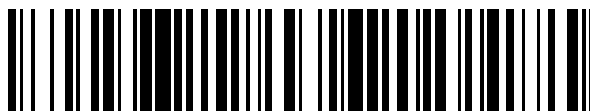


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 743 682**

51 Int. Cl.:

A23K 10/12 (2006.01)

A23K 10/30 (2006.01)

A23K 10/38 (2006.01)

A23K 20/147 (2006.01)

A23K 50/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2010 PCT/US2010/061560**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11084794**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2010 E 10842721 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2515679**

54 Título: **Procedimientos para modificar la digestión de proteínas de alimentos para rumiantes**

30 Prioridad:

21.12.2009 US 288656 P

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

20.02.2020

73 Titular/es:

**ARCHER-DANIELS-MIDLAND COMPANY (100.0%)
4666 Faries Parkway
Decatur, IL 62526, US**

72 Inventor/es:

**DOANE, PERRY;
CECAVA, MIKE y
DUNN, JAMES L.**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 743 682 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

Procedimientos para modificar la digestión de proteínas de alimentos para rumiantes

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a métodos para aumentar la producción en un animal rumiante disminuyendo la fermentación ruminal de proteínas y aumentando así la disponibilidad postruminal de proteína y aminoácidos para el animal rumiante, específicamente proporcionando un procedimiento para aumentar la proteína no degradada en el rumen en un alimento para animales.

Antecedentes de la invención

Las especies rumiantes pueden utilizar de manera eficaz los ingredientes de la dieta que las especies monogástricas utilizan poco. Esto sucede porque los rumiantes pueden fermentar los ingredientes de la dieta en el compartimento retículo-rumen de su complejo estómago de rumiante. La digestión de proteína en el rumen ha sido reconocida durante mucho tiempo como un factor importante en la eficacia productiva de la formulación de la dieta de rumiantes.

Los rumiantes satisfacen sus requisitos de energía y proteína mediante una combinación de fermentación ruminal y digestión de proteína que ha escapado de la fermentación ruminal. La producción de proteína y energía mediante fermentación ruminal frente al escape ruminal seguido por la digestión intestinal y la absorción varía ampliamente entre los piensos. El valor alimenticio de un ingrediente de la dieta también puede variar con los niveles de productividad animal y/o la formulación o composición de la dieta animal.

A medida que aumentan los niveles de productividad animal, también lo hacen los requisitos nutricionales de aminoácidos, proteína metabolizable y energía. A niveles de productividad bajos, los requisitos nutricionales se satisfacen más fácilmente mediante productos de fermentación ruminal. A niveles de productividad elevados, la eficacia bruta de la digestión de nutrientes del rumen disminuye. En esos momentos, la síntesis de proteínas mediante fermentación ruminal puede no satisfacer las demandas de los animales de proteína metabolizable. Este déficit de producción de proteína ruminal aumenta la demanda de proteína de derivación ruminal. La proteína de derivación puede luego metabolizarse mediante las porciones postruminales del sistema digestivo de rumiantes.

La investigación sobre los niveles de productividad aumentados en rumiantes se ha centrado en la cantidad y la calidad de los nutrientes que escapan de la fermentación ruminal. El escape de la proteína en el rumen puede lograrse procesando ingredientes de la dieta, alterando así la estructura física de la proteína en el mismo y disminuyendo la fermentación ruminal, o influyendo en las condiciones del rumen de manera que se aumente el contenido de proteínas de derivación ruminal de todos los ingredientes de la dieta.

A medida que los niveles de producción en animales rumiantes continúan aumentando, también hay mayores requisitos de proteína y aminoácidos metabolizables. Si bien existen formulaciones de la dieta que aumentan el contenido de proteínas de derivación ruminal en el pienso para animales, sigue habiendo una demanda de alimentos mejorados para animales que proporcionen además niveles aumentados de proteínas que escapan de la fermentación ruminal.

El documento US 5.585.134 da a conocer un procedimiento para la preparación de un producto de la dieta de rumiantes que comprende una combinación de sal de ácido graso y proteína desnaturalizada.

El documento US 2006/0204554 da a conocer composiciones de la dieta y métodos para aumentar la producción en un animal rumiante, disminuyendo la fermentación ruminal de proteína y aumentando así la disponibilidad postruminal de proteína y aminoácidos para el animal rumiante.

Sumario

La presente invención se refiere a un procedimiento para aumentar la proteína no degradada en el rumen en un alimento para animales tal como se define en la reivindicación 1.

En tal procedimiento, la composición que contiene proteínas tiene una cantidad aumentada de proteína no degradada en el rumen después de que el sólido cristalino alcalino reaccione con el agua.

Se da a conocer también una composición de alimento para animales que comprende una composición que contiene proteínas que tiene al menos una porción de grupos amino de aminoácidos de la composición que contiene proteínas que se hicieron reaccionar con un grupo carbonilo de un azúcar; e hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio o una combinación de los mismos.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la cantidad de proteína no degradada en el rumen en un aspecto de la presente divulgación.

La figura 2 muestra la cantidad de proteína no degradada en el rumen en otro aspecto de la presente divulgación.

5 La figura 3 muestra la cantidad de proteína no degradada en el rumen en un aspecto adicional de la presente divulgación.

10 La figura 4 muestra la cantidad de proteína no degradada en el rumen en aún un aspecto adicional de la presente divulgación.

La figura 5 muestra el efecto del tratamiento con calor húmedo con CaO, percarbonato o peróxido sobre tiocianatos y nitrilos en harina de colza en un aspecto de la presente divulgación.

15 **Descripción detallada**

La presente invención se refiere a un procedimiento para proporcionar composiciones mejoradas de alimento para animales que aumentan la cantidad de materia proteica que pasa a través del rumen de un animal rumiante, aumentándose así la cantidad de materia proteica disponible para la digestión postruminal.

20 Se dan a conocer procedimientos para producir composiciones de alimento para animales según la invención. Se dan a conocer también diversos métodos para derivar la digestión de proteína ruminal y aumentar la producción en un animal rumiante.

25 Se da a conocer también en el presente documento una composición mejorada de alimento para animales que comprende al menos uno de un alimento proteico, un subproducto de fermentación, un compuesto que produce la formación de pH alcalino o cualquier combinación de los mismos. Estas composiciones pueden tratarse con calor húmedo. Tales composiciones mejoradas aumentan la cantidad de proteína que pasa a través del rumen y hacia las últimas partes del tubo digestivo en un rumiante tras alimentar al rumiante con la composición mejorada en comparación con una composición de alimento para animales tratada con calor húmedo no mejorada.

35 La presente invención se basa en el descubrimiento de que puede usarse una reacción química para tratar composiciones de alimento para animales que comprenden piensos proteicos y/o subproductos de fermentación que tienen cantidades aumentadas de materia proteica que escapa de la fermentación dentro del rumen. La reacción química está catalizada por un compuesto o combinaciones de sólidos cristalinos alcalinos. Tales compuestos o sólidos cristalinos alcalinos incluyen, pero no se limitan a, sólidos cristalinos alcalinos de óxido de calcio, óxido de magnesio, cal, percarbonatos metálicos alcalinos, percarbonato de sodio, perboratos metálicos alcalinos, un percarbonato o combinaciones de cualquiera de los mismos. En el procedimiento de la invención, se usa óxido de calcio cristalino. El uso del compuesto puede permitir el control del pH y facilitar la alteración de la matriz de fibra del pienso proteico y/o producto de fermentación. Una observación sorprendente es el potencial de usar sólidos cristalinos alcalinos para controlar el pH en comparación con el uso de agentes cáusticos líquidos, tales como hidróxido de sodio. Además, la reacción química iniciada mediante el método de la presente divulgación puede producirse en condiciones de baja humedad tales como, por ejemplo, con no más del 10% de agua añadida a la composición. En el procedimiento de la presente invención, sin embargo, la composición se ajusta al 25% de adición de humedad. Por tanto, la reacción química puede permitir un procedimiento que produzca un producto con mayor proteína no degradada en el rumen usando menos agua, y por tanto, menos coste. De manera adicional, dado que la reacción química es exotérmica, puede usarse un calor más bajo para crear el producto con mayor proteína no degradada en el rumen para un ahorro adicional de costes.

50 Los sólidos cristalinos alcalinos que pueden usarse en los procedimientos dados a conocer incluyen, pero no se limitan a, compuestos que contienen un enlace iónico entre un elemento mineral y un átomo de oxígeno. Tales sólidos cristalinos alcalinos son de naturaleza higroscópica y se caracterizan por una reacción vigorosa con el agua, formándose así iones de hidróxido. El hidróxido se forma en presencia de agua tal como por la siguiente reacción: $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}(\text{OH})_2$, pero tal formación puede revertirse calentando para separar la humedad. Los ejemplos no limitativos de sólidos cristalinos alcalinos incluyen, pero no se limitan a, óxido de calcio, óxido de magnesio, cal y combinaciones de cualquiera de los mismos. En el procedimiento de la presente invención, sin embargo, se usa óxido de calcio cristalino.

60 Los sólidos cristalinos alcalinos tienen una amplia variedad de usos industriales y agrícolas. Tales sólidos cristalinos alcalinos pueden usarse: en el tratamiento de aguas y aguas residuales para reducir la acidez, para ablandar, como floculante o para eliminar fosfatos u otras impurezas; en fabricación de papel para disolver la lignina, como coagulante y en blanqueamiento; en agricultura para mejorar los suelos ácidos; y en el control de la contaminación en depuradores de gas para desulfurar gases residuales o para tratar efluentes líquidos. Los sólidos cristalinos alcalinos pueden usarse también en cerámica, pinturas y la industria alimentaria, donde los sólidos cristalinos alcalinos se usan junto con agua para calentar elementos como MRE (comidas preparadas) y café.

- Tal como se usa en el presente documento, el término “materia proteica” incluye cualquier material que comprende proteínas que pueda alimentarse a un animal. Los ejemplos de materia proteica adecuada incluyen, pero no se limitan a, proteínas vegetales, harina de soja, harina de maíz, harina de linaza, harina de semilla de algodón, harina de canola, harina de hojas de alfalfa, la harina de cualquier grano comestible para animales, piensos basados en
- 5 leche, productos que contienen queso, subproductos de fermentación y mezclas de subproductos de fermentación, biomasa de fermentación y mezclas de biomasa de fermentación, y combinaciones de cualquiera de los mismos. El procedimiento de la presente invención usa una composición que contiene proteínas seleccionadas del grupo que consiste en harina de canola y harina de soja.
- 10 Los subproductos de fermentación o las biomasa de fermentación de la presente divulgación pueden ser de origen eucariota o procariota. Tal como se usa en el presente documento, el término “subproducto de fermentación” incluye cualquier subproducto sobrante de un procedimiento de fermentación. El subproducto de fermentación o la biomasa de fermentación puede comprender la masa celular de una fermentación y/o los medios en los que se hizo crecer la masa celular y puede comprender el sistema enzimático del organismo viable y sus metabolitos concomitantes
- 15 producidos durante el procedimiento de fermentación y no eliminados durante el procedimiento de separación. Los ejemplos no limitativos de fermentaciones de las que puede obtenerse el subproducto o la biomasa de fermentación incluyen, pero no se limitan a, fermentación de etanol, fermentación de ácido láctico, fermentación de aminoácidos, fermentación de astaxantina, fermentación de ácido cítrico, fermentación fúngica, fermentación de levadura o fermentación bacteriana. El subproducto o la biomasa de fermentación de la presente divulgación puede comprender
- 20 una masa celular de lisina, una masa celular de treonina, un licor madre de treonina, una biomasa de ácido láctico, una biomasa de lisina, una biomasa de ácido cítrico, una masa celular de *Corynebacterium* tal como *Corynebacterium glutamicum*, una masa celular de *Escherichia* tal como *Escherichia coli*, una masa celular de *Rhizopus* tal como *Rhizopus oryzae*, una masa celular de *Pichia* tal como *Pichia guilliermondii*, una masa celular de *Yarrowia*, una masa celular o un subproducto de *Lactobacilli*, una masa celular o un subproducto de *Saccharomyces*
- 25 tal como *Saccharomyces cerevisiae*, una masa celular o un subproducto de *Yarrowia*, una masa celular o un subproducto de *Kluyveromyces*, una masa celular o un subproducto de *Torulasporea*, o combinaciones de cualquiera de los mismos. El procedimiento de la presente invención emplea levadura *Saccharomyces cerevisiae* tal como se define en la reivindicación 1.
- 30 Un sistema para producir los productos de alimento para animales puede incluir equipos configurados para realizar el procedimiento de la presente invención. Las composiciones usadas en la presente invención pueden procesarse o tratarse con calor húmedo para aumentar el contenido de proteína no degradada en el rumen en composiciones de alimento para rumiantes en comparación con composiciones de alimento para rumiantes que no se han tratado con calor húmedo. Un procedimiento de tratamiento con calor húmedo se da a conocer en el documento de patente
- 35 estadounidense 5.824.355 o modificaciones del mismo tales como un pretratamiento de bajo calor húmedo. Alternativamente, puede obtenerse un tratamiento con calor húmedo simplificado usando un contenido de humedad deseado y usando vapor y/o líquido en combinación con un procedimiento de granulado o acondicionamiento usado en la fabricación de alimentos. El contenido de humedad puede ajustarse usando vapor, agua o líquido que contiene agua para lograr el contenido de humedad deseado.
- 40 La materia proteica y/o el subproducto de fermentación pueden digerirse o metabolizarse en las porciones postruminales del sistema digestivo del rumiante, proporcionándose así niveles adicionales de energía y proteínas aumentados para animales rumiantes en tiempos de mayor productividad. Se dan a conocer las composiciones y los métodos de fabricación de las composiciones de los aspectos de la presente divulgación. Además, se dan a conocer
- 45 también métodos para derivar la digestión de proteínas en el rumen y aumentar la producción de un animal rumiante, que comprende alimentar al animal con las composiciones de los aspectos de la presente divulgación.
- Los valores numéricos establecidos en los ejemplos específicos se informan de la manera más precisa posible. Cualquier valor numérico, sin embargo, puede contener de manera inherente determinados errores necesariamente
- 50 resultantes de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de prueba.
- En determinados aspectos de la presente divulgación, las composiciones pueden procesarse o tratarse con la reacción química inducida para aumentar el contenido de proteína no degradada en el rumen en composiciones de alimento para rumiantes cuando se compara con las composiciones de alimento para rumiantes que no se han
- 55 procesado o tratado con la reacción química.
- Sin pretender limitarse a un mecanismo particular para los aspectos de la presente divulgación, se cree que el ingrediente puede afectar la reacción de proteínas con azúcares por medio de una reacción de tipo Maillard, reduciéndose así la digestión de proteínas en el rumen y aumentándose la cantidad de materia proteica que pasa al
- 60 menos parcialmente intacta a las porciones postruminales del sistema digestivo de rumiantes.
- La reacción de Maillard, también conocida como oscurecimiento no enzimático, implica la reacción térmica entre una aldosa o una cetosa y alfa-aminoácidos o residuos de aminoácido en proteínas para proporcionar una base de Schiff resultante. Los residuos de la base de Schiff pueden sufrir un reordenamiento posterior para formar una estructura
- 65 más estable conocida como el producto Amadori. Una reacción adicional puede conducir a la formación de melanoidinas no digeribles (D. W. S. Wong, Food Chemistry and Biochemistry, en Encyclopedia of Food Science

and Technology, 2ª ed., F. J. Francis, ed., Wiley & Sons, 2000, vol. 2, págs 877-880). La utilización de las primeras etapas de la reacción de Maillard conduce a residuos de aminoácidos o proteínas que se protegen de la fermentación dentro del entorno de la microflora ruminal, y por tanto tienden a escapar de la fermentación en el rumen para metabolizarse en las porciones postruminales del sistema digestivo del rumiante.

5 Fuentes de subproducto de fermentación adecuadas para su uso en determinados aspectos no limitativos de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, tortas de etanol, tales como tortas de levadura de cerveza o levadura de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*), biomasas de levadura de destilación, biomasa de levadura propagada, tortas de ácido cítrico, biomasas de fermentaciones de ácido láctico, biomasas de fermentaciones bacterianas y biomasas de fermentaciones de aminoácidos y mezclas de cualquiera de las mismas. El
10 procedimiento de la presente invención emplea *Saccharomyces cerevisiae* tal como se define en la reivindicación 1.

Tal como se usa en el presente documento, el término "torta" significa la masa celular filtrada o centrifugada obtenida de la separación del caldo y de la masa celular. La torta puede secarse opcionalmente antes de formar la
15 composición.

En los diversos aspectos no limitativos de la presente divulgación que comprenden un subproducto de fermentación, el subproducto de fermentación puede comprender desde el 0,50% hasta el 99%, en peso, de la composición. En el procedimiento de invención, se emplea levadura *Saccharomyces cerevisiae* y se usa en una cantidad desde el 0,5
20 hasta el 1% de harina de semillas oleaginosas en una base p/p seco. En determinados aspectos no limitativos de la divulgación, la materia seca de biomasa puede comprender desde el 0,25% hasta el 5,00% de la composición en peso basándose en el peso seco de la composición. En otros aspectos no limitativos de la divulgación, la biomasa puede comprender desde el 0,50% hasta el 2,30% de la composición en peso basándose en el peso seco de la composición. La biomasa puede añadirse a la composición como biomasa húmeda. Cuando se añade una biomasa
25 húmeda a la composición, la biomasa húmeda se añade en cantidades desde el 2,5% de la humedad añadida total hasta el 35% de la humedad añadida total. La humedad añadida total puede variar desde el 10% de la humedad total añadida hasta el 45% de la humedad total añadida. La humedad total puede ser desde el 10% hasta el 25% y la biomasa húmeda puede añadirse en una cantidad desde el 2,5% hasta el 25%. En el procedimiento de la presente invención, se suspende *Saccharomyces cerevisiae* en agua destilada, se mezcla con una composición que contiene
30 proteínas y óxido de calcio cristalino de manera tal como se define en la reivindicación 1 para producir una composición, en la que los sólidos de levadura están presentes en una cantidad desde el 0,5 hasta el 1% de la harina de semillas oleaginosas en una base p/p seco. En una etapa posterior, la composición se ajusta al 25% de adición de humedad.

35 El alimento para animales de la presente divulgación que comprende el ingrediente y al menos un ingrediente alimenticio proteico puede comprender un ingrediente alimenticio proteico, tal como proteínas vegetales y de plantas, incluyendo granos y harinas de grano comestibles seleccionados del grupo que consiste en soja, harina de soja, maíz, harina de maíz, linaza, harina de linaza, semilla de algodón, harina de semilla de algodón, colza, harina de colza, proteína de sorgo y harina de canola. Otros ejemplos de ingredientes alimenticios proteicos pueden incluir;
40 maíz o un componente de maíz, tal como, por ejemplo, fibra de maíz, cáscaras de maíz, rastrojo de maíz, ensilaje, maíz molido o cualquier otra porción de una planta de maíz; soja o un componente de la soja, tal como, por ejemplo, cáscaras de soja, ensilaje de soja, soja molida o cualquier otra porción de una planta de soja; trigo o cualquier componente del trigo, tal como, por ejemplo, fibra de trigo, cáscaras de trigo, paja de trigo, trigo molido, germen de trigo o cualquier otra porción de una planta de trigo; canola o cualquier otra porción de una planta de canola, tal
45 como, por ejemplo, proteína de canola, cáscara de canola, canola molida o cualquier otra porción de una planta de canola; girasol o un componente de una planta de girasol; sorgo o un componente de una planta de sorgo; remolacha azucarera o un componente de una planta de remolacha azucarera; azúcar de caña o un componente de una planta de caña de azúcar; cebada o un componente de una planta de cebada; licor de maíz fermentado; un flujo de residuos de una instalación de procesamiento agrícola; melaza de soja; lino; cacahuetes; guisantes; avena;
50 gramíneas forrajeras y legumbres, tales como pasto de huerto, festuca y harina de hojas de alfalfa, alfalfa y trébol utilizados para ensilaje o heno, y diversas combinaciones de cualquiera de los ingredientes alimenticios establecidos en el presente documento. En el procedimiento de la presente invención, se emplea una composición que contiene proteínas que se selecciona del grupo que consiste en harina de canola y harina de soja.

55 Cuando el ingrediente proteico es de origen de colza o canola, se encontró sorprendentemente que el procedimiento reducía la cantidad de glucosinolatos y/o metabolitos secundarios de los mismos tales como tiocianatos en el alimento para animales resultante. Dado que tales glucosinolatos y metabolitos secundarios de los mismos tales como tiocianatos son antinutricionales, la reducción de tales compuestos es beneficiosa.

60 Los métodos de alimentación de un animal pueden comprender además formar la composición de alimento para animales en una forma seleccionada del grupo que consiste en una proteína tratada, un suplemento de proteína y un alimento tratado.

65 La composición de alimento para animales puede estar en la forma de un suplemento de proteína, en la que el suplemento está en una forma seleccionada del grupo que consiste en una harina, un gránulo, un bloque, un cubo, una premezcla, un abono, un aditivo y un suplemento de alimento líquido.

La alimentación del rumiante con la composición de alimento para animales puede comprender alimentar al rumiante con la composición en forma de un suplemento en una cantidad de 0,454 kg/cabeza/día a 3,18 kg/cabeza/día.

- 5 Cuando la composición de alimento para animales está en forma de una premezcla, alimentar al rumiante con la composición de alimento para animales puede comprender alimentar al rumiante con la premezcla en una cantidad de 0,09 kg/cabeza/día a 0,454 kg/cabeza/día.

10 La composición de alimento puede ser un alimento de compuestos y alimentada al rumiante en una cantidad de entre 3,18 kg/cabeza/día a 10 kg/cabeza/día.

15 Según el procedimiento, la composición puede ser cualquiera adecuada para el consumo por el animal, por ejemplo, una forma seleccionada del grupo que consiste en una harina, un gránulo, un bloque, un cubo, una premezcla, un abono, un aditivo y un suplemento de alimento líquido. La composición puede estar en forma de una harina. La composición puede estar en forma de un gránulo.

20 El procedimiento puede comprender además colocar la composición en un recipiente configurado para el envío y asociar indicios con el recipiente. Los indicios pueden comprender imágenes y/o símbolos y palabras que pueden orientar a un usuario, por ejemplo, sobre el origen de la composición, el nombre de la marca de la composición y/o sobre cómo administrar la composición a un animal.

El procedimiento puede comprender el envío del recipiente, por ejemplo, envío mediante uno o más camiones, aviones, trenes y/o barcos.

- 25 Las diversas composiciones de la presente divulgación pueden alimentarse directamente a los animales rumiantes o añadirse al alimento de los animales rumiantes como suplemento o aditivo alimenticio. Los animales rumiantes que pueden alimentarse con las composiciones de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, bovinos, ovinos y caprinos.

30 Los métodos de la presente divulgación contemplan alimentar las composiciones dadas a conocer en el presente documento a un animal rumiante, en los que la composición tiene una forma física tal como se describe a continuación. Según estas, la forma física de composiciones dentro de la presente divulgación puede ser cualquier formulación adecuada conocida en la técnica de la alimentación. Por ejemplo, las formulaciones adecuadas incluyen, pero no se limitan a, proteínas y alimentos tratados, tales como, por ejemplo, harina de soja, y como
35 suplemento de proteína en forma de una harina, un gránulo, un bloque, un cubo, un suplemento o alimento líquido, una aglomeración, una premezcla/aditivo, un mineral, una harina, una tina cocinada y una formulación de tina prensada. Los métodos y las composiciones pueden comprender un suplemento de proteína con una formulación física de una formulación de harina o gránulo que sea adecuada para el consumo directo o como aditivo para alimentación. La formulación física usada en los métodos y las composiciones puede comprender una premezcla
40 que puede mezclarse en el alimento para animales antes de su consumo por el rumiante.

La cantidad de las composiciones de la presente divulgación que puede consumirse por el animal varía dependiendo de uno o más factores, que incluyen, pero no se limitan a, uno o más de especie animal, edad, tamaño, sexo, salud y niveles de producción.

45 Cuando la composición está en forma de una harina o un suplemento de proteína granulado, el método puede comprender alimentar las composiciones de la presente divulgación a un rumiante en una cantidad de desde 0,454 kg hasta 3,18 kg por cabeza por día (kg/cabeza/día) (de 1,0 a 7,0 libras/cabeza/día). Cuando la composición se utiliza como una premezcla, un método no limitativo puede comprender añadir las composiciones de la presente
50 divulgación al alimento para animales, de tal manera que la cantidad de las composiciones consumidas por el rumiante es desde 0,0454 hasta 0,454 kg/cabeza/día (de 0,1 libras a 1,0 libras/cabeza/día). El método puede comprender añadir la composición en una cantidad de tal manera que la cantidad de composiciones consumidas por el rumiante es desde 0,091 kg hasta 0,136 kg/cabeza/día (de 0,2 a 0,3 libras/cabeza/día).

- 55 La invención se explica además mediante el uso de los siguientes ejemplos y realizaciones.

Ejemplos

60 Los siguientes ejemplos ilustran diversas realizaciones no limitativas de las composiciones dentro de la presente divulgación y no son restrictivas de la invención tal como se describe o se reivindica de otra manera en el presente documento. A menos que se indique lo contrario, todos los valores porcentuales son porcentajes en peso. A menos que se indique lo contrario, el contenido de proteína no degradada en el rumen de las composiciones se determinó pesando las composiciones en bolsas de dacrón porosas e incubando las bolsas en los rúmenes de vacas lecheras en lactancia durante un periodo de dieciséis horas. El contenido de proteínas del residuo restante después de dicha
65 incubación se definió como la fracción de proteína no degradada en el rumen de la composición.

Ejemplo 1. (no según la invención)

En este ejemplo, se determinó el contenido de derivación ruminal de harina de soja tratada con óxido de calcio (CaO). Se mezclaron las muestras de harina de soja durante tres minutos en un mezclador Hobart pequeño con cantidades variables de óxido de calcio y agua al 25% (vol/p). Una vez mezclados, se pesaron las mezclas de harina de soja/óxido de calcio en platos de vidrio de 20,32 cm x 20,32 cm (8"x8"), se cubrieron con lámina de aluminio y se colocaron en un horno a 105°C durante cuatro horas. Después de las cuatro horas, se retiró la lámina, se pesaron las mezclas de harina de soja/óxido de calcio, se transfirieron a un horno a 50°C, se secaron hasta una humedad del 12% y se evaluó el contenido de proteína no degradada en el rumen. Se añadió óxido de calcio a las muestras de harina de soja al 0, al 0,25, al 0,5, al 1,0 y al 2,0% en una base p/p de materia seca, y todas las muestras se produjeron en dos días separados.

Los resultados del tratamiento con óxido de calcio sobre la producción de proteína no degradada en el rumen se presentan en la figura 1. Hubo un patrón lineal de proteína no degradada en el rumen aumentada con la adición de óxido de calcio aumentada. La inclusión de óxido de calcio al 1 y al 2% aumentó la proteína no degradada en el rumen por encima del tratamiento con calor húmedo por sí mismo. La tasa de la proteína no degradada en el rumen pareció aumentar ligeramente con óxido de calcio al 2%, con un aumento significativo en la proteína no degradada en el rumen después de dos horas a 105°C y los valores de proteína no degradada en el rumen excedieron el estándar después de las cuatro horas tal como se muestra en la figura 2.

Ejemplo 2. (no según la invención)

En otro ejemplo, se determinó el contenido de derivación ruminal de harina de soja tratada con óxido de calcio, percarbonato de sodio y una combinación de óxido de calcio y percarbonato de sodio. Se mezclaron las muestras de harina de soja durante tres minutos en un mezclador Hobart pequeño con los siguientes tratamientos: óxido de calcio al 1% y agua al 25% (vol/p); percarbonato de sodio al 1% y agua al 25% (vol/p); y una combinación de óxido de calcio al 0,5%/percarbonato de sodio al 0,5% y agua al 25% (vol/p). Una vez mezclados, se pesaron las mezclas de harina de soja en platos de vidrio de 20,32 cm x 20,32 cm (8"x8"), se cubrieron con lámina de aluminio y se colocaron en un horno a 105°C durante cuatro horas. Después de las cuatro horas, se retiró la lámina, se pesaron las mezclas de harina de soja, se transfirieron a un horno a 50°C, se secaron hasta una humedad del 12% y se evaluó el contenido de proteína no degradada en el rumen.

La figura 3 muestra los efectos de los tratamientos sobre la proteína no degradada en el rumen. Cada uno del tratamiento con óxido de calcio al 1%, el tratamiento con percarbonato de sodio al 1% o la combinación de los mismos aumentó la cantidad de proteína no degradada en el rumen en la harina de soja en comparación con la harina de soja calentada (hSBM).

Ejemplo 3. (no según la invención)

Se evaluaron los efectos del óxido de calcio sobre la formación de proteína no degradada en el rumen en harina de soja y harina de canola. Se mezclaron las muestras de harina de soja o harina de canola durante tres minutos en un mezclador Hobart pequeño con los siguientes tratamientos: óxido de calcio al 0,5% y agua al 25% (vol/p); óxido de calcio al 0,5% y agua al 15% (vol/p); óxido de calcio al 1,0% y agua al 25% (vol/p); óxido de calcio al 1,0% y agua al 15%; óxido de calcio al 2,0% y agua al 25% (vol/p); óxido de calcio al 2,0% y agua al 15%. Una vez mezcladas, se pesaron las mezclas de harina de soja en platos de vidrio de 20,32 cm x 20,32 cm (8"x8"), se cubrieron con lámina de aluminio y se colocaron en un horno a 105°C durante cuatro horas. Después de las cuatro horas, se retiró la lámina, se pesaron las mezclas de harina de soja, se transfirieron a un horno a 50°C, se secaron hasta una humedad del 12% y se evaluó el contenido de proteína no degradada en el rumen.

La cantidad de proteína no degradada en el rumen se muestra en la figura 4. Para la harina de soja, el contenido de proteína no degradada en el rumen aumentó con el aumento de la concentración de óxido de calcio y aumentó más en el caso de agua al 25% en comparación con el de agua al 15%. Se potenció el contenido de proteínas de harina de canola no degradada mediante la adición más baja de óxido de calcio, y los tratamientos que tenían agua al 15% fueron iguales a los tratamientos que tenían un contenido de agua superior al 25%.

Ejemplo 4. (no según la invención)

Se evaluaron los efectos del óxido de calcio sobre la formación de proteína no degradada en el rumen en harina de canola y harina de soja.

Se mezcló óxido de calcio (cal) con harina de soja y harina de canola a los niveles indicados en la tabla 1, y se añadió agua destilada cuando se necesitaba a los niveles indicados en la tabla 1. Se mezclaron las composiciones de harina de soja o harina de canola y óxido de calcio durante tres minutos en un mezclador Hobart. Se pesaron y se colocaron las composiciones de harina de soja o harina de canola en platos de vidrio de 20,32 cm x 20,32 cm (8"x8"), se cubrieron con lámina de aluminio y se colocaron en un horno a 105°C durante cuatro horas. Después de las cuatro horas, se retiró la lámina, se pesaron las composiciones de harina de soja o harina de canola y óxido de

calcio, se transfirieron a un horno a 50°C, se secaron hasta una humedad del 12% tal como se estimó mediante la pérdida de peso.

5 Tabla 1. Evaluación de óxido de calcio (CaO) y humedad sobre la formación de proteína no degradada en el rumen (PNDR) en harinas de soja y de canola. La PNDR se expresa como un % de CP.

CaO añadido,% p/p	Agua añadida a la harina de soja (p/p)		Agua añadida a la harina de canola (p/p)	
	15%	25%	15%	25%
0		47,5		60,3
0,50	53,2	50,0	69,0	72,4
1,0	52,6	58,0	70,2	69,8
2,0	56,9	65,5	70,2	76,3
3,0				76,4

10 Se incubaron las composiciones de harina de soja o harina de canola y óxido de calcio secas en el rumen para medir el contenido de proteína no degradada en el rumen (PNDR). Los valores de derivación en la tabla 1 representan una evaluación de una única muestra para cada tratamiento. Se produjeron muestras de harina de soja y harina de canola y se realizó la evaluación *in situ* en días separados.

15 Tal como se indica en la tabla 1, el óxido de calcio aumentó la formación de proteínas de derivación durante el tratamiento de calor húmedo. El efecto pareció estabilizarse con la adición de óxido de calcio al 1% para la harina de canola cuando se añadió agua al 15%, pero se observó contenido adicional de proteína no degradada en el rumen con óxido de calcio al 2% cuando la humedad era del 25%. Para la harina de soja, aumentar hasta óxido de calcio al 2% dio como resultado en una mayor formación de proteína no degradada y particularmente para el caso de agua al 25% añadida.

20 Ejemplo 5.

Se evaluaron los efectos del óxido de calcio y/o levadura sobre la formación de proteína no degradada en el rumen en harina de canola y harina de soja.

25 Se usó levadura *Saccharomyces cerevisiae* ("levadura LeSaffre") como control positivo en este ejemplo. Se ajustó cada tratamiento de este ejemplo al 25% de adición de humedad. Se suspendió la levadura LeSaffre en agua destilada para proporcionar los sólidos de levadura al 0,5 y al 1% de harina de semillas oleaginosas en una base seca. Se añadió óxido de calcio al 1 y al 2% en una base p/p, de manera individual y en combinación con sólidos de levadura. La tabla 2 indica las cantidades de harina de canola, harina de soja, sólidos de levadura y óxido de calcio usadas en este ejemplo. Se mezclaron las composiciones de harina de soja o harina de canola y óxido de calcio y/o levadura durante tres minutos en un mezclador Hobart. Se pesaron y se colocaron las composiciones de harina de soja o harina de canola y óxido de calcio y/o levadura en platos de vidrio de 20,32 cm x 20,32 cm (8"x8"), se cubrieron con lámina de aluminio y se colocaron en un horno a 105°C durante cuatro horas. Después de las cuatro horas, se retiró la lámina, se pesaron las composiciones de harina de soja o harina de canola y óxido de calcio y/o levadura, se transfirieron a un horno a 50°C, se secaron hasta una humedad del 12% tal como se estimó mediante la pérdida de peso.

40 Tabla 2. Evaluación de óxido de calcio (CaO) y levadura sobre la formación de proteína no degradada en el rumen (PNDR) en harinas de soja y de canola. La PNDR se expresa como un % de CP.

CaO, p/p	Canola				SBM			
	Adición de sólidos de levadura, p/p				Adición de sólidos de levadura, p/p			
	0	0,5%	1%	Prom.	0	0,5%	1%	Prom.
0	60,3	78,2	71,9	70,1	48,1	75,2	76,9	66,7
1%	69,8	75,1	71,7	72,2	58,0	68,6	66,1	64,2
2%	76,6	75,6	79,8	77,3	65,5	62,9	58,7	62,4
Prom.	68,9	76,3	74,5		57,2	68,9	67,2	

45 Se incubaron de manera ruminal las composiciones secas de harina de soja y harina de canola y/o sólidos de levadura y/o óxido de calcio para medir el contenido de proteína no degradada en el rumen (PNDR). Los resultados se presentan en la tabla 2. Tal como se muestra en la tabla 2, la levadura o el óxido de calcio mejoró la formación de proteína no degradada en el rumen tanto en la harina de canola como en la harina de soja.

Sólo aquellos ejemplos en la tabla 2 en los que se usaron CaO al 1% p/p y sólidos de levadura al 0,5 o al 1% p/p son según la invención.

50 Ejemplo 6. (no según la invención)

Se evaluaron los efectos del uso de un agente alcalino (CaO) o agentes oxidantes (percarbonato de sodio, peróxido de hidrógeno) sobre el valor alimenticio de harina de colza procesada con calor húmedo. En este ejemplo, se aumentó la formación de proteínas de derivación de rumen mientras que la cantidad de compuestos secundarios antinutricionales (glucosinolatos, tiocianatos etc.).

5 Se mezclaron las muestras de harina de colza durante 3 minutos en un mezclador Hobart pequeño con tratamientos (según sea apropiado) con agua al 25% (vol/p) añadida a menos que se indique lo contrario. Se pesaron las mezclas de harina de proteínas en platos de vidrio de 20,32 cm x 20,32 cm (8"x8"), se cubrieron las muestras con lámina de aluminio y se colocaron en un horno a 105°C durante 4 horas. Después de las 4 horas, se retiró la lámina, se pesaron las muestras, se transfirieron a un horno a 50°C y se secaron hasta una humedad del 12% tal como se estimó mediante la pérdida de peso. Se realizó el análisis de glucosinolatos y metabolitos secundarios de los mismos, tal como tiocianatos, según HPLC, método oficial de AOCS Ak 1-92. Los resultados de tal análisis se muestran en la tabla 3. Se determinó la proteína de derivación incubando las muestras *in situ* durante 16 horas dentro de los rúmenes de 3 vaquillas y la determinación de proteínas residual.

15 Tabla 3.

Nombre	Progoitrina mg/kg	Sinigrina mg/kg	Gluconapina mg/kg	4-hidroxi-glucobrasicina mg/kg	Glucotropaeolina mg/kg	Glucosinolatos totales g/100g
Harina de colza no procesada	91	2960	11256	307	345	1,50
Harina de colza procesada con calor húmedo	72	2419	10074	36	240	1,28
Harina de colza al 25% de humedad, CaO al 1%	0	40	211	1	4	0,03
Harina de colza al 25% de humedad, percarbonato al 1%	69	2250	9822	17	232	1,24
Harina de colza al 25% de humedad, CaO al 0,5%, PerC al 0,5%	48	1400	6882	4	128	0,85
Harina de colza al 25% de humedad, peróxido al 0,3%	62	2011	9125	12	191	1,14
Harina de colza al 25% de humedad, peróxido al 0,5%	71	2389	10281	16	232	1,30
Harina de colza al 25% de humedad, peróxido al 0,75%	17	495	2562	0	40	0,31
Harina de colza a >25% de humedad, peróxido al 1%	38	1171	5445	0	90	0,67

20 Se compararon las eficacias de óxido de calcio (cal), percarbonato de sodio y peróxido de hidrógeno en cuanto a tanto la formación de PNDR como la reducción de compuestos secundarios de colza. Se añadieron óxido de calcio y

percarbonato de sodio al 1% de la harina de colza en una base p/p, y se añadió agua al 25% (vol/p). Se añadió peróxido de hidrógeno al 0,3, al 0,5, al 0,75 y al 1% a la harina de colza y se ajustó la humedad para alcanzar el 25% de adición de agua. El óxido de calcio, percarbonato de sodio (de manera individual y en combinación) y los altos niveles de peróxido de hidrógeno aumentaron la formación de PNDR a partir del procedimiento con calor húmedo tal como se muestra en la figura 5. Hubo reducciones en los metabolitos secundarios presentes en la harina de colza del procesado con calor húmedo. El percarbonato y el peróxido de hidrógeno redujeron los compuestos secundarios, pero hasta una extensión menor en comparación con el óxido de calcio. La disminución en tiocianatos y nitrilos presentes en la harina de colza fue más pronunciada con la adición de óxido de calcio, con niveles reducidos hasta aproximadamente el 10% de la harina no procesada.

10

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para aumentar la proteína no degradada en el rumen en un alimento para animales que comprende las etapas:

- 5
- 1) suspender levadura *Saccharomyces cerevisiae* en agua destilada;
- 10
- 2) mezclar una composición que contiene proteínas, en la que la composición que contiene proteínas se selecciona del grupo que consiste en harina de canola y harina de soja, con el 1% de óxido de calcio cristalino en una base p/p, y la suspensión de levadura *Saccharomyces cerevisiae*, produciéndose así una composición;
- 15
- en la que la cantidad de sólidos de levadura es desde el 0,5 hasta el 1% de harina de semillas oleaginosas en una base p/p seco;
- 3) ajustar la composición al 25% de adición de humedad;
- 4) someter la composición a una condición tal que el óxido de calcio reacciona con agua y genera calor; y
- 20
- 5) colocar la composición en un horno a 105°C durante cuatro horas;
- en la que la composición que contiene proteínas tiene una cantidad aumentada de proteína no degradada en el rumen después de que el óxido de calcio reaccione con el agua.

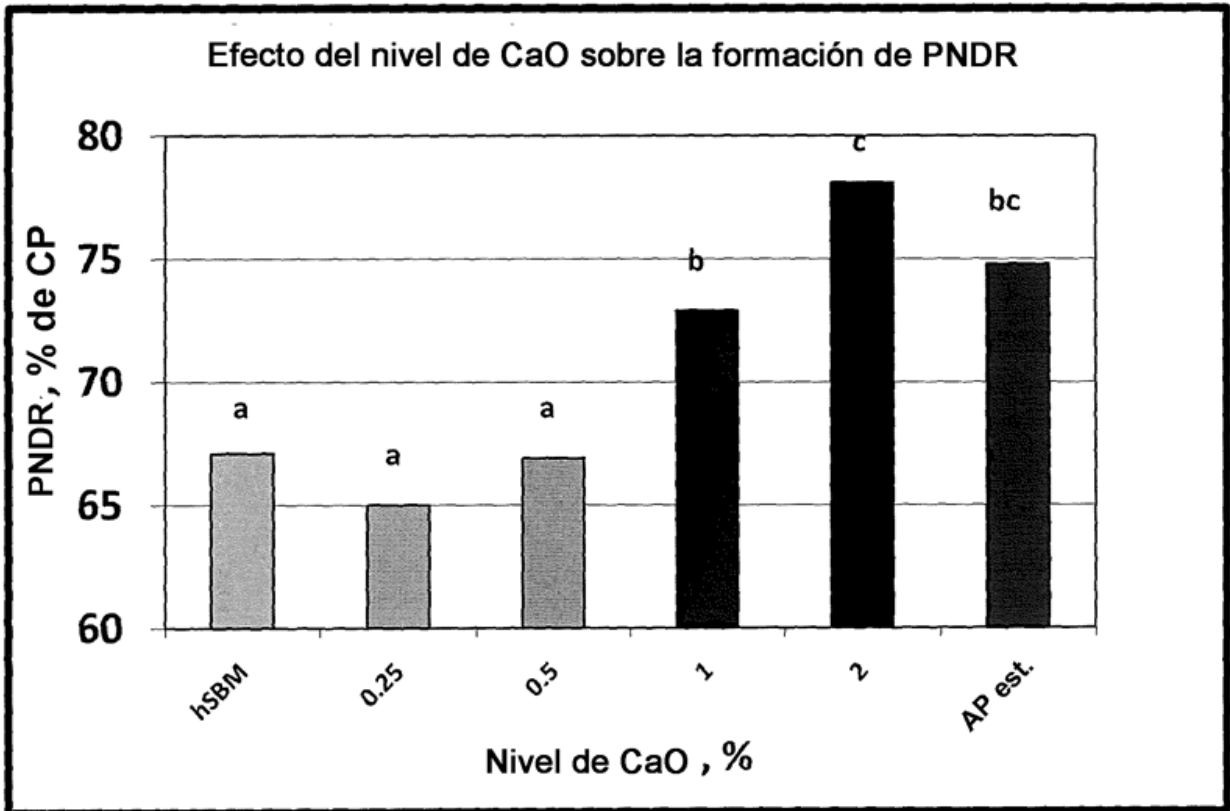


FIGURA 1

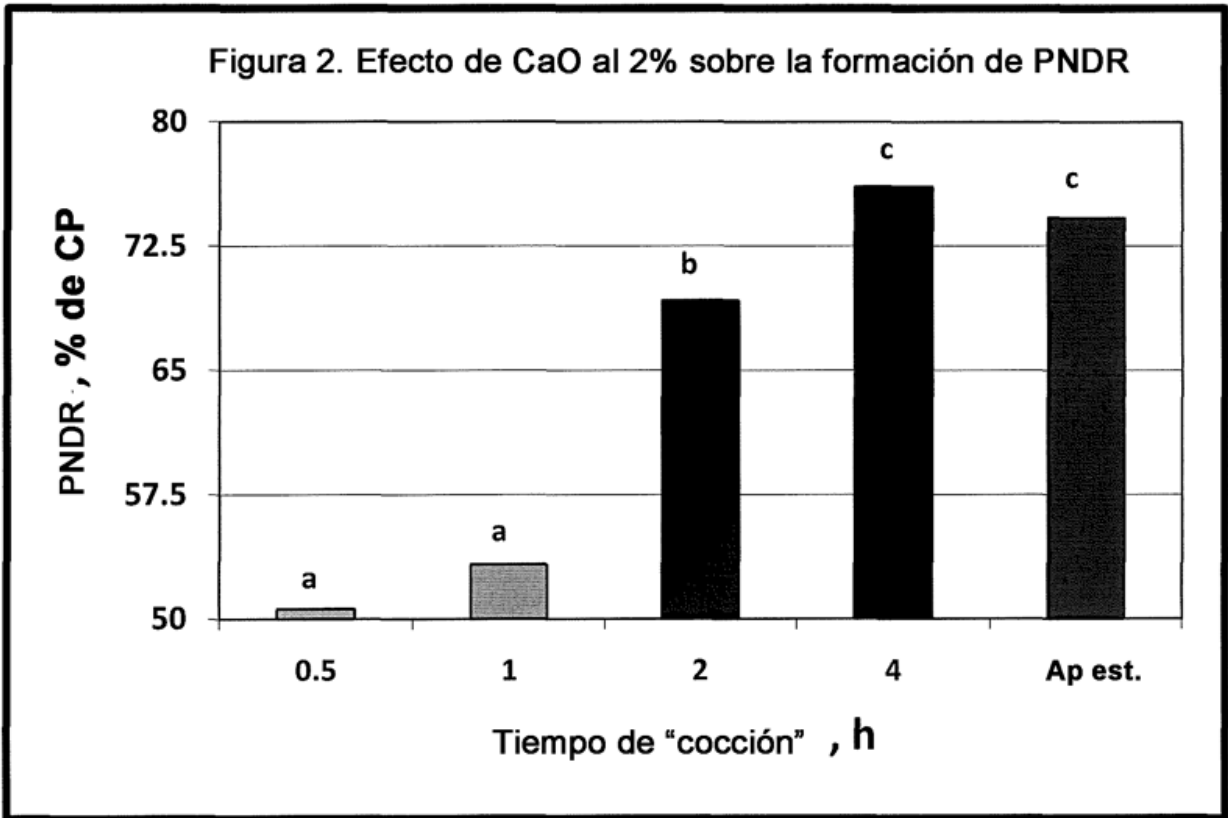


FIGURA 2

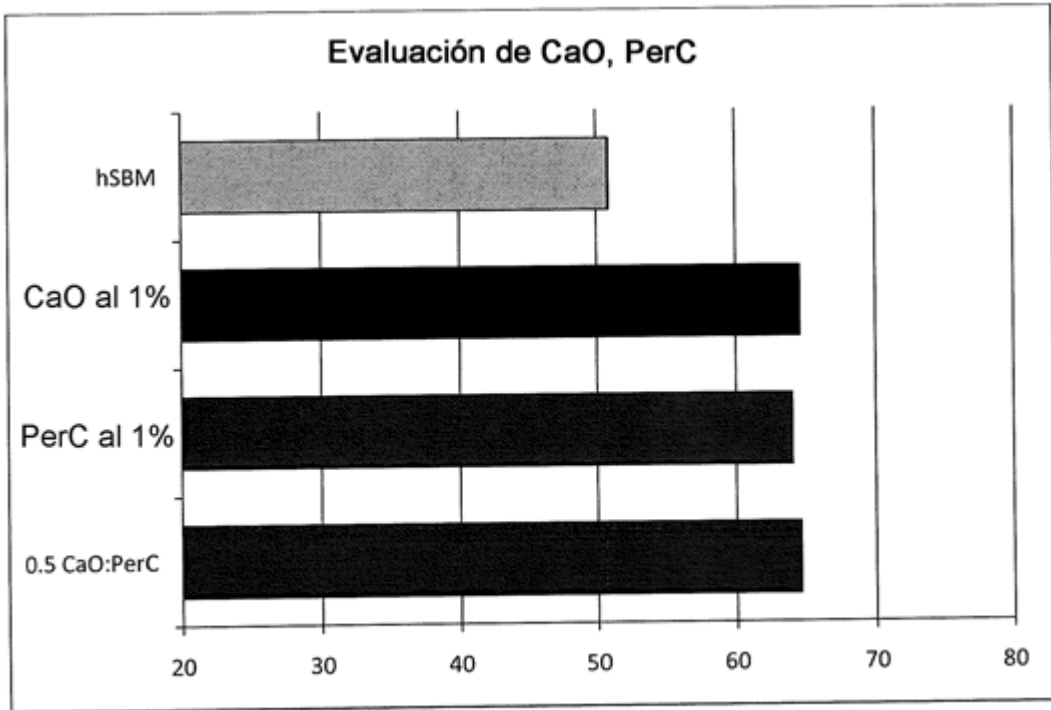


FIGURA 3

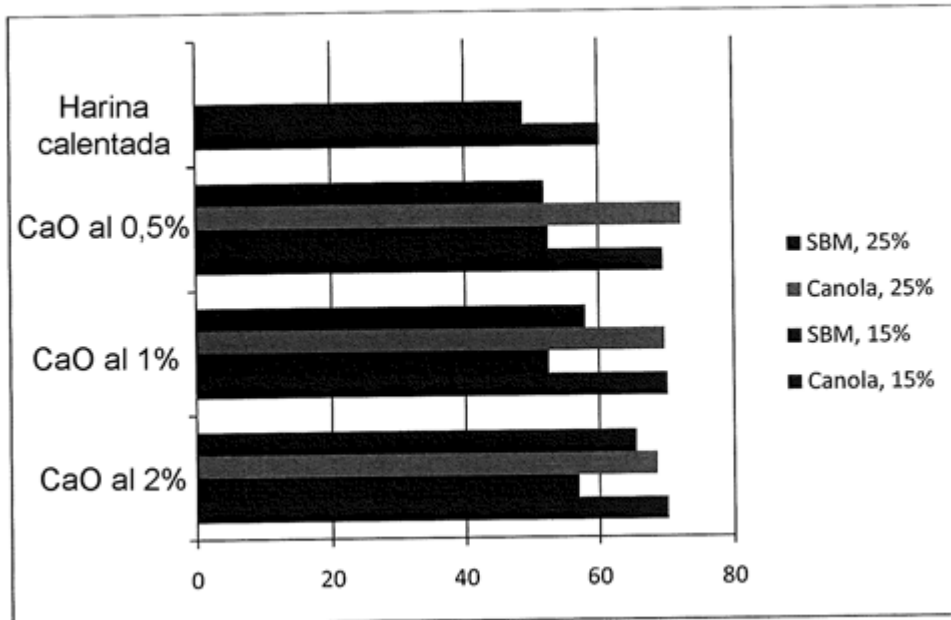


FIGURA 4

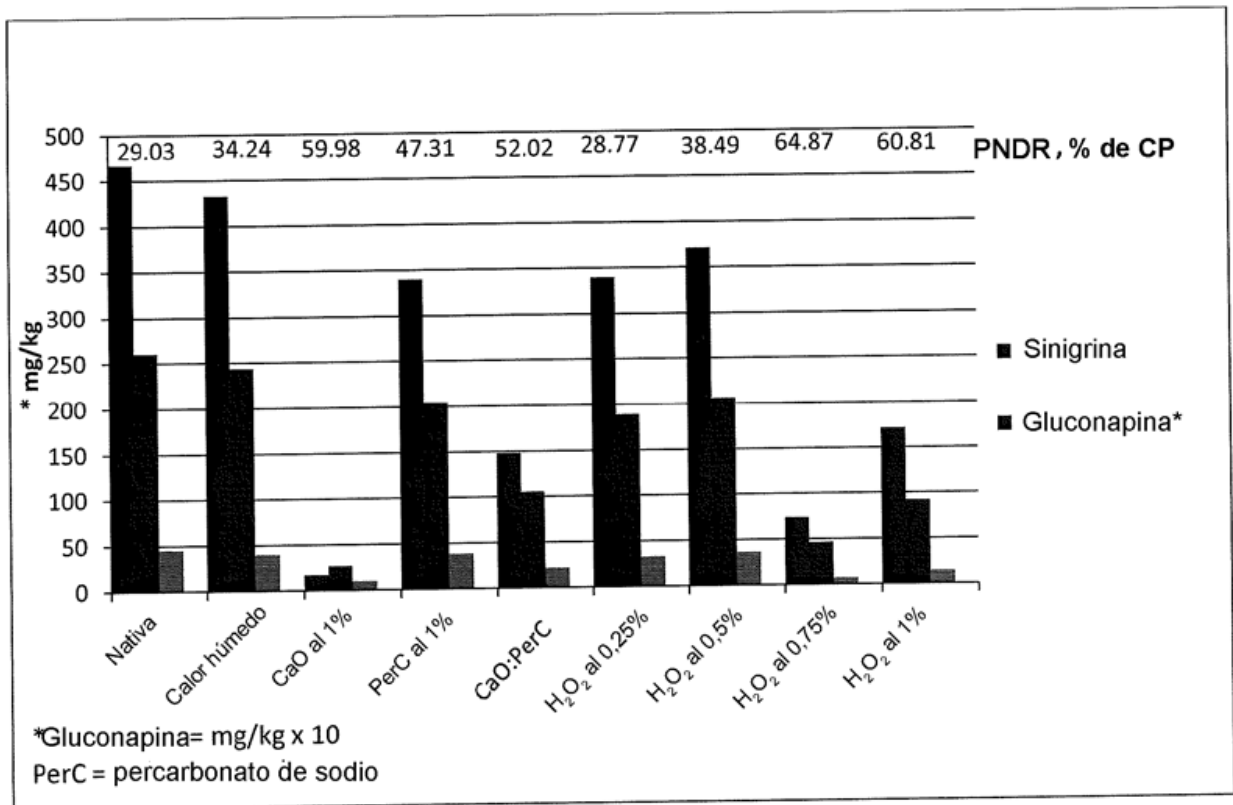


FIGURA 5