietilen(10)n-sebo-1,3-diamino-propano y sulfato de 4-picolin-dodecilo. En la realización más preferida de la invención, el tensioactivo no iónico se selecciona del grupo formado por molooleato de poli(oxietilen-sorbitán) (Tween 60) y trioleato de poli(oxietilen-sorbitán) (Tween 80).

10

15

20

25

30

35

40

45

Para los fines de la presente invención, el término "antioxidante" incluye compuestos antioxidantes que son compatibles con y adecuados para uso en piensos animales. Antioxidantes útiles incluyen, por ejemplo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), etoxiquina, galato de propilo, hidroquinona de butilo terciaria (TBHQ), tocoferoles y similares. Los antioxidantes se emplearán generalmente en los recubrimientos de los aditivos particulados para piensos de la invención, en cantidades efectivas para incrementar sustancialmente la vida de almacenamiento útil de los aditivos para piensos, por ejemplo reduciendo sustancialmente la tasa de conversión de ranciedad en los materiales tensioactivos de la invención. Las cantidades útiles de antioxidante variarán generalmente desde aproximadamente 50 hasta aproximadamente 5000 ppm, más preferiblemente desde aproximadamente 100 hasta aproximadamente 2000 ppm, y con la máxima preferencia desde aproximadamente 200 hasta aproximadamente 1000 ppm, basadas en la solución de tensioactivo empleada para recubrir el material aditivo particulado para piensos.

En una realización de la invención, los tensioactivos y antioxidantes de la invención se mezclan con un sustrato portador particulado, de manera que se forma un recubrimiento sobre el sustrato portador que comprende de aproximadamente 10% a aproximadamente 70% (p/p), más preferiblemente de aproximadamente 20% a aproximadamente 65% (p/p) y con la máxima preferencia de aproximadamente 40% a aproximadamente 60% (p/p) de tensioactivo, basado en el peso combinado de material portador particulado y recubrimiento. Una cantidad particularmente útil de material de recubrimiento de tensioactivo/antioxidante es aproximadamente 50% (p/p), basada en el peso combinado del producto recubierto. Materiales portadores particulados útiles como sustrato para el recubrimiento tensioactivo/antioxidante de la invención incluyen materiales particulados sustancialmente inertes que son adecuados para aplicaciones de aditivos para piensos. Materiales portadores particulados adecuados incluyen, pero no están limitados a, celita, tierra de diatomeas y sílice. Ejemplos específicos, no limitativos de portadores útiles son, por ejemplo, celita (Fisher Scientific Co. New Jersey, USA), tierra de diatomeas (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO) y sílice LuctaCarrier® (Lucta, S.A., Barcelona, España).

El aditivo particulado recubierto para piensos de la invención, formado según se describió anteriormente, se puede añadir a pienso animal en una cantidad suficiente para incrementar la eficiencia de utilización del pienso por los animales. Para los propósitos de la presente invención, cantidades efectivas del aditivo particulado para piensos, cuando se mezclan con el pienso para animales, serán típicamente de aproximadamente 40 a aproximadamente 120 g del aditivo particulado para piensos por vaca y por día, más preferiblemente de aproximadamente 60 a aproximadamente 100 g del aditivo particulado para piensos por vaca y por día. Cantidades efectivas de los aditivos líquidos para piensos de la invención, cuando se mezclan con el pienso para animales, serán típicamente de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 g del aditivo líquido para piensos por vaca y por día, más preferiblemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 50 g del aditivo líquido para piensos por vaca y por día.

Los piensos o alimentos usados en la práctica de la presente invención incluyen forrajes y alimentos en grano, como forrajes de pasto y leguminosas, residuos de cosechas, granos de cereales, subproductos de leguminosas y otros subproductos agrícolas. En situaciones en las que el pienso resultante se tiene que procesar o conservar, el pienso se puede tratar con el tensioactivo y/o la enzima antes del procesamiento o conservación. El procesamiento puede incluir secado, ensilado, troceado, granulado, prensado o empacado en el caso de los forrajes, y en el caso de granos y semillas de leguminosas mediante compactación con rodillo, templado, molido, cuarteado, chasquido, extrusión, granulado, prensado, micronizado, torrefacción, formación de copos, cocción o explosión.

Según se usa aquí, "forrajes" incluye la porción aérea cortada de un material vegetal, tanto de monocotiledóneas como de dicotiledóneas, usada como alimento para animales. Ejemplos incluyen, sin limitación, forraje de frutales, festuca roja, festuca alta, cizaña del lino, esparceta, tréboles y vezas.

60 Según se usa aquí, "piensos en grano", significa las semillas de plantas que se suministran a animales rumiantes y pueden o no incluir la vaina externa, la cáscara o la cascarilla de la semilla. Ejemplos incluyen, sin limitación,

ES 2 370 706 T3

semillas de maíz, trigo, cebada, sorgo, tritical, centeno, colza y soja.

La presente invención se puede combinar con otras técnicas de procesamiento o métodos de conservación de piensos, y se puede incluir bien durante el procesamiento o durante la conservación. Otras técnicas de procesamiento útiles en combinación con la presente invención incluyen, pero no están limitadas a, secado, ensilado, troceado, triturado, granulado, prensado o empacado en el caso de forrajes, y en el caso de piensos en grano y semillas de leguminosas mediante secado, compactación con rodillo, templado, molido, cuarteado, chasquido, extrusión, granulado, prensado, micronizado, torrefacción, formación de copos, cocción o explosión. La conservación puede incluir, pero no está limitada al ensilado y la henificación.

El aditivo particulado mejorado para piensos de la invención se aplica preferiblemente de manera uniforme al material del pienso. El pienso resultante se puede suministrar inmediatamente al ganado o almacenarse y proporcionarlo en un momento posterior. La composición de pienso resultante es efectiva durante períodos de tiempo prolongados, como durante al menos tres años o más, dependiendo de la naturaleza de la composición del pienso, condiciones de almacenamiento y similares.

Además del pienso y del aditivo particulado o líquido para piensos descrito anteriormente, las composiciones de la invención pueden comprender adicionalmente una o más sustancias adicionales que mejoren los procesos digestivos de los rumiantes. Tales sustancias incluyen, por ejemplo, piridoxal-5-fosfato, ácido fumárico y sus sales, ácido sórbico y sus sales, ésteres del ácido parabenzoico, ácido benzoico, poliéteres de poli(dimetil-siloxano), alcoholes insaturados, bentonita, enzimas proteolíticas y/o carbohidrasas, como glicanasa, hemicelasa, celulasa, pectinasa, xilanasa y amilasa, inóculos de bacterias acidolácticas, como las que comprenden *Lactobacillus casei, L. acidophilus, L. salivarius, L. coryniformis subsp coryniformis, L. curvatus, L. plantarum, L. brevis, L. buchneri, L. fermentum, L. viridescens, Pdiococcus acidilacti, P. cerevisiae, P. pentosaceus, Streptococcus faecalis, S. faecium, S. lactis, L. buchneri, L. fermentum, L. viridescens, L. delbrueckiin, Leuconostoc cremoris, L. dextranicum, L. mesenteroides o L. citrovorum, y antibióticos ionóforos de poliéteres del ácido carboxílico, como monensina (véase, p.ej., Westley, Adv. Appl. Microbiology 22:177-223 (1977)). Cuando el tensioactivo se usa conjuntamente con glicanasas exógenas, el método de producción de composiciones de piensos de la presente invención tiene la máxima efectividad cuando el tensioactivo constituye del orden de aproximadamente 0,01% del peso seco del pienso. En situaciones en las que el tensioactivo se usa sin enzimas exógenas, las composiciones tienen la máxima efectividad cuando la concentración del tensioactivo no excede aproximadamente 0,2% del peso seco del pienso.*

Ejemplo 1

Ensayos de oxidación acelerada

Se recubren partículas de sílice sólida (LuctaCarrier®, Lucta, S.A., Barcelona, España) con 50% p/p (basado en el peso combinado de las partículas y el recubrimiento), con una mezcla de monooleato de poli(etilen 20 sorbitán) (Polisorbato 80) y una cantidad de los antioxidantes indicados en las tablas, más abaio, o sin antioxidante como control. Los antioxidantes líquidos (p.ej. etoxiquina) se mezclan directamente con el Polisorbato 80 a las concentraciones indicadas en las tablas. Los antioxidantes sólidos (p.ej., BHA o BHT) se disuelven en un disolvente adecuado (p.ej., alcohol etílico) y luego se mezclan con el polisorbato 80 a los niveles de concentración enumerados. La estabilidad oxidativa del recubrimiento se determina luego usando el ensayo Rancimat. La estabilidad oxidativa se refiere a la facilidad con que se oxidan los componentes del aceite, lo que crea malos olores en el aceite, y se mide mediante análisis instrumental usando métodos de oxidación acelerada. American Oil Chemists'Society Official Method Cd 12-57 for Fat Stability: Active Oxygen Method (revisado 1989); Rancimat (Laubli, M.W. y Bruttel, P.A., JOACS 63:792-795 (1986)); Joyner, N.T. y J. E. McIntyre, Oil and Soap (1938) 15:184 (modificación del ensayo de horno de Schaal). El método Rancimat se ha desarrollado como la versión automatizada del método AOM (método del oxígeno activo) para la determinación del tiempo de inducción de grasas y aceites. En este método, los ácidos orgánicos altamente volátiles producidos por autooxidación se absorben en aqua y se usan para indicar el tiempo de inducción. Según se usan en las siguientes tablas, las abreviaturas tienen los siguientes significados:

BHT = hidroxitolueno butilado

BHA = hidroxianisol butilado

EQ = etoxiquina

50

15

20

25

30

35

40

Tabla 1 Concentración Estabilidad de Rancimat (ppm) (horas)	
	1,5
200	1,75
100 + 100	3,85
200 + 200	3,90
<u>Tabla 2</u>	Estabilidad de Rancimat
	(horas)
	1,5
	1,85
	3,85
200 + 200	6,05
Tabla 3	
Concentración (ppm)	Estabilidad de Rancimat (horas)
Concentración	
Concentración (ppm)	(horas)
Concentración (ppm) Ninguno	(horas) 2,5
Concentración (ppm) Ninguno 200	(horas) 2,5 4,45
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15 Estabilidad de Rancimat
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200 Tabla 4 Concentración (ppm)	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15 Estabilidad de Rancimat (horas)
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200 Tabla 4 Concentración	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15 Estabilidad de Rancimat
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200 Tabla 4 Concentración (ppm)	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15 Estabilidad de Rancimat (horas)
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200 Tabla 4 Concentración (ppm) Ninguno	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15 Estabilidad de Rancimat (horas) 2,5
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200 Tabla 4 Concentración (ppm) Ninguno 200	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15 Estabilidad de Rancimat (horas) 2,5 6,15
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200 Tabla 4 Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15 Estabilidad de Rancimat (horas) 2,5 6,15 17,35
Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200 Tabla 4 Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200	(horas) 2,5 4,45 14,20 24,15 Estabilidad de Rancimat (horas) 2,5 6,15 17,35 15,75
	Concentración (ppm) Ninguno 200 100 + 100 200 + 200

	Tabla 5	
Antioxidante	Concentración	Estabilidad de Rancimat
	(ppm)	(horas)
Control	Ninguno	1,70
EQ	1000	79,40
	Tabla 6	
Antioxidante	Concentración	Estabilidad de Rancimat
	(ppm)	(horas)
Control	Ninguno	1,70

5 <u>Ejemplo 2</u>

EQ

10

20

Ensayo de aceleración oxidada/vida útil de almacenamiento

1000

97,20

El tensioactivo no iónico monooleato de poli(oxietilen 20 sorbitán) (Polisorbato 80) se recubre en una cantidad de 50% p/p sobre partículas de sílice (es decir, en la proporción de 50 g de Polisorbato 80 por 50 g de sílice), bien sin (control) o con antioxidante añadido. Se realiza un ensayo de vida útil de almacenamiento midiendo, usando un panel sensorial, la concentración de olor rancio de las muestras almacenadas a 40°C, asignándose una puntuación de ranciedad a cada muestra (con una puntuación de 0 para ningún olor rancio y 10 para la mayor concentración de olores rancios. Los resultados se muestran en la Tabla 7, debajo.

Tabla 7

		Puntuación de ranciedad				
Antioxidante	Concentración	1 semana	2 semanas	6 semanas	10 semanas	
	(ppm)					
Control		3,0	6,0	9,0	10,0	
EQ	1000	1,0	2,0	3,5	5,0	
BHT + EQ	200 + 200	2,0	3,5	5,0	7,5	

15 <u>Ejemplo 3</u>

Ensayo de campo

Los animales rumiantes tienen la capacidad de digerir componentes de la fibra de la dieta, debido a la fermentación microbiana en el rumen. Sin embargo, la tasa de conversión del pienso se puede mejorar si la dieta se complementa con uno o más ingredientes nutricionalmente activos como enzimas, tampones, aceites esenciales, vitaminas y aminoácidos. La pejora de la digestibilidad de la dieta está asociada con en incremento de toma de pienso, que es especialmente significativo durante la primera etapa de la lactancia. Según la presente invención, los aditivos tensioactivos estabilizados con antioxidantes destinados a piensos utilizados, incrementan la producción de leche y también causan una mejora del estado corporal, ya que se tendrán que movilizar menos nutrientes de los propios tejidos de la vaca.

Para ensayar en el campo la presente invención, se desarrolló un aditivo para piensos, descrito aquí como Aditivo para Piensos A, basado en la combinación de compuestos nutricionalmente activos para vacas lecheras, compuesto por un suplemento vitamínico, aceites esenciales, mejoradores de la palatabilidad, un tensioactivo no iónico y un antioxidante. La formulación específica del Aditivo para Piensos A es la siguiente:

Composición de Aditivo para Piensos A

<u>Componente</u>	<u>% en peso</u>
Polisorbato 80	53,3
Dióxido de silicio (E551b)	42,84
Niacina	3,0
Sustancias saborizantes*	0,8
Etoxiquina	0,06

^{*}Aceite de romero (alfa-pineno), aceite de eucaliptus (cineol), aceite esencial de clavo (eugenol), p-anisaldehído, gamma-undecalactona, alcohol bencílico, cinnamaldehído, benzaldehído.

La niacina se incluyó en la formulación debido a que la complementación con niacina a vacas lecheras de producción elevada mejora su eficiencia metabólica reduciendo la movilización de grasa y proteína corporales, e incrementando las concentraciones de glucosa plasmática. Esto produce una mayor producción de leche (Jaster, E. A. et al., "Feeding supplemental niacin for milk production in six dairy herds"J: Dairy Sci., 63: 1737 (1983)), incremento de grasa láctea (Fronk, T. J. et al., "Effect of dry period overconditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows"J. Dairy Sci. 62: 1804 (1980)) y proteína (Cervantes, A. et al., "Effects of nicotinamide on milk composition and production in dairy cows fed supplemental fat"J. Dairy Sci. 79: 105 (1996)) especialmente durante la estación seca (Muller, L. D. et al., "Supplemental niacin for lactating cows during summer feeding" Dairy Sci., 69: 1416 (1986)). Los efectos de la complementación con niacina pueden ser más significativos durante la primera etapa de lactancia de las terneras, y bajo condiciones de estrés por calor (*NRC*,. Nutrient requirements of dairy cattle, 6th revised edition. National Academy Press. Washington, D. C., pp. 47 (1989)).

Se realizó un ensayo de campo en la granja "Las Traviesas" (Saprogal, España) durante un período de lactancia completo. En el primer ensayo, un total de 100 vacas se clasificaron en dos grupos según su número de parto:

1. Primer parto (G₁ o Ternera)

25

30

- 2. Más de un parto (G₂ o *Madura*)
- 20 Cuando empezaba el período del parto, cada animal se asignaba a cualquiera de dos tratamientos:
 - T₁ o Control: Sin Aditivo para Piensos A
 - T₂ o Aditivo para Piensos A: con 80 g/vaca/día de Aditivo para Piensos A.

El número de individuos en cada grupo (*Ternera* frente a *Madura*) asignado a cada tratamiento (Tabla 8) muestra un ligero desequilibrio, ya que el tratamiento de Aditivo para Piensos a incluía 60% de terneras, mientras que el tratamiento de control incluía 52% de terneras. El número de registros mediante de lactancia es similar para ambos grupos, permitiendo buenas predicciones hasta 305 días. Cuando los controles finalizaron, el 40% de las vacas estaban más de 300 días en lactancia, había registros durante al menos una lactancia entera y más del 65% de los animales estaban más de 250 días en lactancia. Los datos de vacas que no tenían al menos 3 registros completos al final del período experimental (producción de leche y análisis de leche) no se consideraron para el análisis estadístico.

Tabla 8

Distribución de animales y registros analizados por grupo y tratamiento

(incluye el control de la leche el 19/11/00)

Aditivo para Piensos A Control Ternera Madura Total Ternera Madura Total 27 25 29 Nº de animales 52 19 48 Nº de registros 222 180 402 231 136 367 8,2 7,2 7,7 8,0 7,2 7,6 Registros/vaca, promedio

El Aditivo para Piensos A se suministró como sigue. Se preparó un pienso en el que se mezclaron 840 kg de trigo con 16 kg de Aditivo para Piensos A, y la mezcla se granuló. Se suministraron diariamente 500 g de la mezcla granulada a animales T₂, proporcionando por tanto 80 g de Aditivo para Piensos A más 420 g de trigo. Las vacas del grupo T₁ (sin Aditivo para Piensos A), recibieron 420 gramos de trigo diariamente para equilibrar la cantidad de este cereal contenida en el tratamiento T₂ (Aditivo para Piensos A).

5

10

Se cuidó de que los animales siguieran las prácticas rutinarias en la granja, incluyendo dos períodos de ordeño cada día, por la mañana y por la tarde.

La administración de la alimentación incluía una ración básica para lactancia que cubría hasta 25 kg de leche diariamente, que se suministraba a todas las vacas dos veces al día. Su composición de ingredientes y nutrientes se incluye en las Tablas 9A y 9B.

Tabla 9A

Composición de ingredientes de la ración básica

Ingrediente	Kg/vaca/día, materia seca	
Alimento de gluten	15,0	
Trigo	21,6	
Lupinas	6,2	
Maíz	10,0	
D.D.G.	5,0	
Harina de semillas de soja 44%	23,0	
Harina de palma	10,0	
Harina de pescado, 65%	2,0	
Premezcla láctea	7,2	
Coste, \$ USA/t	151	

Tabla 9A

Composición de nutrientes de la ración básica

Análisis nutricional del pienso de producción	Cantidad	
Materia seca, %	89,06	
Proteína bruta, %	22,00	
PDIE, %	130,0	
PDIN, %	151,1	
PDIA.	77,7	
Cenizas, %	7,33	
Almidón, %	23,00	
A.D.F., %	9,86	
N.D.F., %	20,82	
Grasa bruta, %	6,02	
U.F.L./kg	105,1	

Esta ración básica se complementó con el pienso de producción (cuya composición se incluye en las Tablas 9C y 9D), en una proporción de 1 kg de pienso por 2,5 kg de leche extra producida por encima de los 25 kg de nivel básico.

ES 2 370 706 T3

Tabla 9C

Composición de ingredientes del pienso de producción

Ingrediente	Kg/vaca/día, materia seca
Alimento de gluten	15,0
Trigo	21,6
Lupinas	6,2
Maíz	10,0
D.D.G.	5,0
Harina de semillas de soja 44%	23,0
Harina de palma	10,0
Harina de pescado, 65%	2,0
Premezcla láctea	7,2
Coste, \$ USA/t	151

Tabla 9D

Composición de nutrientes del pienso de producción

Análisis nutricional de la ración básica	Cantidad	
Materia seca, %	89,06	
Proteína bruta, %	22,00	
PDIE, %	130,0	
PDIN, %	151,1	
PDIA.	77,7	
Cenizas, %	7,33	
Almidón, %	23,00	
A.D.F., %	9,86	
N.D.F., %	20,82	
Grasa bruta, %	6,02	
U.F.L./kg	105,1	

El Aditivo para Piensos A se suministró como pienso granulado a base de trigo y se dosificó a razón de 500 g de gránulo/vaca/día. Los gránulos de pienso que contenían Aditivo para Piensos A sustituían una cantidad equivalente de pienso de producción. A las vacas con una producción de leche inferior a 25 kg/día y que, por tanto, no recibían pienso de producción, sólo se les suministró una ración básica complementada con la mezcla de Aditivo para Piensos A/trigo. La composición nutricional de la mezcla de Aditivo para Piensos A/trigo se muestra en las Tablas 10A y 10B.

Tabla 10

Análisis nutricional de la mezcla de trigo/Aditivo para Piensos A

Análisis nutricional	Cantidad
Materia seca, %	67,90
Proteína bruta, %	8,40
PDIE, %	7,30
PDIN, %	5,50
Extracto de nitrógeno libre, %	52,30
Almidón, %	45,90
Fibra bruta, %	1,80
A.D.F., %	2,60
N.D.F., %	9,80
Calcio, %	0,03
Total P, %	0,28
Grasa bruta, %	3,60
Energía metabolizable, kcal/kg	2381
Energía de lactancia neta, kcal/kg	1427
U.F.L/kg	0,87

Se analizaron y registraron los siguientes parámetros:

5 **Producción de leche**: la cantidad de producción de leche por vaca/día, usando el control de producción de leche mensual de la granja.

Calidad de leche: análisis de proteínas y grasas y recuento de células somáticas mensualmente.

Peso corporal: valoración de los cambios de peso corporales cada dos meses desde el principio al final del período de lactancia, usando la medición del perímetro del pecho con cinta de medir.

10 **Intervalo parto/fecundación (índice de fertilidad)**: se determinó el tiempo entre el parto y el primer servicio fértil. Aquellas vacas que no quedaban preñadas al final del experimento se eliminaron del análisis estadístico.

Valoración de la vaca: incluyendo valoración de las extremidades, ubres y proporción morfológica final.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de producción diaria de leche (MY, kg/día) se usó el procedimiento SAS MIXED (Littell, R. C. et al., SAS System for Mixed Models, Cary, NC, SAS Institute Inc. 1996) para el desarrollo de un modelo polinómico de cuarto grado, dependiendo del día de lactancia, y con coeficientes de regresión aleatorios. El modelo usa como efectos fijos el tratamiento (Control frente a Aditivo para Piensos A) y el grupo (Terneras frente a Maduras).

La grasa, la proteína y la evolución del recuento de células somáticas se ajustaron a una ecuación polinómica de tercer grado. El recuento de células somáticas se transformó en "Puntuación Lineal", que toma en consideración la función logarítmica de los recuentos, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$Puntuación \ Lineal = \frac{Log \ (Recuento \ de \ células \ x \ 10^2)}{Log \ 2}$$

El uso de coeficientes aleatorios sobre los modelos permite que los coeficientes de regresión varíen de un animal a otro, estando constituido cada coeficiente por un segmento fijo, y un segmento aleatorio que varía según una distribución estimada mediante el propio modelo. Adicionalmente, este modelo es responsable de las mediciones repetidas sobre un único animal y permite comparar las diferencias existentes en cualquier punto determinado entre dos curvas. Una tercera característica es la posibilidad de comparación de coeficientes de las ecuaciones, pero tal opción se descartó, porque dichos coeficientes no tienen ningún significado biológico.

Resultados y discusión

Análisis de la puntuación morfológica

Se puntuó a cada animal para sus pezuñas y patas, ubres compuestas y puntuación global final, con el objetivo de detectar posibles diferencias en el origen o diferencias aleatorias entre grupos y tratamientos. Incluso si este valor tiene una precisión menor que el valor genético ICO, que incluye un cálculo ponderado de los parámetros productivos (10% kg de grasa + 51% kg de proteína + 5% del porcentaje de proteína) y valores de puntuación (4% para extremidades + 15% para la ubre + 15% puntuación morfológica final), la puntuación morfológica por sí sola se considera que es un indicador correlacionado para el potencial genético. Este valor tiende a puntuar más bajo a los animales en su primer parto; por tanto, es normal observar valores inferiores para terneras que para animales maduros en este experimento. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos en el experimento (76,2 frente a 76,7; Tabla 11), por tanto se asume que el potencial genético de ambos grupos estaba equilibrado en el origen y no interfiere con la valoración del Aditivo para Piensos A.

Tabla 11
Puntuación morfológica

20

5

10

15

	Control		Aditivo para	a Piensos A
	Ternera	Madura	Ternera	Madura
Valor genético	75,1	77,1	75,5	78,1
Promedio	76	5,2	76	5,7

Análisis de producciones diaria y acumulada

Las vacas control de la granja eran de elevado rendimiento, con un máximo de producción cercano a 40 kg/vaca/día para terneras más animales maduros (Tabla 12), y una producción acumulada de 9429 kg/vaca en 305 días (Tabla 12). Estos datos son iguales a una producción promedio de 31 kg de leche por vaca/día.

Tabla 12

Comparación de producción de leche en kg/día, en días sucesivos de lactancia, por tratamiento

Día	Control	Aditivo para Piensos A	Diferencia, kg	Diferencia, %	t
10	28,8	29,2	0,28	1,1	0,553
30	34,6	35,5	0,81	2,6	0,457
60	38,9	40,5	1,59	4,1	0,298
90	39,3	41,4	2,31	5,4	0,157
100	38,9	41,1	2,53	5,8	0,122
120	37,4	39,9	2,96	6,8	0,071
150	30,6	33,8	3,52	10,2	0,032
180	28,3	31,6	3,98	11,5	0,016
200	27,2	30,5	4,21	12,1	0,011
210	24,2	27,6	4,30	14,1	0,010

Día	Control	Aditivo para Piensos A	Diferencia, kg	Diferencia, %	t
240	23,3	26,7	4,46	14,7	0,014
270	21,5	25,0	4,42	15,9	0,032
300	18,9	22,2	4,15	18,5	0,096
305	18,4	21,7	4,08	17,8	0,115

La complementación con el Aditivo para Piensos A produjo importantes incrementos de rendimiento desde el día 30 de lactancia en adelante (0,81 kg/vaca/día, equivalente a un incremento promedio del 2,6%). Los resultados empezaron a ser estadísticamente significativos desde el cuarto mes de lactancia en adelante, con incrementos de hasta 3 kg/vaca/día, (6,8%; Tabla 12). Desde el día 300 en adelante, el rendimiento se incrementa (17,8%; Tabla 12), pero ya no es estadísticamente significativo, debido a una variabilidad incrementada y a la reducción del número de animales que alcanzan esta etapa tardía de la curva de lactancia.

Tabla 13

Comparación de producción de leche en kg/día
en días de lactancia sucesivos, por grupo y tratamiento

Día		Ternera				Madı	ıra	
	Control	Aditivo para Piensos A	Dif.	Dif.	Control	Aditivo	Dif.	Dif.
		FIEIISUS A	kg/d	%		para Piensos A	kg/d	%
10	23,4	24,1	0,7	3,2	34,3	34,2	-0,1	-0,3
30	29,2	31,1	2,0	6,7	40,1	39,9	-0,2	-0,4
60	33,8	37,0	3,2	9,4	43,9	43,9	0,0	0,0
90	35,1	38,9	3,9	11,1	43,6	44,0	0,4	0,8
100	34,9	39,0	4,0	11,5	42,8	43,3	0,5	1,2
120	34,2	38,4	4,2	12,4	40,6	41,4	0,8	2,1
150	30,1	34,6	4,5	15,0	31,2	32,9	1,7	5,5
180	28,7	33,3	4,6	15,9	27,9	29,8	1,9	6,9
200	28,1	32,7	4,6	16,4	26,3	28,3	2,0	7,6
210	26,5	31,2	4,7	17,9	21,9	24,0	2,1	9,6
240	26,0	30,7	4,8	18,4	20,6	22,7	2,1	10,1
270	25,0	29,9	4,9	19,4	18,0	20,0	2,0	11,0
300	23,4	28,4	5,0	21,2	14,4	16,1	1,7	11,5
305	23,1	28,1	5,0	21,6	13,8	15,4	1,6	11,5

Analizando por grupos los resultados de la adición de Aditivo para Piensos A, está claro que las vacas del primer parto muestran una respuesta mejor que las vacas maduras (21,6% frente a 11,5%; Tabla 13). El análisis de producción de leche acumulada muestra la misma tendencia que la producción diaria: el efecto de la complementación con Aditivo para Piensos A es altamente significativo desde el primer mes de lactancia. La producción de leche acumulada a los 305 días mejora en el 8,1%, o 767 kg de leche por vaca. Es evidente el mayor nivel de respuesta procedente de animales del grupo de *Terneras*, que de animales del grupo de *Maduras*, 13,3% frente a 3,4%, respectivamente (véase Tabla 15).

Tabla 14

Producción acumulada de leche en kg y diferencias porcentuales
en días sucesivos de lactancia, según el tratamiento

	Día	Control	Aditivo para Piensos A	Diferencia, kg/vaca	Diferencia, %	t	_
_	10	269	271	1,6	0,6%	0,142	_
	30	908	922	14,0	1,5%	0,119	
	60	2022	2074	51,7	2,6%	0,086	
	90	3203	3311	107,7	3,4%	0,057	
	100	3594	3724	129,6	3,6%	0,049	
	120	4358	4536	177,8	4,1%	0,036	
	150	6407	6756	340,1	5,4%	0,021	
	180	6996	7409	412,8	5,9%	0,012	
	200	7274	7719	445,6	6,7%	0,008	
	210	8044	8590	546,5	6,8%	0,007	
	240	8281	8862	580,7	7,0%	0,004	
	270	8729	9378	649,3	7,4%	0,003	
	300	9336	10087	750,8	8,0%	0,002	
	305	9429	10197	767,3	8,1%	0,002	

Tabla 15

Producción acumulada de leche en kg/vaca y

diferencias existentes entre tratamientos (kg/vaca y %) por grupo

Día		Ternera	l			Madi	ura	
	Control	Aditivo para Piensos A	Dif.	Dif.	Control	Aditivo para	Dif.	Dif.
		1 101100071	kg/vaca	%		Piensos A	kg/d	%
10	215	218	3,8	1,8%	324	323	-0,5	-0,2%
30	744	776	31,5	4,2%	1073	1069	-3,4	-0,3%
60	1700	1809	109,9	6,5%	2345	2339	-6,5	-0,3%
90	2739	2956	216,7	7,9%	3666	3665	-1,4	0,0%
100	3090	3346	256,2	8,3%	4099	4102	3,0	0,1%
120	3782	4121	339,1	9,0%	4934	4950	16,5	0,3%
150	5717	6321	603,7	10,6%	7097	7191	94,4	1,3%
180	6305	7000	694,7	11,0%	7687	7818	130,9	1,7%
200	6589	7330	740,7	11,2%	7958	8109	150,5	1,9%
210	7407	8288	880,7	11,9%	8680	8893	212,3	2,4%

Día		Ternera	1	Madura				
	Control	Aditivo para Piensos A	Dif.	Dif. Dif.		Aditivo	Dif.	Dif.
		Plensos A	kg/vaca	%		para Piensos A	kg/d	%
240	7669	8598	928,1	12,1%	8893	9126	233,3	2,6%
270	8179	9204	1024,4	12,5%	9278	9552	274,2	3,0%
300	8907	10079	1172,0	13,2%	9765	10094	329,5	3,4%
305	9024	10220	1196,9	13,3%	9835	10173	337,5	3,4%

La figura 3 presenta una curva de estimación de diferencias entre el control y el Aditivo para Piensos A, como leche acumulada, en kg, por vaca y lactancia. La ecuación de tercer grado es una buena herramienta predictiva que sigue el día de lactancia, ya que su R cuadrado muestra un valor muy elevado,

$$y = -0.0184x3 + 1.3849x2 - 1.1995x - 1.241$$

 $R^2 = 0.99999$ Análisis de valores y curvas para grasa, proteína y recuento de células somáticas

Según se muestra en la Tabla 16, el porcentaje de proteína láctea no está influenciado por el efecto de grupo (*Terneras* frente a *Maduras*). Sin embargo, el porcentaje de grasa está influenciado, ya que el grupo de *Terneras* muestra valores de grasa significativamente mayores que el grupo de *Maduras*. Las comparaciones de tratamientos (control frente a Aditivo para Piensos A) no muestran diferencias en composición de proteínas o grasas. La estandarización de la producción de leche por valores de grasa (3,7% o 4% de grasa como valor de referencia) no proporciona ninguna mejora al análisis estadístico, debido probablemente a la elevada variabilidad de valores de grasa láctea obtenidos de vacas individuales (datos no mostrados). Adicionalmente, la estandarización de grasa y proteína se realiza normalmente sobre la producción acumulada de lactancias de 305 días, sobre los valores promedio de proteína o grasa, y no sobre los valores de leche diarios.

Tabla 16
Promedio del mínimo cuadrado para valores de proteína,

grasa y recuento de Células somáticas, por grupo y tratamiento

-		Grupo		Tratamiento				
	Terneras	Maduras	Dif. ¹	Control	Aditivo para Piensos A	Dif. ¹		
Proteína, %	3,23	3,32	ns	3,30	3,24	ns		
	±0,184	±0,293		±0,253	±0,223			
Grasa, %	4,5	4,18	***	4,38	4,30	ns		
	±0,283	±0,296		±0,276	±0,279			
Puntuación	3,18	4,64	***	3,58	4,24	*		
lineal, (células somáticas) ²	±0,363	±0,446		±0,436	±0,376			

¹ ns; no significativo; *: p<0,05; **:p<0,01; ***: p<0,001

Los valores de proteína promedio no muestran diferencias significativas. Sin embargo, en vacas *Maduras*, el análisis de la curva de valores proporcionaba diferencias significativas desde el día 170 al día 250 en la lactancia. Esto indica que, para ese período, las vacas maduras alimentadas con Aditivo para Piensos A producen leche con un contenido de proteína inferior en un 0,1% al grupo de control (Tabla 17). Esta reducción no se identificó ni en las *Terneras*, ni en el conjunto de ensayo de animales total, según se indicó en los comentarios previos para la Tabla 16. El contenido de proteína láctea lejano en la curva muestra una reducción estable, paralela al incremento de producción de leche común a los dos grupos y tratamientos. La producción de proteína neta acumulada es mayor en

16

20

25

5

10

² Calculado siguiendo una función logarítmica del recuento de Células Somáticas, de acuerdo con Lundeen, T., "Mastitis management: monitoring SCC reduces mastitis incidence," Feedstuffs, 9: January 8,2001.

vacas alimentadas con Aditivo para Piensos A, debido al incremento significativo de producción de leche de estos animales.

Tabla 17

Comparación de contenido de proteína láctea

por grupo y tratamiento

Día		Tern	era			Mac	lura	
	Control	Aditivo para Piensos A	Dif.	t	Control	Aditivo para Piensos A	Dif.	t
10	3,8	3,07	0,00	0,794	3,14	3,15	-0,01	0,194
30	3,05	3,04	0,01	0,719	3,06	3,09	-0,03	0,294
60	3,05	3,03	0,02	0,598	3,01	3,03	-0,02	0,586
90	3,07	3,04	0,03	0,485	3,03	3,03	0,01	0,898
100	3,08	3,04	0,04	0,454	3,05	3,03	0,02	0,706
120	3,11	3,07	0,04	0,407	3,10	3,06	0,05	0,384
150	3,18	3,12	0,05	0,380	3,22	3,12	0,09	0,139
180	3,25	3,19	0,06	0,406	3,36	3,22	0,14	0,068
200	3,31	3,19	0,06	0,450	3,46	3,30	0,16	0,057
210	3,33	3,28	0,06	0,480	3,51	3,34	0,17	0,056
240	3,42	3,37	0,05	0,602	3,67	3,49	0,18	0,077
270	3,50	3,47	0,03	0,778	3,81	3,65	0,17	0,157
300	3,57	3,57	0,00	0,992	3,94	3,82	0,12	0,400
305	3,58	3,58	-0,01	0,951	3,95	3,85	0,10	0,466

En lo que concierne a la grasa láctea, no había diferencias significativas entre tratamientos en vacas *Temeras* o *Maduras*, o en ambos grupos tomados conjuntamente. Sin embargo, las diferencias de vacas *Maduras* indican una cierta tendencia hacia una ligera reducción del contenido de grasa asociado con el tratamiento con Aditivo para Piensos A. Como con la proteína, la producción de grasa total acumulada era mayor en las vacas tratadas con Aditivo para Piensos A, debido a la producción significativamente mayor de leche de esos animales. Debido a las diferencias en las variaciones individuales, no había diferencias significativas entre tratamiento y grupo, aunque existían diferencias entre grupos cuando se analizaban promedios absolutos.

Tabla 18
Principal equivalencia del Índice Lineal ("Puntuación Lineal" LS)

para el Recuento de Células Somáticas (SCC)

Puntuación Lineal	1	2	3	4	5	6	7	8	9
S.C.C., x 10 ³	12,5	25	50	100	200	400	800	3200	6400

Adaptado de Lundeen, 2001, supra

En lo que se refiere al Recuento de Células Somáticas (SCC), el análisis estadístico se realizó sobre un índice lineal ("puntuación lineal" – SC). Este valor se calcula de la función logarítmica del valor real de recuento de células (véase Sección 3). La correlación entre LS y SCC se establece en la Tabla 18, adaptada del trabajo de Lundeen (2001). Las diferencias de LS eran significativas entre las *Terneras* y las *Maduras* (P<0,01) y entre tratamientos (P<0,05), y se

10

15

20

asociaban a un índice mayor en el tratamiento con el Aditivo para Piensos A. En el día 305, la diferencia promedio es de 0,66 puntos lineales (véase Tabla 16). El SCC no se incluyó como parámetro para la clasificación inicial de las vacas, lo cual provocó que los animales en el grupo del Aditivo para Piensos A tuviesen recuentos iniciales superiores, que se realizaron durante toda la lactancia. Los registros generales de la granja confirmaron que las vacas *Maduras* (más de un parto) mostraban niveles de LS-SCC mayores de 40, independientemente del tratamiento. Estos niveles se pueden considerar casi patológicos. Niveles mayores de 6,0 puntos lineales son indicativos de mastitis clínica, y se identificaron en 8 animales alimentados con Aditivo para Piensos A y en cuatro animales del grupo principal. Según se informó por el American National Mastitis Council, cada punto de incremento en el LS reduce la producción de leche de lactancia total en 100 kg en vacas del primer parto y en 200 kg en vacas con más de un parto. Estos valores proporcionan un promedio de 0,35 y 0,70 kg/vaca/día, respectivamente.

Estado del cuerpo e intervalo del parto a la gestación

Como estimación del estado del cuerpo, se registró el perímetro corporal al principio del experimento y cada dos/tres meses a partir del mismo. De esta forma se hicieron cuatro mediciones de cada animal al final del período de lactancia. El análisis de los datos muestra, sin embargo, que el método no es suficientemente preciso y que hay una amplia variabilidad incluso a nivel individual.

Como para la fertilidad, el lapso de tiempo entre el parto y el primer servicio fértil se usó como indicador. Al final del ensayo y usando los datos de fertilidad hasta enero del 2001, el promedio de la granja fue de 140 días, un poco por encima del óptimo y esto fijó el intervalo entre parto y parto claramente sobre los 400 días. Esto puede ser debido a la interferencia por infección de IBR, un hecho sugerido por los servicios del veterinario de la granja. El estudio muestra que a más vacas de control se les abría el vientre al final del estudio con más de 150 días (19,2% de vacas control y 12,5% de vacas con Aditivo para Piensos A).

No había diferencias importantes entre grupos en el intervalo de parto a gestación (3,0 días menos para *Terneras*) pero las diferencias entre tratamientos eran significativas, con un promedio por grupos de 24,7 días menos para los animales alimentados con Aditivo para Piensos A (P=0,1093, Tabla 11). Los animales del primer parto alimentados con Aditivo para Piensos A respondían reduciendo el intervalo entre parto y gestación en 33,8 días, mientras que la respuesta de los animales más maduros era algo más baja, reduciendo este intervalo en 9,7 días.

Tabla 19

Resultados comparados del intervalo parto-gestación en días,

por grupo y tratamiento, y porcentaje de vacas a las que se abre el vientre por tratamiento

	Abiertas > 150 días	Terneras, días	Maduras, días	Tratamiento Promedio	S.D.	Tratamiento P ²
Control, días	19,2%	142,0	133,2	138,5	69,3	0,109
Aditivo para Piensos A, días	12,5%	108,2	123,5	113,8	55,8	
Diferencia entre control y Aditivo para Piensos A	6,7%	33,8	9,7	24,7		
Promedio, grupos		125,9	128,9			
P. grupos	C	,888				

- 1. Porcentaje de vacas abiertas al final del ensayo con más de 150 días desde el parto.
- 2. La diferencia entre medios de tratamiento fue estadísticamente significativa (P=0,1093)

Discusión General

10

15

20

25

30

35

La valoración global de la granja usada para el ensayo de campo mostró una unidad con un rendimiento promedio de leche de 31 kg/vaca/día con 4,38% de grasa y 3,30 de proteína, para una lactancia de 305 días. Los valores de SCC fueron bastante elevados y especialmente en vacas con más de un parto, que tenían un valor lineal promedio de 4,0, rayando en la fase clínica. En algunos individuos se identificó mastitis con valores lineales superiores a 6,0. El intervalo parto-gestación fue de aproximadamente 140 días, más largo de lo deseable, y el intervalo de parto a parto se encontró que era alrededor de 400 días. Los servicios veterinarios diagnosticaron también algunos casos de IBR (rinotraqueítis bovina infecciosa).

La complementación de la dieta con Aditivo para Piensos A produjo un incremento altamente significativo en la producción de leche y una reducción del intervalo parto-gestación (Tabla 18). Las diferencias observadas en el contenido de grasa y proteína no fueron significativas, pero se tienen que incluir cuando se evalúa la productividad del experimento. La producción acumulada de grasa y proteína láctea se favoreció mediante tratamiento con Aditivo para Piensos A. Finalmente, el análisis SCC muestra que el Aditivo para Piensos A no influenciaba este parámetro, cuando se tenían en cuenta los valores iniciales significativamente superiores (puntos 0,7 LS-SCC, sección 4.3) de los animales tratados con Aditivo para Piensos A.

Tabla 20
Sumario de resultados comparados para los principales parámetros

en grupos de control y tratados

		Leche, kg/lactancia		Grasa %		Proteína %		LS-SCC		Intervalo parto- gestación, días	
	Ctrol.	FAA	Ctrol.	FAA	Ctrol.	FAA	Ctrol.	FAA	Ctrol.	FAA	
Ternera	9024	10220	4,50	4,50	3,24	3,21	2,85	3,51	142	108	
Madura	9835	10173	4,26	4,10	3,36	3,28	4,32	4,97	133	124	
T + M	9429	10197	4,38	4,80	3,80	3,24	3,58	4,24	139	114	
Diferencia	7	67	0,	08	0,	06	0,	66	24	,7	
Р	<0	,01	>0	,10	>0	,10	>0	,05	-0,	11	

¹FAA = Aditivo para Piensos A

Conclusiones

La valoración del ensayo de campo concluyó con una producción promedio de leche de más de 9400 kg/vaca (4,38% de grasa y 3,30% de proteína) para una lactancia de 305 días. El recuento de células somáticas fue bastante elevado, especialmente para vacas con más de un parto, lo cual proporcionó un índice lineal (LI-SCC) de 4,0. Los intervalos parto-gestación estuvieron también un poco fuera de los niveles óptimos, calculándose en torno a los 139 días y posiblemente complicados por una infección IBR detectada en la granja.

La complementación de la dieta con Aditivo para Piensos A produjo un incremento altamente significativo (P<0,01) de la producción promedio de leche (8,1% o 767 kg extra de leche por vaca/lactancia), junto con una reducción ligera, no significativa, del contenido de grasa y proteína hasta 4,30% y 3,24%, respectivamente. Las vacas del grupo de Aditivo para Piensos A empezaron el experimento con un índice lineal de células somáticas 0,7 puntos superior a las vacas control, siendo este factor un efecto exclusivamente aleatorio. Las diferencias en el recuento de células somáticas fueron estables durante el experimento y se concluye que el Aditivo para Piensos A no influenció este parámetro. Finalmente, el Aditivo para Piensos A produjo una reducción estadísticamente significativa (P=0,11) del intervalo parto-gestación, de 25 días.

La valoración productiva de este experimento, con un precio básico de la leche de 0,258/1 US\$, valor de ternera a 172,20 US\$ y excluyendo los costes del producto, es positivo para las vacas alimentadas con Aditivo para Piensos A en más de 233 US\$ por vaca y lactancia.

19

10

5

15

25

Referencias de literatura

- Akin, D. E. 1980. Evaluation by electron microscopy and anaerobic culture of types of rumen bacteria associated with digestion of forage cell walls. Appl. Environ. Microbiol. 39: 242.
- Baumont, R. 1996. Palatabilité et comportement alimentaire chez les ruminants. INRA Prod. Anim. 1996,9 (5): 349.
- 5 Cervantes, A., Smith, T. R. and J. W. Young. 1996. Effects of nicotinamide on milk composition and production in dairy cows fed supplemental fat. J. Dairy Sci. 79: 105.
 - Esslemont, R. J. and I. Spincer. 1992. The incidence and costs of diseases in dairy herds. DAISY report n° 2. DAISY-The Dairy Information System. University of Reading, United Kingdom, pp. 27.
- Fronk, T. J., Schultz, L. H., and A. R. Hardie. 1980. Effect of dry period overconditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows. J, Dairy Sci. 62: 1804.
 - Kamande, G. M., Baah, J., Cheng, K-J., McAllister, T. A. and J. A. Shelford. 2000. Effects of Tween 60 and Tween 80 on protease activity, thiol group reactivity, protein adsorption, and cellulose degradation by rumen microbial enzymes. J. Dairy Sci., 83: 536.
- Jaster, E. A., Hartnell, G. F., and M. F. Hutgens, 1983. Feeding supplemental niacin for milk production in six dairy herds. J. Dairy Sci., 63: 1737.
 - Kamande, G. M., Shelford, J. A., Cheng, K-J. and Fisher, L. J. 1993. Effect of detergents on in vitro proteolytic activity. Proc. VII World Conference on Animal Production, Edmonton, AB. 2: 62.
 - Littell, R. C. and G. A. Milliken, 1996. SAS System for Mixed Models. Cary, NC, SAS Institute Inc.
 - Lundeen, T. 2001. Mastitis management: monitoring SCC reduces mastitis incidence. Feedstuffs, January 8: 9.
- McAllister, T. A., Stanford, K., Bae, H. D., Treacher, R. J., Hristov, A. N., Baah, J., Shelford, J. A. and K.-J. Cheng. 2000. Effect of a surfactant and exogenous enzymes on digestibility of feed and on growth performance and carcass traits of lambs. J. Anim. Sci., 80: 35.
 - Muller, L. D., Heinrich, A. J., Cooper; J. B., and Y. H.. Akin. 1986. Supplemental niacin for lactating cows during summer feeding. R Dairy Sci., 69: 1416.
- NRC. 1989. Nutrient requirements of dairy cattle. 6th revised edition. National Academy Press. Washington, D. C., pp. 47.
 - NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised edition. National Academy Press, Washington, D. C., pp: 170.
- Piva, G., Morlacchini, M., Riccardi, R., Masoero, F., Prandini, A. and F. Mandolini. 1991. Probiotic effect of essential oils in animal feeding. Microbiologie- aliments-nutrition, 9: 161.
 - Shelford, J. A., Cheng, K. J. and G. M. Kamande. 1996. Enzyme enhancers: the key to unlocking the energy from feed. Advances in Dairy Technology, Western Canadian Dairy Seminar, University of Alberta, Edmonton, AB. 8: 269-

REIVINDICACIONES

1.- Un aditivo para piensos para animales rumiantes, que comprende un tensioactivo no iónico y un antioxidante recubierto sobre un portador particulado, en el que dicho aditivo para piensos comprende de 0,01 a 1% (p/p) del peso seco del pienso del tensioactivo no iónico para favorecer la utilización de un alimento por el animal y de 50 a 5000 ppm del antioxidante, basado en la solución tensioactiva empleada para recubrir el aditivo particulado para piensos, para favorecer la estabilidad oxidativa del tensioactivo no iónico.

5

10

15

20

40

45

- 2.- El aditivo para piensos de la reivindicación 1, en el que el tensioactivo no iónico se selecciona del grupo que consiste en monooleato de poli(oxietilen-sorbitán), trioleato de poli(oxietilen-sorbitán), moestearato de poli(oxietilen-sorbitán), bromuros de alquil-trimetil-amonio, bromuro de dodecil-trimetil-amonio, bromuro de hexadecil-trimetil-amonio, bromuro mixto de alquil-trimetil-amonio, bromuro de tetradecil-trimetil-amonio, cloruro de benzalconio, cloruro de benzelconio, bromuro de bencil-dimetil-dodecil-amonio, bromuro de bencil-dimetil-hexadecil-amonio, cloruro de bencil-trimetil-amonio, metóxido de bencil-trimetil-amonio, bromuro de cetil-piridinio, cloruro de cetil-piridinio, bromuro de cetil-tributil-fosfonio, bromuro de cetil-trimetil-amonio, bromuro de decametonio, bromuro de dimetil-dioactadecil-amonio, cloruro de metil-benzetonio, cloruro mixto de trialquil-amonio y metilo, cloruro de metil-trioctilamonio, n,n',mb'-polietilen(10)-n-sebo-1,3-diamino-propano y sulfato de 4-picolin-dodecilo.
- 3.- Aditivo para piensos de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que el tensioactivo no iónico se selecciona del grupo que consiste en monooleato de poli(oxietilen-sorbitán) y trioleato de poli(oxietilen-sorbitán).
- 4.- El aditivo para piensos de la reivindicación 1, en el que el tensioactivo no iónico comprende de aproximadamente 10% a aproximadamente 70% (p/p) de tensioactivo, basado en el peso combinado del sustrato portador particulado y del recubrimiento.
 - 5.- El aditivo para piensos de la reivindicación 4, en el que el tensioactivo no iónico comprende de aproximadamente 40% a aproximadamente 60% (p/p) de tensioactivo, basado en el peso combinado del sustrato portador particulado y del recubrimiento.
- 6.- El aditivo para piensos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), etoxiquina, galato de propilo, hidroquinona de butilo terciario (TBHQ) y tocoferoles.
 - 7.- El aditivo para piensos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el antioxidante está presente en una cantidad de aproximadamente 100 a aproximadamente 2000 ppm, basada en el tensioactivo empleado en el recubrimiento.
- 30 8.- El aditivo para piensos de la reivindicación 1, en el que el portador particulado sólido se selecciona del grupo que consiste en celita, tierra de diatomeas y sílice.
 - 9.- El aditivo para piensos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además al menos una sustancia que favorece la digestión.
- 10.- El aditivo para piensos de la reivindicación 9, en el que la sustancia que favorece la digestión es un inóculo de bacterias acidolácticas.
 - 11.- El aditivo para piensos de la reivindicación 9, en el que la sustancia que favorece la digestión es monensina.
 - 12.- Un método para favorecer la eficiencia de utilización de un pienso en un animal rumiante, que comprende añadir al pienso del animal una cantidad suficiente de un aditivo para piensos para favorecer la utilización del pienso por el animal, en el que el aditivo para piensos comprende un tensioactivo no iónico y un antioxidante recubierto sobre un sustrato portador particulado, en el que dicho aditivo para piensos comprende de 0,01 a 1% (p/p) del peso seco del pienso de tensioactivo no iónico y de 50 a 5000 ppm del antioxidante, basado en la solución tensioactiva empleada para recubrir el aditivo particulado para piensos, para favorecer la estabilidad oxidativa del tensioactivo no iónico.
 - 13.- El método de la reivindicación 12, en el que el tensioactivo no iónico se selecciona del grupo que consiste en monooleato de poli(oxietilen-sorbitán), trioleato de poli(oxietilen-sorbitán), moestearato de poli(oxietilen-sorbitán), bromuros de alquil-trimetil-amonio, bromuro de dodecil-trimetil-amonio, bromuro de hexadecil-trimetil-amonio, bromuro de benzalconio, cloruro de benzalconio, cloruro de benzalconio, bromuro de bencil-dimetil-dodecil-amonio, bromuro de bencil-dimetil-hexadecil-amonio, cloruro de bencil-trimetil-amonio, metóxido de bencil-trimetil-amonio, bromuro de cetil-piridinio, cloruro de cetil-piridinio, bromuro de cetil-tributil-fosfonio, bromuro de cetil-trimetil-amonio, bromuro de decametonio, bromuro de dimetil-dioactadecil-amonio, cloruro de metil-benzetonio, cloruro mixto de trialquil-amonio y metilo, cloruro de metil-trioctilamonio, n,n',mb'-polietilen(10)-n-sebo-1,3-diamino-propano y sulfato de 4-picolin-dodecilo.
 - 14.- El método de la reivindicación 12, en el que el tensioactivo no iónico se selecciona del grupo que consiste en monooleato de poli(oxietilen-sorbitán) y trioleato de poli(oxietilen-sorbitán).
 - 15.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el que el tensioactivo no iónico comprende de

ES 2 370 706 T3

aproximadamente 0,01 a 1% (p/p) del peso seco del pienso.

- 16.- El método de la reivindicación 15, en el que el tensioactivo no iónico comprende de 0,01 a 0,3% (p/p) del peso seco del pienso.
- 17.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, en el que el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), etoxiquina, galato de propilo, hidroquinona de butilo terciario (TBHQ) y tocoferoles.
 - 18.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 12 ó 13, en el que el antioxidante está presente en una cantidad de aproxidamente 100 a aproximadamente 2000 ppm, basada en el tensioactivo empleado en el recubrimiento.
- 10 19.- El método de la reivindicación 12, en el que el sustrato portador particulado se selecciona del grupo que consiste en celita, tierra de diatomeas y sílice.
 - 20.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 19, que comprende adicionalmente añadir al pienso al menos una sustancia que favorezca la digestión.
 - 21.- El método de la reivindicación 20, en el que la sustancia que favorece la digestión es un inóculo de bacterias acidolácticas.
 - 22.- El método de la reivindicación 20, en el que la sustancia que favorece la digestión es monensina.