

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 530 167**

51 Int. Cl.:

A01N 37/02 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)
A23K 1/18 (2006.01)
A61K 31/20 (2006.01)
C11C 1/04 (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2012 E 12001554 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.01.2015 EP 2636307**

54 Título: **Método para producir una composición antimicrobiana que contiene ácidos grasos libres**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.02.2015

73 Titular/es:
CARGILL, INCORPORATED (100.0%)
15407 McGinty Road West
Wayzata, MN 55391, US

72 Inventor/es:
LOBEE, HENRICUS, WILHELMUS, JOZEF;
KRUIDENBERG, MARCUS, BERNARDUS y
HOLLANDER, FRANK

74 Agente/Representante:
DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 530 167 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 producir una composición antimicrobiana que contiene ácidos grasos libres

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un método para producir composiciones antimicrobianas, en particular composiciones que se pueden usar para prevenir el crecimiento de agentes microbianos en mamíferos.

Antecedentes de la invención

10 Se considera que los ácidos grasos de cadena media (MCFA, por sus siglas en inglés), es decir ácidos grasos con una longitud de la cadena de carbonos de 6-12 átomos de carbono, son una categoría única de sustancias grasas. A diferencia de los ácidos grasos de cadena larga, los MCFA pueden ser absorbidos directamente en la corriente sanguínea sin reesterificación o inclusión en quilomicrones. Como tales, los MCFA pueden ser transportados rápidamente a órganos que requieren energía. Es más, los MCFA preferentemente se oxidan en la mitocondria, lo que los convierte en una excelente fuente de energía rápida.

15 También se ha encontrado que ciertos MCFA tienen un efecto antimicrobiano beneficioso. Esto se considera un atributo clave en el campo de la ganadería en el que es una prioridad controlar los niveles de microorganismos en el tracto digestivo de los animales. Los animales pueden estar sometidos a exposición a bacterias, levaduras y hongos a través del entorno de cría y los piensos. Estos microorganismos pueden provocar una alteración significativa en el sistema digestivo de los animales y un desequilibrio en el ecosistema microbiano de su tracto gastrointestinal. Esto puede dar como resultado una digestión y una absorción de nutrientes menos eficaces que, a su vez, afectarán a las velocidades de crecimiento. También podría conducir, en algunos casos, a una enfermedad y, potencialmente, a la muerte del animal. En cualquier caso, está claro que ser capaz de controlar las poblaciones microbianas tiene un efecto significativo sobre la rentabilidad. Esto se solía conseguir a través de la aplicación de antibióticos en dosis bajas. Sin embargo, la adición de tales promotores del crecimiento a piensos se prohibió en la UE en 2006. Por lo tanto, se ha incrementado el interés en alternativas naturales – tales como los MCFA.

25 Se sabe que los aceites láuricos, tales como aceite de coco y aceite de almendras de palma, son ricos en MCFA. Desgraciadamente, los triglicéridos que contienen estos ácidos grasos no tienen por sí mismos la actividad antimicrobiana observada. Los MCFA tienen que separarse de su cadena principal de glicerol y usarse en la forma de su ácido graso libre (FFA, por sus siglas en inglés). Esto se consigue, en la industria, escindiendo los aceites láuricos brutos y a continuación destilando el aceite para obtener una fracción de FFA y una fracción de glicerina.

30 Existen al menos cuatro métodos conocidos para escindir grasas: el procedimiento de Twitchell (aunque algo arcaico ahora), el procedimiento discontinuo en autoclave, el procedimiento continuo en contracorriente y el procedimiento enzimático (usando enzimas lipasa). A continuación, los ácidos grasos producidos mediante estos procedimientos se purifican y se separan en fracciones mediante destilación y fraccionación.

35 Debido a la extrema sensibilidad al calor de los ácidos grasos, la oxidación y los efectos de la corrosión, la destilación se debe realizar bajo condiciones muy controladas - es decir bajo alto vacío, a temperaturas inferiores y con el tiempo de permanencia más corto posible. No obstante, los destilados de ácido graso tienden a desarrollar un fuerte sabor y olor (provocados por productos de oxidación secundarios tales como cetonas y aldehídos). También pueden tener un fuerte grado de coloración debido a la presencia de pigmentos tales como carotenoides. Este procedimiento también puede dar como resultado concentraciones de contaminantes (tales como dioxinas e hidrocarburos poliaromáticos (PAH, por sus siglas en inglés)) que son muy difíciles de eliminar.

40 No obstante, estos destilados se han considerado generalmente aceptables para piensos. Sin embargo, existe una preocupación creciente acerca de los niveles de contaminantes. Es más, su fuerte olor y sabor siempre los ha hecho inadecuados para el uso en ciertos piensos: los piensos acuáticos (p. ej. para peces y camarones), los piensos para animales jóvenes (p. ej. terneros y lechones) y los piensos para animales domésticos requieren todos el uso de aceites con sabor y olor menos fuertes.

45 Exporter distilled coconut fatty acid, URL:<http://www.ecplaza.net/trade-leads-selier/exporter-of-distilled-coconut-fatty-5352705> describe un ácido graso de coco destilado con un rojo de la celdilla Lovibond máximo.

Productos químicos oleosos: "Edenor HK 8-18", URL:<http://cognis.plansbiz.net/imgs/uploads/&file 08201 003728.pdf> describe ácido graso de coco con un rojo Lovibond 0,2.

El documento US 2012/0041065 se refiere a un destilado de ácido láurico para piensos.

50 El documento US 5.142.071 describe la esterificación selectiva de monoglicéridos de ácido graso de cadena larga con ácidos grasos de cadena media.

Gregorio C. Gervajo en Bailey's Industrial Oil and Fat products, Sexta edición – Fatty Acids and Derivatives from Coconut Oil describe la fabricación y los usos de ácidos grasos de coco.

Wim De Greyt, en Developments in Edible Oil Refining for the Production of High Quality Food oils, 101 st AOCs Annual Meeting 2010, describe el procedimiento de refinado de aceites comestibles.

El documento US 4.223040 describe ácido láurico para la prevención y el tratamiento de enfermedades micobacterianas.

- 5 Por lo tanto, existe una clara necesidad en la especialidad de un método para producir una composición antimicrobiana con mejor o menos sabor, olor y color y con un contenido de contaminantes reducido. La presente invención se dirige a esta necesidad.

Exposición de la invención

- 10 Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un método para producir una composición antimicrobiana, comprendiendo el método la etapa de escindir un aceite láurico refinado para obtener una composición que comprende 90% en peso o más de ácidos grasos libres, caracterizado por que el aceite refinado es un aceite que se ha puesto en contacto con carbono activado.

Descripción de la invención

- 15 La presente invención proporciona un método para producir composiciones antimicrobianas. El término "antimicrobiano", según se usa en la presente, se refiere a sustancias que son capaces de destruir o inhibir el crecimiento de microorganismos tales como bacterias y hongos (incluyendo levaduras). En particular, se puede referir a sustancias que son capaces de destruir o inhibir el crecimiento de hongos tales como *Aspergillus*, *Candida*, *Cephalosporium*, *Fusarium* y *Penicillium*; levaduras tales como *Saccharomyces*; bacterias gramnegativas tales como *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*; y bacterias grampositivas tales como *Listeria*.

- 20 El procedimiento de la presente invención incluye la etapa de escindir un aceite láurico refinado para obtener una composición que comprende 90% en peso o más de ácidos grasos libres, caracterizado por que el aceite refinado es un aceite que se ha puesto en contacto con carbono activado. Se entenderá que los aceites láuricos generalmente son aceites ricos en MCFA, es decir en ácidos grasos C6-C12. Ejemplos de tales aceites incluyen aceite de coco, aceite de almendras de palma, aceite de babasú, aceite de corozo, aceite de tucum y aceite de cufea. Para los propósitos de la presente invención, el aceite láurico se seleccionará preferiblemente de aceite de coco y aceite de almendras de palma, o sus mezclas.

- 25 Los aceites láuricos brutos - es decir según se extraen de su fuente original - típicamente no serán adecuados para el uso en el presente procedimiento debido a la presencia de altos niveles de contaminantes - tales como fosfátidos, jabones y pigmentos - que pueden provocar un color, olor o sabor no deseable. Como tales, se refinarán en primer lugar.

- 30 El refinado consiste típicamente en tres etapas principales: desengomado, decoloración y desodorización, todas las cuales serán procedimientos muy conocidos para un experto en la especialidad. Así, el método de la presente invención preferiblemente usará aceites láuricos que se han sometido a al menos desengomado, decoloración y desodorización. También se pueden usar otras etapas de refinado. Los aceites láuricos refinados usados en el presente método se habrán tratado (o puesto en contacto) con carbono activado.

- 35 El tratamiento con carbono activado se puede realizar con carbono activado el polvo, granular, extruido o en forma de cuentas - o con cualquier otra forma conocida de carbono activado. Preferiblemente, se realizarán en una columna con carbono activado granular. Se puede realizar separadamente de las otras etapas de refinado. Alternativamente, se puede realizar simultáneamente con la etapa de decoloración (p. ej. combinando entre sí el carbono activado y una tierra decolorante en una sola columna). El aceite se pondrá en contacto preferiblemente con el carbono activado a una temperatura entre 50-120°C, preferiblemente entre 50-90°C. Por ejemplo, el aceite se puede poner en contacto con el carbono activado a una temperatura de aproximadamente 60°C. El carbono activado se puede usar, por ejemplo, en una cantidad de 10 g por t de aceite a 50 kg por t de aceite. Según una realización, se usará en una cantidad de 1-2 kg por t de aceite. Otros parámetros y variaciones de los mismos serán evidentes para un experto en la especialidad.

- 40 Según el presente método, un aceite láurico refinado, puesto en contacto con carbono activado, se escinde para obtener una composición que comprende 90% en peso o más de ácidos grasos libres. La escisión, según se describe anteriormente, es un procedimiento para separar ácidos grasos de su cadena principal de glicerol. Se conoce en la especialidad un número de técnicas y no todas se necesitan describir con gran detalle en la presente. Por ejemplo, la técnica de escisión usada en el método de la presente invención puede consistir en hidrólisis química y/o escisión enzimática. Solamente a modo de ilustración, la hidrólisis química se puede realizar en un procedimiento discontinuo (p. ej. en un procedimiento discontinuo en autoclave) o en un procedimiento continuo (también conocido como el procedimiento de Colgate-Emery). La escisión enzimática se realizará preferiblemente con enzimas lipasa tales como las de *Candida Rugosa*, *Aspergillus niger* o *Rhizopus arrhizus*.

- 55 Preferiblemente, la escisión se conseguirá a través de hidrólisis química bajo alta presión y a altas temperaturas. Las composiciones obtenidas tendrán un contenido de FFA de al menos 90% en peso y tendrán un perfil apropiado para

el uso como agentes antimicrobianos naturales en la fabricación de piensos.

5 El contenido de FFA se mide usando el método estándar AOCS Ca 5a-40 (97). Preferiblemente, la composición comprenderá 95% o más, más preferiblemente 97% o más, más preferiblemente 99% en peso o más de FFA. Los FFA tendrán un alto contenido de MCFA. Preferiblemente, comprenderán más de 50% de MCFA. Más preferiblemente, comprenderán 60% o más, 70% o más, u 80% o más de MCFA.

Se entenderá que el término "MCFA", según se usa en la presente, en el contexto de la presente invención, se refiere a ácidos grasos con una longitud de la cadena de carbonos de 6-12 átomos de carbono (es decir ácido caproico (C6), ácido caprílico (C8), ácido cáprico (C10) y ácido láurico (C12)), así como a sus sales, derivados, emulsiones y mezclas. Una composición puede comprender, en peso:

- 10
- 0-5%, preferiblemente 0-1%, de ácidos grasos C6;
 - 1-15%, preferiblemente 2-10%, de ácidos grasos C8;
 - 1-15%, preferiblemente 1-8%, de ácidos grasos C10; y
 - 35-70%, preferiblemente 40-55%, de ácidos grasos C12.

15 El término "composición antimicrobiana refinada" se refiere al hecho de que las composiciones tendrán menos color, un mejor sabor y/u olor y/o menos contaminantes (es decir, una concentración de contaminantes inferior) que composiciones antimicrobianas similares obtenidas mediante destilación. En particular, las composiciones tendrán:

- un color rojo Lovibond de 5 o menos; y/o
 - un sabor y olor aceptable – según se determina mediante el Método A; y/o
 - un nivel de PAH total de 20 TEQ B[a]p o menos; y/o
- 20
- un contenido de dioxina total no mayor de 1,5 TEQ.

Idealmente, tendrán un color rojo Lovibond de 5 o menos; y un sabor y olor aceptables según se determinan mediante el Método A; y un nivel de PAH total de 20 TEQ B[a]P o menos; y un contenido de dioxina total no mayor de 1,5 TEQ.

25 El color rojo Lovibond se mide en la escala cromática Lovibond según el método de la AOCS Cc13e. El color rojo se gradúa en una escala de 0,1 a 20. Preferiblemente, los aceites obtenidos según el método de la presente invención tendrán un color rojo Lovibond de 5 o menos, más preferiblemente de 2 o menos, más preferiblemente de 1 o menos, por ejemplo de 0,5 o menos. Idealmente, los aceites serán blancos (cuando están en estado sólido).

30 Preferiblemente, también carecerán de sabor u olor a quemado (que a menudo se asocia con, p. ej., el aceite de coco debido a los procedimientos usados para secar los materiales originales). El sabor y el olor se determinan según el Método A: Método de la AOCS Cg 2-83. Según este método, se les da a los aceites una puntuación de 1 a 10, en donde 1 indica un aceite con un sabor y/u olor muy fuerte y 10 indica un aceite insípido e inodoro. Se considerará que las composiciones tienen un sabor y olor aceptable si, cuando se miden según el Método A, tienen una puntuación de 7 o más. Preferiblemente, las composiciones se caracterizarán por una puntuación de 8 o más.

35 Ventajosamente, las composiciones también tendrán niveles muy bajos de contaminantes. En particular, preferiblemente tendrán niveles reducidos de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y de dioxinas y compuestos dioxínicos (DLC, por sus siglas en inglés) en comparación con los correspondientes aceites obtenidos mediante destilación y fraccionación. Para facilitar la referencia, las dioxinas y los DLC se denominarán comúnmente en la presente simplemente dioxinas.

40 Como los compuestos tóxicos tienen todos efectos tóxicos diferentes, la toxicidad se mide típicamente desde el punto de vista de la equivalencia de toxicidad (TEQ, por sus siglas en inglés). La TEQ se calcula como el producto de la concentración de un compuesto tóxico individual en una muestra (en µg/kg) y su correspondiente factor de equivalencia de toxicidad (TEF, por sus siglas en inglés), es decir como sigue:

$$\text{EQ del compuesto A} = \text{concentración de A} \times \text{TEF de A}$$

45 El TEF de un compuesto se expresa como un número, entre 0 y 1, que representa la toxicidad relativa del compuesto en comparación con la del compuesto más tóxico conocido en esa categoría de compuestos. Así, por ejemplo, los TEF para PAH se calculan con relación a la toxicidad de benzo[a]pireno – y el contenido de PAH de una composición por lo tanto se expresará desde el punto de vista de la TEQ B[a]P. Los TEF de las dioxinas se calculan con relación a la toxicidad de 2,3,7,8-tetraclorodibenzodioxina (TCDD) – expresándose convencionalmente el contenido de dioxina de una composición simplemente desde el punto de vista de la "TEQ".

La toxicidad de una composición - es decir su equivalencia de toxicidad total - dependerá, hasta cierto punto, del número de PAH o dioxinas que se mida. Las normas reguladoras y las leyes sobre alimentos y piensos en diferentes países dictará a menudo el número de compuestos que se debe tener en cuenta cuando se determina la toxicidad de un producto. Por ejemplo, la composición preferiblemente tendrá un contenido de PAH total de no más de 20 TEQ B[a]P, en donde este valor de TEQ total corresponde a la suma de las TEQ para cuatro PAH específicos, a saber benzo[a]pireno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno y criseno (este se denomina el método de 4 PAH – el contenido de PAH también se puede medir basándose en 11 o 12 PAH, es decir usando los métodos de 11 PAH o 12 PAH). En particular, cuando la composición antimicrobiana se produce a partir de aceite de coco, el contenido de PAH total puede ser de hasta 20 TEQ B[a]P. Si se produce a partir de aceite de almendras de palma, preferiblemente no será mayor de 10 TEQ B[a]P. Preferiblemente, la composición tendrá un contenido de PAH total de no más de 10, más preferiblemente no más de 4, más preferiblemente no más de 1 TEQ B[a]P. Además, la composición tendrá preferiblemente un contenido de B[a]P de no más de 2, más preferiblemente no más de 1 TEQ.

Su contenido de dioxina total preferiblemente no será mayor de 1,5, más preferiblemente no más de 1 TEQ – correspondiente a la suma de las TEQ para bifenilos polifluorados (PCB), dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDD) y dibenzofuranos policlorados (PCDF). Por otra parte, la composición tendrá preferiblemente un nivel de PCB no mayor de 0,75, más preferiblemente no mayor de 0,5 TEQ, y un nivel de PCDD+PCDF preferiblemente no mayor de 0,75, más preferiblemente no mayor de 0,5 TEQ.

Las composiciones son adecuadas para el uso como agentes antimicrobianos para piensos .

El término "pienso ", según se usa en la presente, incluye todos los piensos sólidos o semisólidos así como piensos líquidos y premezclas. El pienso se mezclará con la composición mencionada anteriormente para formar un pienso que, cuando se administre, proporcione una cantidad eficaz de la composición al animal.

Los piensos (o composiciones de pienso) comprenden las composiciones antimicrobianas anteriores en una cantidad de 0,05 a 10% en peso, preferiblemente en una cantidad de 0,2 a 5% en peso, aún más preferiblemente en una cantidad de 0,3 a 2% en peso, por ejemplo en una cantidad de 0,5 s 1% en peso.

Además de la composición antimicrobiana, los piensos pueden comprender además uno o más de otros ingredientes activos. Estos pueden incluir cualquier material que se pueda añadir al pienso para mejorar la salud, la actividad y/o el bienestar del animal. Ejemplos de tales ingredientes se mencionan en "2006 Feed Additive Compendium" y "Handbook of Feed Additives 2006".

Las composiciones de pienso se pueden usar, por ejemplo, para equinos (tales como caballos), óvidos (tales como corderos y ovejas) y bóvidos (tales como vacas), pero serán particularmente adecuados para crías (p. ej. terneros), porcinos (tales como cerdos y lechones), conejos, aves de corral (tales como pollos, pavos, patos, faisanes y codornices), animales domésticos (tales como gatos y perro) y animales acuáticos (tales como peces y camarones).

Las composiciones antimicrobianas, y los piensos que las comprenden, se pueden usar para mejorar la eficacia del pienso y/o mejorar el crecimiento y/o reducir la mortalidad en los animales. La eficacia del pienso es un término generalmente conocido en la especialidad y se refiere a una relación de peso de alimento ingerido/aumento de peso de un animal. La mejora de la eficacia del pienso es una disminución global de dicha relación.

Crecimiento y mejorar el crecimiento son términos generalmente conocidos en la especialidad y se refieren a incrementos en cualquiera, o ambos, del peso y el tamaño (p. ej., altura, anchura, diámetro, circunferencia, etc.) .

Crecimiento se puede referir a un incremento en la masa (p. ej., peso o tamaño) de todo el animal o de un tejido particular (p. ej., tejido muscular en general o un músculo específico). Alternativamente, crecimiento puede indicar un incremento relativo en la masa de un tejido en relación con otro, en particular, un incremento en el tejido muscular con relación a otros tejidos (p. ej., tejido adiposo).

Reducir la mortalidad se refiere a incrementar la capacidad de supervivencia o disminuir el grado de mortalidad en animales después del parto o la eclosión.

Cantidad eficaz se refiere a cantidades de administración de la composición antimicrobiana para proporcionar un crecimiento mejorado, una eficacia del pienso mejorada y/o una mortalidad reducida. Además, tal cantidad y grados no deben de dar como resultado episodios adversos en el animal tratado. Como entenderán los familiarizados con la especialidad, las cantidades y los grados variarán dependiendo de un número de factores. Estos factores incluyen, por ejemplo, el tipo de animal que se trate, su peso y estado físico general y el régimen de dosificación. Los intervalos para el grado de administración de la composición antimicrobiana son de aproximadamente 1 a aproximadamente 3.000, deseablemente de 10 a 1.000, y más deseablemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 500 mg/kg de peso del animal. Estas cantidades se han de administrar normalmente todos los días durante al menos 7 días, al menos 2 semanas, al menos 30 días, más de 60 días, más de 100 días, o durante la totalidad o una porción sustancial de la vida del animal.

55

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una composición antimicrobiana, comprendiendo el método la etapa de escindir un aceite láurico refinado para obtener una composición que comprende 90% en peso o más de ácidos grasos libres, caracterizado por que el aceite refinado es un aceite que se ha puesto en contacto con carbono activado.
- 5 2. Un método según la reivindicación 1, caracterizado por que el aceite refinado es un aceite que se ha desengomado, decolorado y desodorizado.
3. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la etapa de escisión se selecciona de hidrólisis química y escisión enzimática
- 10 4. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el aceite láurico se selecciona de aceite de coco, aceite de almendras de palma y sus mezclas.