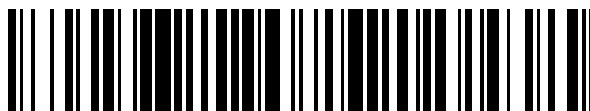


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 396 052**

51 Int. Cl.:

**A23K 1/16** (2006.01)

**A23K 1/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.01.2002 E 02715323 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.08.2012 EP 1357805**

54 Título: **Mejora de la función reproductora en mamíferos**

30 Prioridad:

**12.01.2001 BR 0100421**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**18.02.2013**

73 Titular/es:

**FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO  
ESTADO DE SAO PAULO (100.0%)  
RUA PIO XI, 1500  
CEP 05468-901 ALTO DA LAPA, SAO PAULO, BR**

72 Inventor/es:

**DANTE PAZZANESE DUARTE LANNA;  
MCGUIRE, MARK A.;  
MEDEIROS, SERGIO RAPOSO;  
DE OLIVEIRA, DIMAS ESTRÁSULAS y  
AROEIRA, LUIS JANUÁRIO M.**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 396 052 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

Mejora de la función reproductora en mamíferos

La presente invención se refiere a un método de tratamiento no terapéutico de mamíferos para mejorar la función reproductora usando ácido linoleico conjugado (ALC) y que se usará en agricultura y nutrición animal.

### 5 Base de la invención

La presente invención pertenece al área de la nutrición humana o animal, con excelentes posibilidades para la producción de complementos alimenticios para animales rumiantes.

10 En rumiantes, tales como vacas, ovejas y cabras, la composición de la leche es el resultado de la genética del animal y de las condiciones ambientales. De estas condiciones ambientales, la nutrición es el factor más influyente en cuanto a la concentración de los componentes lácteos. Los componentes normalmente a medir son: grasa, proteína, lactosa, sólidos y minerales totales. Los dos primeros productos son los componentes con contribución económica más onerosa. Los factores externos alteran más fácilmente el nivel de grasa que el de proteínas, que normalmente varía a un menor grado.

15 A pesar de la posibilidad de usar la formulación dietética para reducir el nivel de grasa en la leche, este tipo de estrategia presenta diversas circunstancias inconvenientes, tales como la necesidad de usar altos niveles de concentrado, molestias y/o riesgo de problemas metabólicos en los animales y menor control sobre el grado de la reducción en el contenido de grasa en la leche. Aparte de esto, existe escaso o ningún efecto sobre el resto de los componentes lácteos. Al ser un componente muy preciado, el aumento de los niveles de proteínas en la leche es muy deseable, ya que puede. Mediante cambios en la composición dietética se consiguió aumentar el nivel de  
20 proteínas en la leche, normalmente hasta ahora considerado, muy bajo o inconsistente, en el estado de la técnica.

### La situación actual de la técnica y la invención

25 Las pequeñas e inconsistentes variaciones resultantes de los complementos proteicos pueden deberse a una baja eficacia de conversión de las proteínas dietéticas en proteínas lácteas de aproximadamente 25-30%. (Bequette, B. J.; Backwell, F. R. C.; Crompton, L. A, Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant, J. Dairy Sci. Vol. 81 p. 2540-2559, 1998).

30 Kennely, J. J.; Grimm, D. R.; Ozimek, L.; Milk composition in the cow, Proceedings of the 1999 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, 61st. Meeting, Cornell University, 1999, comentan que la falta de conocimiento sobre cómo las proteínas de la dieta influyen en su nivel y producción de leche es la principal limitación en la formulación de dietas biológicamente eficaces que también fuesen más rentables. Las dificultades observadas en la modificación de la producción de leche usando diferentes fuentes de proteínas se esclarecen en la revisión de Huber, J. T., Santos, F. P.; Simas, J.M.; Chen, K. H.; Mens, H.; Santos, J. E.; Modern Concepts for diet formulating for high production cows, Annals of the 2nd Brazilian Dairy Cattle Congress-Modern Concepts of Dairy Exploration José Carlos de Moura (ed), FEALQ, 1996), en la que 97 comparaciones de 67 ensayos de lactancia publicados en 60 estudios con datos obtenidos a partir de harina de soja frente a fuentes de proteína de baja degradabilidad en el rumen, demuestran que la producción de leche y los niveles de proteína no estaban, en general, mejorados. Estos autores comentan que solamente en estudios que usan harina de pescado proporcionaban a las vacas una producción de más de 30 kg de leche al día, lo que demuestra algún aumento significativo en la producción de la leche, según lo observado en 6 comparaciones de 13. En la tabla 4 de la revisión de Huber et al, (1996), puede observarse que solo 6 estudios de las 95 comparaciones mostraron algún efecto positivo, o un aumento en el  
40 porcentaje de las proteínas en la leche.

45 La grasa de la leche es el componente más sensible frente a los cambios dietéticos para los animales (Sutton, J. D., Altering milk composition by feeding, J. Dairy Sci vol 72 p. 2801-2814, 1989; Kennely et al., 1999). Estas son situaciones que conducen a una disminución significativa en grasa, un fenómeno que se conoce como síndrome de baja grasa en la leche o depresión de grasa en la leche (milk fat depression - MFD). La reducción de la grasa en la leche puede plantear o no un problema para el granjero. Sin embargo, la MFD se produce más frecuentemente por problemas nutricionales, asociados con acidosis subclínica, eficacia nutricional reducida y problemas de salud que pueden estar relacionados (diarrea, laminitis, desplazamiento del abomaso) haciendo que la MFD sea un problema en la producción de la leche.

50 Kennely, J. J.; Glimm, D. R., The biological potential to alter milk composition, Canadian J. of An. Sci., vol. 78 (suppl), p 23-56, 1998, presentan datos sobre dietas con proporciones de 50:50 y 75:25 entre concentrados y forraje, respectivamente, y la influencia de la etapa de lactancia en la composición de la leche. Al inicio y al final de la lactancia, altos niveles de concentrado reducen niveles de grasa. La cantidad de proteínas fue superior en dietas con grasa reducida (es decir, concentrado del 75%), pero la diferencia fue solo estadísticamente diferente al principio de

la lactancia. Sin embargo, en este caso, la producción de leche fue de 2,4 kg/día mas baja que con el tratamiento de la proporción 50:50. Esto demuestra cómo, hasta la presente invención, la manipulación dietética de la composición de las proteínas en la leche, presenta resultados poco importantes e inconsistentes, y con modificaciones no coordinadas en la producción de leche y niveles de grasa y proteínas.

- 5 Los complementos lipídicos no siempre modifican el contenido de las proteínas en la leche, a pesar de que en la mayoría de los casos reducen los niveles de proteínas (De Peters, E. J.; Cant, J. P.; Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review, J. Dairy Sci., vol. 75, p. 2043-2070, 1992).

10 La patente WO99/66922 describe un medio para modificar la calidad de la leche administrando ácido linoleico conjugado (ALC) y sus ácidos grasos precursores, cuyas ventajas son niveles de grasa más bajos y niveles de ACL más altos en la leche producida. La patente WO94/16690 describe un método para aumentar la eficacia de la producción en animales usando ACL, o sus ácidos grasos precursores. Sin embargo, estas dos patentes (WO99/66922; WO94/16690), no contienen referencias con respecto a un aumento en el volumen de la leche producida, ni ninguna referencia con respecto a un aumento en las proteínas de la leche o un aumento en la producción de proteínas (por animal, por periodo, por área o por cantidad de alimento).

- 15 Recientes publicaciones ("The Power Behind Cheese", The Food Institute, [www.findarticles.com](http://www.findarticles.com)), mencionan las propiedades del ácido linoleico conjugado que reduce los procesos de algunos tipos de cáncer y problemas cardiacos y también hace que se reduzca más fácilmente el nivel de grasa en el desarrollo de los tejidos.

20 Kelly M. L., et al describen un producto para alimentar a mamíferos que contiene ácidos grasos insaturados y un procedimiento que consiste en alimentar a un bovino con un producto dietético que contiene aceite de girasol dando como resultado un contenido significativamente aumentado de proteínas en la leche del animal (Journal of Nutrition, vol. 128, no.5, May-1998, páginas 881-885).

Loor J. J., et al describen un producto para alimentar a vacas que contiene una dieta basal que tiene ácidos grasos C16-C18 (Journal of Nutrition, vol.128, no.12, 1998, páginas 2411-2419).

25 Teh, T. H., et al describen un producto y un procedimiento que incluye la alimentación con una dieta que contiene ácidos grasos insaturados (Journal Of Dairy Science, vol. 77, no. 1, 1994, páginas 253-258).

30 El documento WO0057720 se refiere a un método para el tratamiento de un animal para reducir la grasa corporal presentando el animal al mismo tiempo una eficacia mejorada en la alimentación y un aumento de peso continuado o un aumento en la masa corporal magra que incluye las etapas de administrar al animal una combinación de isómeros del ALC en una proporción seleccionada para conservar un beneficio deseable atribuible a un isómero contrarrestando al mismo tiempo un efecto no deseable del mismo isómero.

El documento "Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants" (Ricardo Mattos et al, Reviews of reproduction, 2000, 5, 38-45) se refiere a una revisión para examinar el procedimiento reproductor regulado por grasas y el posible mecanismo de acción. Este documento se refiere a ácidos grasos poliinsaturados, tales como, linoleico, linolénico, eicosapentanoico y docosahexanoico.

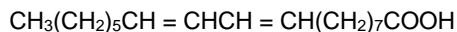
35 La invención definida por las reivindicaciones tiene el objeto de:

- desarrollar un producto que aumente el rendimiento de los derivados lácteos y mejore la calidad de los productos lácteos, tales como el queso, como resultado de una mejora en los niveles y/o cantidad de proteínas.
- obtener productos con calidad láctea mejorada en cuanto a la salud del consumidor, reducción de ácidos grasos de cadena corta y la proporción entre ácidos grasos de cadena corta/proteínas;
- 40 • desarrollar productos que mejoren el estado del organismo y la función reproductora de mamíferos;
- obtener un producto que mejore la eficacia de la producción láctea y reduzca el impacto ambiental de la actividad (reduciendo, por ejemplo, la producción de estiércol
- desarrollar productos que mejoren el estado del organismo y la función reproductora de mamíferos;
- 45 • obtener un producto que mejore la eficacia de la producción láctea y reduzca el impacto ambiental de la actividad (reduciendo, por ejemplo, la producción de estiércol y metano por unidad de volumen de leche). Esta es la función de modificar los niveles de proteína (aumentándolos) y los niveles de grasa (reduciéndolos) en la leche.

La presente invención proporciona un medio más eficaz y económico para alimentar a mamíferos y particularmente a rumiantes para mejorar la función reproductora.

50 Específicamente, el método no terapéutico implica la complementación de tipos específicos de ácidos grasos tales como ácido linoleico conjugado (fórmula original C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>), ACL.

La estructura del isómero principal es la siguiente:



5 Pueden usarse isómeros posicionales y geométricos, incluyendo C 18:2 cis 9, trans 11, C 18:2 trans10, cis12 y C 18:2 cis8, trans10 en diversas proporciones, así como ácidos grasos purificados tales como C 18:2 trans10 cis12, especialmente isómeros específicos del ácido linoleico conjugado, isómeros en posición trans 10, con o sin protección ruminal para los rumiantes. Pueden usarse isómeros del ácido linoleico y sus mezclas, tales como sales (calcio, etc.) o ésteres, entre otros. Se hará referencia a todas estas posibilidades como ALC, es decir, mezclas o isómeros aislados del ácido linoleico o sus derivados. El ALC puede usarse o no junto con uno o más aceites vegetales conocidos en los círculos técnicos como el aceite de palma. Este complemento puede usarse en asociación con otros complementos alimenticios, incluyendo complementos que presentan una proporción de proteína / energía metabolizable que es superior a la normalmente observada como adecuada en círculos técnicos para su uso con animales y la complementación con el ACL cis 12 y las pérdidas en el sistema digestivo alcanzan el 90%, después la cantidad a añadir en la dieta se calcula como  $10 \div 0,5 \div 0,9 = 200$  g/d.

15 De la manera en que se utiliza en el presente documento, la expresión "protección ruminal" se refiere a cualquier procedimiento que reduce la biohidrogenación de los ácidos grasos o degradación de las proteínas y aumenta el nivel de ácidos grasos y aminoácidos que llegan en el tracto digestivo inferior de los animales sin modificaciones o no degradados. Los niveles más altos de proteína metabolizable son aquellos que están por encima de las exigencias reconocidas en el sistema de formulación del estado de la técnica (véase revisión de NRC, 2001 y CNCPS, 2000). Cabe destacar que esto se refiere principalmente a la proporción proteína /energía metabolizable y no necesariamente al nivel de proteína en la dieta (aunque este puede ser superior a los niveles recomendados dependiendo de los ingredientes).

25 El complemento alimenticio de la presente invención puede incluir el uso de fuentes de proteínas no degradables en el rumen proporcionado por el complemento de degradación ruminal bajo (por ejemplo: harina de pescado) que modifica la proporción de proteína / energía metabolizable. Un ejemplo que se presenta más adelante muestra cómo el uso de estas fuentes de proteína en combinación con la molécula ALC con un efecto metabólico mejora los efectos de esta última, un hecho demostrado por primera vez por los inventores que solicitan esta patente. Las fuentes de proteína incluyen harinas de semillas de aceite, tales como harina de semilla soja y harina de semilla de algodón, subproductos de origen animal, tales como harinas de carne, harinas de plumas y despojos, harina de sangre y harina de pescado; subproductos de origen vegetal tales como harinillas de trigo, cascarillas de soja, subproductos derivados del procesamiento del maíz y proteínas microbianas, tales como levaduras. Otros ingredientes, junto con las fuentes de proteína, también pueden estar presentes en el complemento alimenticio. Esto incluiría fuentes de energía, tales como, maíz, pulpa de cítricos, sorgo, aromas, tales como melaza, agentes colorantes, vitaminas y minerales y diversos acondicionadores y estabilizadores.

35 Los componentes proteicos del complemento para la presente invención pueden protegerse de la degradación ruminal por diversos métodos, tales como tratamiento químico y térmico, o una combinación de tratamiento térmico y otros tratamientos. El tratamiento químico de los alimentos con tanino se describe en la Patente de Estados Unidos N° 3.507.662. El tratamiento químico de los alimentos con formaldehído se describe en la Patente de Estados Unidos N° 3.619.200. El tratamiento térmico de los alimentos incluye el procesamiento de semillas de aceite con extrusoras, tratamientos de torrefacción e infrarrojo. La adición de azúcares reductores a alimentos, tales como harina de semilla de soja, antes del calentamiento, se describe en las Patentes de Estados Unidos N° 4.377.576, 5.023.091 y 5.064.665.

45 La dieta puede formularse para proporcionar una masa con exceso de proteína metabolizable del 10% al 50%, realizado de acuerdo con el programa CNCPS (Versión 3.0 y/o 4.0) de la universidad de Cornell u otro modelo de simulación usado en este área. Pueden usarse diversas combinaciones y sistemas de cálculo, para permitir mayores cantidades de aminoácidos en el abomaso, incluyendo el uso de aminoácidos y proteínas protegidos de la degradación ruminal o fuentes de proteínas diferentes.

50 Normalmente, el complemento alimenticio se suministra a los animales productores de leche en combinación con alimentos a granel. Estos alimentos pueden ser forrajes conservados, tales como heno y ensilaje y forraje pastoreado directamente por el animal u otro material fibroso, tales como subproductos de la caña de azúcar procesada por tratamiento con presión y/o con vapor o en su estado natural.

El procedimiento consiste en complementos de determinados tipos de ácidos grasos específicos con y/o sin protección ruminal y, en general, en una dieta con una proporción de proteína /energía metabolizable por encima de los niveles requeridos por el estado de la técnica.

55 La invención también se refiere a la capacidad de complementar o alimentar a mamíferos con sustancias que pueden crear modificadores metabólicos en el tracto digestivo similares a los descritos anteriormente, de acuerdo

5 con la invención, es decir los ácidos carboxílicos insaturados pueden usarse en combinación con diferentes componentes de alimentación incluyendo fuentes de hidratos de carbono fermentables, proteínas, aditivos, antibióticos, ingredientes que pueden modificar el pH del tracto digestivo produciendo los ácidos grasos que modifican el metabolismo en el tracto digestivo, a partir de ácidos grasos añadidos a la dieta que en sí mismos no modifican el metabolismo antes de la conversión producida por los diferentes componentes de la alimentación, de acuerdo con la invención.

10 La complementación puede implicar el aporte de ácidos grasos, que modifican el metabolismo del animal, o también el aporte de ácidos grasos inertes, que, debido a sus condiciones ruminales, pueden cambiar su estructura molecular y convertirse en ácidos grasos que modifican el metabolismo. Tanto el aporte de ácidos grasos que tienen un efecto metabólico como la producción de estos ácidos grasos en el tracto digestivo permiten un aumento sustancial en el nivel y/o producción de las proteínas de la leche.

15 El aumento significativo en cuanto a la concentración y producción de proteínas en la leche proporciona importantes beneficios en cuanto a rendimiento, calidad y producción de los productos lácteos. La complementación con ácidos grasos específicos también aumenta la duración de la lactancia, la eficacia reproductora y la recuperación de condicionamiento del organismo con el consecuente aumento en la producción de leche y los constituyentes después de la complementación. También hay una mejor proporción entre proteína y contenido de ácidos grasos de cadena corta, mejorando el valor nutricional de la leche.

La presente invención, definida por las reivindicaciones, proporciona las siguientes ventajas:

- 20 • la complementación puede aumentar la producción de leche durante el periodo de lactancia y la duración de este periodo (producción a lo largo de la curva de lactancia), aumentar la producción de componentes de la leche durante el periodo posterior a la complementación con la mezcla de ácidos grasos descritos en esta solicitud (conjunto de isómeros de los ácidos linoleicos conjugados) y la magnitud de este efecto es el resultado de las condiciones nutricionales de los animales cuando se inicia el tratamiento.
- 25 • de acuerdo con la invención, los efectos del ácido linoleico conjugado (ALC) y sus sales o ésteres derivados, incluyen un equilibrio de energía mejorado, una condición corporal mejorada, reducción de tiempo al primer estro (es decir, disminuyen los días abiertos) y mejoría general en los parámetros de reproducción.
- 30 • los efectos del ácido linoleico conjugado (ALC) y sus sales o ésteres derivados, cuando se usan de acuerdo con la invención, incluyen una reducción en los problemas metabólicos incluyendo cetosis e hígado graso, mejoras en la calidad de los productos lácteos y rendimientos industriales.
- aumento de la proporción de ácidos grasos de cadena corta/proteínas y la proporción total de ácidos grasos de cadena corta/lípidos, mejorando el valor nutritivo de la leche en consonancia con las recomendaciones dietéticas actuales.

35 Los siguientes ejemplos ilustran determinados usos de la presente invención. Todos los porcentajes indicados se refieren al peso, a menos que se indique lo contrario. Aunque la invención se ha descrito con detalle en los siguientes ejemplos, estos solo son ilustrativos.

**Ejemplo 1**

40 Durante 56 días, un grupo de 10 vacas recibió 150 g de una mezcla de ácidos grasos como sales de calcio con ALC al 60% (ácido linoleico conjugado, ALC una mezcla de isómeros geométricos y de posición incluyendo C18: 2 cis 9, trans 11, C 18:2 trans 10, cis12, y C 18:2 cis8, trans 10), cuyos valores de producción y composición de la leche se compararon con 10 vacas con las mismas características, tratadas de la misma manera y que recibieron la dieta de control. El tratamiento de control consistía en 150 g de mezcla de ácidos grasos como sales de calcio convencional (MEGALAC, ácidos grasos del aceite de palma) en el mismo periodo. El periodo de 56 días es equivalente al periodo de "Efecto de Tratamiento". Los animales tuvieron un periodo de lactancia medio de 4 semanas cuando empezaron a recibir los dos tratamientos. Los 20 animales pastaron en pastos tropicales y se les suministró un complemento alimenticio que era un concentrado equilibrado proporcionado en los comederos (4 kg por cabeza por día). Este concentrado se equilibró especialmente con diversas fuentes de proteína (harina de soja, harinillas de trigo, harina de pescado) para ofrecer una proporción menor de proteína /energía metabolizable que la que normalmente se requiere en los diversos sistemas de formulación. En este caso específico, para calcular la proporción se usó el sistema CNCPS (Versión 3.0 y/o 4.0) de la Universidad de Cornell, pero otros sistemas, tales como, CSIRO y AFRC presentan resultados similares. Hubo un plan específico para un aumento del 10 al 20% en proteína metabolizable en comparación con los requisitos para garantizar que puedan lograrse los efectos de la mezcla de ácidos grasos.

55 Para evaluar los efectos residuales de la dieta, estos mismos animales se evaluaron durante 28 días más, después de haber retirado el complemento. Durante este periodo todos los animales recibieron las mismas condiciones de administración recibidas durante el periodo de tratamiento con ALC, salvo que el complemento alimenticio especialmente formulado se sustituyó por un concentrado comercial convencional.

## ES 2 396 052 T3

En la Tabla 1.1 pueden observarse los resultados de los niveles de proteínas:

TABLA 1.1 – porcentaje de proteínas de la leche en animales que reciben ALC en comparación con la dieta control durante 56 días y otros efectos residuales

Periodos		
	Efecto durante el periodo de complementación	Efecto residual
Número de días	56	28
ALC	3,08 %	3,02%
CONTROL	2,78%	2,82%

5 El análisis de los datos en la Tabla 1.1 muestra claramente que incluyendo el ALC en una dieta compuesta por hierba y un concentrado equilibrado, como se ha descrito anteriormente, se produce un aumento del 10,79% en el nivel de las proteínas de la leche. Los niveles promedio del periodo de “Efecto Residual” durante el cual los animales no recibieron el ALC durante 28 días aún eran 7,09 % más alto que los del grupo de animales de control.

10 En la Figura 1 adjunta, la alteración en el tiempo muestra los niveles de proteína con ALC (---) y en el Grupo control (MEGALAC; -□-) de la semana 4 a la 11 (Efecto de la Dieta) y las 12 a 15 semanas (Efecto Residual). Resulta evidente que el ALC mantiene niveles más altos de proteína durante el periodo de complementación. La Figura también muestra que el nivel de proteína cae bruscamente en la semana 13, cuando los animales ya no reciben la mezcla de ácidos grasos durante una semana. Incluso, hubo un efecto residual constante equivalente a aproximadamente la mitad del efecto del periodo de tratamiento durante todo el periodo de “Efecto Residual”.

15 Este mismo estudio evaluó la producción de proteínas en los animales. La producción de proteínas es el resultado de multiplicar el número de kilos de leche producida por el nivel de proteínas en la leche, el único medio para que la producción de proteínas no aumente sería una disminución equivalente en la producción de la leche en comparación con el aumento en la producción de proteínas. La FIGURA 2, adjunta, compara la producción de leche de la dieta con ALC (-□-) y la dieta control (MEGALAC; -△-) en el tiempo y las curvas de lactancia muestran que lo opuesto es cierto.

20 En la Tabla 1.2 puede observarse la producción media de leche durante el período previo al ensayo, durante el período cuando se suministraron las dos dietas y durante la fase de efecto residual para las dietas con ALC y de control

TABLA 1.2 - Kilos de leche producidos por animal que recibe dieta con ACL “frente” a dieta de Control.

Producción media de leche (kg)			
	Pre-tratamiento	Efecto del tratamiento	Efecto residual
ALC	16,9	16,6	13,0
CONTROL	17,0	15,8	12,0

25 El resultado de la producción media de proteínas en la leche para los periodos “Efecto del Tratamiento” y “Efecto Residual” puede observarse en la TABLA 1.3:

TABLA 1.3 – Kilos diarios de proteínas en la leche producidos por animales que reciben dieta con ALC “frente” a dieta de Control durante 56 días y el efecto residual durante los 28 días siguientes.

Periodos		
	Efecto del Tratamiento	Efecto Residual
Número de días	56	28
ALC	511 g	392 g
CONTROL	439 g	338 g

La producción de proteínas aumentó 16,4% durante la complementación con ALC y permaneció al 15,9% durante el periodo de “Efecto Residual”.

5 En la FIGURA 2 puede observarse que la complementación con ALC mejoró la persistencia de las vacas. La regresión lineal de cada curva después del pico permite calcular que la reducción en cuanto a la producción de leche semanal es de 0,601 kg para los animales CONTROL en comparación con 0,549 kg para los animales alimentados con ALC. Estos valores permiten calcular la persistencia de los grupos como 13% para los animales alimentados con ACL y 15% para los animales CONTROL.

**Ejemplo 2**

10 Para determinar el nivel de nitrógeno ureico en leche (MUN, *milk urea nitrogen*), se extrajeron muestras de leche semanales de los animales del EJEMPLO 1. Como control se usó un análisis de las muestras usando cada semana una curva patrón específica y una muestra de control. La muestra de control permitió realizar comparaciones de análisis de pruebas diferentes. El factor de corrección era igual al valor de la muestra de control obtenido en cada prueba dividido entre el promedio de la media de todos los resultados de la muestra de control.

15 Los análisis MUN permiten evaluar si cualquier aumento de proteína obtenido en el EJEMPLO 1 se produce como consecuencia de un mayor nivel de urea en plasma que pasa a la leche y no de una mayor síntesis de proteínas en la glándula mamaria. Los niveles promedio para las diferentes dietas durante el periodo de complementación pueden observarse en la TABLA 2.1

TABLA 2.1 – Contenido de nitrógeno ureico en leche en la leche de animales alimentados con complemento “frente” a los animales control durante 56 días y durante el periodo residual.

MUN (mg/100 ml)		
	Efecto del Tratamiento	Efecto Residual
ALC	19,31	17,91
CONTROL	19,71	18,50

20 Como puede observarse los valores MUN son prácticamente idénticos en ambas dietas, por lo tanto los niveles más altos de proteínas de los animales que reciben ALC no se deben a un aumento de urea en la leche.

**Ejemplo 3**

El EJEMPLO 3 muestra el equilibrio de energía mejorado que permite una mejor función reproductora. Los datos pueden observarse en la TABLA 3.1

25 TABLA 3.1 – Datos de animales reproductores alimentados con complemento con dieta de ALC “frente” a dieta Control durante 56 días hasta el mes de Septiembre del 2000.

	Vacas al menos con un Ciclo de 1 Estro	Vacas con preñez confirmada	Periodo de Servicio de Vacas Preñadas (días)
ALC	100,00 %	60,00 %	100
CONTROL	73,33 %	46,67 %	151

**Conclusión**

30 En el EJEMPLO 1, el método implica la complementación de 150 g/día de sales de calcio de ácidos grasos (mezcla del 60% de distintos ácidos linoleicos con isómeros trans) desde la semana 4 a la 11, a animales híbridos en lactancia que se alimentan de pastos, estando el resto de la dieta compuesta por un concentrado equilibrado que incluía la mencionada dosis de ALC. El contenido de proteína producida por los animales que recibieron la mezcla de ácidos grasos (ALC) fue un 10,79% mayor que el del grupo de control. También se analizaron los efectos de la retirada del complemento después de 56 días y el efecto residual durante 28 días. El aumento en cuanto a la producción de proteínas fue del 16,4% durante la complementación con ALC y esto se mantuvo hasta el 15% durante el periodo de “Efecto Residual”.

35 En el EJEMPLO 2, que usó las mismas unidades experimentales que las del EJEMPLO 1, se demuestra que el nivel de aumento de la proteína no se produce exclusivamente por la inclusión de más urea en la leche, ya que los niveles

de nitrógeno ureico en ambas dietas son prácticamente idénticos.

En el EJEMPLO 3, que también usó los datos de las mismas unidades experimentales que las del EJEMPLO 1, se demuestran los efectos del ALC mejorando la función reproductora de los animales.



**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Procedimiento de tratamiento no terapéutico de mamíferos para mejorar la función reproductora **caracterizado por** alimentar o administrar a los mamíferos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en ácido linoleico conjugado (ALC), asociado o no con uno o más aceites vegetales o grasa animal, incluyendo posibles combinaciones con uno o más alimentos y/o complementos alimenticios con diferentes proporciones de proteína : energía metabolizable y opcionalmente agentes aromatizantes, aditivos colorantes, vitaminas, minerales, acondicionadores, estabilizantes y otros aditivos conocidos por el experto en la materia.
- 10 2. Procedimiento de tratamiento no terapéutico de mamíferos para mejorar la función reproductora de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** permite el uso de harina de pescado, harina de soja, harina de semillas de algodón, harina de carne, harina de plumas, harina de sangre, harinilla de trigo, cascarilla de soja, levadura, grano de maíz, pulpa de cítricos, grano de sorgo, etc. o mezclas de los mismos.
- 15 3. Procedimiento de tratamiento no terapéutico de mamíferos para mejorar la función reproductora de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** dicho ácido linoleico conjugado comprende diversas combinaciones de isómeros posicionales o geométricos (cis y/o trans), en diferentes posiciones de carbono.
- 20 4. Procedimiento de tratamiento no terapéutico de mamíferos para mejorar la función reproductora de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** dicho ácido linoleico conjugado se utiliza como sales de calcio.
- 5 5. Procedimiento de tratamiento no terapéutico de mamíferos para mejorar la función reproductora de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 3, **caracterizado por que** dicho ácido linoleico es C18:2 cis 9, trans 11; C 18:2 trans 10, cis 12 y C 18:2 cis8, trans 10 a diferentes concentraciones así como un solo ácido graso específico como C 18:2 trans 10, cis 12 y C 18:2 cis8, trans 10.
- 25 6. Procedimiento de tratamiento no terapéutico de mamíferos para mejorar la función reproductora de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por** la utilización de aproximadamente del 0,5% al 90% en masa de dicho ácido linoleico conjugado con respecto a la masa total de la mezcla de lípidos añadida a la proporción o a la dieta.
7. Procedimiento de tratamiento no terapéutico de mamíferos para mejorar la función reproductora de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** permite que los mamíferos absorban de 1 a 95 gramos de dicho ácido linoleico conjugado.
8. El uso de ácido linoleico conjugado (ALC) en la alimentación de mamíferos para mejorar la función reproductora.

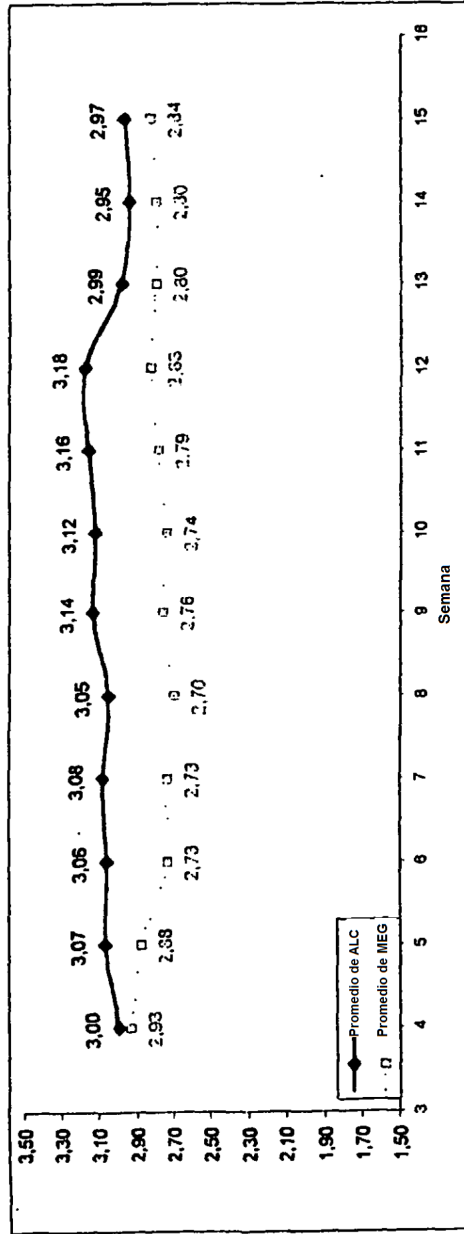


FIGURA 1 - Niveles de proteína con dieta ALC (—●—) y dieta control (MEGALAC; - - -) desde las semanas 4 a 11 (efecto de la dieta) y semanas 12 a 15 (efecto residual)

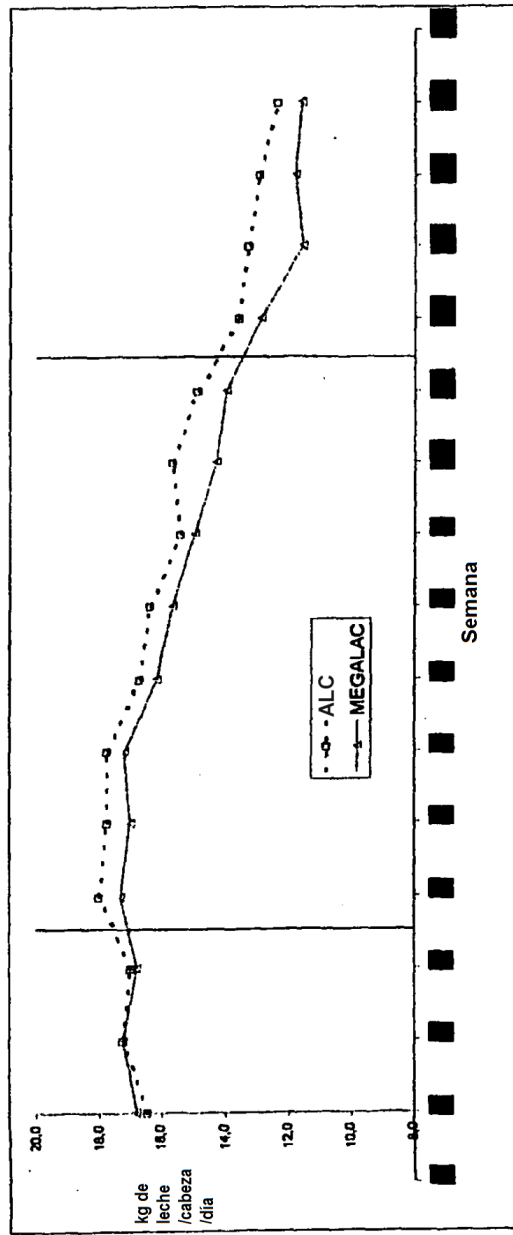


FIGURA 2- Proporción de leche de dietas con ALC (---) y de control (MEGALAC; -Δ-)