

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 503**

51 Int. Cl.:

**A23K 20/111** (2006.01)

**A23K 50/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.02.2007 PCT/EP2007/001471**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.09.2007 WO07104407**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2007 E 07703528 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017 EP 1993375**

54 Título: **Uso novedoso de composiciones nutracéuticas en pienso para animales**

30 Prioridad:

**10.03.2006 EP 06004899**

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

**03.08.2017**

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)**

**Het Overloon 1**

**6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**GUGGENBUHL, PATRICK y**

**SIMOES-NUNES, CARLOS**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 628 503 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

Uso novedoso de composiciones nutracéuticas en pienso para animales

5 La presente invención se refiere a un uso novedoso de una composición nutracéutica para animales, especialmente cerdos, que comprende como principio activo ácido benzoico o derivados del mismo.

Ejemplos específicos de derivados de ácido benzoico que pueden dar lugar a ácido benzoico *in vivo* son los benzoatos de metales alcalinos, de metales alcalinotérreos y de amonio.

10 El término "nutracéutica" tal como se usa en el presente documento denota una utilidad en el campo de aplicación tanto nutricional como farmacéutico. Por tanto, las composiciones nutracéuticas pueden usarse como pienso completo para animales (dieta), como suplemento al pienso para animales y como formulaciones farmacéuticas para su aplicación enteral o parenteral, que pueden ser formulaciones sólidas o formulaciones líquidas.

15 Por el documento EP-A-0 683 985 se conoce que pueden usarse composiciones de pienso para animales que comprenden ácido benzoico o sales del mismo para minimizar la emisión de amoniaco odorífero a partir de residuos orgánicos, especialmente excrementos de animales y estiércol. Se conoce además que la adición de ácido benzoico a la dieta de lechones destetados mejora el rendimiento zootécnico de los animales.

20 Por el documento US2003/0114435 también se conoce que algunos derivados de ácido benzoico son útiles para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades óseas tales como la osteoporosis.

25 Finalmente, por Broulik *et al.* (Hormone and Metabolic Research, vol. 35, n.º 9, págs. 527-531, 2003) se conoce que el benzoato de estradiol es útil para aumentar la resistencia y la mineralización óseas en ratas.

30 Se ha descubierto ahora sorprendentemente que además de la función anterior, el ácido benzoico y las sales del mismo tienen la ventaja de poder mejorar la fortaleza ósea en animales, pudiendo más precisamente aumentar la resistencia y la mineralización óseas, lo que tiene un efecto significativo sobre el estado de salud general del animal.

El término "resistencia ósea" tal como se usa en el presente documento indica la fuerza máxima medida en Newtons (N) necesaria para romper el hueso determinada mediante una máquina de compresión.

35 El término "mineralización ósea" tal como se usa en el presente documento indica el porcentaje de ceniza tras la incineración del hueso en comparación con la materia seca (DM, *dried matter*) ósea. La materia seca se define como el peso de la muestra de hueso tras 24 horas en un horno de secado en comparación con el peso inicial de la muestra.

40 Por consiguiente, la presente invención se refiere al uso de ácido benzoico o de un derivado de ácido benzoico que puede dar lugar a ácido benzoico libre *in vivo* en la fabricación de una composición nutracéutica para aumentar la resistencia y la mineralización óseas en animales, especialmente cerdos.

45 El ácido benzoico o un derivado del mismo que puede dar lugar a ácido benzoico *in vivo* se administra a los animales como componente de una composición nutracéutica que se suministra de manera convencional a los animales. Por tanto, el ácido benzoico o dicho derivado puede administrarse de manera adecuada a los animales como componente del pienso para animales o en su agua de bebida.

50 La cantidad de ácido benzoico o de un derivado del mismo que puede dar lugar a ácido benzoico *in vivo* administrada al animal está en el intervalo del 0,001 - 5% basado en el peso total de cada pienso suministrado al animal. Sin embargo, esta cantidad puede ser mayor si la función del ácido benzoico o de dicho derivado es también controlar el pH de los excrementos del animal al que se le suministra una dieta de este tipo con el fin de suprimir la emisión de amoniaco desde los excrementos. Tales cantidades mayores se limitan de manera adecuada a un máximo de aproximadamente el 10% basado en la composición de pienso para animales total.

55 El ácido benzoico o el derivado del mismo que puede dar lugar a ácido benzoico *in vivo* se usa en una cantidad suficiente para proporcionar una dosificación diaria de 200 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 600 mg por kg de peso corporal del sujeto al que se le va a administrar.

60 El uso según la invención consigue en el animal los siguientes parámetros de fortaleza ósea: una resistencia ósea de al menos 500 N medida con el metacarpiano y/o una mineralización ósea de al menos el 60% de ceniza en comparación con la materia seca (DM) ósea. En una realización preferida, el pienso comprende ácido benzoico en una cantidad suficiente para conseguir en el animal los siguientes parámetros de fortaleza ósea: una resistencia ósea de al menos 550 N, preferiblemente de 590 a 650 N medida con el metacarpiano.

65 Una formulación típica para una composición de pienso para animales se muestra en la tabla 1 a continuación, en la que se administraron a cerdos todas las cantidades mostradas en % en peso:

Tabla 1

Ingredientes	%
Harina de carne (58% de proteína bruta)	3,20
Melaza	5,00
Trigo	5,90
Harina de soja (45% de proteína bruta)	15,10
Tapioca (66% de almidón)	35,50
Harinillas de trigo	15,00
Grasa animal	3,30
Caliza	0,74
Hidrocloruro de lisina (98%)	0,06
Premezcla de vitaminas	0,50
Oligoelementos	0,50
Harina de girasol	12,20
Cloruro de amonio	2,00
Benzoato de amonio	1,00

5 Por tanto puede usarse ácido benzoico o un derivado del mismo que puede dar lugar a ácido benzoico *in vivo* en combinación con ingredientes convencionales presentes en una composición de pienso para animales (dieta) tal como carbonatos de calcio, electrolitos tales como cloruro de amonio, proteínas tales como harina de soja, trigo, almidón, harina de girasol, maíz, carne y harina de huesos, aminoácidos, grasa animal, vitaminas y oligoelementos.

10 En una composición de este tipo, la razón del electrolito con respecto al ácido benzoico o dicho derivado está de manera adecuada en el intervalo de desde 0,5 : 1 hasta 5 : 1 p/p, preferiblemente desde 1,5 : 1 hasta 3 : 1 p/p.

15 El ácido benzoico o un derivado del mismo que puede dar lugar a ácido benzoico *in vivo* es particularmente eficaz para mejorar la digestibilidad de las proteínas y la asimilación de aminoácidos y nitrógeno en animales tales como aves de corral, cerdos o ganado vacuno, especialmente cerdos.

La presente invención se ilustra adicionalmente con referencia al siguiente ejemplo, que muestra los efectos del ácido benzoico sobre la digestibilidad aparente ileal de nitrógeno, energía y aminoácidos en los lechones sometidos a anastomosis ileorrectal.

20 Se usaron sesenta y cuatro lechones destetados Large-White x Landrace x Piétrain que tenían un peso corporal inicial de 8,5±1,11 kg. Los animales se asignaron a dos grupos iguales (A1 y B1) y se alojaron en jaulas en subgrupos de 6 animales cada uno en una sala de ambiente controlado. Cada jaula tenía un suelo de alambre soldado recubierto con plástico y estaba equipada con 2 boquillas para agua y 2 cebadores de acero inoxidable. La temperatura de la sala era inicialmente de 27°C y semanalmente se redujo aproximadamente 2°C hasta los 21-22°C.

25 El porcentaje de humedad ambiental a lo largo de todo el experimento fue del 50%. Los animales se alimentaron con la dieta basal (grupo A1) o la dieta A con adición del 0,5% de ácido benzoico (VevoVital®, DSM Nutritional Products Ltd, Suiza) (grupo B1). Ambas dietas estaban en forma de puré. La composición de las dietas y la concentración de ácido benzoico en la dieta B1 se presentan en la tabla 1. La dieta basal A1 se formuló para cumplir con los requisitos de los animales según Henry *et al.* (1989, *L'alimentation des animaux domestiques - porc, lapin, volaille*, 2ª edición, INRA, Paris) y NRC (1998), publicación que se incorpora al presente documento como referencia.

30

Tras la observación posterior al destete se dividieron los animales de cada grupo en 2 grupos iguales de 16 animales cada uno y se alojaron en jaulas con cercado de suelo en subgrupos de 4 animales cada uno en una sala de ambiente controlado durante un periodo de observación de 91 días. Cada cercado tenía un suelo de alambre soldado recubierto con plástico y estaba equipado con dos boquillas para agua y cuatro cebadores individualizados de acero inoxidable. La temperatura de la sala era de 21-22°C y el porcentaje de humedad era del 50%. A los cerdos que ingerían durante la fase posterior al destete la dieta sin ácido benzoico se les alimentó con la dieta basal (grupo A2) o la dieta A2 suplementada con el 1% de ácido benzoico (grupo B2). Los cerdos a los que se les alimentó durante la fase posterior al destete con la dieta suplementada con el 0,5% de ácido benzoico recibieron la dieta A2 suplementada con el 0,5% de ácido benzoico (grupo C2) o la dieta A2 suplementada con el 1% de ácido benzoico (grupo D2). La composición de las dietas y la concentración de ácido benzoico en las dietas B2, C2 y D2 se presentan en la tabla 2. Todas las dietas se suministraron en forma de puré. La dieta basal A2 se formuló para cumplir con los requisitos de los animales según Henry *et al.* (1989) y NRC (1998). La determinación de la concentración de ácido benzoico se realizó según un método convencional.

35

40

45 Al final de la observación se sacrificaron todos los animales tras electronarcosis para la determinación de la resistencia y la mineralización óseas. Los huesos cogidos fueron el metacarpiano externo e interno derecho. Se prepararon muestras de cada uno de los huesos cogidos inmediatamente después del sacrificio. Tras una retirada cuidadosa del tejido blando, se obtuvo una sección de diáfisis aserrando cada hueso. Las secciones obtenidas de

50 aproximadamente 3,5 cm de longitud se sometieron inmediatamente a compresión con el fin de determinar la fuerza

en Newtons necesaria para romperlas (fuerza de rotura máxima en el punto de fractura). Las mediciones se realizaron con una máquina de compresión LR10K, usando un captador de fuerza XLC/10K/A1 y un dispositivo de compresión TH23-196/AL (Lloyd Instruments, Fareham, R.U.). Entonces se secaron los huesos rotos en un horno de secado a 105°C durante 24 horas y se usó la materia seca (DM) para la determinación del contenido de ceniza, que se midió tras una incineración de 48 h a 550°C en un horno de mufla.

El tratamiento estadístico de los resultados implicó el cálculo de la media y de la desviación estándar así como un análisis de la varianza jerárquico bifactorial. El modelo matemático fue:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_{ij} + Z_{ijk},$$

donde  $\mu$  es la media,  $A_i$  es el efecto de la dieta,  $B_{ij}$  es el efecto combinado de la dieta y el animal o el cercado y  $Z_{ijk}$  es el término residual. El análisis de la varianza fue seguido por un test de rango múltiple de Duncan cuando se observó un efecto  $A_i$  significativo sin efecto  $B_{ij}$  (*Statistical methods*, 8ª edición, Iowa University Press, Ames, Snedecor y Cochran, 1989). Estos cálculos se realizaron usando el sistema de análisis estadístico (SAS, Statistical Analysis System, 1990).

La concentración de ácido benzoico observada en el pienso suplementado usado en ambas fases del experimento estaba muy de acuerdo con los niveles de inclusión programados (tablas 1 y 2).

Los animales no presentaron ningún síntoma de enfermedad durante el experimento. Además, no se observó mortalidad natural y por tanto todos los lechones iniciales estuvieron presentes durante toda la duración del experimento.

La resistencia ósea aumentó significativamente en todos los grupos suplementados (tabla 3). La resistencia media de los huesos de los animales suplementados, grupos B2, C2 y D2, representó respectivamente el 128, el 127 y el 122% de la de los controles. El contenido de ceniza de los huesos de los cerdos que ingirieron suplementos de ácido benzoico también aumentó (tabla 6). El contenido de ceniza era significativamente mayor en los animales de los grupos B2 y D2 que en los controles. El de los animales del grupo C2 era numéricamente mayor ( $P < 0,07$ ) que el de los controles.

Estos resultados muestran claramente que la ingestión a largo plazo de ácido benzoico de los cerdos fue seguida por un aumento significativo de la resistencia y la mineralización óseas.

Tabla 1: Composición y características de las dietas experimentales usadas durante la fase posterior al destete

Ingredientes (%)	A1	B1
Harina de soja		7,4
Trigo		15
Cebada		29,4
Concentrado de patata		8
Maíz		10
Salvado de trigo		1,6
Harina de avena		10
Pulpa de remolacha		5,5
Melaza		3,5
Aceite de soja		2,7
Minerales, vitaminas y aminoácidos sintéticos		6,9
Energía digestible MJ/kg		13,9
Proteína bruta (%)		17,7
Grasa bruta (%)		4,9
Lisina (%)		1,20
Metionina+cistina (%)		0,75
Fósforo (%)		0,60
Calcio (%)		0,75
% de ácido benzoico	-	0,5
% de ácido benzoico en el pienso	-	0,49±0,02(1)
% de ácido benzoico del objetivo	-	98
(1) - Media±desviación estándar de 4 mediciones.		

Tabla 2: Composición y características de las dietas experimentales usadas durante la fase de crecimiento-engorde

Ingredientes (%)	A2	B2	C2	D2
Maíz			53	
Harina de soja			18,2	
Cebada			13	
Harina de avena			6	
Salvado de trigo			5,4	
Aceite de soja			1	
Minerales, vitaminas y aa sintéticos			3,4	
Energía digestible - MJ / kg			13,31	
Proteína bruta - N x 6,25			15,5	
Lisina - %			0,96	
Metionina + cistina (%)			0,54	
Fósforo (%)			0,41	
Calcio (%)			0,66	
% de ácido benzoico	-	1	0,5	1
% de ácido benzoico en el pienso	-	0,99± 0,05(1)	0,51± 0,02(1)	0,94± 0,04(1)
% de ácido benzoico del objetivo	-	99	102	94
(1) - Media±desviación estándar de 4 mediciones.				

Tabla 3: Efectos de la adición a la dieta que comprende ácido benzoico sobre la resistencia y la mineralización óseas del cerdo en crecimiento-engorde.

A2 – el 0% de ácido benzoico durante 32 días y el 0% de ácido benzoico durante 91 días, B2 – el 0% de ácido benzoico durante 32 días y el 1% de ácido benzoico durante 91 días, C2 – el 0,5% de ácido benzoico durante 32 días y el 0,5% de ácido benzoico durante 91 días y D2 – el 0,5% de ácido benzoico durante 32 días y el 1% de ácido benzoico durante 91 días				
Variable	A2	B2	C2	D2
<b>Resistencia (Newtons en el punto de rotura)</b>				
Metacarpianos derechos	490±104 <sup>(1)ac</sup> (100)	625±163 <sup>(2)bd</sup> (128)	621±172 <sup>(2)d</sup> (127)	597±192 <sup>(2)d</sup> (122)
<b>Mineralización (% de ceniza en la DM)</b>				
Metacarpianos derechos	59,08±1,40 <sup>(1)c</sup> (100)	60,26±1,31 <sup>(1)d</sup> (102)	60,06±1,33 <sup>(1)cd*</sup> (102)	60,14±1,09 <sup>(1)d</sup> (102)
Animales: cerdos en crecimiento con un peso corporal inicial de 21,7±2,17 kg; Dieta a base de: maíz, cebada y harina de soja; (1) - Media±desviación estándar de 32 mediciones; a, b, c – Valores medios en una fila con superíndice diferentes eran significativamente diferentes: a - b P < 0,01, c - d P < 0,05; ** - P < 0,07				

**REIVINDICACIONES**

- 5 1.- Uso de ácido benzoico o un benzoato de metal alcalino o de metal alcalinotérreo o de amonio en la fabricación de una composición nutracéutica para aumentar la resistencia y la mineralización óseas en animales, en el que dicho ácido benzoico o un benzoato de metal alcalino o de metal alcalinotérreo o de amonio se usa en una cantidad suficiente para proporcionar una dosificación diaria de 200 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 600 mg por kg de peso corporal del sujeto al que se le debe administrar, consiguiendo en el animal los siguientes parámetros de fortaleza ósea: una resistencia ósea de al menos 500 N medida con el metacarpiano y/o una mineralización ósea de al menos el 60% de ceniza en comparación con la materia seca (DM) ósea.
- 10 2.- Uso según la reivindicación 1, en el que el pienso comprende ácido benzoico en una cantidad suficiente para conseguir en el animal los siguientes parámetros de fortaleza ósea: una resistencia ósea de al menos 550 N, preferiblemente de 590 a 650 N medida con el metacarpiano.