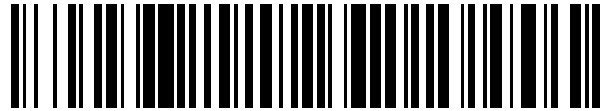


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 579**

51 Int. Cl.:

**A23K 1/00** (2006.01)

**A23K 1/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2006 E 06352007 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2013 EP 1702517**

54 Título: **Método para la preparación de granos de kéfir y la aplicación a un aparato para la preparación de sopas para animales de ganado**

30 Prioridad:

**16.03.2005 FR 0502595**

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

**24.10.2013**

73 Titular/es:

**SARL CARIBOU.T.G. (100.0%)  
1265, chemin du Stade, Au Duc  
82440 Realville, FR**

72 Inventor/es:

**DESHAYES, CHRISTIAN;  
RENARD, THIERRY;  
ROLLAN, SERGE;  
GENIBRE, ROBERT y  
RAUST, YVES**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO FACES, José**

**ES 2 426 579 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

Método para la preparación de granos de kéfir y la aplicación a un aparato para la preparación de sopas para animales de ganado.

5 **[0001]** La presente invención se refiere al tratamiento de las instalaciones y los equipamientos utilizados en la preparación y/o distribución de alimentos líquidos destinados a animales de granja, particularmente para controlar la higiene y la salubridad de estas instalaciones y/o para mejorar las propiedades nutricionales de los alimentos distribuidos a estos animales.

10 **[0002]** Ya se conoce:

15 - de la Patente JP 2003 310154 un procedimiento para la preparación de leche de soja fermentada en la que la leche de soja se mezcla con un fermento formado a partir de leche de soja previamente incubada con gránulos de kéfir.

- de la Patente JP 6.2205.735 un procedimiento de preparación de un alimento cuajado a partir de leche de vaca, leche de soja y gránulos de kéfir;

- de la Patente RU 2 108 723 un procedimiento de acidificación de leche con una composición que contiene hongos de kéfir y lactobacterias;

20 - de la Patente RU 2 132 136 un procedimiento de fermentación con una mezcla de leche de vaca y leche de soja con una mezcla acidificante que contiene *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y gránulos de kéfir;

25 - de la Patente JP 2004 149442 un procedimiento de fabricación de una preparación cosmética con un efecto antioxidante contra el oxígeno activo y un efecto inhibitorio sobre la producción de melanina donde los gránulos de kéfir se colocan en un medio de cultivo que contiene té verde.

**[0003]** Se conoce también a partir de la Patente US 6 199 512 un dispositivo para la distribución de un suplemento alimenticio para animales domésticos.

30 **[0004]** En este documento, se entiende por:

- desarrollo de gránulos de kéfir: el crecimiento metabólico de levaduras y bacterias que forman los gránulos de kéfir, al igual que la síntesis y la remodelación de la matriz polisacárida con gránulos de kéfir;

35 - medio mínimo (es decir; específico para el cultivo de gránulos de kéfir): una composición nutritiva que comprende al menos todos los nutrientes básicos, indispensables y suficientes para el mantenimiento en vida de las bacterias y las levaduras de los gránulos de kéfir y para permitir el desarrollo de los gránulos de kéfir; se describen en la literatura los elementos nutritivos básicos de dicho medio de cultivo (al menos un azúcar metabolizable por la microflora de los gránulos de kéfir, de sales minerales, de aminoácidos esenciales...) y de numerosos productos lácteos (como por ejemplo la leche entera, la leche semidesnatada, el suero de leche de vaca o los lactosueros) conocidos por contener tales nutrientes en cantidades y proporciones adecuadas, y por lo tanto se pueden utilizar para permitir el desarrollo de los gránulos de kéfir, tales composiciones nutritivas (ya sea medio mínimo o composiciones más complejas) en el sentido de la presente invención, dichos medios nutritivos son adecuados para permitir el desarrollo de los gránulos de kéfir.

45 **[0005]** Igualmente, en el documento, con el fin de simplificar la comprensión de la invención, se expresan haciendo referencia a la materia seca, el peso y la proporción ponderal de los constituyentes de todas las composiciones.

50 **[0006]** En el ámbito de la ganadería, especialmente en el sector porcino, el alimento distribuido a los animales se presenta a menudo en forma líquida que los animales puedan engullir con más facilidad y más rapidez que si se tratara de alimentos sólidos o harinas secas. A este tipo de alimento, por lo general, se le denomina "sopa" y se compone principalmente de agua y de varios productos alimenticios baratos o de coproductos o subproductos de la industria agroalimentaria.

55 **[0007]** El medio líquido que constituye estas sopas es naturalmente propicio para el rápido desarrollo de la flora microbiana ya que la temperatura de este medio oscila entre 20 °C y 40 °C. Asimismo, las fuentes de contaminación son numerosas y pueden provenir tanto del entorno exterior como del entorno interior de la misma instalación (calidad del agua, calidad de las materias primas, calidad del medioambiente...).

60 **[0008]** Si se tiene en cuenta el tamaño de las instalaciones, la accesibilidad limitada de algunas de sus partes y el tiempo necesario para desinfectar minuciosamente estas instalaciones, no puede ser compatible con las múltiples ingestas alimentarias cotidianas de los animales. Además, la desinfección se realiza, en el mejor de los casos, una o dos veces al mes. Debido a esta periodicidad, el estado de limpieza de estas instalaciones, mantenidas simplemente por desinfecciones periódicas, es muy efímero respecto a la rápida proliferación de la microflora en este tipo de entorno.

- 5 **[0009]** Para paliar la imposibilidad de llevar a cabo la desinfección de las instalaciones minuciosamente y con una frecuencia adecuada para reducir drásticamente la concentración de microflora y para mantener la salubridad de las instalaciones a un nivel aceptable entre dos desinfecciones, se propuso sembrar sopas de probióticos y cepas muy específicas de bacterias o levaduras.
- 10 **[0010]** La inhibición de la microflora no deseable por los probióticos puede suceder por diferentes vías de acción; la producción de ácidos orgánicos (tales como el ácido láctico y/o el ácido acético) que disminuye el pH y frena la proliferación de microorganismos como los coliformes y las salmonellas, la producción de peróxido de hidrógeno que puede bloquear específicamente el desarrollo de agentes patógenos de origen bacteriano, fúngico o viral. Asimismo, la adición de probióticos a las sopas permite mejorar la flora intestinal de los animales que las ingieren y refuerza también la protección intestinal respecto a la flora patógena.
- 15 **[0011]** Sin embargo, el uso de probióticos implica costes y obligaciones de explotación y de mantenimiento adicionales, así como conocimientos técnicos que a menudo se encuentran fuera del alcance de un ganadero común.
- 20 **[0012]** Efectivamente, cada probiótico tiene un espectro de acción específico, la combinación de varios probióticos es generalmente indispensable para obtener una acción efectiva. Sin embargo, es frecuente constatar una cierta competitividad entre probióticos, de manera que algunas combinaciones deben evitarse. La elección de los probióticos utilizados requiere, por parte del ganadero, identificar los diferentes agentes patógenos que infectan las instalaciones, y requiere un importante nivel de conocimiento sobre las propiedades y el metabolismo de cada uno de los probióticos.
- 25 **[0013]** Por último, para que un probiótico posea una actividad óptima, el ganadero debe mantenerlo en las condiciones adecuadas, especialmente la temperatura, el pH y el nivel de oxígeno del medio. Sin embargo, esta tarea es aún más delicada y tediosa que las instalaciones de preparación y distribución de sopas que son sistemas abiertos, influidos significativamente por el entorno externo.
- 30 **[0014]** La presente invención tiene como objetivo proporcionar nuevos agentes antimicrobianos evitando los inconvenientes anteriormente mencionados por los probióticos. Asimismo, la invención proporciona un procedimiento de instalaciones de preparación y distribución de sopas para la mejora de la higiene y el nivel de salubridad.
- 35 **[0015]** Por lo tanto, un objetivo principal de la presente invención es proporcionar nuevos agentes antimicrobianos particularmente adaptados a este tipo de instalaciones y cuya utilización para tal fin no genera ninguna obligación particular para el ganadero y sólo requiere un mínimo conocimiento técnico por su parte. Además, la invención tiene como objetivo proporcionar tales agentes antimicrobianos, cuyo uso debe ser compatible con los conocimientos, y limitaciones presupuestarias y de tiempo de un ganadero común, y que no genere a los animales ninguna molestia de orden gustativo.
- 40 **[0016]** Otro objetivo principal de la presente invención es proporcionar un procedimiento que permite la preparación de tales agentes antimicrobianos de forma simple y económica.
- 45 **[0017]** Por lo tanto, la invención se refiere principalmente a un procedimiento que permite la preparación de nuevos agentes antibacterianos capaces de actuar sobre las instalaciones de preparación y/o de distribución de sopas destinadas a la alimentación de animales de granja.
- 50 **[0018]** En particular, la presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de gránulos de kéfir según la reivindicación 1.
- 55 **[0019]** De este modo, un procedimiento según la invención permite orientar la actividad metabólica de la microflora de los gránulos de kéfir a la utilización de nuevas fuentes de energía que contienen el (los) sustrato (s) del medio adaptador y el (los) alimento (s) no lácteo (s) del medio meta (correspondiente al medio adaptador), en lugar de la lactosa disponible normalmente en las composiciones lácteas. Tras el procedimiento de preparación, los gránulos de kéfir también adaptados se pueden mantener de manera sostenible durante un período relativamente largo de tiempo, varios meses, en el interior del medio meta (correspondiente al medio adaptador) donde pueden manifestar sus actividades antimicrobianas y/o nutricionales.
- 60 **[0020]** Se puede encontrar en una instalación de preparación y de distribución de sopas un medio meta en el sentido en el que la invención designa en particular cualquier alimento líquido nutritivo. En particular, se trata de composiciones acuosas en las cuales se encuentran, en suspensión, uno o varios alimentos, o productos nutricionales, base de la alimentación de los animales de granja. Estos productos nutricionales, designados por el término "alimentos" por lo general consisten en productos alimenticios de bajo precio y/o de coproductos y/o de subproductos de la industria agroalimentaria y son de naturaleza muy diversa: gránulos y/o raspas (posiblemente tortas) de cereales, de plantas oleaginosas (soja, maíz, trigo, girasol, colza, cebada...) o de plantas proteaginosas (altramuces, guisantes...), de una leguminosa (remolacha, patata, zanahoria, col...), ya sea de una parte o en su
- 65

totalidad, un frutal (manzana, melocotón, albaricoque, piña, ciruela, kiwi, melón...), un excedente de helados, panadería, pastelería...

5 **[0021]** La parte acuosa de un medio meta en el sentido de la invención se puede constituir de agua y/o de un efluente de una fábrica de cerveza (coproductos de levaduras...) o de vinificación.

10 **[0022]** En este contexto, un medio meta en el sentido de la invención, puede designar la sopa que *in fine* se distribuye a los animales, como una simple preparación líquida intermedia o incluso un alimento líquido que se encuentra en los tanques de recepción de sopa, utilizados normalmente en este tipo de instalación para devolver los restos de sopa y vaciar así la máquina de sopa. Cualquiera que sea su composición química exacta, dicho alimento líquido nutritivo forma un medio particularmente propicio para la proliferación de la microflora patógena.

15 **[0023]** Según la presente invención, se dice que dos alimentos poseen una digestibilidad enzimática similar cuando sus componentes principales (glucídicos y/o lipídicos y/o proteicos) tienen la misma naturaleza. Por lo tanto, para un sistema enzimático determinado, su degradación se produce según un mismo mecanismo de lisis. Al contacto con los gránulos de kéfir su presencia permite la estimulación de las mismas actividades enzimáticas.

20 **[0024]** Por ejemplo, dos plantas de la misma especie pero de variedades diferentes se consideran también como alimentos de digestibilidad enzimática similar, ya que son capaces de estimular un mismo sistema enzimático para su digestión. La digestibilidad enzimática de dos variedades de una misma especie vegetal, son generalmente muy similares, incluso idénticas.

25 **[0025]** Cuando dicho (s) alimento (s) no lácteo (s) constitutivo(s) del medio meta consiste (n) en una (s) planta (s) o una (s) parte (s) de planta (s) de cereal, de un frutal, de una leguminosa... de variedad (es) particular (es), no es necesario elegir para la preparación de un medio adaptador según la invención, un (os) sustrato (s) de la misma variedad que aquella del alimento (s) no lácteo (s), se puede (n) utilizar un (os) sustrato (s) de variedad (es) semejante (s). Sin embargo, los mejores resultados se pueden esperar utilizando un (os) sustrato (s) de la (s) misma (s) variedad (es) que la del (los) alimento (s) de origen vegetal, del medio meta.

30 **[0026]** Del mismo modo, la mayoría de los productos de panadería y pastelería, esencialmente compuestos de almidón y eventualmente de una cantidad significativa de sacarosa, se consideran en el sentido de la invención como alimentos de digestibilidad enzimática similar.

35 **[0027]** Cuando dicho alimento no lácteo constitutivo del medio meta consiste en un producto o coproducto de composición más compleja, procedente por ejemplo de la industria agroalimentaria, se puede utilizar, como sustrato, el mismo producto o coproducto según la invención, o un producto similar que tenga los mismos componentes glucídicos y/o lipídicos y/o proteicos principales.

40 **[0028]** La invención proporciona también un procedimiento que permite conferir a los gránulos de kéfir propiedades particulares que le permiten, cuando se colocan en el interior de un alimento líquido nutritivo, reducir la concentración de la flora microbiana potencialmente patógena y controlar la proliferación.

45 **[0029]** Los gránulos de kéfir colocados directamente en el interior de tal alimento líquido nutritivo, sin ser previamente sometido a un tratamiento según la invención, se desintegran (o se licuan) muy rápido.

**[0030]** En cambio, los gránulos de kéfir tratados según la invención, es decir; con un medio adaptador adecuado cuya composición depende en gran parte de la naturaleza del (los) alimento (s) de la composición líquida (medio meta) en el que se colocarán después, han dado lugar en particular a las siguientes conclusiones:

- 50
- 1) estos gránulos de kéfir pueden mantenerse en el medio meta, sin deterioro estructural y funcional, durante un período de al menos dos meses,
  - 2) estos gránulos de kéfir, en el medio meta, segregan grandes cantidades de ácidos (especialmente ácido láctico y ácido acético, conocidos por sus amplios espectros bacteriostáticos) y permiten mantener el medio a niveles de pH para los que se encuentra una importante concentración de ácidos en forma no disociada,
  - 55 3) un procedimiento de tratamiento de gránulos de kéfir según la invención, no permite únicamente a los gránulos de kéfir mantenerse en el interior de las sopas o de otros alimentos líquidos encontrados en una instalación de preparación y distribución de sopas, permite igualmente una inducción de la expresión de numerosas enzimas que intervienen en la digestión de los alimentos distribuidos a los animales y en la mejora de la calidad nutricional,
  - 60 4) estos gránulos de kéfir se utilizan ventajosamente para preparar nuevas composiciones de aditivos zootécnicos que, añadidos a los alimentos líquidos encontrados en las instalaciones de preparación y/o de distribución de sopas, no muestran ningún efecto indeseable para los animales y muestra una cierta eficacia contra el desarrollo de la microflora patógena.
- 65

- 5 **[0031]** Asimismo, los resultados de las pruebas realizadas sobre el terreno (en diferentes explotaciones agrícolas) han demostrado que los gránulos de kéfir preparados según un procedimiento según la invención, una vez colocados en diferentes composiciones líquidas de las instalaciones de preparación y de distribución de sopas- especialmente los alimentos líquidos nutritivos de las máquinas de sopas, depósito tampón y tanque de recepción de sopa- pueden inducir los siguientes efectos:
- 10 una modificación de equilibrio microbiano en estas instalaciones, gracias a una presión de selección que se realiza a expensas de la microflora potencialmente patógena, y que se traduce por una bajada sustancial de la morbilidad de los animales, con desaparición de estos casos de canibalismo y por lo tanto, asegurar una ración de sopa,
- 15 una mejora significativa del valor nutricional de las sopas, que se traduce por una mejor ingesta de alimentos y de resultados zootécnicos muy satisfactorios.
- 20 **[0032]** Ventajosamente y según la invención, el (los) sustrato (s) del medio adaptador posee (n) una (s) composición (es) química (s) idéntica (s), en términos de materia seca, en alimento (s) no lácteo (s) del medio meta. En otros términos, para preparar dicho medio adaptador, en la forma preferente se utiliza como sustrato(s), el alimento no lácteo o posiblemente varios alimentos no lácteos que sirven de base de la sopa preparada en la instalación considerada.
- 25 **[0033]** Según un procedimiento de realización particular de la invención, ventajosamente, se prepara el medio adaptador con un sustrato único de composición química idéntica a un alimento no lácteo presente en una cantidad preponderante en el medio meta.
- 30 **[0034]** Según otro procedimiento de realización particular de la invención, ventajosamente, se prepara el medio adaptador con varios sustratos de composiciones químicas idénticas a numerosos alimentos no lácteos del medio meta. Según este mismo procedimiento de realización, ventajosamente, en el medio adaptador preparado, dichos sustratos poseen proporciones ponderales relativas del mismo orden de tamaño que las de dichos alimentos no lácteos del medio meta.
- 35 **[0035]** Ventajosamente y según la invención, el medio adaptador contiene uno o varios sustratos, la proporción ponderal del medio nutritivo / sustrato (s) es aproximadamente de 1 : 1, en términos de materia seca.
- 40 **[0036]** Generalmente, las sopas destinadas a los animales se preparan a partir de granos y/o de raspas (normalmente de tortas) de cereales y/o plantas oleaginosas (soja, maíz, trigo, girasol, colza, cebada...) y/o de plantas proteaginosas (altramuces, guisantes...), de las plantas leguminosas (remolacha, patata, zanahoria, col...), ya sea de una parte o en su totalidad, y/o de frutales (manzana, melocotón, albaricoque, piña, ciruela, kiwi, melón...), de excedentes de helados, panadería, pastelería...También, ventajosamente y según la invención, el (los) sustrato (s) de un medio adaptador según la invención, es (son) elegido (s) entre: cereales, una planta oleaginosa, proteaginosa, leguminosa o frutal, ya sea de una parte o en su totalidad, un helado, un producto de panadería o pastelería...En particular, se elige (n) entre: soja, maíz, trigo, colza, cebada, altramuz, guisante, remolacha, patata, zanahoria, col, manzana, melocotón, albaricoque, piña, ciruela, kiwi o melón, ya sea de una parte o en su totalidad.
- 45 **[0037]** Ventajosamente y según la invención, el medio adaptador se prepara simplemente al mezclar alimentos no lácteos que constituyen la sopa destinada a los animales, con un medio nutritivo apto que permite el desarrollo de los gránulos de kéfir. Según este particular método de realización, se prepara el medio adaptador mezclando dicho medio nutritivo, particularmente un medio mínimo, con la cantidad apropiada de una composición seca correspondiente a la composición del medio meta.
- 50 **[0038]** Según la invención, cada sustrato del medio adaptador está en suspensión en el medio nutritivo. Puede tratarse, también, de un alimento presente en forma de fluido distribuido de manera más o menos homogénea en el conjunto de la fase líquida del medio nutritivo. Se puede tratar, también, de un alimento inicialmente sólido que se encuentra *in fine* en su estado de disolución en esta fase líquida, o bien un alimento sólido presente en forma dividida, en partículas más o menos finas (eventualmente harina, sémola...) en suspensión en esta fase líquida (y eventualmente empapado de esta fase líquida).
- 55 **[0039]** Ventajosamente y según la invención, se prepara el medio adaptador con un medio mínimo de composición acuosa compuesto de, al menos, los elementos citados a continuación en las concentraciones indicadas:
- 60 - Aproximadamente 2 g.ℓ<sup>-1</sup> de glucosa.  
 - Aproximadamente 2 g.ℓ<sup>-1</sup> de L-cisteína.  
 - Aproximadamente 25 mg.ℓ<sup>-1</sup> de L-glicina.  
 - Aproximadamente 10 mg.ℓ<sup>-1</sup> de L-triptófano.  
 - Aproximadamente 15 mg.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de magnesio.  
 - Aproximadamente 0,3 g.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de manganeso.  
 - Aproximadamente 0,1 g.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de hierro.
- 65 - Aproximadamente 0,05 g.ℓ<sup>-1</sup> de acetato de sodio.  
 - Aproximadamente 5 g.ℓ<sup>-1</sup> de fosfato bipotásico.

- Aproximadamente 0,5 g.ℓ<sup>-1</sup> de riboflavinas.
- Aproximadamente 1 g.ℓ<sup>-1</sup> de tiamina (dicloruro en particular).

- 5 **[0040]** Cabe destacar que, en la composición citada anteriormente, se enumeran únicamente los elementos estrictamente esenciales y necesarios en la composición de un medio mínimo adecuado que permita el desarrollo de los gránulos de kéfir. En la composición de este medio mínimo en particular, la glucosa puede reemplazarse por cualquier azúcar metabolizada por la microflora de los gránulos de kéfir (en particular, lactosa y sacarosa).
- 10 **[0041]** La noción de medio nutritivo adaptado al desarrollo de los gránulos de kéfir, en el sentido de la presente invención, corresponde a cualquier medio de cultivo de composición química idéntica o análoga al medio mínimo citado anteriormente. Esta noción de medio nutritivo concierne igualmente a cualquier medio de cultivo de composición química más compleja que incluya los componentes de los medios mínimos anteriormente citados; se trata, en particular, de numerosos productos lácteos como, por ejemplo, la leche, el suero de leche de vaca, cualquier lactosuero...
- 15 **[0042]** Según una realización llevada a cabo durante la presente invención, el medio adaptador se prepara, en la forma preferente, a partir de un medio nutritivo compuesto simplemente de una leche semidesnatada, en particular una leche semidesnatada UHT. Igualmente, y ventajosamente, se puede utilizar un lactosuero dulce, eventualmente un lactosuero dulce en polvo mezclado con agua.
- 20 **[0043]** Ventajosamente y según la invención, el medio activador presenta una proporción peso / volumen de materia seca de, aproximadamente, el 10 %.
- 25 **[0044]** Ventajosamente y según la invención, el medio nutritivo se esteriliza antes de la adición del (de los) sustrato (s). De la misma manera, antes de la etapa de incubación de los gránulos de kéfir, el medio adaptador se pasteuriza, particularmente a 80 °C durante 5 minutos.
- 30 **[0045]** Ventajosamente y según la invención, se realiza la etapa de adaptación a una temperatura comprendida entre 15 °C y 40 °C, particularmente a 25 °C.
- 35 **[0046]** Ventajosamente y según la invención, la duración de la etapa de adaptación es de, aproximadamente, 3 días.
- 40 **[0047]** Para llevar a cabo un procedimiento de tratamiento de gránulos de kéfir según la invención, de manera particularmente simple, ventajosamente, se manipulan los gránulos de kéfir a través de, al menos, un receptáculo adecuado para contener los gránulos de kéfir en su interior y permitir un intercambio de materias entre dichos gránulos de kéfir y un medio exterior de dicho receptáculo. Según este modo de realización particular de la invención, se realiza la adaptación de los gránulos de kéfir sumergiendo dicho (s) receptáculo (s) con los gránulos de kéfir en su interior en dicho medio adaptador. Una vez realizada la adaptación de los gránulos de kéfir, se retira el (los) receptáculo (s) del medio adaptador, recuperando así la totalidad de los gránulos de kéfir tratados, de manera rápida y simple.
- 45 **[0048]** En particular, se trata de gránulos de kéfir empapados de una composición líquida en el que dicho medio adaptador comprende:
- 1) Un medio nutritivo adaptado al desarrollo de los gránulos de kéfir,
  - 2) Una cantidad de, al menos, un alimento en suspensión y elegido entre: una planta de cereal, oleaginosa, proteaginosa, leguminosa, frutal, un helado, un producto de panadería o de pastelería, ya sea de una parte o en su totalidad.
- 50 **[0049]** Según la invención, dicho medio adaptador presenta una proporción ponderal medio nutritivo / sustrato (s), en términos de materia seca, de, aproximadamente, de 1 : 3 a 3 : 1.
- 55 **[0050]** Ventajosamente y según la invención, el medio adaptador comprende un (unos) sustrato (s) elegido (s) entre: un cereal, una planta oleaginosa, proteaginosa, leguminosa, frutal, un helado, un producto de panadería o de pastelería, ya sea de una parte o en su totalidad y, en particular, elegido entre soja, maíz, trigo, colza, cebada, altramuz, guisante, remolacha, patata, zanahoria, cola, manzana, melocotón, albaricoque, piña, ciruela, kiwi o melón, ya sea de una parte o en su totalidad.
- 60 **[0051]** Ventajosamente, los gránulos de kéfir se empapan de un medio adaptador que contiene una proporción ponderal medio nutritivo / sustrato (s) de, aproximadamente, 1:1 en términos de materia seca.
- 65 **[0052]** Ventajosamente y según la invención, el medio nutritivo del medio adaptador es un medio mínimo, comprendiendo, particularmente, al menos los elementos citados a continuación en concentración líquida:
- Aproximadamente 2 g.ℓ<sup>-1</sup> de glucosa.
  - Aproximadamente 2 g.ℓ<sup>-1</sup> de L-cisteína.
  - Aproximadamente 25 mg.ℓ<sup>-1</sup> de L-glicina.

- Aproximadamente 10 mg.ℓ<sup>-1</sup> de L-triptófano.
  - Aproximadamente 15 mg.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de magnesio.
  - Aproximadamente 0,3 g.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de manganeso.
  - Aproximadamente 0,1 g.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de hierro.
  - 5 - Aproximadamente 0,05 g.ℓ<sup>-1</sup> de acetato de sodio.
  - Aproximadamente 5 g.ℓ<sup>-1</sup> de fosfato bipotásico.
  - Aproximadamente 0,5 g.ℓ<sup>-1</sup> de riboflavinas.
  - Aproximadamente 1 g.ℓ<sup>-1</sup> de tiamina (dicloruro en particular).
- 10 **[0053]** Según una realización particular de la invención, el medio adaptador según la invención, comprende un medio nutritivo elegido entre: una leche semidesnatada (particularmente, una leche semidesnatada UHT) y un lactosuero dulce.
- 15 **[0054]** Ventajosamente, los gránulos de kéfir se condicionan en el interior de un receptáculo adecuado para contenerlos en su interior y permitir un intercambio de materia entre dichos gránulos de kéfir y un medio exterior de dicho receptáculo. Ventajosamente y según la invención, dicho receptáculo presenta un recinto delimitado por una pared rígida que presenta numerosos orificios pasantes.
- 20 **[0055]** Según otra realización, dicho receptáculo presenta un recinto delimitado por una pared rígida de estructura enrejada.
- 25 **[0056]** La invención abarca igualmente la utilización de gránulos de kéfir, como los preparados anteriormente, para la realización de un procedimiento de tratamiento de una instalación de preparación y / o distribución de sopas destinadas a la alimentación de animales de granja; dicho procedimiento de tratamiento puede tener como objetivo:
- La mejora de la higiene y la salubridad de dicha instalación o de algunos de sus equipamientos, y / o
  - La prevención y / o erradicación de la contaminación por microorganismos indeseables en las sopas y en los otros alimentos líquidos que se pueden encontrar en la explotación de granjas, y / o
  - La mejora de la calidad nutricional de las sopas.
- 30 **[0057]** A este efecto, en un procedimiento de tratamiento de una instalación de preparación y / o de distribución de sopas destinada a la alimentación de animales de granja, se mantienen en contacto un alimento líquido compuesto de, al menos, un alimento no lácteo presente en el interior de dicha instalación y los gránulos de kéfir anteriormente adaptados por incubación en un medio adaptador de composición química particular, elaborada según la composición química de los alimentos no lácteos de dicha composición líquida.
- 35 **[0058]** Ventajosamente y según la invención, se mantienen en contacto dicho alimento líquido y una cantidad de gránulos de kéfir correspondiente a, al menos, unos 10<sup>6</sup> ufc (unidades formadoras de colonia) por gramo de materia seca de dicho alimento líquido.
- 40 **[0059]** Procediendo de la manera indicada, los inventores observaron que, en un período de 90 días sin ninguna modificación de las composiciones líquidas presentes en las instalaciones de preparación y distribución de sopas, se producía una neutralización progresiva y significativa de la microflora presente inicialmente en estas instalaciones, y, en particular, una neutralización progresiva y significativa de los coliformes y los mohos, alcanzando un nivel microbiano estable con la emergencia de una flora de gránulos de kéfir dominante en estas instalaciones.
- 45 **[0060]** Igualmente, tras, aproximadamente, 250 días de tratamiento de las instalaciones, se pudieron llevar a cabo las primeras constataciones de la mejora en los animales: un desarrollo más rápido y un descenso de la morbilidad.
- 50 **[0061]** Ventajosamente y según la invención, para manipular más cómodamente los gránulos de kéfir, se utiliza, al menos, un receptáculo adecuado para mantener dichos gránulos de kéfir en su interior y permitir el intercambio entre dichos gránulos de kéfir y un medio exterior de dicho receptáculo. Según el procedimiento de realización de la invención, la puesta en contacto de los gránulos de kéfir con dicho alimento líquido se realiza sumergiendo este (estos) receptáculo (s) en dicho alimento líquido, que se agita adecuadamente para estimular un flujo constante de materia a través del (de los) receptáculo (s) sumergido (s).
- 55 **[0062]** Según este procedimiento particular de realización de la invención, ventajosamente, el (los) receptáculo (s) que contiene los gránulos de kéfir tras, aproximadamente, dos meses, se reemplaza por un (unos) receptáculo (s) con gránulos de kéfir recientemente adaptados.
- 60 **[0063]** Ventajosamente y según la invención, se recupera (n) el (los) receptáculo (s) para someter a los gránulos de kéfir a una nueva fase de adaptación. Un vez efectuada dicha readaptación, estos gránulos de kéfir pueden reutilizarse para realizar un nuevo procedimiento de tratamiento de una instalación de preparación y/o de distribución de sopas destinadas a animales de granja.
- 65 **[0064]** Ventajosamente y según la invención, se coloca al menos un receptáculo que contenga los gránulos de kéfir en su interior en el alimento líquido de, al menos, una parte de dicha instalación de preparación y de

distribución de sopas destinadas a alimentación de animales de granja elegida entre: una máquina de sopa, un depósito tampón y un tanque de recepción de sopa.

5 [0065] Además de la ventaja de permitir la siembra de una microflora saludable para los animales y la higiene de las instalaciones de preparación y distribución de sopas, los gránulos de kéfir preparados según la invención encuentran, igualmente, una utilidad ineluctable en la preparación de nuevos aditivos zootécnicos con propiedades antibacterianas y antifúngicas potentes. En este caso, los gránulos de kéfir preparados según la invención permiten fermentar ventajosamente infusiones de plantas aromáticas que podrán complementar las sopas destinadas a la alimentación animal.

10 [0066] Ventajosamente y según la invención, las infusiones fermentadas por los gránulos de kéfir se preparan a partir de, al menos, una planta aromática con activos elegidos entre: el timol, el carvacrol, el geraniol, el linalol, el tujanol...(activos anteriormente descritos en la literatura por sus efectos antimicrobianos).

15 [0067] Ventajosamente y según la invención, esta planta aromática se elige entre: el tomillo, el orégano, el clavo, la canela, la ajedrea...En particular, los aditivos que se obtienen por la fermentación de las infusiones de tomillo y orégano mediante los gránulos de kéfir anteriormente activos según la invención, han dado resultados zootécnicos más satisfactorios.

20 [0068] La invención abarca igualmente un procedimiento para preparar gránulos de kéfir para adaptarlos a un medio líquido que comprende, al menos, un alimento no lácteo, la aplicación de estos gránulos de kéfir para el tratamiento de una instalación de preparación y / o distribución de sopas destinadas a la alimentación de animales de granja, caracterizados, en combinación, por parte o la totalidad de las características anterior o posteriormente descritas.

25 [0069] Otros objetivos, característicos y ventajosos de la invención, resultarán evidentes tras la lectura de la descripción de las diferentes maneras de realización de la invención presentadas a continuación, que se refieren a las figuras anexas, en las que:

30 - La Figura 1 es un ejemplo de curva  $E_i = f(MN / S)$ , representativa de la variación de una actividad enzimática particular en función de la proporción ponderal medio nutritivo / sustrato (s) de un medio activador según la invención.

- Las figuras 2 a 7 son representaciones gráficas en histogramas que muestran las activaciones enzimáticas particulares provocadas en los gránulos de kéfir tras un tratamiento de adaptación según la invención.

35 - La Figura 8 es una vista esquemática en perspectiva y despiece de gránulos de kéfir condicionados en el interior de un receptáculo particular, conforme a un modelo particular de realización de la invención.

[0070] EJEMPLO 1: Elección de la proporción ponderal MN / S (medio nutritivo / sustrato) de un medio activador para un medio meta específico.

40 [0071] El presente ejemplo se da a título informativo un procedimiento que permite definir, en función del medio meta de una composición específica, un medio de cultivo que puede servir al medio adaptador según la invención. En particular, se trata de un procedimiento que permite determinar la proporción ponderal medio nutritivo / sustrato (s) apropiada.

45 1/- Componentes de un medio adaptador y etapa de adaptación.

[0072] Cada medio adaptador se prepara mezclando un medio nutritivo, según la invención, con un sustrato de la misma composición química que alimenta al medio meta considerado. Puede tratarse de un alimento de base destinado para distribuirse a los animales en forma de sopa. Puede tratarse igualmente de un alimento de variedad diferente cuando el alimento es una planta (una leguminosa, un frutal, un cereal).

50 [0073] Como medio nutritivo, puede utilizarse, por ejemplo, leche semidesnatada UHT o lactosuero dulce.

[0074] Como medio nutritivo según la invención, puede igualmente utilizarse un medio acuoso mínimo de la siguiente composición:

- 55
- 2 g. $\ell^{-1}$  de glucosa.
  - 2 g. $\ell^{-1}$  de L-cisteína.
  - 25 mg. $\ell^{-1}$  de L-glicina.
  - 10 mg. $\ell^{-1}$  de L-triptófano.

60

  - 15 mg. $\ell^{-1}$  de sulfato de magnesio.
  - 0,3 g. $\ell^{-1}$  de sulfato de manganeso.
  - 0,1 g. $\ell^{-1}$  de sulfato de hierro.
  - 0,05 g. $\ell^{-1}$  de acetato de sodio.
  - 5 g. $\ell^{-1}$  de fosfato bipotásico.

65

  - 0,5 g. $\ell^{-1}$  de riboflavinias.
  - 1 g. $\ell^{-1}$  dicloruro de tiamina.



**[0075]** Cada medio adaptador comprende el 10 % de materia seca y una proporción ponderal determinada MN/S.

5 **[0076]** Antes de la incubación con los gránulos de kéfir, se pasteuriza durante 5 minutos a 80 °C cada medio adaptador. A continuación se inocula cada medio con una cantidad de gránulos de kéfir correspondiente a un inóculo de aproximadamente  $10^6$  ufc por gramo de materia seca. La adaptación se realiza en un horno a 24 °C durante 3 días.

10 2/- Procedimiento y protocolo para determinar la proporción ponderal MN / S apropiada a cada medio adaptador.

**[0077]** El procedimiento consiste en realizar, para cada medio meta, una serie de medios adaptadores con diferentes proporciones ponderales MN / S determinadas.

15 **[0078]** En cada una de las mezclas realizadas, se incuban los gránulos de kéfir para una adaptación, después de la cual se miden diferentes actividades enzimáticas. De este modo, se probaron 19 actividades enzimáticas.

20 **[0079]** Para este fin, se utilizó el sistema api<sup>®</sup>ZYM de la empresa BIOMERIEU (Francia). Las pruebas realizadas han mostrado las enzimas siguientes: (E2 a E20), identificadas según su importancia en el proceso general de metabolismo de alimentos comunes: fosfatasa alcalina (E2), esterasa C 4 (E3), esterasa lipasa C 8 (E4), lipasa C 14 (E5), leucina arilamidasa (E6), cistina arilamidasa (E7), tripsina (E8),  $\alpha$ -quimotripsina (E9), fosfatasa ácida (E10), naftol-AS-BI-fosfohidrolasa (E11),  $\alpha$ -galactosidasa (E12),  $\beta$ -galactosidasa (E13),  $\beta$ -glucurodinasa (E14),  $\alpha$ -glucosidasa (E15),  $\beta$ -glucosidasa (E16), N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa (E18),  $\alpha$ -manosidasa (E19) y  $\alpha$ -fucosidasa (E20).

25 **[0080]** Se ha llevado a cabo la medición de estas actividades siguiendo el protocolo api<sup>®</sup>ZYM.

30 **[0081]** Tras 3 días de adaptación, se recogió 1 ml de cada cultivo y se diluyó en 4 ml de agua destilada. Las placas múltiples de pocillos se preparan según las recomendaciones del fabricante. Tras haber repartido 5 ml de agua destilada en los pocillos, se distribuyen en los pocillos las muestras preparadas anteriormente. Las placas se incuban en un horno a 24 °C durante una noche.

**[0082]** Se añaden a cada pocillo los reactivos ZYM A y ZYM B y se exponen las placas a una luz intensa (por ejemplo una lámpara de 1.000 vatios) antes de la lectura.

35 **[0083]** La lectura se realiza anotando la intensidad de la tinción observada en cada pocillo. La ratio varía de 0 a 5, en incrementos de 0,5.

40 **[0084]** Para cada enzima, se traza la curva de actividad correspondiente  $E_i = f(MN / S)$ , que muestra el nivel de actividad ( $E_i$ ) de esta enzima en función de la proporción ponderal (MN / S) del medio activador. A través de la medición de actividad de esta enzima se determina la proporción ponderal MN / S por la cual la actividad de esta enzima es óptima.

**[0085]** En la Figura 1 se representa un ejemplo de curva  $E_i = f(MN / S)$ .

45 **[0086]** La media ponderal calculada con los resultados obtenidos de las 19 enzimas, da la proporción (MN / S) recomendada para la preparación del medio adaptador respecto al medio meta considerado. Los gránulos de kéfir adaptados previamente a tal medio, cuando se colocan en el medio meta llevan un metabolismo óptimo de alimento de base del alimento líquido nutritivo que forma el medio meta.

50 3/- Resultados.

**[0087]** La tabla siguiente proporciona a título indicativo, las proporciones (MN / S) que los expertos recomiendan utilizar en los medios adaptadores para utilizar específicamente para el tratamiento de instalación de preparación de sopas de soja, maíz, trigo, girasol, patata o manzana.

55 **[0088]** En particular, se trata de medios adaptadores realizados como un medio nutritivo según la invención, un lactosuero. Las proporciones se expresan en términos de peso de materias secas.

Medio adaptador	Proporción MN / S
Lactosuero / soja	47 : 53
Lactosuero / maíz	34 : 66
Lactosuero / trigo	26 : 74
Lactosuero / girasol	47 : 53
Lactosuero / patata	21 : 79
Lactosuero / manzana	61 : 39
<u>Tabla 1</u>	

EJEMPLO 2: Análisis de las actividades enzimáticas estimuladas mediante una adaptación según la invención.

5 **[0089]** Las figuras 2 a 7 muestran histogramas que ilustran las activaciones enzimáticas específicas provocadas por la adaptación de gránulos de kéfir en el medio adaptador según la invención. Sólo se proporcionan los resultados obtenidos con medios adaptadores que tengan proporciones ponderales (MN / S) de aproximadamente 10 de los gránulos de kéfir. Las figuras 2 a 7 se refieren a medios adaptadores preparados a partir de un lactosuero (medio nutriente) y de un sustrato particular, respectivamente, soja, maíz, trigo, patata, girasol y manzana (estos sustratos son designados, respectivamente, de S1 a S6 en las figuras 2 a 7).

15 EJEMPLO 3: Condicionamiento particular de los gránulos de kéfir.

**[0090]** El presente ejemplo ilustra un procedimiento particular que permite manipular de manera simple los gránulos de kéfir para la aplicación de la presente invención. A pesar de que posee numerosas ventajas, este procedimiento muy particular, no limita el alcance de la invención.

20 **[0091]** Para este fin, y como se ilustra en la Figura 8, los gránulos de kéfir 1, que tienen una forma irregular de "cabeza de coliflor" con una consistencia elástica y un color que puede ir del blanco al crema más o menos amarillento, se colocan en el interior de un receptáculo 2. Este receptáculo 2, de forma generalmente esférica, posee una pared rígida de estructura adaptada para retener los gránulos de kéfir permitiendo un intercambio de materias entre el receptáculo y el medio exterior. En particular, se trata esencialmente del flujo de un alimento líquido nutritivo según la invención o bien de un medio adaptador 3 según la invención. Se trata igualmente de una distribución a partir de los gránulos de kéfir de la flora microbiana hacia el medio exterior del receptáculo 2.

25 **[0092]** La estructura de la pared del receptáculo 2 puede consistir en un entramado como se representa en la Figura 8. Un receptáculo según la invención puede consistir igualmente en la unión de dos coladores de tamiz uno frente a otro, unidos por los bordes superiores. La pared del receptáculo constituido presenta de este modo una pluralidad de orificios pasantes.

30 **[0093]** El condicionamiento de los gránulos de kéfir en un receptáculo de este tipo posee numerosas ventajas, especialmente aquella que permite un trasvase de los gránulos de kéfir de un medio de cultivo a otro sin la necesidad de aplicar etapas de purificación.

35 **[0094]** Por otra parte, cuando la invención se aplica al tratamiento de sopas, una cantidad adecuada de gránulos de kéfir se mantiene continuamente en las máquinas de sopa, lo que evita una resiembra regular, incluso diaria.

40 **[0095]** Como se muestra en la Figura 8, el receptáculo 2 puede colocarse simplemente en un contenedor 4 especialmente portátil, como un cubo para fines de acondicionamiento de los gránulos de kéfir para facilitar su transporte. Además del receptáculo, este contenedor puede también contener un medio adaptador 3. Por lo tanto, los gránulos de kéfir pueden ventajosamente trasvasarse directamente a un medio adaptador adecuado hacia el medio meta, con el ganadero.

45 **[0096]** En los ejemplos citados a continuación, los gránulos de kéfir se manipulan a través de un receptáculo 2 para las ventajas anteriormente mencionadas.

50 EJEMPLO 4: Efecto de los gránulos de kéfir adaptados sobre la acidificación del medio y análisis de la naturaleza de la acidez.

**[0097]** Es bien conocido que la acidificación de un medio líquido permite frenar la proliferación de numerosos microorganismos, particularmente microorganismos patógenos como los coliformes o las samonellas.

55 **[0098]** Se sabe, además, que la eficacia de esta inhibición depende, en gran medida, de la naturaleza de los ácidos presentes en el medio. Igualmente, se establece que solo los ácidos orgánicos en su forma no disociada tienen una actividad antibacteriana significativa, aunque se ha demostrado que en dosis muy altas, los ácidos disociados pueden tener, también, cierto efecto.

60 **[0099]** En las tablas 2 a 7 expuestas a continuación, se agrupan los resultados de análisis del efecto de los gránulos de kéfir, anteriormente adaptados según la invención, del pH de diferentes medios meta. Se trata, en particular, de alimentos líquidos de:

- Harina y sémola de trigo mezcladas con agua.
- Harina y sémola de trigo mezcladas con un lactosuero.
- 65 - Harina y sémola de maíz mezcladas con agua.
- Harina y sémola de maíz mezcladas con un lactosuero.

- Torta de soja mezclada con un lactosuero.
- Torta de girasol mezclada con un lactosuero.
- Harina de patata mezclada con agua.
- Harina de patata mezclada con un lactosuero.
- 5 - Restos de almidón de manzana mezclados con agua.
- Compota de manzana mezclada con un lactosuero.

10 **[0100]** Los ácidos acético y láctico, conocidos por su alto poder bacteriostático, han sido, igualmente, dosificados. Las medidas se expresan en cantidad de ácido total (forma no disociada y forma disociada), pero, igualmente, en cantidad de ácido en forma no disociada (n. d.).

15 **[0101]** Los medios activadores utilizados corresponden a mezclas de lactosuero / sustrato (trigo, maíz, soja, girasol, patata o manzana, según la composición del medio meta considerado) en proporción ponderal de, aproximadamente, 50 : 50, en términos de materia seca. La cantidad de gránulos de kéfir utilizada corresponde a 10<sup>6</sup> ufc por gramo de materia seca.

**[0102]** En las tablas 2 a 7, cada transferencia corresponde a un cambio de medio meta (cambio de sopa). Estas dos transferencias tienen lugar cada 7 días. Entre dos transferencias, los gránulos de kéfir utilizados no sufren ningún tratamiento de reactivación, pasan directamente de un alimento líquido a otro.

20 **[0103]** El número de días, expresados en estas tablas 2 a 7, corresponde al número de días de acción de los gránulos de kéfir en el alimento líquido considerado, antes de que se realicen las medidas.

25

Medio meta	Tratamiento	Nº de transferencias	Nº de días de cultivo	pH	Ác. láctico (mmol / l)		Ác. acético (mmol / l)	
					Total	n.d.	Total	n.d.
Trigo	Testigo			6,97	0	0	0	0
	Kéfir	1	7	3,42	81	54	20	18
	Kéfir	2	7	3,41	79	53	18	16
Lactosuero + Trigo	Testigo		0	6,82	10	0	0	0
	Kéfir	1	7	3,47	185	117	28	26
	Kéfir	2	7	3,48	213	134	28	26

30

35

40

45 Tabla 2

50

Medio meta	Tratamiento	Nº de transferencias	Nº de días de cultivo	pH	Ác. láctico (mmol / l)		Ác. acético (mmol / l)	
					Total	n.d.	Total	n.d.
Maíz	Testigo			7,03	0	0	0	0
	Kéfir	1	7	3,89	23	10	20	18
	Kéfir	2	7	3,88	26	12	5	4,1
Lactosuero + Maíz	Testigo		0	6,81	9	0	0	0
	Kéfir	1	7	3,52	187	115	38	35
	Kéfir	2	7	3,53	196	121	42	38

55

60

Tabla 3

Medio meta	Tratamiento	Nº de transferencias	Nº de días de cultivo	pH	Ác. láctico (mmol / l)		Ác. acético (mmol / l)	
					Total	n.d.	Total	n.d.
Lactosuero + Soja	Testigo			6,70	11	0	0	0
	Kéfir	2	7	3,88	264	116	45	38
	Kéfir	3	7	3,90	256	113	17	15

Tabla 4

Medio meta	Tratamiento	Nº de transferencias	Nº de días de cultivo	pH	Ác. láctico (mmol / l)		Ác. acético (mmol / l)	
					Total	n.d.	Total	n.d.
Lactosuero + Girasol	Testigo		0	6,76	8	0	0	0
	Kéfir	1	7	3,83	10	101	23	20

Tabla 5

Medio meta	Tratamiento	Nº de transferencias	Nº de días de cultivo	pH	Ác. láctico (mmol / l)		Ác. acético (mmol / l)	
					Total	n.d.	Total	n.d.
Patata	Testigo			6,84	0	0	0	0
	Kéfir	1	7	4,53	16	4	5	2,9
Lactosuero + Patata	Testigo			6,84	8	0	0	0
	Kéfir	1	7	3,80	128	59	22	19
	Kéfir							

Tabla 6

Medio meta	Tratamiento	Nº de transferencias	Nº de días de cultivo	pH	Ác. láctico (mmol / l)		Ác. acético (mmol / l)	
					Total	n.d.	Total	n.d.
Manzana	Testigo	1	7	4,01	0	0	0	0
	Kéfir			3,80	2	1	59	52
Lactosuero + Manzana	Testigo	1	7	6,22	7	0	0	0
	Kéfir			4,10	57	20	84	65

Tabla 7

EJEMPLO 5: Efectos de los gránulos de kéfir en el desarrollo de la microflora patógena.

**[0104]** Las tablas 8 y 9 expuestas a continuación presentan el efecto constatado de la utilización de gránulos de kéfir activados en la evolución de la microflora microbiana, expresada en ufc / ml. Los gránulos de kéfir activados se colocan en los tanques de recepción de sopa a, aproximadamente,  $10^6$  ufc por gramo de materia seca estimada presente en la composición líquida. Los gránulos de kéfir se reemplazan por granos de kéfir nuevamente adaptados, aproximadamente cada dos meses.

**[0105]** Las medidas han sido realizadas, por un lado, al nivel de los tanques de recepción de sopa en estas dos explotaciones (Tabla 8) y, por otro lado, al nivel de la tubería de distribución de sopa, pero únicamente para la segunda explotación (Tabla 9). Esta tubería presenta una longitud excepcional de, aproximadamente, 800 metros. En la Tabla 9, se expresa igualmente, en ppm, la concentración en hidrógeno sulfurado ( $H_2S$ ) del medio ambiente.

Patógenos (ufc / ml)	Número de días de acción de los gránulos de kéfir activados					
	0	33	91	181	189	257
Explotación 1	Lactobacilos	$3,20 \cdot 10^7$	$2,50 \cdot 10^8$	$1,10 \cdot 10^8$		$2,00 \cdot 10^8$
	Coliformes totales	$6,90 \cdot 10^3$	$3,80 \cdot 10^3$	<100		<100
	Levaduras	$8,00 \cdot 10^5$	$5,00 \cdot 10^5$	$8,00 \cdot 10^5$		$8,50 \cdot 10^5$
Explotación 2	Lactobacilos	$5,80 \cdot 10^5$	$1,10 \cdot 10^6$	$1,30 \cdot 10^6$	$1,14 \cdot 10^7$	$3,00 \cdot 10^7$
	Coliformes totales	$9,10 \cdot 10^2$	$4,80 \cdot 10^3$	$1,80 \cdot 10^2$	$1,00 \cdot 10^2$	<100
	Levaduras	$1,20 \cdot 10^2$	$2,30 \cdot 10^5$	$1,00 \cdot 10^2$	$3,00 \cdot 10^4$	$2,00 \cdot 10^4$

Tabla 8

[0106] Igualmente, los inventores han podido comprobar, en estos tanques de recepción de sopa, un aumento progresivo de la flora de los gránulos de kéfir que sobrepasa los  $10^7$  ufc / ml mientras los coliformes descienden 2 log en 90 días.

5

10

15

	Patógenos (ufc / ml)	Número de días de acción de los gránulos de kéfir activados					
		0	33	91	181	189	257
Explotación 2	H <sub>2</sub> S (ppm)	6	5	2,3	0		0
	Lactobacilos	$2,80 \cdot 10^6$	$5,20 \cdot 10^5$	$7,40 \cdot 10^5$	$8,00 \cdot 10^5$		$8,00 \cdot 10^6$
	Coliformes totales	$2,90 \cdot 10^3$	$1,30 \cdot 10^4$	$7,60 \cdot 10^3$	$3,30 \cdot 10^3$		$1,00 \cdot 10^2$
	Levaduras	$5,50 \cdot 10^2$	$1,80 \cdot 10^3$	$1,20 \cdot 10^3$	$3,00 \cdot 10^4$		$8,00 \cdot 10^4$

Tabla 9

20

[0107] En vista de los datos presentados en la Tabla 9, la desaparición total del hidrógeno sulfurado (H<sub>2</sub>S) del medio ambiente, se manifiesta claramente una acción erradicadora de los gránulos de kéfir activados en la proliferación de la flora microbiana. La presencia de patógenos en la tubería, a concentraciones constantes, puede explicarse por el hecho de que estos vienen de un aporte permanente procedente de las partes situadas más arriba de la instalación.

25

[0108] EJEMPLO 6: Efectos de los gránulos de kéfir en el crecimiento y el desarrollo de animales.

[0109] La Tabla 10 expuesta a continuación presenta resultados zootécnicos comparativos obtenidos en una explotación de ganado porcino (explotación 1), antes y después de la realización de un procedimiento de tratamiento de las instalaciones de preparación y de distribución de sopas según la invención.

30

Tabla 10

35

40

	Antes	Después
Peso medio (en Kg)	115,8	125,0
Media de edad con 105 Kg (en días)	194	176
Fase de engorde ( en días)	183	180
Ganancia media diaria (en gr / por día)	589	658
Nivel muscular (en %)	60	60

45

EJEMPLO 7: Preparación de aditivos zootécnicos por fermentación de infusiones de plantas aromáticas y evaluación de las propiedades antimicrobianas y zootécnicas de estos aditivos.

1/- Preparación de los aditivos zootécnicos

50

[0110] Las infusiones se preparan con, aproximadamente, 10 g de plantas aromáticas (en particular *Thymus vulgaris* y/o *Origanum vulgare*) por cada litro de agua llevado a una temperatura de 80 °C u 85 °C. La infusión dura unos diez minutos.

55

[0111] Una vez enfriadas y tras añadir una cantidad de azúcar(es) fermentable(s), por ejemplo sacarosa, glucosa, miel...estas son fermentadas durante 30 – 60 días con los gránulos de kéfir activados, manteniendo la temperatura entre 25 °C y 30 °C.

[0112] Una vez ha terminada la fermentación, las infusiones fermentadas se filtran y se recupera el líquido filtrado.

2/- Efecto de los aditivos zootécnicos en la proliferación de la microflora patógena

60

[0113] Las tablas 11 y 12 expuestas a continuación presentan los resultados de las pruebas comparativas realizadas con:

- Infusiones fermentadas de tomillo y orégano, preparadas como se ha explicado anteriormente.

- Infusiones no fermentadas de tomillo y orégano.

- Aceites esenciales quimiotipados de tomillo y orégano ( timol quimiotipado de *Thymus vulgaris* al 70 % y carvacrol quimiotipado de *Origanum vulgare* al 80 %), bien conocidos por sus propiedades antibacterianas y antifúngicas.
- Extractos comerciales más o menos puros de timol o de carvacrol.

5	THYM					
	Infusiones		Aceite esencial	Activos		
	Sin fermentar	Fermentada		Timol	Carvacrol	
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.000 – 2.500	3 - 8	60 - 90	30 - 50	30 - 50
	<i>Pseudomonds aeruginosa</i>	3.000 - 3.500	8 - 12	150 - 200	50 - 70	50 - 70
	<i>Escherichia coli</i>	1.800 - 2.200	3 - 8	50 - 80	15 - 25	15 - 25
	<i>Aspergillus niger</i>	4.000 - 4.500	10 - 15	120 - 150	20 - 25	20 - 25
15	<i>Candida albicans</i>	4.000 - 5.000	10 - 15	150 - 200	15 - 30	15 - 30
	<u>Tabla 11</u>					

20	ORÉGANO					
	Infusiones		Aceite esencial	Activos		
	Sin fermentar	Fermentada		Timol	Carvacrol	
25	<i>Staphylococcus aureus</i>	2.500 - 3.000	5 - 10	70 - 90	30 - 50	30 - 50
	<i>Pseudomonds aeruginosa</i>	3.000 - 3.500	8 - 12	180 - 200	50 - 70	50 - 70
	<i>Escherichia coli</i>	1.800 - 2.200	3 - 8	50 - 90	15 - 25	15 - 25
	<i>Aspergillus niger</i>	4.000 - 4.500	10 - 15	120 - 150	20 - 25	20 - 25
30	<i>Candida albicans</i>	4.000 - 5.000	10 - 15	150 - 200	15 - 30	15 - 30
	<u>Tabla 12</u>					

3/- Efectos de los aditivos zootécnicos según la invención en el crecimiento y el desarrollo de animales.

[0114] La Tabla 13 expuesta a continuación presenta los resultados zootécnicos comparativos obtenidos a partir de una explotación de lechones (de 28 a 42 días).

[0115] Las sopas distribuidas se suplementan con un acidificante (mezcla de ácido fórmico, formiato de amonio y ácido propiónico), utilizado normalmente en las explotaciones ganaderas tradicionales; o con un aditivo zootécnico obtenido por la fermentación de la mezcla de una infusión de tomillo (30 %) y de una infusión de orégano (70 %), junto a los gránulos de kéfir activados.

Tabla 13

45	Suplemento alimenticio en acidificante (3 Kg / por tonelada de sopa)	Suplemento alimenticio en infusión fermentada (5 l / por tonelada de sopa)
	Número de animales	96
50	Peso al destete (Kg)	7,8
	Peso al final del ensayo (Kg)	11,5
	Duración del ensayo	14 días
55	Consumo de alimento (gr / por día)	280
	Ganancia media diaria (gr/ por día)	262
	Índice de consumo	1,068
60	Número de muertes	2
		0

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento de preparación de gránulos de kéfir con el fin de adaptarlos a un medio, dicho medio meta, líquido que comprende al menos un alimento no lácteo en suspensión en un medio acuoso; este procedimiento comprende una incubación de los gránulos de kéfir en un medio de cultivo líquido, dicho medio adaptador durante un período de al menos 48 horas y a una temperatura adecuada para el desarrollo de los gránulos de kéfir;
- 10 dicho medio adaptador comprende:
- 1) Un medio nutritivo adecuado para el desarrollo de los gránulos de kéfir y comprende al menos todos los nutrientes básicos, indispensables y suficientes para el mantenimiento con vida de las bacterias y las levaduras en los gránulos de kéfir,
- 2) Una cantidad de, al menos, un sustrato en suspensión en dicho medio nutritivo, se selecciona cada sustrato para poseer una digestibilidad enzimática al menos similar a uno de los alimentos no lácteos de dicho medio meta,
- 15 la proporción ponderal medio nutritivo / sustrato (s), en términos de materia seca en dicho medio adaptador oscila entre 1 : 3 y 3 : 1.
- 20 2. Un procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado por** elegir el (los) sustrato (s) del medio adaptador de composición (es) química (s) idéntica (s), en términos de materia seca el (los) alimento (s) no lácteo (s) del medio meta.
- 25 3. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado porque** el medio adaptador comprende un único sustrato de composición química idéntica a un alimento no lácteo presente en una cantidad preponderante en el medio meta.
- 30 4. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado porque** el medio adaptador comprende numerosos sustratos de composiciones químicas idénticas con numerosos alimentos no lácteos del medio meta, y se presentan en el medio adaptador con proporciones ponderales relativas del mismo tamaño que las de dichos alimentos no lácteos del medio meta.
- 35 5. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** el medio adaptador posee una proporción ponderal medio nutritivo / sustrato (s) de aproximadamente 1 : 1, en términos de materia seca.
- 40 6. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 5, **caracterizado por** preparar el medio adaptador mezclando dicho medio nutritivo y una cantidad adecuada de un alimento seco correspondiente al medio meta.
- 45 7. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado por** preparar el medio adaptador con un (os) sustrato (s) seleccionado (s) entre: un cereal, una planta oleaginosa, una planta proteaginoso, una leguminosa, un frutal, un helado, un producto de panadería o pastelería, ya sea de una parte o en su totalidad.
- 50 8. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado por** preparar el medio adaptador con un (os) sustrato (s) seleccionado (s) entre: soja, maíz, trigo, colza, cebada, altramuz, guisante, remolacha, patata, zanahoria, col, manzana, melocotón, albaricoque, piña, ciruela, kiwi y melón, ya sea de una parte o en su totalidad.
- 55 9. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado por** preparar el medio adaptador con un medio nutritivo correspondiente a un medio mínimo.
- 60 10. Un procedimiento según la reivindicación 9, **caracterizado porque** dicho medio mínimo posee una composición acuosa que comprende al menos los siguientes elementos en las siguientes concentraciones:
- 65 - Aproximadamente 2 g.ℓ<sup>-1</sup> de glucosa.  
 - Aproximadamente 2 g.ℓ<sup>-1</sup> de L-cisteína.  
 - Aproximadamente 25 mg.ℓ<sup>-1</sup> de L-glicina.  
 - Aproximadamente 10 mg.ℓ<sup>-1</sup> de L-triptófano.  
 - Aproximadamente 15 mg.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de magnesio.  
 - Aproximadamente 0,3 g.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de manganeso.  
 - Aproximadamente 0,1 g.ℓ<sup>-1</sup> de sulfato de hierro.  
 - Aproximadamente 0,05 g.ℓ<sup>-1</sup> de acetato de sodio.  
 - Aproximadamente 5 g.ℓ<sup>-1</sup> de fosfato bipotásico.  
 - Aproximadamente 0,5 g.ℓ<sup>-1</sup> de riboflavinas.  
 - Aproximadamente 1 g.ℓ<sup>-1</sup> de tiamina.



11. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado por** preparar el medio adaptador con un medio nutritivo en leche semidesnatada.
- 5 12. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado por** preparar el medio adaptador con un medio nutritivo en un lactosuero dulce.
- 10 13. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, **caracterizado porque** el medio adaptador presenta una proporción peso / volumen de materia seca de, aproximadamente, un 10 %.
- 15 14. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, **caracterizado por** realizar la etapa de adaptación a una temperatura que oscila entre 15 °C y 40 °C.
- 20 15. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, **caracterizado por** realizar dicho procedimiento a una temperatura de aproximadamente 25 °C.
- 25 16. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, **caracterizado por** incubar dichos gránulos de kéfir en el medio adaptador durante un período de, aproximadamente, 3 días.
- 30 17. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, **caracterizado por** manipular los gránulos de kéfir a través de al menos un receptáculo adecuado para contener los gránulos de kéfir en su interior y permitir un intercambio de materias entre dichos gránulos de kéfir y un medio exterior a dicho receptáculo; se realiza la adaptación de los gránulos de kéfir introduciéndolo (s) en dicho (s) receptáculo (s) que contiene (n) los gránulos de kéfir en dicho medio adaptador.
- 35 18. Una utilización de los gránulos de kéfir obtenidos por la aplicación de un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 para tratar una instalación de preparación y / o de distribución de sopas destinadas a la alimentación de animales granja, en el que dichos gránulos de kéfir se mantienen en contacto con un alimento líquido que comprende, al menos, un alimento no lácteo presente en dicha instalación.
- 40 19. Una utilización según la reivindicación 18, **caracterizada por** mantener en contacto dicho alimento líquido con una cantidad de gránulos de kéfir correspondiente a, al menos, aproximadamente  $10^6$  ufc por gramo de materia seca de dicho alimento líquido.
- 45 20. Una utilización según cualquiera de las reivindicaciones 18 o 19, **caracterizada por** utilizar al menos un receptáculo adecuado para contener dichos gránulos de kéfir en su interior y permitir un intercambio de materias entre dichos gránulos de kéfir y un medio exterior a dicho receptáculo, en el procedimiento, la puesta en contacto de los gránulos de kéfir con dicho alimento líquido se realiza sumergiendo este (estos) receptáculo (s) en dicho alimento líquido, que se agita adecuadamente para estimular un flujo constante de materia a través del (de los) receptáculo (s) sumergido (s).
- 50 21. Una utilización según la reivindicación 20, **caracterizada por** retirar del alimento líquido el (los) receptáculo (s) que contiene (n) los gránulos de kéfir tras un período de, aproximadamente, dos meses para reemplazarlo (s) por un (os) receptáculo (s) que contiene (n) gránulos de kéfir adaptados recientemente.
- 55 22. Una utilización según la reivindicación 21, **caracterizada por** recuperar el (los) dicho (s) receptáculo (s) que contiene (n) los gránulos de kéfir retirado (s) de los alimentos líquidos para someter a los gránulos de kéfir a una nueva etapa de adaptación.
- 60 23. Una utilización según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22, **caracterizada por** colocar al menos un receptáculo que contiene gránulos de kéfir en el alimento líquido de al menos una parte de dicha instalación de preparación y de distribución de sopas destinadas a la alimentación de animales de granja seleccionada entre: una máquina de sopa, un depósito tampón y un tanque de recepción de sopa.
24. Una utilización de una infusión de planta (s) aromática (s) fermentada (s) por gránulos de kéfir obtenidos por un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 como aditivo zootécnico con propiedades antibacterianas y antifúngicas.
25. Una utilización según la reivindicación 24, **caracterizada por** realizar dicha infusión con, al menos, una planta aromática que contiene activos elegidos entre: timol, carvacrol, geraniol, linalol y tujanol.
26. Una utilización según cualquiera de las reivindicaciones 24 o 25, **caracterizada por** utilizar, para la preparación de dicha infusión, al menos una planta aromática elegida entre: tomillo, orégano, clavo, canela y ajedrea.

Figura 1

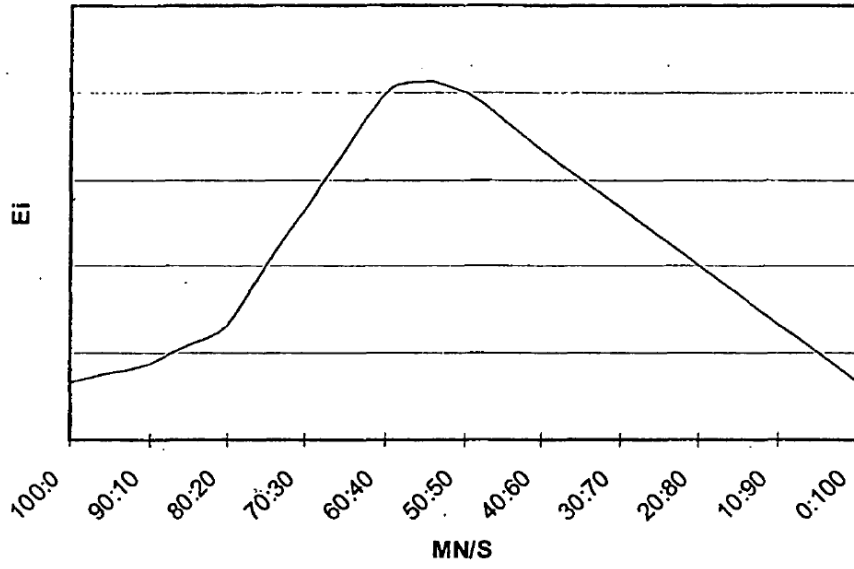


Figura 2

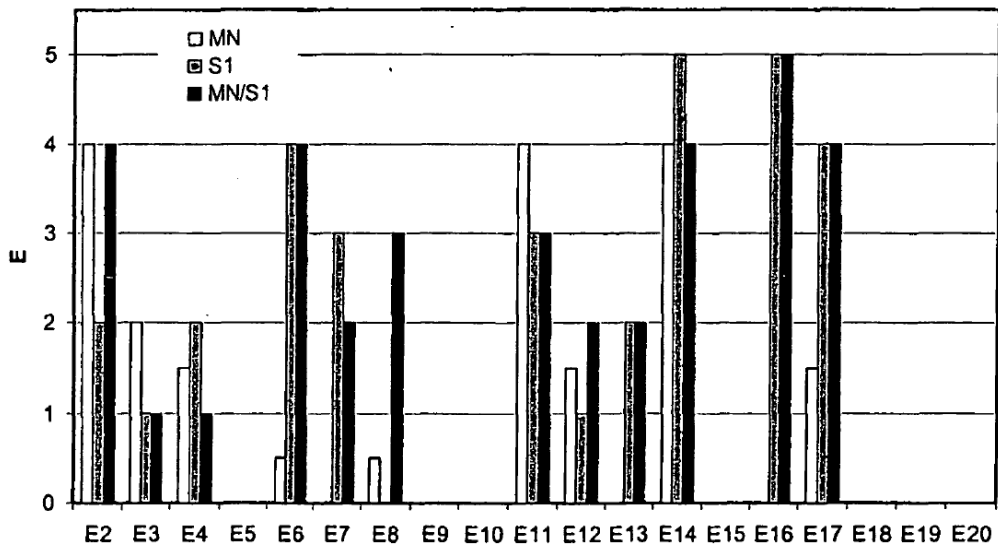


Figura 3

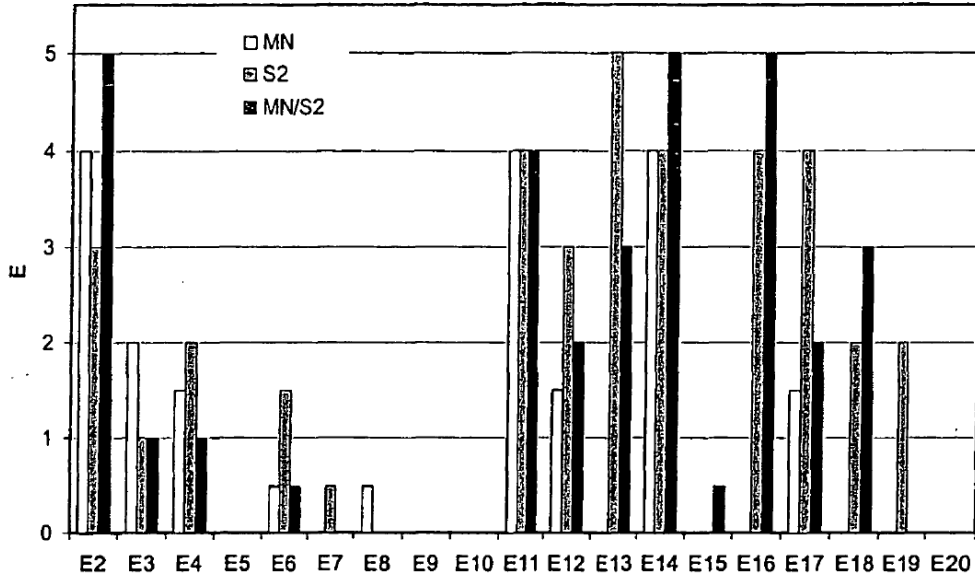


Figura 4

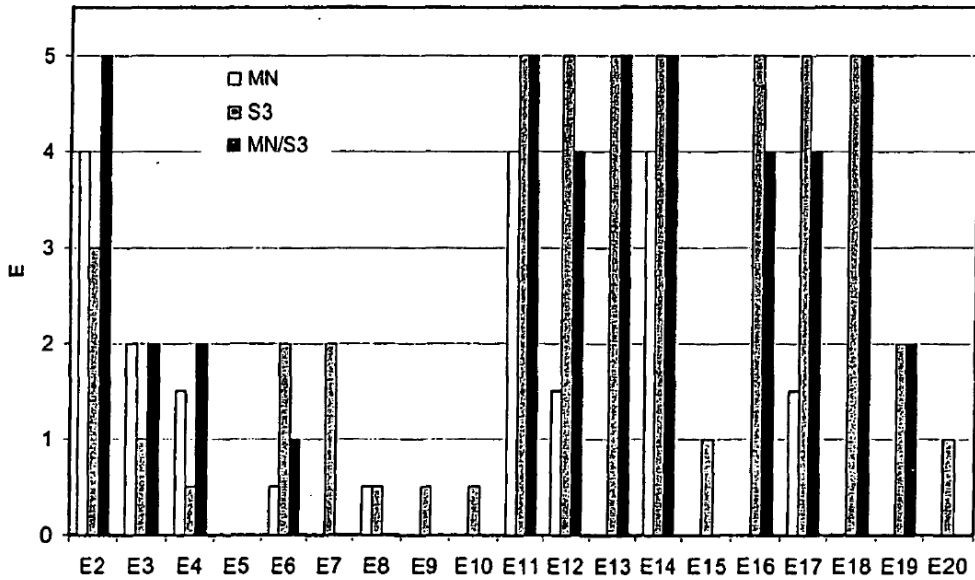


Figura 5

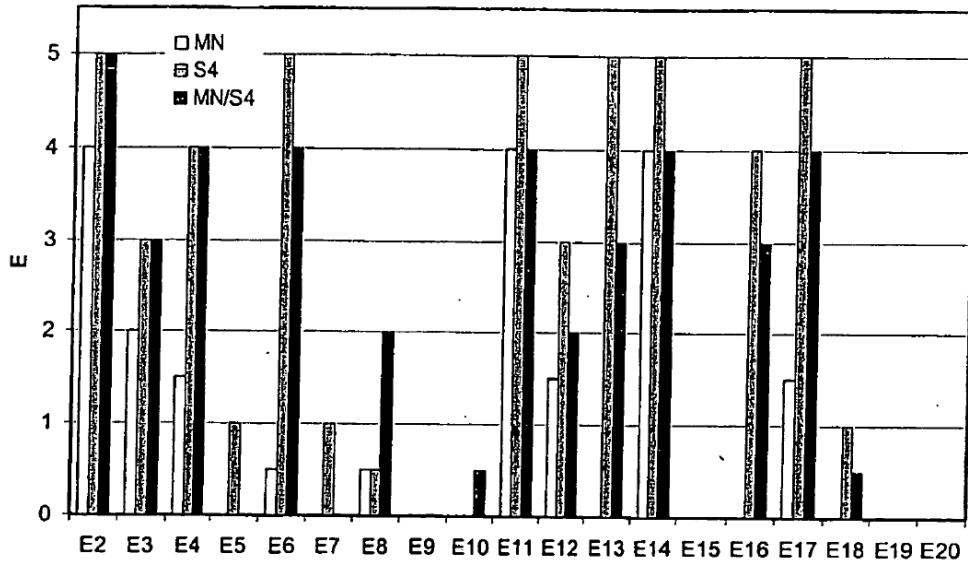


Figura 6

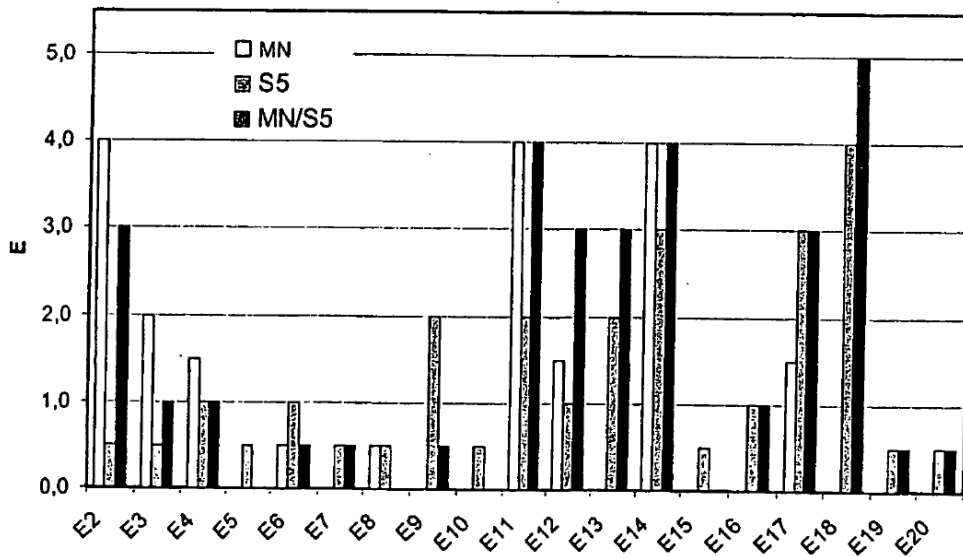


Figura 7

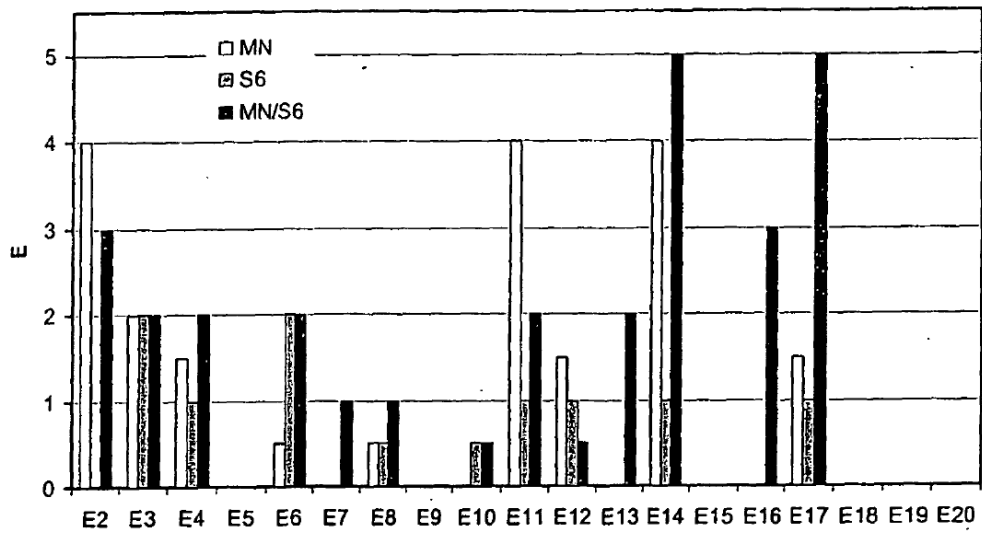


Figura 8

