

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 497 492**

51 Int. Cl.:

A23K 1/18 (2006.01)

A23K 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.04.2007** **E 07747981 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.06.2014** **EP 2040567**

54 Título: **Zigomicetos para alimento de peces**

30 Prioridad:

30.06.2006 SE 0601440

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

23.09.2014

73 Titular/es:

EDEBO, LARS (100.0%)
Dybecksgatan 10
412 70 Göteborg, SE

72 Inventor/es:

EDEBO, LARS

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 497 492 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

Zigomicetos para alimento de peces

5 **Campo técnico**

La presente invención se relaciona con el uso de biomasa de células enteras de zigomicetos no viables como alimento para peces en substitución de las grandes cantidades de harina de pescado actualmente utilizadas.

10 **Antecedentes de la invención**

En la producción de proteína de tipo animal para alimentos humanos, se considera que el pescado es muy eficiente en cuanto a coste, ya que no se consume energía alguna para el mantenimiento de la temperatura corporal. Además, el pescado es eficiente en cuanto a la renovación proteica. Existen también datos médicos convincentes que muestran que el pescado es un alimento sano que previene la arteriosclerosis y las afecciones cardíacas y que promueve el desarrollo fetal del sistema nervioso central.

15 Sin embargo, el alimento para peces actualmente contiene grandes cantidades de proteína de pescado. Para salmónidos y otras especies más palatables, se consumen con frecuencia de 3 a 6 veces (p/p) su cantidad de peces capturados en la cría. La producción global anual de harina de pescado de fuentes salvajes es de 6-7.000.000 de toneladas. Como consecuencia, el pescado capturado, que preferiblemente debería ser directamente consumido por los humanos, es utilizado para criar peces (y otros animales). Esto resulta ineficaz y contribuye a la sobrepesca de los océanos y a la falta de pescado como alimento, particularmente en los países en vías de desarrollo. Además, productos químicos tóxicos no degradados, tales como PCB, dioxinas, metales pesados (plomo, mercurio, etc.) y metilmercurio, se acumulan a lo largo de la cadena alimentaria de la acuicultura.

20 Se espera que la necesidad de proteína de la acuicultura de peces mostrará un incremento anual del 6%, mientras que la producción de harina de pescado se verá reducida. Se han buscado alternativas vegetales. Sin embargo, la proteína de soja no es adecuada, ya que causa inflamación intestinal en salmónidos.

30 En general, actualmente la mayor parte del alimento para la acuicultura de salmónidos consiste en ingredientes que alternativamente se utilizan como alimento humano.

35 En la biotecnología tradicional, el objetivo ha sido utilizar un organismo para producir un producto de valor comercial. Éste podría ser una sustancia de alta actividad y alto valor biológicos, tal como un antibiótico o una hormona. Cuanto mayor sea el valor del producto, menor será la importancia del coste de los medios y de la recuperación de los subproductos. Cuando el valor comercial del producto es bajo, se mejora la economía del procedimiento desarrollando un sistema consistente en un sustrato de bajo coste, un procedimiento de producción no expansivo y el uso de varios productos del procedimiento que se producen por biosíntesis o que permanecen en el medio usado para el cultivo.

40 La biomasa microbiana ha sido considerada durante mucho tiempo como una fuente conveniente de proteína (proteína de una sola célula, PSC) para la cría de animales domésticos e incluso del hombre. Sin embargo, los microbios también contienen grandes concentraciones de ácidos nucleicos que contienen purinas, las cuales pueden acabar como ácido úrico y causar efectos adversos principalmente por precipitación en el riñón y el tejido conectivo (gota) en mamíferos y aves. Por lo tanto, ha sido deseable usar una etapa de purificación de proteínas en el procedimiento de producción de alimentos que ha elevado el coste de producción.

45 Los peces no son tan sensibles a una gran ingestión de ácido nucleico debido a su producción de uricasa. Esta enzima participa en la descomposición de ácido úrico en urea, que es extremadamente soluble e inocua y se excreta. Así, incluso altas concentraciones de ácidos nucleicos en la biomasa microbiana para el alimento de peces podrían no ocasionar efectos deletéreos.

50 Los hongos, de especies tanto macroscópicas como microscópicas, han sido estudiados como alimento para peces. Se han seguido dos líneas de desarrollo:

1. Células o cultivos vivos como probióticos.
2. Compuestos extraídos o biomasa no purificada muerta como nutrientes preformados, que actúan con frecuencia como factores de crecimiento esenciales.

60 1. Se han utilizado *cultivos vivos* como organismos probióticos frecuentemente con objeto de prevenir o tratar enfermedades infecciosas de los peces.

JP4293457 (Kubo Tadamichi, Abe Shiro, Tanabe Nobukazu, Asano Koichi: Feed composition for preventing and treating infectious disease of fishes) describe el uso de diferentes grupos de hongos pertenecientes a los ascomicetos (*Aspergillus*, *Penicillium*), así como a los zigomicetos (*Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor*). Los hongos son cultivados y secados vivos para su conservación. Luego son mezclados en alimento básico para peces en pequeñas cantidades. Se hace hincapié en que los hongos son un ingrediente vivo activo y un componente menor del alimento.

JP3834763 B2 (Okabe Katsumi, Okabe Masako: Mixed feed) muestra un enfoque similar que utiliza también cultivos vivos de la levadura *Hansenula* en combinación con los hongos filamentosos *Aspergillus*, *Rhizopus* y *Mucor*. Este alimento es usado para diversos tipos de animales domésticos.

EP1314359 A1 (Koen Molly, Geert Bruggeman: Growth promoter composition for animals) - citada por la JP3834763 B2 precedente - usa una combinación de un hongo basidiomiceto (seta) vivo con al menos un componente promotor del crecimiento seleccionado entre el grupo consistente en ácidos orgánicos, ácidos inorgánicos, antibióticos para alimentos de animales, promotores del crecimiento convencionales y extractos de plantas. El objetivo primario es mejorar el ecosistema microbiano en el tracto gastrointestinal. El alimento causa el desprendimiento y la excreción de bacterias patógenas, tales como *Salmonella*, *Escherichia*, etc., para dar como resultado animales más sanos. También se propone la supresión de patógenos víricos y protozoarios en el tracto gastrointestinal. El promotor del crecimiento es suministrado con material vivo como una proporción menor del alimento.

2. Compuestos extraídos y biomasa no viable como productos farmacéuticos e ingredientes del alimento.

El pescado es la principal fuente de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-3 en el alimento para humanos. Los peces obtienen los AGPI que se originan en el plancton a lo largo de la cadena alimentaria. Estas observaciones han iniciado una investigación sobre fuentes microbianas alternativas. Microorganismos de tipo marino de una sola célula del orden *Thraustochytriales* han mostrado tener altas concentraciones de AGPI omega-3 (US6977167, William R Barclay: Mixtures of omega-3 and omega-6 highly unsaturated fatty acids from euryhaline microorganisms). Los lípidos extraídos o el producto microbiano de células enteras pueden ser añadidos al alimento procesado como un suplemento nutricional o a los peces y alimentos para aumentar el contenido en AGPI omega-3 de los productos procedentes de estos animales. También se pueden usar los lípidos extraídos en aplicaciones farmacéuticas e industriales nutricionales. La liberación de lípidos por las células es facilitada por desintegración mecánica y enzimática de las paredes de las células microbianas.

Una patente estrechamente relacionada (US6140365; Thomas Kiy, Ulrich Klein, Stefan Mullner, Dieter Wollbrandt: Preparation of microorganisms comprising omega-3 fatty acid for use as a prophylactic or therapeutic agent against parasitic diseases of animals) emplea el uso de una composición farmacológicamente aceptable que contiene AGPI omega-3 frente a enfermedades parasitarias de los animales, particularmente la coccidiosis aviar. Se usa una amplia variedad de microorganismos acuáticos no estrechamente relacionados, incluyendo microalgas, *Thraustochytrium* y *Schizochytrium* (como la patente precedente) y *Mortierella* (un zigomiceto), así como bacterias, como fuente de AGPI omega-3.

US6812009 (Raymond M Gladue, Paul W Behrens: DHA-containing nutritional compositions and methods for their production) resaltan la importancia del DHA (ácido docosahexaenoico) y del ARA (ácido araquidónico) en alimentos para acuicultura. Se prepara material particulado adecuado para alimentar a las larvas a partir de una amplia variedad de microorganismos acuáticos, preferiblemente a partir de células de algas que tienen un alto contenido en residuos de DHA. Se usan desintegración mecánica y extracción. También se incluyen levaduras, *Schizochytrium*, *Thraustochytrium* y el zigomiceto *Mortierella* como en US6140365, antes citada.

US6638561 (Robert Franciscus Beudeker, Peter Coutteau: Microbial arachidonic acid (ARA) for use in marine feed) describe la producción de ARA por los zigomicetos *Mortierella*, *Phycomyces* y *Blakeslea*, así como por el ascomiceto *Aspergillus*. Se obtiene el lípido como un triglicérido y se incluye en el alimento libre de células microbianas. US6251442 (Tomoya Aoyama, Yasuaki Sugimoto: Feed composition for broilers and method for breeding broilers) describe la adición de coenzima Q a una composición alimenticia para pollos con objeto de prevenir en los pollos la insuficiencia cardíaca que aparece como ascitis y de elevar la productividad. Está bien establecido que la coenzima Q puede ser extraída de zigomicetos, tales como *Mucor* y *Mortierella*, levaduras, tales como *Saccharomyces* y *Candida*, varios géneros de bacterias, hojas de tabaco y otros materiales de plantas.

JP 1063343 divulga un alimento que contiene microbios productores de lípidos desecados. WO 2004/103086 divulga usos de residuos de biomasa para suplementos de alimentos para animales. US 4062732 divulga un método de obtención de proteasas por cultivo de hongos, que son útiles para alimentos de animales. US 5733539 divulga un cebo para peces a partir de una biomasa fermentada.

En resumen, las contribuciones a las que se ha hecho referencia describen la suplementación de cantidades

menores de factores de crecimiento esenciales específicos, como vitaminas y en particular AGPI omega-3, procedentes de fuentes microbianas, más que el suministro de los nutrientes a granel requeridos, como las proteínas, que son una fuente de energía y los principales materiales estructurantes de los peces. No se ha prestado atención a la aceptabilidad intestinal de mayores cantidades de biomasa microbiana de células enteras y a la digestión. En consecuencia, no ofrecen ningún reemplazo para las grandes cantidades de peces capturados necesarias en la creciente demanda para la cría de peces. La presente invención pretende ofrecer un ingrediente principal de alimentos para peces basado en fuentes no utilizadas para alimento humano. De este modo, tanto los peces de acuicultura como los peces salvajes procedentes de los océanos pueden convertirse en mayores contribuidores sostenibles al alimento promotor de la salud.

Un inconveniente de los lípidos de zigomicetos es que contienen ácidos grasos de 18 carbonos insaturados más que AGPI de 20 carbonos. Sin embargo, los peces de agua dulce, al igual que los mamíferos, son capaces de prolongar la cadena hidrocarbonada con establecimiento de dobles enlaces, lo que podría hacer que los ácidos grasos insaturados de 18 carbonos fueran suficientes en determinadas condiciones.

Las investigaciones sobre la utilización de biomasa bacteriana producida en medios baratos (metano, desechos petroquímicos) para alimentos de peces se han encontrado con obstáculos, ya que la biomasa bacteriana contiene endotoxinas y otras toxinas que tienen efectos adversos sobre el intestino de los peces. En consecuencia, se busca una biomasa microbiana que sea inocua para el intestino de los peces.

Los *zigomicetos*, previamente denominados *ficomicetos* (hongos alga), son considerados como el grupo más primitivo de hongos, los cuales se originaron en el agua hace aproximadamente mil millones de años. Recientes estudios filogenéticos basados en el ADN han mostrado que los hongos están más estrechamente relacionados con los animales que con otros microbios, tales como bacterias y plantas microscópicas. Durante centenares de años, los zigomicetos han sido ampliamente usados para la preparación de alimento, particularmente en el Sudeste asiático. El tempe, que es un alimento de tipo camembert preparado a partir de soja usando cepas de *Rhizopus*, está siendo estudiado actualmente con objeto de mejorar el estado nutricional de niños malnutridos en Indonesia. Por lo tanto, dichas cepas de zigomicetos aisladas del tempe podrían ser ingredientes seguros en alimentos para peces.

Las hifas de los zigomicetos son aseptadas y sus paredes celulares consisten principalmente en quitosano. Las paredes celulares pueden representar hasta un 58% del peso de la célula, y el quitosano, que es responsable de la forma y de la gran resistencia mecánica de la pared, puede contribuir a aproximadamente la mitad del peso de la pared celular (L Edebo y H Hjorth: Structure and properties of the cell wall skeleton of *Rhizopus oryzae*, 14 Congr. Internat. Soc. Human and Animal Mycology, Buenos Aires, 2000; H. Hjorth: The cell wall of *Rhizopus oryzae*: Structure, properties and applications, Thesis, Göteborg University, 2005).

Los crustáceos constituyen un componente principal en el alimento para muchos peces y marisco y se digieren en el tracto intestinal del pez. Sus exoesqueletos contienen una gran proporción de quitina/quitosano, similar a la pared celular de ciertos zigomicetos. Esto indica que las paredes celulares de las hifas de ciertos zigomicetos podrían ser accesibles a la degradación enzimática por las enzimas intestinales, lo que haría que se pudiera disponer de los nutrientes de la biomasa, tanto de los componentes protoplasmáticos como de los de la pared celular. Otros hongos normalmente tienen paredes celulares más complicadas, con una menor proporción de quitina/quitosano, lo que podría hacerlos más irritantes y resistentes a la digestión.

En el procedimiento de preparación de pulpa de papel a partir de madera, en el procedimiento del sulfito, se libera aproximadamente la mitad de la madera (en peso seco) al licor de sulfito como lignosulfonato 60%, azúcares 20% y otros materiales 20%. Los azúcares dominantes son manosa, xilosa, galactosa y glucosa. La xilosa es una pentosa y las otras son hexosas. Las hexosas son fácilmente fermentadas por levaduras, *Saccharomyces cerevisiae*, para formar etanol, mientras que las pentosas no fermentan a menos que la levadura esté genéticamente modificada. La xilosa es particularmente abundante en la madera dura. El licor de sulfito gastado (LSG) ha obtenido la aprobación de la FDA como agente ligante en alimentos, lo que indica sus propiedades no nocivas a bajas concentraciones y que está libre de productos químicos tóxicos estables que podrían acumularse en el organismo. Los zigomicetos son eficientes consumidores de los azúcares, tanto de las hexosas como de las pentosas. Sin embargo, hay presencia de compuestos tóxicos, tales como furfural, hidroximetilfurfural y ácido acético, en el LSG, los cuales previenen el crecimiento de los zigomicetos a altas concentraciones. Pueden ser consumidos por los hongos siempre que se tomen precauciones especiales para promover el crecimiento.

Resumen de la invención

La presente invención se dirige a un ingrediente microbiano de alimentos para peces destinado a substituir la enorme cantidad de harina de pescado que se requiere para la cría de peces en la actualidad.

La biomasa microbiana consiste en micelios de zigomicetos - preferiblemente de cepas terrestres de la familia Mucoraceae con uso establecido en alimentos - que han sido cultivados en licor de sulfito gastado procedente de la producción de materiales celulósicos. La biomasa tiene una alta concentración de proteínas, compuestos de ácidos grasos insaturados de 18 carbonos y vitaminas.

5 Se mata a la biomasa de células enteras por calor y se la incluye en tipos estándar de composición de alimento para peces.

10 El alimento para peces incluye al menos un 5% (p/p) de biomasa de células enteras de zigomicetos muertos como fuente principal de proteína, que puede ser totalmente digerida en el intestino de los peces y aumenta el índice de crecimiento específico con respecto al de peces alimentados con alimentos estándar a base de harina de pescado.

15 En otra realización preferida de la invención, el alimento para peces incluye al menos un 7,5% (p/p), más preferiblemente al menos un 10% (p/p), más preferiblemente al menos un 20% (p/p), más preferiblemente al menos un 30% (p/p), más preferiblemente al menos un 40% (p/p), más preferiblemente al menos un 50% (p/p), más preferiblemente al menos un 60% (p/p), más preferiblemente al menos un 70% (p/p), más preferiblemente al menos un 80% (p/p), más preferiblemente al menos un 90% (p/p) y más preferiblemente al menos un 100% (p/p), de micelios de *zigomicetos*.

20 En otra realización preferida de la invención, la cepa de zigomicetos pertenece a la familia *Mucoraceae*.

En otra realización preferida de la invención, la cepa de zigomicetos pertenece al género *Rhizopus*.

25 En otra realización preferida de la invención, la cepa de zigomicetos pertenece a la especie *Rhizopus oryzae*.

En otra realización preferida de la invención, la cepa de zigomicetos es aislada de alimento humano.

En otra realización preferida de la invención, la cepa de zigomicetos es *Rhizopus oryzae* zit 102.

30 En otra realización preferida de la invención, el alimento para peces incluye además vitaminas, elementos traza, grasa y carbohidratos.

35 En aún otra realización preferida de la invención, la biomasa de zigomicetos ha sido cultivada en medios lignocelulósicos.

En otra realización preferida de la invención, el medio lignocelulósico es licor de sulfito gastado procedente del proceso de preparación de pulpa de papel.

40 En otra realización preferida de la invención, el medio lignocelulósico es suministrado con aceite como agente antiespumante.

En otra realización preferida de la invención, el aceite está constituido por triacilglicerol que contienen ácidos grasos insaturados de 18 átomos de carbono.

45 En otra realización preferida de la invención, el triacilglicerol es el aceite de soja.

En otra realización preferida de la invención, el micelio es recogido por cribado y lavado con agua tras el cultivo.

50 En otra realización preferida de la invención, el micelio, tras el cultivo, es recogido por cribado y comprimido para eliminar la mayor parte del medio de cultivo lignocelulósico, y el resto de los compuestos de lignina son usados como ligantes en el alimento.

55 En otra realización preferida de la invención, el quitosano presente en los zigomicetos es extraído con ácido sulfúrico diluido caliente y la porción insoluble es usada para alimento de peces.

En otra realización preferida de la invención, la extracción es realizada con ácido sulfúrico al 1% a 121°C durante 20 min.

60 En otra realización preferida de la invención, la biomasa de zigomicetos es matada por calor.

En otra realización preferida de la invención, la biomasa de zigomicetos es matada por autoclavado a aproximadamente 120°C durante 30 min.

En otra realización preferida de la invención, la biomasa de zigomicetos es desintegrada mecánicamente.

En otra realización preferida de la invención, la biomasa de zigomicetos es desintegrada por prensado por congelación.

En otra realización preferida de la invención, el alimento para peces es usado para la cría de peces.

En otra realización preferida de la invención, el alimento para peces es usado para la cría de peces de aleta.

En otra realización preferida de la invención, el alimento para peces es usado para la cría de peces de agua dulce.

En otra realización preferida de la invención, el alimento para peces es usado para la cría de marisco.

Cuando se dio el alimento que contenía zigomicetos a la trucha arcoiris, se vio inesperadamente que no sólo los peces comían bien el nuevo alimento, sino que también su aumento de peso diario estaba por encima del de los peces a los que se alimentó con el alimento estándar a base de harina de pescado.

Se concluyó además que las hifas fúngicas se digerían totalmente en el tracto intestinal de la trucha arcoiris, ya que se vieron elementos de hifas en la porción superior y media, pero no en la porción inferior, del tracto intestinal.

El uso de material microbiano muerto coagulado por calor emplea la pared celular microbiana como paquete para nutrientes que de otro modo tenderían a disolverse en el medio acuático. También elimina el riesgo de efectos deletéreos causados por los organismos vivos en nuevos ambientes no contenidos.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Cultivo de zigomicetos

Se usaron licor de sulfito gastado (LSG) y LSG recuperado tras fermentación etanólica con la levadura de pan *Saccharomyces cerevisiae* (LSGex) para el cultivo con aire de una cepa de zigomicetos (*zit 102*) aislada de tempe indonésico (Millati, Edebo, Taherzadeh, Enzyme & Microbial Technol. 36: 294-300, 2005).

Se identificó provisionalmente a la cepa como *Rhizopus oryzae*, aunque mostraba alguna ramificación de esporangióforos y era capaz de crecer a 50°C, propiedades que no son típicas de esta especie.

Antes de la inoculación del LSG o del LSGex y de sus diluciones con *R. oryzae*, se suplementaron estos líquidos con amoníaco y fosfato de amonio para ajustar el pH (pH 5-6,3) y proporcionar fuentes extra de nitrógeno y de fosfato. Se usaron los líquidos para cultivo a concentraciones del 25-100%.

Se realizó el cultivo de *zit 102* en volúmenes de 60-70 litros en un fermentador con aire a 36-38°C. El tubo externo del fermentador era un tubo de vidrio con un diámetro interno de 23 cm. El tubo interno era un tubo de acero inoxidable (diámetro interno de aproximadamente 16 cm). Se introdujo aire en el extremo inferior del tubo interno mediante un burbujeador sinterizado. En la medida de lo posible, el procedimiento fue llevado a cabo en condiciones asépticas. Se controló la espuma con un rompedor de espuma mecánico y triacilglicerol que contenían ácidos grasos insaturados de 18 átomos de carbono.

El crecimiento aparecía como pellas esféricas, con diámetros de aproximadamente 3 mm. A intervalos de 7-14 horas, se recogió aproximadamente un 80% del volumen del cultivo por pase a través de un tamiz doméstico ordinario que retenía la biomasa de micelios. Se lavaron los micelios para liberarlos del LSG aclarándolos con agua del grifo. Se congeló o se liofilizó la biomasa hasta su posterior uso.

Se reemplazó el volumen del cultivo eliminado con LSG fresco y se repitió el procedimiento de cultivo.

El rendimiento de biomasa fue de 2-8 g/l de medio. La recuperación fue de 0,4-0,75 g de micelios por g de azúcar, lo que indica que los zigomicetos no sólo consumieron azúcares.

Tras la recogida, se autoclavó la biomasa a 120°C durante 30 min. para matar a los organismos y facilitar la penetración de la envuelta celular.

En un procedimiento paralelo destinado a aumentar el valor nutritivo de la biomasa y a reducir los posibles efectos colaterales del quitosano o de la pared celular rígida, se suspendió la biomasa en ácido sulfúrico diluido (0,5-2%) y se autoclavó a 121°C durante 20 min., con lo cual se extrajo el quitosano. Se separó el líquido del resto de la biomasa por filtración en caliente (temperatura superior a 90°C). El quitosano precipitó con respecto al líquido

cuando se redujo la temperatura por debajo de la temperatura ambiente y se recuperó para otros usos.

Análisis químico del micelio de zigomicetos

5 La concentración de proteína era del 45% del peso seco del micelio.

10 Un posterior análisis con un analizador de aminoácidos (Biochrom Ltd., Cambridge, UK) mostró (g de aminoácido/kg de micelio): cisteína 3,66, metionina 8,23, ácido aspártico 31,42, treonina 14,54, serina 14,53, ácido glutámico 36,92, prolina 12,66, glicina 15,44, alanina 23,32, valina 18,36, isoleucina 19,02, leucina 25,14, tirosina 35,22, fenilalanina 15,09, histidina 7,38, lisina 23,89, arginina 18,75. Un análisis por separado del triptófano mostró 4,80 g/kg de micelio.

Se analizó la grasa en cinco lotes diferentes cultivados en diferentes tipos de licor de sulfito (calcio, magnesio, sodio) y mostró ser de un 10-20% (p/p). Sus proporciones de ácidos grasos insaturados de 18 carbonos eran del 70-80%.

15 Esta composición tiene un alto valor nutritivo. No se vio ninguna diferencia significativa con respecto a la composición entre el micelio fresco y el autoclavado.

Alimentación de trucha arcoiris joven con alimento para peces que contiene micelios de zigomicetos

20 Se ofreció a grupos de 10 truchas arcoiris jóvenes un alimento que contenía un 15-30% (peso seco) de micelios de zigomicetos autoclavados paralelamente al alimento estándar a base de harina de pescado (harina de pescado 53% en peso seco, dextrinas como trigo y avena cocinados 28, aceite de pescado 15, vitaminas y minerales 9%; es decir, que se reemplazó un 16,7-33,4% de la harina de pescado por la biomasa de zigomicetos). La biomasa de zigomicetos reemplazó a la harina de pescado y a las dextrinas sobre una base isoproteica, de tal modo que 100 g de biomasa de zigomicetos reemplazaron a 59 g de harina de pescado y 41 g de dextrinas. Los peces comieron bien el alimento que contenía zigomicetos ya desde el principio, con un 15-19% de aumento en la ingestión de alimento (palatabilidad), y mostraron un aumento de peso satisfactorio. Cuando se calculó el índice de crecimiento específico (ICE, %/día), éste era un 3,4-22% mayor para los grupos de peces que comían zigomicetos que para los que comían el alimento estándar.

30

REIVINDICACIONES

1. Un alimento para peces **caracterizado por que** contiene biomasa de una especie de zigomicetos, donde la biomasa de zigomicetos es aportada como biomasa de células enteras muerta, conteniendo dicho alimento para peces al menos un 5% (p/p) de biomasa de células enteras con respecto al peso seco total del alimento.
2. El alimento para peces según la reivindicación 1, **caracterizado por que** la biomasa de zigomicetos ha sido cultivada en forma de pellas.
3. El alimento para peces según las reivindicaciones 1-2, **caracterizado por que** contiene al menos un 7,5% (p/p), más preferiblemente al menos un 10% (p/p), más preferiblemente al menos un 20% (p/p), más preferiblemente al menos un 30% (p/p), más preferiblemente al menos un 40% (p/p), más preferiblemente al menos un 50% (p/p), más preferiblemente al menos un 60% (p/p), más preferiblemente al menos un 70% (p/p), más preferiblemente al menos un 80% (p/p), más preferiblemente al menos un 90% (p/p) y más preferiblemente un 100% (p/p), de biomasa de zigomicetos.
4. El alimento para peces según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, **caracterizado por que** la cepa de zigomicetos pertenece a la familia *Mucoraceae*.
5. El alimento para peces según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, **caracterizado por que** la cepa de zigomicetos pertenece al género *Rhizopus*.
6. El alimento para peces según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, **caracterizado por que** la cepa de zigomicetos pertenece a la especie *Rhizopus oryzae*.
7. El alimento para peces según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, **caracterizado por que** la cepa de zigomicetos es aislada de alimento humano.
8. El alimento para peces según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, **caracterizado por que** la cepa de zigomicetos es *Rhizopus oryzae* zit 102.
9. El alimento para peces según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, **caracterizado por que** la biomasa de zigomicetos ha sido cultivada en medios lignocelulósicos.
10. El alimento para peces según la reivindicación 9, **caracterizado por que** el medio lignocelulósico es licor de sulfito gastado procedente del procedimiento de preparación de la pulpa de papel.
11. El alimento para peces según la reivindicación 10, **caracterizado por que** el licor de sulfito gastado es retenido en la biomasa de zigomicetos para uso como agente ligante en el alimento para peces.
12. El alimento para peces según las reivindicaciones 1-8, **caracterizado por que** el quitosano presente en los zigomicetos es extraído con ácido sulfúrico diluido caliente y la porción insoluble es usada para alimento de peces.
13. Un uso del alimento para peces reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para la cría de peces y de marisco.
14. Un uso de biomasa de zigomicetos muerta como sustituto de la harina de pescado en alimentos para peces, donde la biomasa de células enteras de zigomicetos constituye al menos un 5% (p/p) del alimento para peces, más preferiblemente al menos un 7,5% (p/p), más preferiblemente al menos un 10% (p/p), más preferiblemente al menos un 20% (p/p), más preferiblemente al menos un 30% (p/p), más preferiblemente al menos un 40% (p/p), más preferiblemente al menos un 50% (p/p), más preferiblemente al menos un 60% (p/p), más preferiblemente al menos un 70% (p/p), más preferiblemente al menos un 80% (p/p), más preferiblemente al menos un 90% (p/p) y más preferiblemente un 100% (p/p), del alimento para peces.
15. El uso según la reivindicación 14, **caracterizado por que** la biomasa de zigomicetos ha sido cultivada en forma de pellas.