

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 744 711**

51 Int. Cl.:

A23K 20/105 (2006.01)

A23K 20/111 (2006.01)

A23K 20/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.11.2011 PCT/AT2011/000477**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2012 WO12068609**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.11.2011 E 11807851 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2019 EP 2642874**

54 Título: **Aditivo para piensos**

30 Prioridad:

26.11.2010 AT 7292010 U

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

26.02.2020

73 Titular/es:

**ERBER AKTIENGESELLSCHAFT (100.0%)
Erber Campus 1
3131 Getzersdorf bei Traismauer, AT**

72 Inventor/es:

**PASTEINER, SIGRID y
BINDER, EVA, MARIA**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 744 711 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

Aditivo para piensos

5 La presente invención se refiere a un aditivo para piensos que contiene una mezcla de ácidos, que contiene al menos un ácido monocarboxílico orgánico de bajo peso molecular, seleccionado a partir de ácido fórmico, ácido propiónico, ácido acético, ácido láctico o ácido glucónico, así como otro ácido monocarboxílico orgánico o un ácido inorgánico, y un soporte sólido o líquido.

10 Actualmente, la acidificación de piensos con ácidos orgánicos, o también ácidos inorgánicos y sus sales, se emplea de manera muy extendida con el fin de la conservación de piensos. Además, en especial los ácidos orgánicos, que también se forman directamente en el tracto gastrointestinal mediante fermentación microbiana de hidratos de carbono, poseen una variedad de efectos positivos en los más diversos sectores de nutrición animal, esto es, por una parte para la conservación del propio pienso, por otra parte para el tracto gastrointestinal de animales. Finalmente no se debe desatender que los más diversos ácidos orgánicos se pueden emplear también como una fuente de energía, así como la estimulación del crecimiento para animales de ganadería, como por ejemplo cerdos, pollos y peces.

15 Por lo tanto, mediante la reducción del valor de pH en el propio pienso, así como en el tracto gastrointestinal de animales, la adición de ácidos especiales al pienso provoca que se empeoren claramente las condiciones de vida para microorganismos potencialmente patógenos. De este modo se pudo mostrar que las tasas de crecimiento de bacterias patógenas, como E-coli o salmonelas, se pueden reducir con valores de pH reducidos, mientras que las bacterias de acción positiva sobre el organismo, como por ejemplo lactobacilo, se impiden menos en crecimiento mediante la adición de ácido al pienso.

20 También la conservación de piensos mediante ácidos orgánicos ha mostrado que reduce el número de microorganismos en el pienso, en especial debido al hecho de que, habitualmente, en el pienso están siempre contenidas ciertas trazas de hongos, de los que se sabe que producen micotoxinas, que pueden provocar daños sanitarios muy graves en animales.

25 No obstante, además de estas propiedades también existe un efecto antimicrobiano directo de ácidos orgánicos, que no son aptos en su forma disociada para penetrar a través de paredes celulares bacterianas permeables, en especial por aquellas de bacterias gram negativas. Los ácidos se disocian el interior del citoplasma celular, con lo cual éstos reducen el valor de pH bacteriano intracelular. Como consecuencia de esta reducción, las células empiezan a emplear energía para obtener de nuevo su valor de pH inicial, de modo que, en el efecto final, el metabolismo bacteriano se interrumpe debido a la inhibición de las enzimas celulares y de los sistemas de transporte de alimentación.

30 A pesar de la variedad de efectos positivos de ácidos, en especial mezclas de ácidos o también ácidos orgánicos por separado, tanto sobre la calidad del pienso como también respecto a la promoción de la salud y del rendimiento de animales, existen el problema de que, por una parte, el valor de pH del pienso no se puede reducir por debajo de un cierto límite, ya que, en caso contrario, los animales ya no pueden tomar los piensos, y éstos no son apropiados para consumo, además, sobre todo el efecto antimicrobiano de ácidos y mezclas de ácidos conocidos, que se emplean en especial para la inhibición del crecimiento de bacterias gram negativas, no es satisfactorio y se puede mejorar claramente. Además no se debe desatender que los valores de pH demasiado reducidos, además de los anteriores inconvenientes, o bien posibles problemas, también pueden conducir a corrosiones, por ejemplo de mezcladores de piensos, y, por consiguiente, el pienso total producido de este modo ya no se puede, o bien no se debe emplear, en el peor de los casos.

40 Por el documento EP 0 219 997 A1 se ha dado a conocer un aditivo para piensos antimicrobiano, constituido por una mezcla de ácido fórmico y ácido propiónico, que debe poseer una eficacia mejorada.

Por el documento DE 36 28 248 C1 se ha dado a conocer un agente para la estimulación del rendimiento para cerdos y aves, que contiene una mezcla de sales de ácido fórmico y ácido fosfórico, o una sal ácida de ácido fosfórico, debiéndose obtener con este aditivo para piensos una reducción de enfermedades diarreicas en los animales.

45 Por el documento WO 96/35337 A1 se ha dado a conocer un aditivo para piensos, así como un pienso, que contiene diversas sales de ácido fórmico.

Por el documento US 6 033 689 A se ha dado a conocer un aditivo para piensos a partir de diversos azúcares seleccionados y un ácido dicarboxílico, con el que la producción de leche en la fase de lactancia temprana se debe mantener a un nivel elevado.

50 Por el documento EP 0 236 988 A2 se ha dado a conocer un procedimiento para la estimulación del crecimiento y de la salud de plantas agrícolas, en el que se emplean diversos aminoácidos y ácidos mono- y dicarboxílicos orgánicos.

Del documento de J.-P. Jouany ET AL., Animal (2007), 1:10, páginas 1443-1466, se puede extraer el empleo de productos naturales como alternativa a la adición de antibióticos en animales, describiéndose también una lista de ácidos que se pueden emplear. En este contexto también se dan a conocer plantas y extractos vegetales y enzimas.

5 Por el documento CN101513222A se ha dado a conocer una técnica de emulsión, con cuya ayuda se puede elaborar un agente de acidificación de piensos, conteniendo este agente de acidificación de piensos los siguientes componentes con las proporciones ponderales indicadas: ácido cítrico: 8-10 partes en peso; ácido fumárico: 2-20 partes en peso; ácido fosfórico: 10-15 partes en peso; ácido málico: 5-20 partes en peso; ácido láctico: 15-25 partes en peso; ácido fórmico: 6-15 partes en peso; ácido acético: 2-10 partes en peso; modificador de sensación en boca: 2-5 partes en peso; sílice: 3-5 partes en peso.

10 Finalmente, del documento EP 0 861 599 A1 se puede extraer el empleo de ácidos dicarboxílicos como componente de piensos, con el que se puede reducir la demanda de aminoácidos de los animales.

15 La presente invención apunta ahora a poner a disposición un aditivo para piensos con el que se consiga, mediante combinación de diversos ácidos, reducir adicionalmente el crecimiento de bacterias gran negativas sin aumento de la cantidad de ácido total empleada y sin reducción del valor de pH de la mezcla de ácidos frente a ácidos y mezclas de ácidos convencionales empleados.

20 Para la solución de esta tarea, el aditivo para piensos según la invención, que contiene una mezcla de ácidos, está caracterizado esencialmente por que la mezcla de ácidos contiene de manera adicional al menos un ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular, seleccionado a partir de ácido glutámico, ácido tartárico, ácido subérico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico o ácido maleico, y por que adicionalmente está contenido entre 0,01 % y 1 % de un polifenol, como ácido tánico, ácido cafeico, ácido elágico, ácido perílico o ácido gálico, o entre 0,1 % y 5 % de un aldehído fenólico. Añadiéndose a la mezcla de ácido adicionalmente al menos un ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular seleccionado a partir de ácido glutámico, ácido tartárico, ácido subérico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico o ácido maleico, sorprendentemente se ha mostrado que, sin una reducción adicional del valor de pH del pienso, se consigue obtener una acción sinérgica de todos los ácidos contenidos en la mezcla de ácidos, con lo cual se consigue reducir adicionalmente, o bien incluso eliminar en algunos casos los números de gérmenes de bacterias gram negativas, en especial salmonelas y E-coli, y desactivar casi completamente los mismos tanto en el propio pienso como también en el tracto gastrointestinal de los animales. Se obtiene una acción del aditivo para piensos mejorada en mayor medida estando contenidos adicionalmente entre 0,01 % y 1 % de un polifenol, como ácido tánico, ácido cafeico, ácido elágico, ácido perílico o ácido gálico. Añadiéndose adicionalmente concentraciones reducidas de un polifenol, como ácido elágico, a la mezcla de ácidos, o bien al aditivo para piensos, se obtiene una intensificación adicional de la acción antimicrobiana del aditivo para piensos, en especial durante un intervalo de tiempo prolongado, de modo que en la alimentación se puede mantener también una degradación de estas bacterias en el tracto gastrointestinal total de animales casi de manera constante y uniforme, con lo cual son realizables un aumento de rendimiento adicional y un número reducido de fallos debidos a enfermedades diarreicas de animales con cantidades simultáneamente reducidas de mezclas de ácidos empleadas. Estando contenido adicionalmente entre 0,1 % y 5 % de un aldehído fenólico, además de una mejora de sabor del aditivo para piensos se consigue aumentar adicionalmente el espectro de acción del mismo, y en especial mejorar adicionalmente la acción a largo plazo en el tracto gastrointestinal total, con lo cual es realizable una transformación de pienso mejorada y, por consiguiente, un aumento de rendimiento y también un acortamiento de la duración de enfermedades diarreicas de los animales alimentados con el mismo.

45 Debido a su presencia en las más diversas sustancias naturales y a su solubilidad en agua, generalmente buena, por una parte se debe considerar inofensivo el empleo de ácidos dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular, seleccionados a partir de ácido glutámico, ácido tartárico, ácido subérico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico o ácido maleico, y por otra parte se ha mostrado sorprendentemente que los ácidos dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular seleccionados pueden mejorar la acción de mezclas de ácidos conocidos frente a bacterias gram negativas en combinación con los ácidos orgánicos o inorgánicos empleados habitualmente, en mucha mayor medida que en el caso de empleo de los componentes individuales.

50 La acción de mejora se produce en especial a bajas concentraciones de ácidos dicarboxílicos orgánicos añadidos a las mezclas de ácidos que contienen aditivos para piensos, estando contenido preferentemente en la mezcla de ácidos del aditivo para piensos, según la presente invención, entre 0,035 % y 35 %, en especial 7 % a 13 % de ácidos dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular. Una adición de tales concentraciones de ácidos dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular a la mezcla de ácidos, debido a las consiguientes bajas concentraciones de ácidos dicarboxílicos en el aditivo para piensos, no provoca por una parte una reducción posterior del valor de pH del producto final, y por otra parte, no obstante, provoca una inactivación casi completa de bacterias gram negativas, como E-coli y salmonelas, tanto en el pienso mezclado con la misma, como también en el tracto gastrointestinal de animales.

55 Para obtener una intensificación adicional de este efecto sinérgico, el aditivo para piensos según la presente invención se desarrolla de modo que estén contenidos dos ácidos dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular. El empleo de dos ácidos dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular en una mezcla de ácidos según la presente invención

ha mostrado sorprendentemente que, mediante empleo de tal combinación de ácidos, se pueden eliminar casi por completo varios grupos de bacterias gram negativas simultáneamente, sin que se aumente la cantidad de ácido total empleada, de modo que con tal aditivo para piensos se puede obtener un incremento de rendimiento y un aumento de peso inesperadamente elevado de los animales alimentados con el mismo.

- 5 Como corresponde a un perfeccionamiento de la presente invención, estando contenido al menos un ácido orgánico de bajo peso molecular como sal se obtiene una atenuación de la mezcla de ácidos, con lo cual se puede impedir con seguridad por una parte una reducción adicional del valor de pH de la mezcla de ácidos.

10 Como corresponde a un perfeccionamiento preferente de la invención, estando contenido adicionalmente entre 0,1 % y 3 % de un aldehído fenólico, además de una mejora del sabor del aditivo para piensos, se puede aumentar adicionalmente el espectro de acción del mismo, y en especial mejorar adicionalmente la acción a largo plazo en el tracto gastrointestinal, con lo cual es realizable una transformación de pienso mejorada y, por consiguiente, un incremento del rendimiento, y también un acortamiento de la duración de enfermedades diarreicas de los animales alimentados con el mismo.

15 En un perfeccionamiento preferente de la invención, el aldehído fenólico contenido adicionalmente en la mezcla de ácidos es aldehído cinámico, con lo cual se consigue alcanzar una reducción especialmente elevada del número de gérmenes de cepas bacterianas, en especial de salmonelas.

20 Según un perfeccionamiento preferente de la invención, el aditivo para piensos está caracterizado por que una proporción cuantitativa entre el ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular, y del segundo ácido dicarboxílico de bajo peso molecular, o bien el polifenol o el aldehído fenólico, se sitúa entre 0,5:1 y 4:1, en especial 1:1 y 2:1. Ajustándose una proporción cuantitativa en partes en peso entre el ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular y el segundo ácido dicarboxílico orgánico según la invención, o bien el polifenol o el aldehído fenólico, se consigue por una parte utilizar completamente las acciones positivas de sustancias constitutivas del aditivo para piensos, y por otra parte, también mediante adición de concentraciones extremadamente bajas de un segundo ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular o de un polifenol o de un aldehído fenólico, reducir drásticamente de manera adicional los números de gérmenes en bacterias gram negativas, patógenas, en el pienso, o bien posteriormente en el tracto gastrointestinal de animales, sin influir negativamente sobre el valor de pH, el sabor, la almacenabilidad o similares del aditivo para piensos.

30 Se ha mostrado especialmente ventajoso un aditivo para piensos como el que corresponde a un perfeccionamiento preferente de la invención, si éste presenta un contenido total de la mezcla de ácidos entre 25 % y 65 % para mezclas de ácidos sobre soporte sólido, o bien 25 % y 80 % para mezclas de ácidos líquidas. A concentraciones de ácido más elevadas, el aditivo para piensos pierde su fluidez en el caso de un producto pulverulento, y en el caso de contenidos en ácidos más reducidos ya no se aseguran suficientemente todas las acciones positivas totales de los ácidos, como el efecto antimicrobiano, la mejora de la acción de pepsina, la acción complejante para cationes, como calcio⁺⁺, magnesio⁺⁺, y el empleo como fuente de energía, en el caso de un mantenimiento de la dosificación del aditivo para piensos en el pienso acabado.

40 Para obtener los anteriores efectos de manera segura y fiable, según la invención el pienso se desarrolla preferentemente de modo que, además del ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular, al menos uno, estén contenidos al menos dos ácidos adicionales, seleccionados a partir de ácido fórmico, ácido propiónico, ácido acético, ácido láctico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido benzoico o ácido fosfórico. Mediante adición de al menos dos ácidos adicionales, seleccionados a partir de ácido fórmico, ácido propiónico, ácido acético, ácido láctico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido benzoico o ácido fosfórico, se consigue alcanzar propiedades específicas selectivamente y un sinergismo de la mezcla de ácidos contenida en el aditivo para piensos, como se obtiene, por ejemplo, en el caso de adición de ácido fórmico, reducir la tasa de aparición de enfermedades diarreicas, el ácido propiónico inhibe en gran medida el crecimiento de hongos, el ácido láctico puede aumentar la población de lactobacilos en el tracto gastrointestinal, mientras que se reduce simultáneamente el número de colibacterias, etc. Según un perfeccionamiento preferente de la invención, se alcanza una reducción especialmente fuerte de los números de gérmenes de colibacterias y salmonelas con un aditivo para piensos cuyo valor de pH se ajusta a valores entre 2,5 y 4,7.

50 De este modo, por ejemplo mediante la reducción del valor de pH por medio de un aditivo ácido en el tracto gastrointestinal, el entorno de crecimiento para bacterias gram negativas se hace inapropiado, o bien desfavorable, y además las paredes celulares de bacterias gram negativas se hacen permeables en tal medida que las sustancias hidrófobas, como polifenoles y aldehídos fenólicos, pueden penetrar al interior de la célula a través de la pared celular, con lo cual se extrae energía de las células, que sería necesaria para un crecimiento posterior, o bien una reproducción de las células, de modo que la reproducción de células gram negativas se reduce en gran medida solo mediante la difusión de sustancias hidrófobas según la invención a través de las paredes celulares.

55

5 Como corresponde a un perfeccionamiento preferente de la invención, como soportes están contenidos soportes sólidos, seleccionados a partir de minerales arcillosos, como zeolitas naturales o sintéticas, bentonita, silicatos, silicatos de aluminio, vermiculita, fructooligosacáridos y/o agua como soporte líquido. Empleándose soportes sólidos, como minerales arcillosos, zeolitas, silicatos o similares, o también soportes orgánicos, como fructooligosacáridos, se consigue preferentemente unir ácidos dicarboxílicos a la superficie del sustrato, y liberar secuencialmente los ácidos añadidos en el tracto gastrointestinal, de modo que en cualquier punto del tracto gastrointestinal se pueden eliminar con éxito bacterias gram negativas, como E-coli o salmonelas, o también braquiospiras.

10 Un perfeccionamiento preferente de la invención se refiere a un pienso acabado, que contiene un aditivo para piensos según la invención, que está caracterizado por que el aditivo para piensos se emplea en una cantidad de 200 a 2000 g/tonelada de pienso acabado. De este modo se consigue por una parte obtener la acción positiva frente a gérmenes nocivos, y simultáneamente se asegura que el valor de pH del pienso no se reduzca sustancialmente.

La invención se explica más detalladamente a continuación por medio de ejemplos.

Ejemplo 1: ensayo en pollitos con una mezcla de ácidos según la presente invención.

15 Se analizaron pollitos de un día respecto a salmonelas en su admisión, y se sometieron estadísticamente animales exentos de salmonela a una alimentación que contenía una mezcla de ácidos según la invención, o bien una mezcla de ácidos comparativa. En este caso se admitieron respectivamente 18 animales en jaulas en unidades de aislamiento, y se alimentaron con un pienso que contenía 0,2 % de la correspondiente mezcla de ácidos. Se administraron agua y nutrientes a voluntad. Las aves se inocularon a la edad de tres días con 0,1 ml de un cultivo de Salmonella enteritidis (SE Nalr/Spcr) que contenía 1,0 x 10⁶ CFU/ml.

20 El grupo de control se abasteció de una mezcla de ácidos constituida por 20 % de ácido fórmico, 5 % de ácido propiónico, 13 % de ácido acético, resto agua. El grupo de ensayo contenía una mezcla de ácidos constituida por 20 % de ácido fórmico, 5 % de ácido propiónico, 10 % de ácido acético, 1 % de ácido succínico y 2 % de ácido málico.

25 En los días 5, 7 y 10 se mataron respectivamente tres aves de cada grupo, y se cultivaron sus contenidos de Kekum respecto a Salmonella enteritidis. El recuento visible (CFU log 10) de Salmonella enteritidis (SE Nalr/Spcr) en el contenido de Kekum de animales inoculados con Salmonella enteritidis, que se trataron con mezcla de ácidos, era el siguiente:

CFU log 10 (KBE – unidades que forman colonias log 10)

Grupo comparativo: 3,64

Grupo de ensayo: ---

30 De este ensayo se desprende claramente que, en el caso de animales que contenían la mezcla de ácidos según la presente invención, ya no estaba presente un recuento visible de Salmonella enteritidis.

Ejemplo 2: ensayo in vitro con diversas mezclas de ácidos.

35 Se realizaron dos series de ensayos con diversas mezclas de ácidos. Las mezclas de ácidos eran respectivamente mezclas al 35 %, cuya acción contra salmonelas y E-coli se analizó, y en especial se intentó analizar, o bien determinar la influencia de bajas concentraciones de ácidos dicarboxílicos de cadena corta, o bien de polifenoles o ácidos dicarboxílicos orgánicos de cadena corta y polifenoles, sobre el valor de pH.

40 En este caso se produjeron mezclas de ácidos, que contenían concentraciones entre 0,1 % y 4 % de ácidos dicarboxílicos orgánicos, o bien aldehídos fenólicos o polifenoles, o mezclas de ácidos y polifenoles. A disoluciones nutrientes que contenían bacterias de E-coli o Salmonella enteritidis, o también ambas cepas bacterianas, se añadieron respectivamente diversas mezclas de ácidos, de modo que su concentración total en las cavidades de las placas de ensayo se situaba entre aproximadamente 0,035 % y 0,001 %. En este caso, estas bacterias se cultivaron durante la noche en una disolución nutriente y después 200 µl de disolución de cultivo, que se ajustó a una densidad óptica de 0,1 +/- 0,015, se dispusieron en cavidades de las placas de ensayo, y a continuación se añadió la correspondiente mezcla de ácido. En estos ensayos se mostró claramente que estas concentraciones de ácidos
45 dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular, aldehídos aromáticos y/o polifenoles, presentaban una clara acción frente a E-coli, o bien salmonelas, sin que se redujera adicionalmente el valor de pH del caldo de ensayo.

En particular se consigue reducir la inhibición del crecimiento molecular de salmonelas a más de 50 % si se añade una mezcla de ácidos seleccionada a partir de 20 % de ácido fórmico, 5 % de ácido propiónico y 10 % de ácido acético o ácido málico, ácido maleico o ácido succínico. Si adicionalmente a tal mezcla se añade aún ácido elálgico, los

números de gérmenes en las cavidades se pueden reducir en más de 60 %. Los resultados son aún más claros si, por ejemplo, se añade a la mezcla de ácido 1,7 % de aldehído cinámico, en cuyo caso es realizable una reducción de números de gérmenes en más de 60 %.

- 5 En el caso de empleo de ácidos dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular según la invención, o bien aldehídos y/o polifenoles en una mezcla de ácidos constituida por 25 % de ácido fórmico y 5 % de ácido propiónico se consigue reducir el crecimiento de salmonelas en más de 80 %. Se obtienen resultados análogos si se realiza una mezcla de ácidos constituida por 20 % de ácido fórmico y 15 % de ácido acético con una mezcla de ácido succínico y ácido elágico en total. De este modo se consigue igualmente reducir los números de gérmenes hasta 80 %. Los resultados correspondientes se representan en la siguiente Tabla 1.

10

Tabla 1

Inhibición de diferentes gérmenes de E-coli y Salmonella sp. con diferentes mezclas de ácidos [crecimiento en porcentaje]				
	Salmonella sp. 1	Salmonella sp. 2	E-coli sp. 1	E-coli sp. 2
Mezcla de ácidos	-0,66	14,3	17,6	0,08
Mezcla de ácidos + 1 % de ácido láctico	-	15,1	25,1	12,5
+ 2 % de ácido láctico	-	21,2	-	-
+ 4 % de ácido láctico	-	23,4	-	-
Mezcla de ácidos + 1 % de ácido succínico	19,6	18,3	-	-
+ 2 % de ácido succínico	26,4	27,5	-	-
+ 4 % de ácido succínico	47,8	48,4	-	-
Mezcla de ácidos + 1 % de ácido elágico	19,5	-	-	-
+ 2 % de ácido elágico	26,3	-	-	-
+ 4 % de ácido elágico	38,3	-	-	-
Mezcla de ácidos + en total 1 % de ácido elágico + ácido succínico	17,8	30,0	36,2	13,5
+ en total 2 % de ácido elágico + ácido succínico	79,9	85,8	58,4	22,3
+ en total 4 % de ácido elágico +	57,3	28,8	55,0	58,9

ES 2 744 711 T3

ácido succínico				
Mezcla de ácidos + en total 1 % de ácido elágico + ácido succínico + ácido láctico	18,0	22,9	13,1	-
+ en total 2 % de ácido elágico + ácido succínico + ácido láctico	25,0	33,2	17,6	-
+ en total 4 % de ácido elágico + ácido succínico + ácido láctico	52,3	80,9	56,0	-
Mezcla de ácidos + 1 % de ácido málico	-	-	22,5	-
+ 2 % de ácido málico	-	-	37,7	-
+ 4 % de ácido málico	-	-	54,4	-
Mezcla de ácidos + 1 % de ácido maleico	-	-	12,1	-
+ 2 % de ácido maleico	-	-	26,6	-
+ 4 % de ácido maleico	-	-	42,5	-
Mezcla de ácidos + 1 % de ácido malónico	-	-	-	17,6
+ 2 % de ácido malónico	-	-	-	30,6
+ 4 % de ácido malónico	-	-	-	48,7
Mezcla de ácidos + 1 % de ácido glutárico	-	-	-	15,4
+ 2 % de ácido glutárico	-	-	-	54,0
+ 4 % de ácido glutárico	-	-	-	51,3
Mezcla de ácidos	-	-	-	-0,1

ES 2 744 711 T3

+ 1 % de ácido tartárico				
+ 2 % de ácido tartárico	-	-	-	6,4
+ 4 % de ácido tartárico	-	-	-	60,6
- = no analizado				

No obstante, simultáneamente a la inhibición del crecimiento de gérmenes, mediante adición de ácidos orgánicos de bajo peso molecular, o bien aldehídos fenólicos y/o polifenoles, no se influye, o apenas se influye sobre el valor de pH de la disolución de trabajo, o bien del medio de cultivo, como se puede extraer de la siguiente Tabla 2.

5 Tabla 2

	Concentración [% de SM]	Valor de pH en la disolución de trabajo
Medio de cultivo	-	7,13
Solo mezcla de ácidos	-	4,52
1) Ácido elágico	0,25 %	4,52
	0,5 %	4,45
	1 %	4,50
2) Ácido succínico	2 %	-
	4 %	4,51
	8 %	4,45
3) Ácido láctico	2 %	-
	4 %	4,45
	8 %	4,42
4) Ácido elágico + ácido succínico (B)	0,25 % E + 2 % B	4,48
	0,5 % E + 4 % B	4,46
	1 % E + 8 % B	4,42
5) Ácido elágico + ácido succínico (B) + ácido láctico	0,125 % E + 1 % B + 1 % M	-
	0,25 % E + 2 % B + 2 % M	4,52
	0,5 % E + 4 % B + 4 % M	4,41
Todos los datos porcentuales en este contexto se deben entender como % en peso.		
SM = mezcla de ácidos a partir de 20 % de ácido fórmico + 5 % de ácido propiónico + 10 % de ácido acético		

De la Tabla 2 se desprende que el cultivo sin adición de ácido presenta un valor de pH de 7,13, la mezcla de ácidos por separado presenta un valor de pH de 4,52, y que la adición de ácido elágico, ácido succínico y ácido láctico provocó una reducción del valor de pH a un mínimo de 4,41, de modo que en total, además de los efectos positivos de la reducción del número de gérmenes mostrados anteriormente, no se provoca en lo esencial una reducción del valor de pH mediante la adición de ácidos dicarboxílicos de bajo peso molecular.

Ejemplo 3: ensayo de eficacia de las mezclas de ácidos según la invención en cerdos.

En una explotación porcina en Austria con aproximadamente 900 cerdas no se pudo impedir la diarrea durante la lactancia, aunque se aplicaron vacunas autógenas, orales y parenterales, y se administraron antibióticos continuamente. Los antibiogramas mostraban que las resistencias se modificaban cada 6 semanas, después de emplear los correspondientes antibióticos para el anterior fin.

Los serotipos patógenos de E-coli 08, 0138, 0141 y 0147 se aislaron a partir de muestras fecales.

Para la investigación de la acción de aditivos para piensos que contienen mezclas de ácidos según la invención se

1) alimentaron 1.623 lechones de destete con pienso estándar que contenía una mezcla de ácidos 1 (AM1) constituida por 20 % de ácido fórmico + 10 % de ácido acético + 1 % de ácido succínico + 0,1 % de ácido elágico

durante 19 días tras el destete, muriendo 20 animales de éstos (= 1,2 %) debido a infecciones de E-coli. Se alimentaron 724 lechones con un iniciador para lechones, que contenía 20 % de ácido fórmico + 10 % de ácido acético, en el mismo intervalo de tiempo, muriendo 69 lechones (= 9,5 %) durante las primeras tres semanas tras el destete.

5 2) Se subdividieron estadísticamente en tres grupos 30 lechones de destete con una tasa de aparición de diarrea elevada, respectivamente con 10 animales, y se alimentaron los tres grupos con una mezcla de ácidos 2 (AM2) constituida por 25 % de ácido fórmico + 5 % de ácido propiónico + 1,5 % de ácido succínico + 1,5 % de ácido málico, el grupo 2 con 20 % de ácido fórmico + 5 % de ácido propiónico + 10 % de ácido acético y 3 % de aldehído cinámico (AM3), así como el grupo comparativo con 25 % de ácido fórmico y 8 % de ácido propiónico.

10 8 días después del destete se añadieron 100 ml de caldo de E-coli con serotipos enteropatógenos de E-coli 08, 0138, 0139, 0141 y 0147 al pienso, conteniendo un ml de caldo 108 gérmenes.

Tras la alimentación con los gérmenes se tomaron muestras fecales de todos los animales diariamente. Los animales se analizaron diariamente respecto a la aparición de diarrea. Además, se midió diariamente la ingesta de pienso posterior por grupo. Cada 5 días se pesaron los lechones individualmente. La aparición de diarrea en el día 5 tras el comienzo del ensayo, es decir, dos días tras la infección, era:

20 %, 2 lechones del grupo AM2

16 %, 6 lechones del grupo AM3

100 %, 10 lechones del grupo comparativo.

En el día 10 tras el comienzo del ensayo:

20 10 %, 1 lechón del grupo AM2

50 %, 5 lechones del grupo AM3

100 %, 10 lechones del grupo comparativo.

En el día 15 tras el comienzo del ensayo:

0 %, ningún lechón del grupo AM2

25 12,5 %, 1 lechón del grupo AM3

14,2 %, 1 lechón del grupo comparativo.

Durante el ensayo no murió ningún lechón del grupo AM2, murieron 2 lechones del grupo AM3 y 3 lechones del grupo comparativo 3.

Aumento de peso:

30 El peso medio de los lechones al comienzo del ensayo era 6,34 kg en el grupo AM2, 6,52 kg en el grupo AM3, 6,51 kg en el grupo comparativo. El peso medio de los lechones al final del ensayo era 9,6 kg en el grupo AM2, 8,9 kg en el grupo AM3 y 8,1 kg en el grupo comparativo.

35 3) Un establo constituido por 2 series con jaulas que contenían en total 196 lechones con sus cerdas se subdividió en una serie de ensayo, que se alimentó con iniciador de lechones convencional, al que se añadió 0,3 % de una mezcla de ácidos (AM4) constituida por 20 % de ácido fórmico + 10 % de ácido acético + 1,5 % de ácido málico + 0,2 % de ácido elálgico, y en un grupo comparativo, que contenía solo 20 % de ácido fórmico y 15 % de ácido acético. Todos los animales permanecieron en el establo durante una semana. Durante este ensayo se anotó la aparición diaria de diarrea. Además, se tomaron muestras fecales de 2 jaulas en cada serie de establo cada tres días, así como de todos los lechones que padecían diarrea. Durante la primera semana murieron 6 % de los lechones de la serie alimentada convencionalmente, 1 % de la serie AM 4. De las 300 muestras fecales, que se tomaron en los lechones comparativos, se mostró una elevada acción predominante de diarrea, aislándose los serotipos enteropatógenos de E-coli y 08, 0138, 0139, 0141 y 0147.

40 4) Se subdividieron 96 lechones de los establos con aparición de diarrea acrecentada en tres grupos con 32 animales respectivamente, y se alimentaron con mezclas de ácidos.

ES 2 744 711 T3

Grupo I (AM5): 25 % de ácido fórmico + 5 % de ácido propiónico + 1,5 % de ácido succínico, 1,5 % de ácido málico, 1 % de ácido láctico + 0,05 % de ácido elágico.

Grupo II (AM6): 20 % de ácido fórmico + 5 % de ácido propiónico + 10 % de ácido acético, 1,5 % de ácido málico.

Comparación: 25 % de ácido fórmico + 5 % de ácido propiónico.

- 5 La infección de los lechones se inició en el cuarto día tras el destete. Se incorporó 1 l de caldo de cultivo de E-coli en 4 kg de pienso por grupo, conteniendo 1 ml de caldo 109 gérmenes. Se vaciaron los comederos durante 24 horas, y se limpiaron y se desinfectaron todas las cubas apropiadamente.

Aparición de diarrea:

- 10 Un día tras la infección, 90 % a 100 % de los lechones en el grupo comparativo mostraban diarrea severa. Se tardó 5 días hasta que más de la mitad de los animales tenían diarrea. En el grupo AM5, solo dos animales mostraban diarrea severa tras la infección, que duró dos días. A partir del día 5 no había ningún tipo de diarrea en este grupo. En el grupo AM6, 1 animal mostraba diarrea durante un día.

Resultados: pérdidas

Grupo 1 AM5 – 2 pérdidas

- 15 Grupo 2 AM6 – 4 pérdidas

Grupo 3 comparativo – 16 pérdidas

El aumento de peso medio en el momento del ensayo era el siguiente:

AM5 – 4,0 kg

AM6 – 3,9 kg

- 20 Comparación – 1,0 kg.

De estos resultados se desprende claramente que la adición de ácidos dicarboxílicos de bajo peso molecular, así como, en caso dado, la adición complementaria de aldehídos aromáticos, o bien polifenoles, tenía una acción extremadamente positiva sobre el estado de salud de los lechones, así como sobre su aumento de peso.

Ejemplo 4: ensayo en peces

- 25 Se sometieron a ensayo 5 mezclas de ácidos diferentes que contenían aditivos para piensos en una serie de alimentación con Tilapia, efectuándose tres repeticiones por grupo de ensayo. Los peces recibieron pienso comercial, que se peletizó tras adición del aditivo para piensos que contenía mezclas de ácidos (concentración final 0,1 %). Los parámetros que se recopilaban semanalmente eran tasa de supervivencia, aumento de peso, o bien peso promedio, utilización de pienso (FCR). Se mantuvieron 60 Tilapia rojos jóvenes con un peso de 45 g respectivamente en uno de los 12 tanques con 500 l en cada caso, alimentándose tres veces al día durante un intervalo de tiempo de 56 días.

Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Mezcla de ácidos 1 = 20 % de ácido fórmico/5 % de ácido propiónico/10 % de ácido acético

Mezcla de ácidos 2 = 20 % de ácido fórmico/5 % de ácido propiónico/5 % de ácido acético/4 % de ácido succínico/0,5 % de ácido elágico

- 35 Mezcla de ácidos 3 = 20 % de ácido fórmico/5 % de ácido propiónico/5 % de ácido acético/4 % de ácido maleico/0,5 % de ácido elágico

Mezcla de ácidos 4 = 20 % de ácido fórmico/5 % de ácido propiónico/5 % de ácido acético/2 % de ácido succínico/2 % de ácido málico/0,5 % de ácido elágico

- 40 Mezcla de ácidos 5 = 20 % de ácido fórmico/5 % de ácido propiónico/2 % de ácido acético/2 % de ácido succínico/0,5 % de ácido elágico

ES 2 744 711 T3

Tabla 3

Mezcla de ácidos	# Inicio	# Final	% de mortalidad	Peso Inicio	Peso Final	Aumento	FCR
1	60	57	5	45,0	152,3	107,3	1,69
1	60	54	10	45,0	154,5	109,5	1,62
1	60	56	6,67	45,0	152,7	107,7	1,68
2	60	60	0	45,0	157,6	112,6	1,57
2	60	58	3,33	45,1	157,3	112,2	1,54
2	60	59	1,67	45,0	160,2	115,2	1,59
3	60	59	1,67	45,0	156,4	116,4	1,61
3	60	57	5	45,0	158,1	113,1	1,58
3	60	58	3,33	45,1	161,1	116,0	1,53
4	60	60	0	45,0	160,3	115,3	1,65
4	60	57	5	45,0	157,5	112,5	1,59
4	60	58	3,33	45,0	158,1	113,1	1,58
5	60	59	1,67	45,1	160,2	115,1	1,57
5	60	59	1,67	45,1	161,9	116,8	1,62
5	60	57	5	45,1	158,9	113,9	1,60

De este ensayo se desprende claramente que los animales que recibieron solo una mezcla de ácidos convencional mostraban el mínimo aumento de peso con mortalidad simultáneamente elevada.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Aditivo para piensos que contiene una mezcla de ácidos, que contiene al menos un ácido monocarboxílico orgánico de bajo peso molecular, seleccionado a partir de ácido fórmico, ácido propiónico, ácido acético, ácido láctico o ácido glucónico, así como otro ácido monocarboxílico orgánico o un ácido inorgánico, y un soporte sólido o líquido, caracterizado por que la mezcla de ácidos contiene adicionalmente al menos un ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular seleccionado a partir de ácido glutámico, ácido tartárico, ácido subérico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico o ácido maleico, y por que adicionalmente está contenido entre 0,01 % y 1 % de un polifenol, como ácido tánico, ácido cafeico, ácido elágico, ácido perílico o ácido gálico, o entre 0,1 % y 5 % de un aldehído fenólico.
- 10 2. Aditivo para piensos según la reivindicación 1, caracterizado por que en la mezcla de ácidos está contenido entre 0,035 % y 35 %, en especial 7 % a 13 % de ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular.
3. Aditivo para piensos según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que están contenidos dos ácidos dicarboxílicos orgánicos de bajo peso molecular.
- 15 4. Aditivo para piensos según la reivindicación 1, 2 o 3, caracterizado por que está contenido al menos un ácido orgánico de bajo peso molecular como sal.
5. Aditivo para piensos según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que está contenido entre 0,1 % y 3 % de un aldehído fenólico.
6. Aditivo para piensos según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que el aldehído fenólico es aldehído cinámico.
- 20 7. Aditivo para piensos según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que una proporción cuantitativa entre el ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular y el segundo ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular, o bien el polifenol o el aldehído fenólico, se sitúa entre 0,5:1 y 4:1, en especial entre 1:1 y 2:1.
8. Aditivo para piensos según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que está contenido entre 25 % y 65 % de mezcla de ácidos sobre soporte sólido o entre 25 % y 80 % de mezcla de ácidos líquida.
- 25 9. Aditivo para piensos según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado por que los ácidos adicionales, al menos dos, de manera complementaria al ácido dicarboxílico orgánico de bajo peso molecular, al menos uno, se seleccionan a partir de ácido fórmico, ácido propiónico, ácido acético, ácido láctico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido benzoico, ácido fosfórico, ácido nítrico o ácido sulfúrico.
- 30 10. Aditivo para piensos según una de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado por que el valor de pH se ajusta a valores entre 2,5 y 4,7.
11. Aditivo para piensos según una de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por que como soporte están contenidos soportes sólidos, seleccionados a partir de minerales arcillosos, como zeolitas naturales o sintéticas, bentonita, silicatos, silicatos de aluminio, vermiculita, fructooligosacáridos y/o agua como soporte líquido.
- 35 12. Pienso acabado que contiene un aditivo para piensos según una de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado por que el aditivo para piensos se emplea en una cantidad de 200 g a 2000 g por tonelada de pienso acabado.
- 40 13. Empleo de al menos un ácido dicarboxílico de bajo peso molecular seleccionado a partir de ácido glutámico, ácido tartárico, ácido subérico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico o ácido maleico, como aditivo a un pienso que contiene al menos un ácido monocarboxílico orgánico de bajo peso molecular, seleccionado a partir de ácido fórmico, ácido propiónico, ácido acético, ácido láctico o ácido glucónico, así como otro ácido monocarboxílico orgánico, o bien un ácido inorgánico, y un soporte sólido o líquido, y entre 0,01 % y 1 % de un polifenol, como ácido tánico, ácido cafeico, ácido elágico, ácido perílico o ácido gálico, o entre 0,1 % y 5 % de un aldehído fenólico.