

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 381 272**

51 Int. Cl.:  
**A23K 1/00** (2006.01)  
**A23L 1/015** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05803021 .4**  
96 Fecha de presentación: **15.11.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1860954**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.12.2007**

54 Título: **Microorganismo para la desintoxicación de fumonisinas así como utilización del mismo, procedimiento para la desintoxicación de fumonisinas y aditivo para piensos que contiene el microorganismo**

30 Prioridad:  
**16.11.2004 AT 19122004**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**24.05.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**24.05.2012**

73 Titular/es:  
**ERBER AKTIENGESELLSCHAFT  
INDUSTRIESTRASSE 21  
3130 HERZOGENBURG, AT**

72 Inventor/es:  
**SCHATZMAYR, Gerd;  
TÄUBEL, Martin;  
VEKIRU, Elisavet y  
BINDER, Eva-Maria**

74 Agente/Representante:  
**de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 381 272 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**

Microorganismo para la desintoxicación de fumonisinas así como utilización del mismo, procedimiento para la desintoxicación de fumonisinas y aditivo para piensos que contiene el microorganismo

El presente invento se refiere a un microorganismo para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas así como a la utilización de bacterias o levaduras, a solas o en combinaciones de dos o más cepas, para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas en alimentos y/o piensos, a un procedimiento para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas mediando utilización de un microorganismo así como a un aditivo para piensos para la desactivación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas.

Las micotoxinas, que abarcan un gran número de las más diferentes toxinas, constituyen un problema creciente en la moderna industria de los alimentos y piensos, puesto que un gran número de plantas, que son elaboradas posteriormente para formar alimentos o respectivamente para formar piensos, o que respectivamente son alimentadas como piensos directamente a animales, están infestadas con las más diferentes toxinas en las más diferentes concentraciones, de tal manera que, junto al hecho de que se tiene que detectar la respectiva toxina, se tiene que aprovechar o respectivamente encontrar un procedimiento eficiente e inocuo para la desintoxicación o respectivamente para la degradación de las correspondientes toxinas.

Una vía para obtener plantas exentas de toxinas es el intento de cultivar unas denominadas plantas transgénicas, que son resistentes frente a determinadas toxinas, o, mediante empleo de plantas "manipuladas genéticamente", de acceder a unos alimentos que, a causa de la resistencia de las correspondientes plantas frente a las toxinas, estén exentos de las mismas.

Esta vía, junto al hecho de que es extremadamente compleja y complicada, no es indiscutida en muchos países del mundo y por ello se intenta encontrar otro modo de realizar la desintoxicación de las plantas.

A partir del documento de solicitud de patente internacional WO 96/12414 se puede deducir un aditivo para piensos destinado a la desactivación de micotoxinas, en el que una formulación enzimática preparada a partir de organismos que producen enzimas, está contenida en un pienso, escogiéndose los organismos que producen enzimas entre el conjunto de ellos que están capacitados para la fijación de epoxidasas y/o lactonasas.

A partir del documento WO 2004/085624 se pueden deducir transaminasas, desaminasas y aminomutasas, y composiciones de éstas, así como unos procedimientos para la desintoxicación enzimática de toxinas aminadas, por ejemplo de micotoxinas, tales como fumonisinas, en los que los genes que codifican las enzimas habían sido aislados directamente a partir del medio ambiente.

El documento de solicitud de patente de los EE.UU. US 2004/0208956 se refiere a un microorganismo para la desactivación biológica o la desintoxicación de micotoxinas, en particular de una ocratoxina, que se pueden desintoxicar en un medio mínimo.

El documento de patente de los EE.UU. US-A 6.482.511 se refiere a unas composiciones procedentes de procedimientos para la desintoxicación total de fumonisinas mediante unas enzimas aisladas y definidas.

Además, a partir del documento US 6.514.749 B1 se deduce un procedimiento para la identificación de unos organismos, que son capaces de degradar a las fumonisinas, utilizándose estos organismos para el aislamiento de los genes de enzimas, que son responsables de conferir una resistencia a fumonisinas, y los genes son llevados a expresión seguidamente, por ejemplo, en plantas o en microorganismos de la flora ruminal de bovinos.

Unas toxinas, que se pueden encontrar frecuentemente en particular en el maíz, y que, después de su consumición, dan lugar a graves perjuicios, son las fumonisinas o respectivamente los derivados de fumonisinas, que ciertamente se pueden degradar en ensayos de laboratorio mediante unos microorganismos ya conocidos, para las cuales, sin embargo, no se ha encontrado hasta la fecha ningún microorganismo que pueda llevar a cabo una tal degradación en las más diferentes concentraciones de la toxina y en diferentes entornos de nutrición. Además de esto, los microorganismos conocidos necesitan, para realizar esta degradación, unos intervalos de tiempo no insignificantes de más que 24 h, por lo que tales microorganismos no se pueden emplear convenientemente a una escala industrial o respectivamente comercial.

Otro problema adicional relacionado con las micotoxinas en el caso de alimentos y piensos consiste en que, debido al hecho de que se producen cada vez más piensos mixtos o respectivamente alimentos, que contienen un número múltiplo de cereales o respectivamente de variedades de cereales, de que se presentan al mismo tiempo varias micotoxinas en un mismo alimento o respectivamente pienso, y de que parece que es necesario realizar una degradación conveniente o respectivamente deliberada de las mismas. Además de esto, en unos estudios recientes, se comprobó que las toxinas pueden mostrar unas interacciones combinatorias unas con otras, que refuerzan aún más el efecto nocivo de las toxinas individuales. Así, por ejemplo, por Harvey se informó en 1996 que se llega a

unos efectos sinérgicos de fumonisinas y del desoxinivalenol en el caso de cerdos. Adicionalmente, se presupone que el número múltiplo de las toxinas, que pueden estar contenidas, por ejemplo, en piensos, pueden conducir en el caso de animales a unos efectos inmunosupresores, que deben de ser atribuidos a la aparición paralela de micotoxinas.

5 El presente invento tiene por objetivo, por fin, poner a disposición unos microorganismos para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, que, por una parte, puedan degradar a la toxina de un modo extremadamente rápido, y que, por otra parte, junto a la rápida degradación, puedan llevar a cabo la degradación también en presencia de las más diferentes concentraciones de sustancias nutrientes. Finalmente, el presente  
10 invento tiene por objetivo poner a disposición un microorganismo o respectivamente unas combinaciones de microorganismos que, junto a las fumonisinas, pueda(n) degradar a todavía otras toxinas a solas o en combinación, con el fin de acceder a un pienso exento de toxinas, en particular en el caso del empleo las más diferentes plantas para piensos.

15 Para resolver los problemas planteados por estas misiones, de acuerdo con el presente invento se pone a disposición un microorganismo para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, empleándose unas bacterias o levaduras desintoxicadoras, escogidas entre las cepas DSM 16254 y DSM 16257, asignables al taxón de las Sphingomonadaceae, la cepa DSM 16255, asignable al taxón de las Rhizobiales, la cepa DSM 16256, asignable al taxón de las Microbacteriaceae, la cepa DSM 16253, asignable al taxón de las Rhizobiaceae, la cepa  
20 DSM 16252, asignable al taxón de las Alcaligenaceae y Pichia sp. DSM 16562, que transforman a las fumonisinas enzimáticamente, en una reacción de múltiples etapas, en metabolitos desaminados. Los microorganismos arriba mencionados no sólo están en la situación de transformar enzimáticamente a las fumonisinas, en una reacción de múltiples etapas, en metabolitos desaminados, sino que pueden realizar esto en unos períodos de tiempo extremadamente cortos y también en presencia de entornos complejos, tal como por ejemplo en piensos o  
25 alimentos, es decir en presencia de varias fuentes de carbono o respectivamente de las más diferentes fuentes de carbono, y en particular en presencia de una oferta en exceso de una sustancia nutriente.

En particular, los microorganismos pueden ser descritos brevemente de la siguiente manera. La cepa DSM 16254 se debe de asignar, después de una secuenciación parcial del ADNr 16S con el cebador 27 forward (hacia delante)  
30 (longitud de la secuencia 689 pb (pares de bases)), al taxón de las Sphingomonadaceae. La secuencia parcial del ADNr 16S tiene la siguiente secuencia de bases:

```

1 GAACGCTGGS GGCATGCCTA ACACATGCAA GTCGAACGAA GTCTTCGGAC TTAGTGGCGC
61 ACGGGTGCCT AACGCGTGGG AATCTGCCCT TGGGTACGGA ATAACTCAGA GAAATTTGTG
121 CTAATACCGT ATAATGTCTT CGGACCAAAG ATTTATCGCC CAAGGATGAG CCCGCGTAAG
181 ATTAGCTAGT TGGTGGGGTA AAGGCCACC AAGGCGACGA TCTTTAGCTG GTCTGAGAGG
241 ATGATCAGCC ACACTGGGAC TGAGACACGG CCCAGACTCC TACGGGAGGC AGCAGTGGGG
301 AATATTGGAC AATGGGCGAA AGCCTGATCC AGCAATGCCG CGTGAGTGAT GAAGGCCCTA
361 GGGTTGTAAA GCTCTTTTAC CCGGGATGAT AATGACAGTA CCGGGAGAAT AAGCTCCGGC
421 TAACTCCGTG CCAGCAGCCG CGGTAATACG GAGGGAGCTA GCGTTGTTCC GAATTACTGG
481 GCGTAAAGCG CGCGTAGGCG GTTTTTCAAG TCAGAGGTGA AAGCCCGGGG CTCAACCCCG
541 GAATTGCCTT TGAAACTGGA AACTTGAAT CTTGGAGAGG TCAGTGGAAAT TCCGAGTGTA
601 GAGGCGAAAT TCGTAGATAT TCGGAAGAAC ACCAGTGGCG AAGGCGACTG ACTGGACAAG
661 ATTGACGCTG AGGTGCGAAA GCGTGGGGA
    
```

35 realizándose que el microorganismo es gram negativo, forma pequeños bastoncillos, que se presentan predominantemente en células individuales y que forman parcialmente estructuras de cadenas filamentosas.

La cepa DSM 16257 pertenece, después de una secuenciación parcial del ADNr 16S (con el cebador 30 reverse (inverso), longitud conseguida de la secuencia 426 pb) asimismo al taxón Sphingomonadaceae. Se establece la  
40 siguiente secuencia.

1 GATCCTGGCT CAGAACGAAC GCTGGCGGCA TGCCTAACAC ATGCAAGTCG AACGAAGTCT  
 61 TCGGACTTAG TGGCGCACGG GTGCSTAACG CGTGGGAATC TGCCCTGGG TACGGAATAA  
 121 CTCAGAGAAA TTTGTGCTAA TACCGTATAA TGA CTTCGGT CCAAAGATTT ATCGCCCAAG  
 181 GATGAGCCCG CGTAAGATTA GCTAGTTGGT GGGGTAAAAG CCTACCAAGG CGACGATCTT  
 241 TAGCTGGTCT GAGAGGATGA TCAGCCACAC TGGGACTGAG ACACGGCCCA GACTCCTACG  
 301 GGAGGCAGCA GTGGGGAATA TTGGACAATG GGCBAAGCC TGATCCAGCA ATGCCGCGTG  
 361 AGTGATGAAG GCCCTAGGGT TGTAAGCTC TTTTACCCGG GATGATAATG ACAGTACCCG  
 421 GAGAAT

Este microorganismo forma pequeños bastoncillos, que están dispuestos en su mayor parte en estructuras celulares filamentosas largas.

- 5 La DSM 16255 proporciona, después de una secuenciación parcial del ARNr 16S con el cebador 27 forward, la siguiente secuencia de 720 pb de longitud.

1 ACGCTGGCGG CAGGCTTAAC ACATGCAAGT CGAACGGTCT CTTGCGAGGC AGTGGCAGAC  
 61 GGGTGAGTAA TGCATGGGAA TCTACGGTTC TCTACGGAAT AACTCAGGGA AACTTGTGCT  
 121 AATACCGTAT ACGCCCTTTT GGGGAAAGAT TTATCGGAGA ATGATGAGCC CATGTTGGAT  
 181 TAGCTAGTTG GTAGGGTAAA GGCCTACCAA GCGGACGATC CATAGCTGGT CTGAGAGGAT  
 241 GATCAGCCAC ACTGGGACTG AGACACGGCC CAGACTCCTA CGGGAGGCAG CAGTGGGGAA  
 301 TATTGGACAA TGGGCGCAAG CCTGATCCAG CCATGCCGCG TGAGTGATGA AGGCCCTAGG  
 361 GTTGTAAGC TCTTTCACCG GTGAAGATAA TGACGGTAAC CGGAGAAGAA GCCCCGGCTA  
 421 ACTTCGTGCC AGCAGCCGCG GTAATACGAA GGGGGCTAGC GTTGTTCGGA TTTACTGGGC  
 481 GTAAAGCGCA CGTAGGCGGA CTTTAAAGTC AGGGGTGAAA TCCCGGGGCT CAACCCCGGA  
 541 ACTGCCTTTG ATACTGGAAG TCTTGAGTAT GGAAGAGGTA AGTGGAAATTG CGAGTGTAGA  
 601 GGTGAATTC GTAGATATTC GCAGGAACAC CAGTGGCGAA GCGCGCTTAC TGGTCCATTA  
 661 CTGACGCTGA GGTGCGAAG CGTGGGGGAG CAAACAGGAT TAGATACCCT GGTAGTCCAC

- 10 El microorganismo pertenece al taxón de las Rhizobiales, es gram negativo y forma pequeños bastoncillos predominantemente en células individuales.

El microorganismo DSM 16256 es asignable al taxón de las Microbacteriaceae. La secuenciación parcial del ADNr 16S con el cebador 27 forward proporciona la siguiente secuencia de 706 pb de longitud:

15

1 GAACGCTGGC GGCCTGCTTA ACACATGCAA GTCGAACGAT GAAGCTGGAG CTTGCTCTGG  
 61 TGGAAGAGTG GCGAACGGGT GAGTAACACG TGAGTAACCT GCCCCAGACT CTGGGATAAG  
 121 CGCTGGAAAC GCGCTCTAAT ACTGGATATG ACCCCTACAG GCATCTGTTG GGGGTGGAAA  
 181 GATTTATCGG TCTGGGATGG GCTCGCGGCC TATCAGCTAG ATGGTGAGGT AACGGCTCAC  
 241 CATGGCGACG ACGGGTAGCC GGCCTGAGAG GGTGACCGGC CACACTGGGA CTGAGACACG  
 301 GCCCAGACTC CTACGGGAGG CAGCAGTGGG GAATATTGCA CAATGGGCGA AAGCCTGATG  
 361 CAGCAACGCC GCGTGAGGGA TGA CTGCCTT CGGGTTGTAA ACCTCTTTTA GTAGGGAAGA  
 421 AGCGAAAGTG ACGGTACCTG CAGAAAAGC ACCGGCTAAC TACGTGCCAG CAGCCGCGGT  
 481 AATACGTAGG GTGCAAGCGT TGTCCGGAAT TATTGGGCGT AAAGAGCTCG TAGGCGGCTT  
 541 GTCGCGTCTG CTGTGAAAAC CCGAGGCTCA ACCTCGGGCC TGCAGTGGGT ACGGGCAGGC  
 601 TAGAGTGCCG TAGGGGAGAT TGGAAATTCCT GGTGTAGCGG TGGAAATGCGC AGATATCAGG  
 661 AGGAACACCG ATGGCGAAGG CAGATCTCTG GGCCGCTACT GACGCT

El microorganismo es gram positivo y tiene cortos bastoncillos, que están dispuestos formando parcialmente unas asociaciones de células en forma de cadenas.

- 5 La DSM 16253 pertenece, después de una secuenciación parcial del ADNr 16S (con el cebador 530 reverse, longitud de la secuencia 392 pb) al taxón de las Rhizobiaceae. La secuencia es como sigue:

```

1 TCCTGGCTCA GAACGAACGC TGGCGGCAGG CTTAACACAT GCAAGTCGAG CGCCCCGCAA
61 GGGGAGCGGC AGACGGGTGA GTAACCGGTG GGAATCTACC GAGCCCTGCG GAATAGCTCC
121 GGGAAACTGG AATTAATACC GCATACGCC TACGGGGGAA AGATTTATCG GGGTTTGATG
181 AGCCCGCGTT GGATTAGCTA GTTGGTGGGG TAAAGGCCTA CCAAGGCGAC GATCCATAGC
241 TGGTCTGAGA GGATGATCAG CCACATTGGG ACTGAGACAC GGCCCAAACCT CCTACGGGAG
301 GCAGCAGTGG GGAATATTGG ACAATGGGCG CAAGCCTGAT CCAGCCATGC CGCGTGAGTG
361 ATGAAGGCC TAGGGTTGTA AAGCTCTTTC AC
    
```

- 10 El microorganismo es gram negativo y tiene pequeños bastoncillos, que se presentan predominantemente en forma de células individuales.

El microorganismo DSM 16252 es asignable al taxón de las Alcaligenaceae. La secuenciación parcial del ADNr 16S proporciona un fragmento de ADN de 476 pb de longitud con la siguiente secuencia de nucleótidos:

15

```

1 TCCTGGCTCA GATTGAACGC TAGCGGGATG CTTACACAT GCAAGTCGAA CGGCAGCAGC
61 GACTTCGGTC TGGTGGCGAG TGGCGAACGG GTGAGTAATG TATCGGAACG TGCCTAGTAG
121 CGGGGGATAA CTACGCGAAA GCGTAGCTAA TACCGCATA CCCCCTACGGG GGAAAGCAGG
181 GGATCGCAAG ACCTTGCACT ATTAGAGCGG CCGATATCGG ATTAGCTAGT TGGTGGGGTA
241 ACGGCTCACC AAGGCGACGA TCCGTAGCTG GTTIGAGAGG ACGACCAGCC AACTGGGAC
301 TGAGACACGG CCCAGACTCC TACGGGAGGC AGCAGTGGGG AATTTTGGAC AATGGGGGAA
361 ACCCTGATCC AGCCATCCCG CGTGTGCGAT GAAGGCCTTC GGGTTGTAAA GCACTTTTGG
421 CAGGAAGAA ACGTCATGGG CTAATACCCC GTGAAACTGA CGGTACCTGC AGAATA
    
```

- 20 El microorganismo es gram negativo y tiene pequeños bastoncillos rectos, que se presentan parcialmente en asociaciones grumosas de múltiples células.

El DSM 16562, a saber *Pichia* sp., muestra células de levadura ovaladas, relativamente pequeñas, que se presentan individualmente y no en asociaciones de células.

- 25 En particular, se pudo comprobar que, a pesar de que los microorganismos son relativamente diferentes unos de otros, todos ellos, junto al hecho de que ellos pueden desintoxicar de un modo extremadamente rápido, poseen en común la propiedad de realizar rápida y fiablemente esta desintoxicación de las fumonisinas también en entornos complejos.

- 30 De acuerdo con un perfeccionamiento del invento, las bacterias o levaduras están estabilizadas en forma de polvos, líquidos o geles, con lo que se pone a disposición un producto estable, utilizable en cualquier momento para el respectivo empleo.

- 35 Con el fin de eliminar de un modo lo más completo que sea posible a las toxinas desde alimentos o respectivamente piensos, de acuerdo con un perfeccionamiento del invento, es posible con los microorganismos del presente invento desintoxicar, junto a la fumonisina y a derivados de fumonisinas, por lo menos a otra micotoxina, que se escoge entre las zearalenonas, las aflatoxinas y las ocratoxinas. En particular, se ha puesto de manifiesto que los microorganismos conformes al invento pueden desintoxicar por lo menos a otra toxina adicional, siendo conseguible la desintoxicación de un modo igual de rápido y eficiente que la desintoxicación de las fumonisinas. De esta manera, mediante la puesta a disposición de los microorganismos, sin ninguna adición adicional, es posible degradar
- 40 totalmente a un gran número de toxinas en un alimento o respectivamente pienso, en particular en una mezcla de

alimentos o respectivamente de piensos, y, por consiguiente, poner a disposición un alimento o respectivamente pienso de alta calidad, exento de toxinas.

El invento se refiere también a la utilización de bacterias o levaduras, a solas o en combinaciones de dos o más cepas, escogidas entre las cepas DSM 16254 y DSM 16257, asignables al taxón de las Sphingomonadaceae, la cepa DSM 16255, asignable al taxón de las Rhizobiales, la cepa DSM 16256, asignable al taxón de las Microbacteriaceae, la cepa DSM 16253, asignable al taxón de las Rhizobiaceae, la cepa DSM 16252, asignable al taxón de las Alcaligenaceae y *Pichia* sp. DSM 16562, para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas en alimentos y/o piensos. Mediante la utilización de los microorganismos conforme al presente invento se consigue no sólo realizar una desintoxicación total de fumonisinas y de derivados de fumonisinas en alimentos y/o piensos, sino también, junto al hecho de que los microorganismos son capaces de realizar la desintoxicación en unos medios que ponen a disposición una oferta en exceso de carbono, estos microorganismos pueden realizar la desintoxicación en un período de tiempo extremadamente corto. Además de esto, mediante una utilización de los microorganismos antes mencionados, se consigue desintoxicar junto a las fumonisinas, por lo menos a otra micotoxina adicional, que se escoge entre las zearalenonas, las aflatoxinas o las ocratoxinas. Mediante una utilización de este tipo, en particular en piensos mixtos o respectivamente en productos mixtos de cereales destinados a la consumición por seres humanos, se puede asegurar que varias toxinas presentes en el cereal, sean degradadas de un modo seguro y rápido mediante el empleo de los microorganismos conformes al invento.

Con el fin de perfeccionar aún más esta degradación, conforme al invento se emplean unos cultivos mixtos a base de bacterias y/o levaduras para la desintoxicación de las micotoxinas. Mediante la utilización de cultivos mixtos es posible realizar un ataque deliberado a un número múltiplo de toxinas presentes en un mismo alimento al mismo tiempo o respectivamente en un mismo pienso o respectivamente en una misma mezcla de piensos y, por consiguiente, se puede conseguir una desintoxicación total del mismo. Por lo demás, mediante una utilización de este tipo es posible por primera vez, impedir o respectivamente reprimir de un modo seguro la aparición de efectos sinérgicos indeseados como consecuencia de la presencia simultánea de varias especies de micotoxinas.

Mediante una utilización de los microorganismos conformes al invento, se consigue, además de esto, descomponer unas concentraciones extremadamente bajas de las más diferentes micotoxinas, en particular de 100 µg/kg a 500 mg/kg, de manera preferida de 250 µg/kg a 25 mg/kg, de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, de 10 µg/kg a 10 mg/kg, de manera preferida de 40 µg/kg a 2 mg/kg, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de 1 µg/kg a 2 mg/kg, de manera preferida de 10 µg/kg a 750 µg/kg, de aflatoxinas, de 1 µg/kg a 2 mg/kg, de manera preferida de 5 µg/kg a 500 µg/kg, de ocratoxinas, con lo que, junto al hecho de que también es posible realizar una desintoxicación de las más diferentes toxinas mediante la utilización de los microorganismos conformes al invento, también se asegura que sean atacadas y descompuestas unas concentraciones extremadamente bajas de estas toxinas, lo que hasta ahora era difícil, por no decir imposible, con microorganismos convencionales.

Con el fin de conseguir una desintoxicación lo más completa que sea posible de todas las toxinas contenidas por ejemplo en un pienso mixto, la utilización conforme al invento se perfecciona en el sentido de que se emplea una combinación o respectivamente un cultivo mixto, que contiene adicionalmente por lo menos otra bacteria adicional o una levadura, escogida entre: *Sphingomonas* sp. DSM 14170 y DSM 14167, *Stenotrophomonas nitritreducens* DSM 14168, *Stenotrophomonas* sp. DSM 14169, *Ralstonia eutropha* DSM 14171, *Eubacterium* sp. DSM 14197, *Trichosporon mycotoxinivorans* DSM 14153, *Cryptococcus* sp. DSM 14154, *Rhodotorula yarrowii* DSM 14155, *Trichosporon mucoides* DSM 14156, *Trichosporon dulcitum* DSM 14162 o *Eubacterium* DSM 11798, para la desintoxicación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de ocratoxinas, de tricotecenos y/o de aflatoxinas. Mediante la utilización de una combinación o respectivamente de un cultivo mixto, que contiene adicionalmente por lo menos otra bacteria adicional o una levadura, que es(son) adecuada(s) en particular para la degradación de tricotecenos, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de aflatoxinas o de ocratoxinas se consigue, junto al efecto desintoxicador de los microorganismos conformes al presente invento, es decir la degradación de las fumonisinas, ampliar su capacidad de degradación en lo que respecta a otras toxinas en el sentido de que, mediante una deliberada utilización de varios microorganismos, puedan ser degradadas de un modo rápido y total todas las toxinas, que están posiblemente presentes en un pienso, en común e independientemente unas de otras.

En el caso de un procedimiento para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas mediante utilización de un microorganismo conforme al presente invento, se procede en lo esencial de tal manera que las fumonisinas en el pienso con unos determinados números de gérmenes sean degradadas enzimáticamente en una reacción de múltiples etapas para dar un metabolito desaminado. De acuerdo con un perfeccionamiento, la desintoxicación se lleva a cabo de manera preferida en condiciones acuosas en un medio mínimo o en entornos complejos con una aportación en exceso de sustancias nutrientes y fuentes de carbono. Una tal realización del procedimiento permite emplear los microorganismos conformes al presente invento en unos procedimientos, en los que se lleva a cabo la desintoxicación directamente en el pienso, sin tomar en cuenta la cantidad de carbono, que es puesta a disposición para los microorganismos. Esto es importante especialmente en el sentido de que la mayor parte de los microorganismos conocidos hasta la fecha sólo están en la situación de mostrar su efecto desintoxicador en un medio mínimo o respectivamente en unos entornos con una aportación no aumentada de

carbono, lo que hace inapropiados a la mayoría de los microorganismos conocidos para un empleo directo en alimentos y piensos a causa de la oferta en exceso de carbono.

De acuerdo con un perfeccionamiento preferido, el procedimiento se realiza de tal manera que se pueda llevar a cabo en el transcurso de 15 min a 12 h, en particular de 15 min a 2 h. En el caso de una tal realización del procedimiento, se puede asegurar, por una parte, que sean degradadas todas las micotoxinas presentes en el alimento o respectivamente en el pienso, en particular las fumonisinas, y, por otra parte, que se consiga de este modo no sólo degradar a las micotoxinas, sino también llevar a cabo esta degradación en un período de tiempo tan rápido, que un procedimiento de este tipo pueda pasar a usarse a gran escala técnica y no solamente a la escala de laboratorio.

Cuando, tal como corresponde a un perfeccionamiento del procedimiento de acuerdo con el presente invento, se emplea una combinación o respectivamente un cultivo mixto, que contiene adicionalmente por lo menos otra bacteria adicional o una levadura, que se escoge entre *Sphingomonas* sp. DSM 14170 y DSM 14167, *Stenotrophomonas nitritreducens* DSM 14168, *Stenotrophomonas* sp. DSM 14169, *Ralstonia eutropha* DSM 14171, *Eubacterium* sp. DSM 14197, *Trichosporon mycotoxinivorans* DSM 14153, *Cryptococcus* sp. DSM 14154, *Rhodotorula yarrowii* DSM 14155, *Trichosporon mucoides* DSM 14156, *Trichosporon dulcitum* DSM 14162 o *Eubacterium* DSM 11798, para la desintoxicación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de ocratoxinas, de tricotecenos y/o de aflatoxinas, junto a la degradación de las fumonisinas o respectivamente de los derivados de fumonisinas, y junto a la degradación de las micotoxinas, que pueden ser degradadas adicionalmente por los microorganismos conformes al presente invento, el procedimiento se lleva a cabo de tal manera que se consiga una desintoxicación completa de alimentos y/o piensos mediante el empleo de una selección deliberada de microorganismos.

Para llevar a cabo la desintoxicación con seguridad de una manera completa, tal como corresponde a un perfeccionamiento del invento, para la desintoxicación de alimentos y/o piensos, los microorganismos se mezclan con los alimentos y/o los piensos en cada caso en una proporción de 0,01 % en peso a 1,5 % en peso, en particular de 0,05 % en peso a 0,7 % en peso.

El invento comprende finalmente un aditivo para piensos destinado a la desactivación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, que está caracterizado porque el aditivo para piensos contiene un microorganismo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4 en un número de gérmenes de  $2 \times 10^8$ /kg del aditivo para piensos a  $2 \times 10^{15}$ /kg del aditivo para piensos, en particular de  $1 \times 10^9$ /kg del aditivo para piensos a  $5 \times 10^{12}$ /kg del aditivo para piensos. Mediante el empleo de unos aditivos para piensos, que contienen los microorganismos con unos números de gérmenes de  $2 \times 10^8$ /kg del aditivo para piensos a  $2 \times 10^{15}$ /kg del aditivo para piensos, se asegura que se produzca una desintoxicación completa de todas las fumonisinas y de todos los derivados de fumonisinas, que son degradables por los microorganismos conformes al presente invento, y además de esto también que se puedan degradar todas las otras toxinas, que son degradables por los microorganismos conformes al invento.

Con el fin de extender esta degradación también a las micotoxinas, que solamente pueden ser degradadas de una manera parcial o respectivamente de un modo incompleto por los microorganismos conformes al invento, el aditivo para piensos es perfeccionado en el sentido de que él contiene adicionalmente por lo menos otra bacteria adicional o una levadura, que se escoge entre *Sphingomonas* sp. DSM 14170 y DSM 14167, *Stenotrophomonas nitritreducens* DSM 14168, *Stenotrophomonas* sp. DSM 14169, *Ralstonia eutropha* DSM 14171, *Eubacterium* sp. DSM 14197, *Trichosporon mycotoxinivorans* DSM 14153, *Cryptococcus* sp. DSM 14154, *Rhodotorula yarrowii* DSM 14155, *Trichosporon mucoides* DSM 14156, *Trichosporon dulcitum* DSM 14162 o *Eubacterium* DSM 11798, para la desintoxicación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de ocratoxinas, de tricotecenos y/o de aflatoxinas. Mediante una combinación deliberada de varios microorganismos se consigue, por consiguiente, realizar una degradación completa de todas las toxinas en un mismo pienso, con lo que se puede evitar con seguridad en particular el efecto sinérgico de varias toxinas en un alimento o respectivamente en un pienso.

Los aditivos para piensos conformes al presente invento, tal como corresponde a un perfeccionamiento del invento, son adecuados para la desactivación de las fumonisinas B1, B2 y B3 y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas, de zearalenoles, de glicósidos de zearalenonas, de las aflatoxinas B1, B2, G1, G2, M1, M1, del desoxinivalenol (DON), de la toxina T-2, de la toxina HT-2, del nivalenol, del monoacetoxi-escirpenol, del diacetoxi-escirpenol, del tricodermol, de la verrucarina, de la rorodina, del acetil-desoxinivalenol, de la isotricodermina, de la hidroxí-isotricodermina, de la calonectrina, del T-2 tetraol, del T-2 triol, del desacetil-neosolaniol, del neosolaniol, del acetil-neosolaniol, del esporotriquiol, del tricotriol, del sambucinol y de la culmorina y/o de las ocratoxinas A, B, C, D en un pienso para animales.

El invento se explica más detalladamente en lo sucesivo con ayuda de unos Ejemplos, en los que en el Ejemplo 1 se muestra el transcurso cronológico de la degradación de la fumonisina B1 en el caso de una concentración constante de la toxina en un medio mínimo, en el Ejemplo 2 se muestra la degradación de la fumonisina B1 en los casos de diferentes concentraciones de la toxina, en el Ejemplo 3 se muestra la degradación de la fumonisina B1 en unos

medios complejos, en el Ejemplo 4 se muestra la degradación de la fumonisina B1 en alimentos y piensos, en el Ejemplo 5 se muestra la degradación de una ocratoxina con los microorganismos conformes al invento, y en el Ejemplo 6 se muestran unos ensayos de alimentación con piensos mediando empleo de una mezcla de microorganismos conformes al presente invento.

### Ejemplo 1

Degradación o respectivamente desintoxicación de la fumonisina B1 en un medio mínimo en el caso de una concentración de la toxina de 2 mg/l de fumonisina B1

Para los ensayos se emplearon los microorganismos DSM 16254 y DSM 16257, y como comparación la cepa *Exophiala spinifera* DSM 1217.

La incubación se efectuó en todos los casos a 25 °C en condiciones aerobias. El cultivo de los microorganismos se efectuó en presencia de 50 mg/l de fumonisina B1 en el medio general de cultivo, con el fin de hacer posible una inducción eventualmente posible de las enzimas desintoxicadoras de la fumonisina B1 .

A partir de la Fig. 1 se puede observar que las cepas DSM 16254 y DSM 16257 han transformado en un 100 % a la fumonisina B1 ya después de una incubación durante 1 h, mientras que la cepa de la levadura *E. spinifera* de comparación, después de una duración de la incubación de 24 h, podía transformar sólo escasamente a un 41 % de la toxina. Por consiguiente, los microorganismos conformes al presente invento están en la situación no sólo de desintoxicar de una manera extremadamente rápida en un medio mínimo a la fumonisina B1, sino también que esta desintoxicación tiene lugar en un 100 %.

La Fig. 2 muestra la transformación en el transcurso cronológico en la misma tanda de ensayo, es decir en un medio mínimo y una concentración de la toxina de 2 mg/l, para las cepas DSM 16254, DSM 16256, DSM 16252, DSM 16257 así como para la cepa de levadura *E. spinifera* DSM 1217 como comparación. A partir de estos ensayos de degradación se establece manifiestamente, que los microorganismos conformes al invento son degradados de una manera extremadamente rápida y en muchos casos, a saber, en los de las DSM 16254, DSM 16257, DSM 16252, DSM 16256, también hasta en un 100 %, lo que no era posible con el microorganismo comparativo DSM 1217.

### Ejemplo 2

Degradación de la fumonisina B1 en el caso de diversas concentraciones de la toxina

Los ensayos se llevaron a cabo con DSM 16254, DSM 16257 y DSM 16256, y como comparación, con la cepa de levadura *Exophiala spinifera* DSM 1217. Las concentraciones empleadas de la toxina fueron de 2, 10, 50, 100 y 500 mg/l de fumonisina B1. La incubación se efectuó en condiciones aerobias a 25 °C. Los resultados se representan después de una incubación durante 5 h de las tandas, puesto que tales duraciones de la incubación constituyen un período de tiempo relevante para la práctica en lo que respecta a una desintoxicación de fumonisinas en piensos. La Fig. 3 muestra los resultados de este ensayo. El microorganismo DSM 16254 pudo degradar en un 100 % a la fumonisina B1 en todos los intervalos de concentraciones, el microorganismo DSM 16257 sólo pudo conseguir una degradación de 96 % en un intervalo de concentraciones de 100 mg/l de la fumonisina B1, el DSM 16256 hizo posible una degradación en un 100 % en el caso de una concentración de 2 mg/l, una degradación situada por encima de 50 % en la concentración de 10 mg/l, una degradación de 35 o respectivamente de 25 % en el caso de las concentraciones de 50 mg/l o respectivamente de 100 mg/l. La comparación con *E. spinifera* DSM 1217 puso de manifiesto que en el caso de este microorganismo existía una capacidad de degradación extremadamente mala en particular en el caso de unas concentraciones extremadamente bajas de la toxina, en el caso de 10 mg/l, el DSM 1217 mostró la mejor actividad y degradaba a la fumonisina B1 aproximadamente en un 30 %. A partir de esta comparación resulta que los microorganismos conformes al presente invento son superiores al DSM 1217 en todos los intervalos de concentraciones, y que en particular en el caso de unas bajas concentraciones de la toxina es posible realizar una degradación en un 100 %, lo que hasta ahora no era posible con los microorganismos de acuerdo con el estado de la técnica.

### Ejemplo 3

Degradación de la fumonisina B1 en un medio complejo

En el caso de este ensayo se investigó la capacidad de los microorganismos para saber si ellos pueden desintoxicar a la fumonisina B1 también en unos medios complejos en el caso de la presencia de unas altas concentraciones de sustancias nutrientes. El cultivo de los microorganismos se efectuó en un medio nutricio complejo, que se compone de 5 g/l de una peptona procedente de un extracto de carne y de 3 g/l de un extracto de carne, que se había reunido con dos concentraciones diferentes de fumonisina B1, a saber las de 10 mg/l y 100 mg/l. La determinación de las tasas de transformación se efectuó mediante una comparación de los contenidos de toxinas en las tandas al comienzo y al final de una incubación durante 72 horas a 25 °C en condiciones aerobias. En ambos casos, se consiguió una desintoxicación de 100 % o respectivamente una degradación en un 100 % de la fumonisina B1, en el

caso de la presencia de 10 mg/l de fumonisina B1 en el medio. También en el caso de la presencia de 100 mg/l de fumonisina B1 se consiguió en los dos casos una desintoxicación de 100 %. Con este ensayo se pudo demostrar inequívocamente que los microorganismos conformes al invento son adecuados para la degradación de fumonisinas en medios complejos, es decir con una oferta aumentada de sustancias nutrientes.

5

**Ejemplo 4**

Degradación de la fumonisina B1 en alimentos y piensos

10 Se utilizaron, de nuevo, los microorganismos DSM 16254 o respectivamente DSM 16257 y se intentó degradar una concentración de toxina de 10 mg/l de fumonisina B1 en una cerveza, en una sémola de maíz y en una sémola de trigo. Después de un cultivo de los microorganismos, éstos fueron cosechados, resuspendidos en una solución tamponadora, que contiene toxinas, y a continuación incubados inmediatamente con el correspondiente alimento o respectivamente pienso. La tasa de degradación de la fumonisina B1 fue en todos los casos de 100 %, de tal manera que se pudo demostrar inequívocamente que los microorganismos conformes al invento pueden degradar a las fumonisinas en un 100 % en piensos o respectivamente en alimentos.

15

**Ejemplo 5**

20 Degradación de otras micotoxinas por los microorganismos conformes al invento

Como una micotoxina ejemplificativa se utilizó en el presente caso la ocratoxina A. Pasaron a emplearse las cepas DSM 16254, DSM 16255, DSM 16256 y DSM 16257. La degradación de la ocratoxina se llevó a cabo en presencia de 400 µg/l de ocratoxina A en un tampón aerobio, y se incubó durante 120 h. La cepa DSM 16255 mostró, ya después de 2 h, una desintoxicación de 95 %, después de 24 h, tanto la cepa DSM 16254 como también la DSM 16255 habían desintoxicado el 100 % de la ocratoxina A, después de 48 h, también en el caso de la DSM 16256 se pudo comprobar una desintoxicación de 90 %, y después de 120 h, la cepa DSM 16257 había desintoxicado a la ocratoxina A en un 100 %.

25

30 **Ejemplo 6**

Ensayos de alimentación como piensos con combinaciones o respectivamente cultivos mixtos de diferentes microorganismos para la desintoxicación completa de unos alimentos o respectivamente piensos reunidos con micotoxinas.

35

Ensayo I con cerditos

En este ensayo, las cepas DSM 16254 y DSM 14153 se emplearon como un aditivo. El aditivo tenía un número total de gérmenes de  $1 \times 10^{12}$  KBE/kg de aditivo. La duración del ensayo fue de 42 días. Los animales fueron subdivididos en cuatro conjuntos, en cada caso de 24 animales. El conjunto testigo (KG) recibió un pienso clásico no contaminado sin ningún aditivo para el pienso. El conjunto con toxinas (TG) recibió un pienso, que había sido reunido con 500 ppb (partes por mil millones) de la ocratoxina A, 250 ppb de una zearalenona y 1.500 ppb de la fumonisina B1. El conjunto de ensayo 1 (VG1) y el conjunto de ensayo 2 (VG2) recibieron en cada caso el mismo pienso reunido con toxinas, pero en el caso del conjunto de ensayo 1 con 0,5 kg del aditivo, y en el caso del conjunto de ensayo 2, con 1 kg del aditivo. Al final del ensayo se pudieron conseguir los siguientes resultados.

40

45

	Peso al final	Aumentos diarios de peso	FCR
KG	24,3 kg	434 g	1,493
TG	22,0 kg	380 g	1,573
VG1	23,4 kg	412 g	1,516
VG2	24,7 kg	443 g	1,467

Ensayo II con cerditos

50 En este ensayo se emplearon las cepas DSM 16254, DSM 11798 y DSM 14153 como un aditivo. El aditivo tenía un número total de gérmenes de  $2,5 \times 10^{12}$  KBE/kg de aditivo. La duración del ensayo fue de 42 días. Los animales fueron subdivididos en cuatro conjuntos, en cada caso de 19 animales. El conjunto con toxinas (TG) recibió un pienso, que había sido mezclado con 1,1 ppm del desoxinivalenol y 2 ppm de la fumonisina B1, pero sin ningún aditivo. El conjunto de ensayo 1 (VG1), el conjunto de ensayo 2 (VG2) y el conjunto de ensayo 3 (VG3) recibieron en cada caso el mismo pienso reunido con toxinas, pero en el caso del conjunto de ensayo 1 con 0,5 kg del aditivo, en el caso del conjunto de ensayo 2 con 1 kg del aditivo y en el caso del conjunto de ensayo 3 con 2 kg del aditivo. Al final del ensayo se pudieron conseguir los siguientes resultados.

55

	Peso al final	Aumentos diarios de peso	FCR
TG	22,90 kg	359 g	1,82
VG1	26,45 kg	442 g	1,67
VG2	27,10 kg	463 g	1,60
VG3	28,55 kg	485 g	1,71

Ensayo III con cerditos

5 En este ensayo se empleó la cepa DSM 16254 como un aditivo. El aditivo tenía un número total de gérmenes de  $1 \times 10^{11}$  KBE/kg de aditivo. La duración del ensayo fue de 42 días. Los animales fueron subdivididos en dos conjuntos, en cada caso de 30 animales. El conjunto con toxinas (TG) recibió un pienso, que había sido reunido con 4,5 ppm de la fumonisina B1. El conjunto de ensayo recibió el mismo pienso reunido con toxinas, pero con 0,5 kg del aditivo. Al final del ensayo se pudieron conseguir los siguientes resultados.

	Pesos iniciales	Pesos finales	Aumentos diarios	Tasa de aprovechamiento del pienso
Conjunto con toxinas	6,76 kg	28,33 kg	514 g	2,21
Conjunto de ensayo	6,88 kg	30,56 kg	564 g	2,03

10

Ensayo I con pollos

15 En este ensayo se emplearon las cepas DSM 16254 como un aditivo. El aditivo tenía un número total de gérmenes de  $2,5 \times 10^{11}$  KBE/kg de aditivo. Los animales fueron subdivididos en dos conjuntos, en cada caso de 140.000 animales. El conjunto con toxinas (TG) recibió un pienso, que había sido mezclado con 300 ppb de una aflatoxina y 2 ppm de una fumonisina. El conjunto de ensayo recibió el mismo pienso reunido con toxinas, pero con 1 kg del aditivo/t de pienso. Al final del ensayo se pudieron conseguir los siguientes resultados.

Semana de ensayo	Conjunto de ensayo	Conjunto con toxinas
	mortalidad [%]	mortalidad [%]
1	1,02	2,99
2	0,82	1,83
3	0,34	1,79
4	0,57	2,89
5	0,89	2,27
6	0,91	1,24
7	0,73	1,07
8	0,41	1,63
Peso final [g]	1.720	1.298

20 Ensayo II con pollos

25 En este ensayo se emplearon las cepas DSM 16254 y DSM 11798 como un aditivo. El aditivo tenía un número total de gérmenes de  $4 \times 10^{11}$  KBE/kg de aditivo. Los animales fueron subdivididos en tres conjuntos, en cada caso de 260 animales. El conjunto testigo recibió un pienso no contaminado. El conjunto con toxinas (TG) recibió un pienso, que había sido mezclado con 3,5 ppm de una fumonisina y 1,8 ppm de la toxina T-2. El conjunto de ensayo recibió el mismo pienso reunido con toxinas, pero con 1 kg del aditivo por tonelada de pienso. Al final del ensayo se pudieron conseguir los siguientes resultados.

	Conjunto testigo	Conjunto de ensayo	Conjunto con toxinas
Aumento total del peso	1.965,6	1.952,4	1.866,1
Ingestión total de pienso	3.983,9	4.113,2	3.894,0
Tasa de aprovechamiento del pienso	2,03	2,11	2,08

30

## REIVINDICACIONES

1. Microorganismo para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, empleándose unas bacterias o levaduras desintoxicadoras, que se escogen entre las cepas DSM 16254 y DSM 16257, asignables al taxón de las Sphingomonadaceae, la cepa DSM 16255, asignable al taxón de las Rhizobiales, la cepa DSM 16256, asignable al taxón de las Microbacteriaceae, la cepa DSM 16253, asignable al taxón de las Rhizobiaceae, la cepa DSM 16252, asignable al taxón de las Alcaligenaceae y Pichia sp. DSM 16562, las cuales transforman a las fumonisinas enzimáticamente, en una reacción de múltiples etapas, en unos metabolitos desaminados.
2. Microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** las bacterias o levaduras son estabilizadas en forma de polvos, líquidos o geles.
3. Microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado porque** las bacterias o levaduras, junto a una fumonisina y a derivados de fumonisinas, desintoxican por lo menos a una micotoxina adicional, que se escoge entre las zearalenonas, las aflatoxinas o las ocratoxinas.
4. Utilización de bacterias o levaduras a solas o en combinaciones de dos o más cepas, que se escogen entre las cepas DSM 16254 y DSM 16257, asignables al taxón de las Sphingomonadaceae, la cepa DSM 16255, asignable al taxón de las Rhizobiales, la cepa DSM 16256, asignable al taxón de las Microbacteriaceae, la cepa DSM 16253, asignable al taxón de las Rhizobiaceae, la cepa DSM 16252, asignable al taxón de las Alcaligenaceae y Pichia sp. DSM 16562, para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas en alimentos y/o piensos.
5. Utilización de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizada porque** las bacterias o las levaduras se emplean adicionalmente para la desintoxicación de por lo menos una micotoxina adicional, que se escoge entre las zearalenonas, las aflatoxinas o las ocratoxinas.
6. Utilización de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5, **caracterizada porque** se emplean unos cultivos mixtos de bacterias y/o levaduras para la desintoxicación de las micotoxinas.
7. Utilización de acuerdo con la reivindicación 4, 5 ó 6 para la desintoxicación de unas bajas concentraciones de micotoxinas, en particular de 100 µg/kg a 500 mg/kg, de manera preferida de 250 µg/kg a 25 mg/kg, de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, de 10 µg/kg a 10 mg/kg, de manera preferida de 40 µg/kg a 2 mg/kg, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de 1 µg/kg a 2 mg/kg, de manera preferida de 10 µg/kg a 750 µg/kg, de aflatoxinas, de 1 µg/kg a 2 mg/kg, de manera preferida de 5 µg/kg a 500 µg/kg, de ocratoxinas.
8. Utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 4 hasta 7, **caracterizada porque** se emplea una combinación o respectivamente un cultivo mixto, que contiene adicionalmente por lo menos otra bacteria adicional o una levadura, que se escoge entre: Sphingomonas sp. DSM 14170 y DSM 14167, Stenotrophomonas nitritreducens DSM 14168, Stenotrophomonas sp. DSM 14169, Ralstonia eutropha DSM 14171, Eubacterium sp. DSM 14197, Trichosporon mycotoxinivorans DSM 14153, Cryptococcus sp. DSM 14154, Rhodotorula yarrowii DSM 14155, Trichosporon mucoides DSM 14156, Trichosporon dulcimum DSM 14162 o Eubacterium DSM 11798, para la desintoxicación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de ocratoxinas, de tricotecenos y/o de aflatoxinas, para la desintoxicación de unas micotoxinas que se presentan en común, en particular de una fumonisina y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de aflatoxinas, o de ocratoxinas.
9. Procedimiento para la desintoxicación de fumonisinas y de derivados de fumonisinas mediando utilización de un microorganismo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4, que comprende una transformación enzimática de fumonisinas en un metabolito desaminado, en un pienso, que contiene un número de gérmenes de  $10^3$ /g del pienso a  $10^8$ /g del pienso, en particular de  $2 \times 10^4$ /g del pienso a  $5 \times 10^6$ /g del pienso, en una reacción de múltiples etapas.
10. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, **caracterizado porque** la desintoxicación se lleva a cabo en condiciones acuosas en un medio mínimo o en entornos complejos con una aportación de nutrientes y fuentes de carbono en exceso.
11. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9 ó 10, **caracterizado porque** se lleva a cabo en el transcurso de 15 min a 12 h, en particular de 15 min a 2 h.
12. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, 10 ó 11, **caracterizado porque** por lo menos una micotoxina adicional, que se escoge entre las zearalenonas, las aflatoxinas o las ocratoxinas, es transformada en un producto de degradación no tóxico.
13. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 hasta 12, **caracterizado porque** se emplea una combinación o respectivamente un cultivo mixto, que contiene adicionalmente por lo menos otra bacteria adicional o

- 5 una levadura, que se escoge entre *Sphingomonas* sp. DSM 14170 y DSM 14167, *Stenotrophomonas nitritreducens* DSM 14168, *Stenotrophomonas* sp. DSM 14169, *Ralstonia eutropha* DSM 14171, *Eubacterium* sp. DSM 14197, *Trichosporon mycotoxinivorans* DSM 14153, *Cryptococcus* sp. DSM 14154, *Rhodotorula yarrowii* DSM 14155, *Trichosporon mucoides* DSM 14156, *Trichosporon dulcitum* DSM 14162 o *Eubacterium* DSM 11798, para la desintoxicación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de ocratoxinas, de tricotecenos y/o de aflatoxinas.
- 10 14. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 hasta 12, **caracterizado porque** para la desintoxicación de alimentos y/o piensos, los microorganismos son mezclados con los alimentos y/o piensos en cada caso en una proporción de 0,01 % en peso a 1,5 % en peso, en particular de 0,05 % en peso a 0,7 % en peso.
- 15 15. Aditivo para piensos destinado a la desactivación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, **caracterizado porque** el aditivo para piensos contiene un microorganismo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4 en un número de gérmenes de  $2 \times 10^8$ /kg del aditivo para piensos a  $2 \times 10^{15}$ /kg del aditivo para piensos, en particular de  $1 \times 10^9$ /kg del aditivo para piensos a  $5 \times 10^{12}$ /kg del aditivo para piensos.
- 20 16. Aditivo para piensos de acuerdo con la reivindicación 15, **caracterizado porque** él contiene adicionalmente por lo menos otra bacteria adicional o una levadura, que se escoge entre *Sphingomonas* sp. DSM 14170 y DSM 14167, *Stenotrophomonas nitritreducens* DSM 14168, *Stenotrophomonas* sp. DSM 14169, *Ralstonia eutropha* DSM 14171, *Eubacterium* sp. DSM 14197, *Trichosporon mycotoxinivorans* DSM 14153, *Cryptococcus* sp. DSM 14154, *Rhodotorula yarrowii* DSM 14155, *Trichosporon mucoides* DSM 14156, *Trichosporon dulcitum* DSM 14162 o *Eubacterium* DSM 11798, para la desintoxicación de micotoxinas, en particular de fumonisinas y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de ocratoxinas, de tricotecenos y/o de aflatoxinas.
- 25 17. Utilización de un aditivo para piensos de acuerdo con la reivindicación 15 ó 16 para la desactivación de las fumonisinas B1, B2 y B3 y de derivados de fumonisinas, de zearalenonas o respectivamente de derivados de zearalenonas, de zearalenol, de glicósidos de zearalenona, de las aflatoxinas B1, B2, G1, G2, M1, M1, de desoxinivalenol (DON), de la toxina T-2, de la toxina HT-2, del nivalenol, del monoacetoxi-escirpenol, del diacetoxi-escirpenol, del tricodermol, de la verrucarina, de la rorodina, del acetil-desoxinivalenol, de la isotricodermina, de la hidroxí-isotricodermina, de la calonectrina, del tetraol T-2, del triol T-2, del desacetil-neosolaniol, del neosolaniol, de acetil-neosolaniol, del esporotriquiol, del tricotriol, del sambucinol y de la culmorina y/o de las ocratoxinas A, B, C, D.
- 30

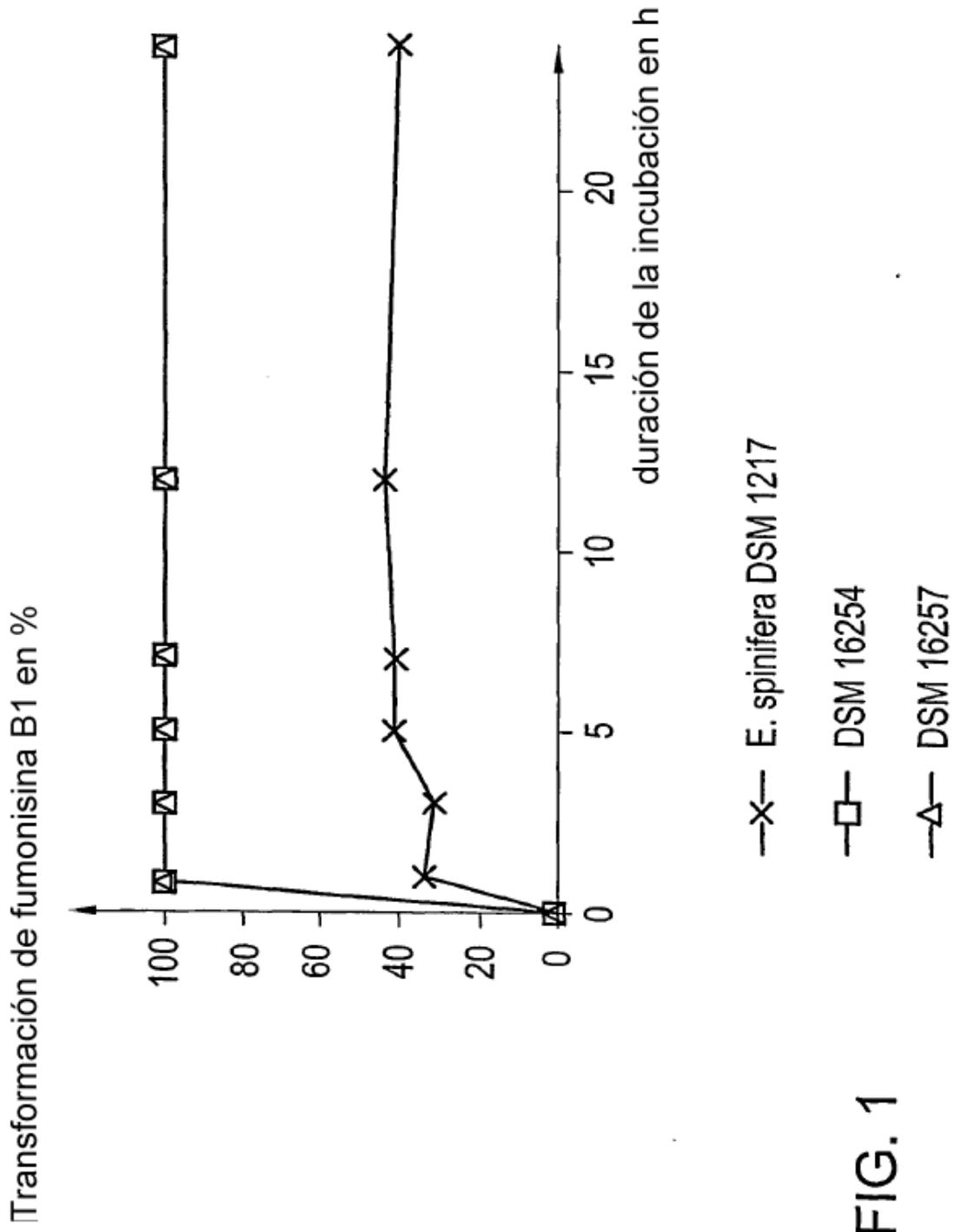


FIG. 1

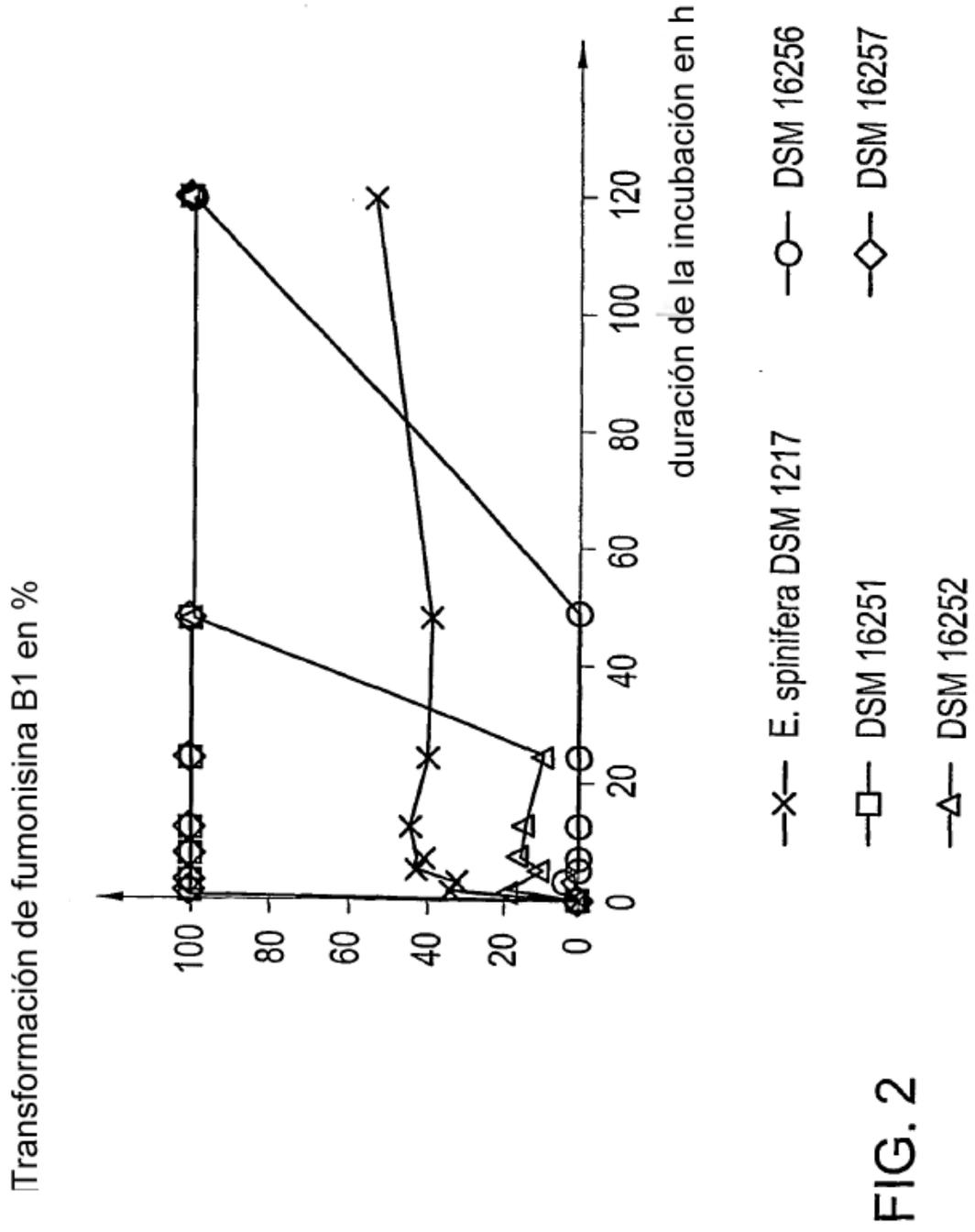


FIG. 2

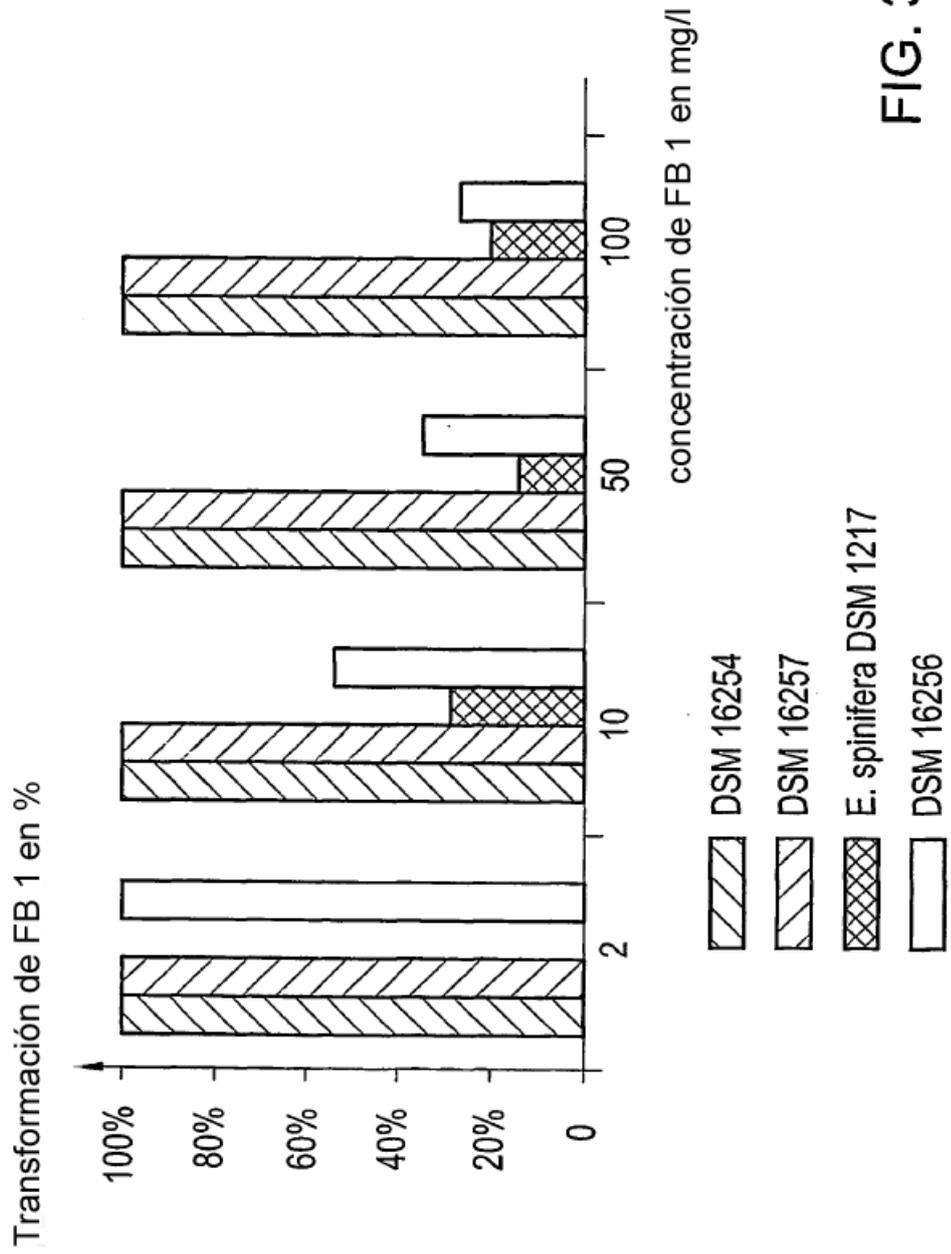


FIG. 3

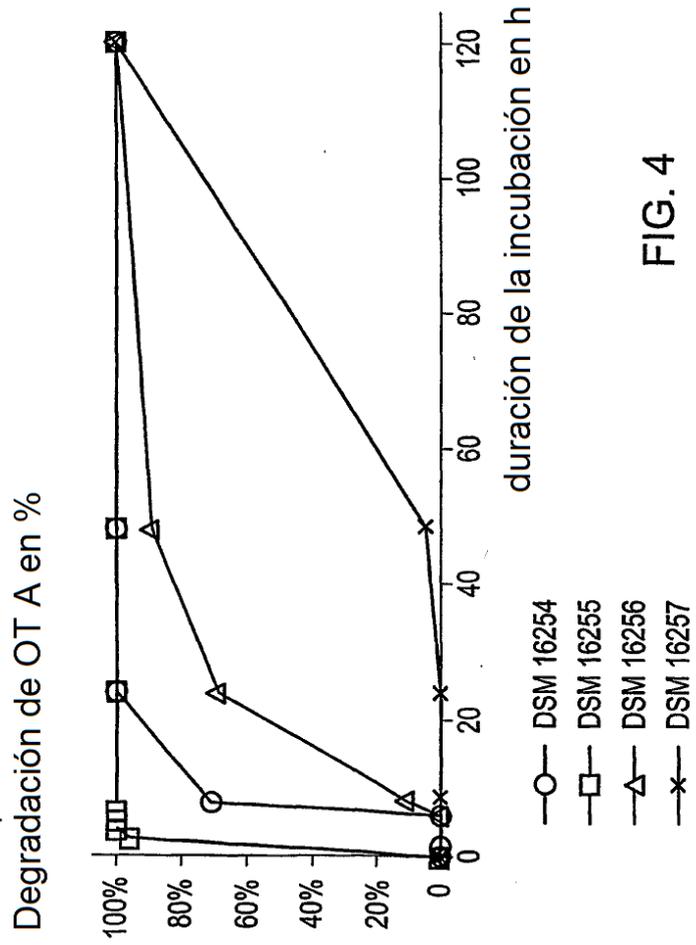


FIG. 4