

308377



PATENTE DE INVENCION

Your Case N° 19.019.

## *Memoria Descriptiva*

*sobre*

"Procedimiento para la producción de  
suplementos alimenticios para ganado"

==.==.==.==.==.==

*Solicitante:* AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana,  
residente en: Berdan Avenue, Township of Wayne,  
Estado de New Jersey, EE. UU. de A.

==.==.==.==.==.==

Esta invención se refiere a un procedimiento  
novedoso para preparar suplementos alimenticios anima-  
les y/o alimentos animales, que son estables, en alma-  
cenamiento prolongado, contra la pérdida de potencia  
antibiótica.

5.

308377  
- 2 -



- En los últimos años, el empleo de los anti-  
bióticos en los alimentos animales para mejorar las  
características de desarrollo y la eficiencia de la  
utilización del alimento, ha sido de importancia eco-  
nómica considerable. Uno de los mejores de dichos pro-  
cedimientos, se describe en la patente de los Estados  
Unidos de Jukes N° 2.619.420 que involucra la adición  
de los antibióticos producidos por la fermentación de  
un medio nutritivo acuoso con el microorganismo Strep-  
tomyces aureofaciens, a alimentos animales. En la prác-  
tica, los sólidos del mosto de fermentación se cosechan  
después de que la fermentación se ha efectuado durante  
un tiempo adecuado, y se secan. Los sólidos de mosto  
cosechados y secados que contienen al antibiótico,  
usualmente clorotetraciclina, pueden utilizarse como  
un suplemento de alimento animal, o los sólidos pueden  
mezclarse con materiales de alimento animal convencio-  
nales, para producir un alimento animal nutritivamente  
equilibrado, acelerador del crecimiento.
- El empleo de los sólidos del mosto de fermen-  
tación cosechado, que contiene clorotetraciclina, como  
un suplemento para alimento animal o de aves de corral,  
ha presentado, desde sus orígenes, problemas muy moles-  
tos, particularmente la pérdida de potencia del anti-  
biótico en el alimento o suplemento alimenticio, por  
almacenamiento prolongado, particularmente bajo condi-  
ciones de temperatura y humedad relativamente altas.  
Esta pérdida de potencia antibiótica, que frecuente-  
mente llega hasta un 20% durante un período de alma-  
cenamiento de un año, ha hecho necesario hasta ahora

308377



- 3 -

- la adición de un promedio adecuado de sólidos de mosto cosechados y secados, que contienen al antibiótico, a la mezcla de alimento animal, para mantener la potencia antibiótica durante el almacenamiento. Dicho procedimiento es insatisfactorio, y entre otras cosas da como resultado costos de manufactura mayores que los deseados para estos suplementos para alimentos animales.
- 5.
- Otros métodos para estabilizar alimentos que contienen antibióticos de tetraciclina han sido ya sugeridos. Por ejemplo, se ha sugerido añadir el antibiótico biológicamente inactivo, 7-cloro-4-epi-tetraciclina, al suplemento, para estabilizarlo contra la pérdida de potencia. Se ha sugerido también que el hidróxido de calcio sea mezclado con el suplemento y la mezcla dispuesta en forma de pastillas antes de añadirla al alimento. Aunque dichos métodos han logrado éxito considerable, requieren etapas de tratamiento adicionales, equipo para la producción de pastillas e preparación de aditivos más bien costosos. Además, hasta la fecha, no se ha propuesto un método totalmente satisfactorio, mediante el cual el suplemento pueda hacerse estable por tratamiento durante la preparación del suplemento mismo, antes del cosechado del mosto de fermentación.
- 10.
- 15.
- 20.
- En la práctica comercial, se realiza un procedimiento típico para obtener los sólidos de mosto cosechado y secado que contienen antibiótico, cosechando el mosto de fermentación al pH prevaeciente, es decir, un pH de aproximadamente 6 a 8. Después se añade un filtreayuda, tal como tierra diatomácea, y los sólidos se recogen por filtración y se secan. La torta
- 25.
- 30.

308377

- 4 -



- de filtro secada que contiene la clorotetraciclina, puede venderse como tal, o puede mezclarse con materiales alimenticios convencionales para aves de corral o animales, para producir un alimento animal que
5. contiene un antibiótico, acelerador del crecimiento, nutritivamente equilibrado. Aunque este producto cosechado es estable, cuando se mezcla con alimento y se almacena bajo condiciones normales durante períodos prolongados, sufre una pérdida de potencia.
10. Se ha encontrado ahora que si se añade el ion aluminio al mosto de fermentación antes de la cosecha, y la cosecha se realiza después de una manera convencional, los sólidos de mosto cosechados y secados, resultantes, que contienen el antibiótico, son
15. estables contra la pérdida de potencia antibiótica durante períodos largos, ya sea que estén o no en la forma usual de una torta secada o que se mezclen con materiales alimenticios convencionales para aves de corral o animales. Así, la presente invención provee
20. por primera vez un procedimiento simple, de un paso, para estabilizar no sólo el suplemento alimenticio animal, sino el alimento terminado, así como contra las pérdidas de potencia antibiótica. No se sabe por qué este tratamiento imparte dicha estabilidad notable al suplemento alimenticio, aún cuando se mezcle
25. con materiales alimenticios convencionales, pero se cree que el aluminio se une al antibiótico del tipo de tetraciclina, en cierta forma física o química, que lo hace estable contra las pérdidas de potencia.
30. Para lograr la estabilización deseada, puede

308377

- 5 -



21 ENE 1965

suministrarse el ion aluminio a partir de cualquier fuente conveniente de sal orgánica o inorgánica de aluminio que sea soluble, por lo menos en cierto grado, en el licor acuoso de fermentación. Aunque se prefieren

5. cloruro de aluminio y sulfato de aluminio, pueden utilizarse acetato de aluminio, bromuro de aluminio y similares.

10. Generalmente, se ha encontrado efectivo para estabilizar el suplemento antibiótico, entre aproximadamente 0,6% y 5% de una sal de aluminio, con base en el volumen del mosto húmedo. Sin embargo, pueden utilizarse cantidades mayores o menores de la sal de aluminio, pero con menos ventaja, y se ha encontrado que se obtienen los resultados más efectivos cuando se emplea de aproximadamente 1,25% a aproximadamente 2,50% de una sal de aluminio. Aunque se ha encontrado que
15. la adición de 0,6% a 5% de la sal de aluminio produce generalmente un ajuste del pH del mosto de fermentación al valor deseable de 2 a 4, cuando dicho ajuste
20. de pH no se logra, puede añadirse una cantidad suficiente de un ácido o base apropiada.

25. Se ha observado también que si el mosto se calienta después de la adición del ion aluminio y después de la neutralización, y antes de la cosecha, a una temperatura comprendida entre 90 y 100°C, durante varios minutos, usualmente por lo menos 5, se obtiene estabilidad adicional en el suplemento alimenticio y en el alimento terminado.

30. La invención se describirá con más detalle conjuntamente con los ejemplos específicos siguientes.

308377



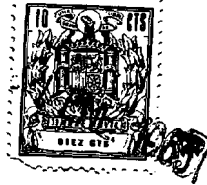
- 6 -

### EJEMPLO 1

- En las pruebas siguientes, el mosto de control de clorotetraciclina se preparó de conformidad con procedimientos de fermentación convencionales,
5. tal como se describe en la patente de Estados Unidos de Duggar Nº 2.482.055, y utilizando Streptomyces aureofaciens cepa A-377. Los mostos de prueba de clorotetraciclina se prepararon extrayendo muestras representativas, de 100 ml, a partir de las cubas de fermentación después de completarse la fermentación
10. y antes de la cosecha. Estas muestras de 100 ml se colocaron en vasos de precipitado, y se mezcló con las mismas la cantidad deseada de sal de aluminio en 20 ml de agua. El valor del pH de estas mezclas se
15. encontró generalmente comprendida entre 3,2 y 3,5. Sin embargo, en aquellos casos en los cuales esta escala de pH no se logró, se añadió un ácido a base adecuado, para ajustar el pH dentro de la escala deseada de 2 a 4. Después se añadió una cantidad suficiente de solución de hidróxido de sodio a cada mezcla, para ajustar su pH a un valor de 7 a 7,2. Después, con agitación continua, las mezclas se calentaron entre 90°C y
20. 100°C, y se mantuvieron a dicha temperatura durante aproximadamente 5 minutos. Las mezclas se enfriaron a aproximadamente 25°C y, cuando fué necesario, el pH se reajustó a aproximadamente 7,2. Se introdujeron aproximadamente 1,5 g de filtroayuda de Celite Nº 512 en la mezcla fría, y la mezcla total se filtró a través de papel filtro Whatman Nº 1 previamente revestido
25. con 1,5 g de Celite Nº 512. El filtro se desechó y la
- 30.

308377

- 7 -



- torta del filtrado se transfirió a una caja Petri, y se secó en una estufa de vacío durante 18 a 22 horas a aproximadamente 48°C-55°C y a un vacío de 635 mm de mercurio. La torta de filtro secada se molió después
5. hasta conseguir un polvo fino y uniforme, se resuspendió en agua a un volumen de tratamiento original (130 ml) y se colocaron aproximadamente 13 ml (1/10 de volumen original del mosto) de cada tratamiento en un número de tubos de ensayo. Las muestras de control
10. para cada tratamiento simplemente se taparon y se almacenaron sin la adición de alimento a las mismas. Sin embargo, a muestras sustancialmente idénticas de cada tratamiento, se les añadieron 10 g de un alimento comercialmente disponible, para aves de corral. Un
15. ejemplo del alimento utilizado, contuvo un máximo de 20% de proteína cruda, un mínimo de 4% de grasa cruda, y un máximo de fibra cruda de 5%, y contuvo los siguientes ingredientes:
20.           Suplemento de riboflavina
- Esterol animal D activado
- Aceite de vitamina A
- Carne y hueso molido
- Harina de aceite de frijol soya
- Harina de Alfalfa deshidratada
25.           Harina de maíz
- Alimento de maíz machacado
- Acemita de trigo
- Melazas de caña para alimento
- Roca fosfórica con bajo contenido de fluor, 2%
30.           Carbonato de calcio, 2%

308377

- 8 -



Sulfato de manganeso, 0,0125%

Sal yodada, 5%

Pantotenato de calcio

Niacina

5. Grasa animal (conservada con hidroxianisol butilado).

Todas las muestras se almacenaron a 56°C durante 3 días, después se separaron del almacenamiento y se analizaron biológicamente para el contenido de clorotetraciclina.

10.

Estas pruebas, realizadas a 56°C en presencia de agua con o sin alimento, añadido, son pruebas aceleradas diseñadas para crear condiciones severas y producir resultados que uno podría esperar obtener por almacenamiento prolongado (es decir, un año o más), bajo condiciones normales. Los resultados obtenidos se indican en la tabla I siguiente.

15.

308377

308377

- 9 -



21 FEB 1966

T A B L A 1

Preparación del suplemento mediante el procedimiento de fermentación y por la presente invención - Filtrado y secado	Aditivo	Calor	Filtroavuda	Preparación de muestras para pruebas-torta de filtro resuspendida en 130 ml de H <sub>2</sub> O	ml/tubo de ensayo	Microbioanálisis de los contenidos del tubo de ensayo
100 ml CTC	Ninguno	Ninguno	Cellite 512	13 ml	70,000	23,500
100 ml CTC	Ninguno, ajuste a 5 min.	90-100°C	Cellite 512	13 ml	58,000	28,250
100 ml CTC	un pH de 3,2 con HCl	Ninguno	Cellite 512	13 ml	70,500	32,200
100 ml CTC	1,25% AlCl <sub>3</sub>	Ninguno	Cellite 512	13 ml	49,150	40,250
100 ml CTC	1,25% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	Cellite 512	13 ml	45,250	42,700

5 min.

5 min.

Alimento a 56°C

Simple-Sin Alimento añadido, 10 g por tubo de ensayo

308377

T A B L A I (continuación)

Preparación del suplemento mediante el procedimiento de fermentación y por la presente inventación - filtrado y secado

ML. de mosto	Aditivo	Calor	Filtración
100 ml CTC	1,25% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	Celitte 512
		5 min.	
100 ml CTC	1,25% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	Celitte 512
		5 min.	
100 ml CTC	1,6% Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	90-100°C	Celitte 512
		5 min.	

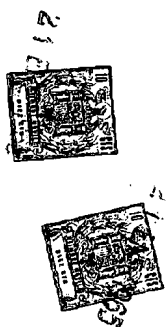
Preparación de muestras para pruebas - torta de filtro resuspendida en 20 ml de H<sub>2</sub>O

ml/tubo de ensayo		
13 ml	49,750	48,250
13 ml	55,250	49,500
13 ml	56,000	50,750

Microorganismos de los contenidos del tubo de ensayo mg. de CTC/tubo de ensayo simple y con el alimento para aves de corral agregados; después de 3 días de almacenamiento a 56°C Simple-Sin Alimento añadido, 10 g por tubo de ensayo

-10- Rd

308377



3 0 8 3 7 7

- 11 -



A partir de los datos provistos en la tabla 1 anterior, es evidente que:

5. (1) La mezcla del alimento para animales o para aves de corral con suplementos que contienen cloretetraciclina, produce inestabilidad y pérdida aguda de potencia del antibiótico bajo condiciones de esfuerzo a 56°C;
10. (2) Los suplementos de alimentos que contienen cloretetraciclina, preparados de conformidad con la presente invención, son significativamente más estables en la presencia de alimentos para animales y para aves de corral, que aquéllos preparados por procedimientos convencionales, v.gr., sin la adición del ion aluminio y/o calor;
15. (3) El calentamiento del mosto antes de la cosecha produce estabilidad incrementada del mosto, independientemente de que el mosto sea producido por el procedimiento convencional o por el procedimiento de la presente invención;
20. (4) La estabilidad del suplemento, lograda por el empleo del ion aluminio en su preparación, es aumentada por el empleo de calor en la preparación, antes de la cosecha.

#### EJEMPLO 2

25. De conformidad con el procedimiento establecido en el ejemplo 1, se prepararen suplementos alimenticios de antibiótico de cloretetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina, con varias concentraciones de cloruro de aluminio utilizadas en el
30. tratamiento de fermentación antes de la cosecha de



5. mosto. Las tortas de filtro obtenidas se secaron, se molieron, y se resuspendieron en agua, para el sistema de prueba acelerada, se colocaron muestras de 13 ml a partir de cada tratamiento, en tubos de ensayo, y los tubos de ensayo se taparon y se almacenaron a 56°C. Asimismo, se colocaron muestras similares de 13 ml a partir de cada tratamiento, en tubos de ensayo con 10 g de alimento para aves de corral según se utiliza en el ejemplo 1. Estas muestras se taparon y se almacenaron con las otras a 56°C, durante 3 días, y después se separaron todas las muestras y se analizaron microbiológicamente para el contenido de antibiótico.

10. Los resultados obtenidos se proveen en el cuadro 2 siguiente, en donde puede notarse fácilmente que en estas pruebas aceleradas, los suplementos que contienen antibiótico preparados mediante métodos convencionales, fueron inestables cuando se almacenaron en mezcla con alimento y agua. Además, puede verse que todos los suplementos preparados mediante el procedimiento de la presente invención fueron muy estables, aún cuando se almacenaron bajo las condiciones más adversas de la prueba. Puede notarse además que el empleo de 1,25% a 2,5% de  $AlCl_3$  en la preparación de los varios suplementos produce estabilidad máxima del suplemento.

308377

T A B L A 2

308377



Preparación del suplemento  
mediante el procedimiento  
de fermentación y por la pre-  
selección - Filtrado y secado  
de mosto Aditivo Calor Filtrada

Preparación de muestras  
para pruebas-torta de  
filtro resuspendida en  
H<sub>2</sub>O

Microbiólogos de los con-  
tenidos de tubo de ensayo,  
mg de antibiótico/tubo de  
ensayo-símple y con alimen-  
to para aves de corral agre-  
gado, después de 3 días de  
almacenamiento a 56°C.  
Símple, sin Alimento agre-  
gado, 10 g por  
tubo de ensayo

100 ml CFC <sup>1</sup> Ninguno	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	38,000	8,500
100 ml CFC 2,5% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	26,500	24,625
100 ml CFC 0,625% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	42,250	25,225
100 ml CFC 1,25% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	34,375	27,850
100 ml CFC <sup>2</sup> Ninguno	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	11,325	3,375
100 ml CFC 0,625% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	13,300	8,075
100 ml CFC 1,25% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	15,400	12,150
100 ml CFC 2,5% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	14,925	12,250
100 ml CFC <sup>3</sup> Ninguno	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	11,650	5,600
100 ml CFC 0,625% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	10,500	6,100
100 ml CFC 1,25% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	9,325	8,150
100 ml CFC 2,5% AlCl <sub>3</sub>	90-100°C	3 g.	5 min.	1.3 ml	8,325	8,750

3- Tetracolina

308377

- 14 -



EJEMPLO 3

De conformidad con el procedimiento establecido en el ejemplo 1, se prepararon y formaron cuatro suplementos o mostos de alimento con clorotetraciclina.

5. Los datos comparativos, obtenidos por análisis microbiológico de cada suplemento, se indican en la tabla 3 siguiente.

10. A partir de estos datos, es evidente que la adición de  $AlCl_3$  al mosto antes de la cosecha, produce estabilidad incrementada del mosto. Muestra también... que pueden utilizarse filtro-ayudas comerciales, diferentes a Celite con éxito en la preparación y recuperación del mosto.

308377

15-As

308377



T A B L A 3

Preparación del suplemento mediante el procedimiento de fermentación y por la presente invención - Filtrado y secado

MI de mosto	ADITIVO	Calor	FILTROSTADA
100 ml de mosto	Ninguno	90-100°C	3%
to de CNG		5 min.	Celitte 512
100 ml de mosto	1,25%	90-100°C	3%
to de CNG	ALCI <sub>3</sub>	5 min.	Celitte 512
100 ml de mosto	1,25%	90-100°C	2,4%
to de CNG	ALCI <sub>3</sub>	5 min.	Decalite 436

Preparación de muestras para pruebas-torta de filtro reuspendida en H<sub>2</sub>O

ml/tubo de ensayo	67,750	60,250	51,500
13 ml			
13 ml			
13 ml			

Microbioanálisis de los contenidos de tubo de ensayo, mg CNG/tubo de ensayo, simple y con alimento para aves de corral añadido, después de 3 días de almacenamiento a 56°C

Simple-sin alimento añadido      Con alimento añadido, 10 g por tubo de ensayo

308377

- 16 -



EJEMPLO 4

De conformidad con el procedimiento del ejemplo 3, y empleando relaciones similares de ingredientes pero sobre una escala piloto, se prepararon suplementos alimenticios esencialmente idénticos. Estos suplementos se analizaron microbiológicamente, y los datos obtenidos se dan en la Tabla 4 siguiente.

5.

A partir de los datos, puede verse que los suplementos preparados sobre una escala piloto son esencialmente similares a aquéllos obtenidos con preparaciones sobre una escala menor.

10.

308377

- 17 -

- 17 - Psi

308377

21 E



T A B L A 4

Preparación de suplemento en planta piloto mediante el procedimiento de fermentación y por la presente invención - Filtrado y secado

Preparación de muestras para pruebas-torta de filtro resuspendida en H<sub>2</sub>O

ml/tubo de ensayo

Microbioanalisis de los contenidos de tubo de ensayo, mog de CFC/tubo de ensayo, simple y con alimento para aves de corral ahadido, después de 3 días de almacenamiento a 56°C Simple, sin alimento ahadido Con alimento ahadido, 10 g por tubo de ensayo

Mosto	Aditivo	Calor	Filtros/uda	ml/tubo de ensayo	63,750	25,300
100 ml de mog	Ninguno	90-100°C	3%	13 ml	58,500	50,750
to de CFC to-	AlCl <sub>3</sub>	5 min.	Celitte 512			
mados a partir de cubas para propósitos de prueba						
100 ml de mog	1,25%	90-100°C	3%	13 ml	63,250	48,750
to de CFC to-	AlCl <sub>3</sub>	5 min.	Celitte 512			
mados a partir de cubas para propósitos de pruebas						

308377

- 18 -



N O T A

- Descrita suficientemente la naturaleza del invento así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento se refiere a una solicitud de patente presentada en Norteamérica Ser. N<sup>o</sup> 339.088, con fecha 21 de enero de 1964, acogiéndose, por lo tanto, a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España: "PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS PARA GANADO"; caracterizándose por lo siguiente:
5. 1<sup>a</sup>.- Procedimiento para la producción de suplementos alimenticios para ganado, a partir de sólidos de mosto de fermentación cosechados, secados,
10. que contienen un antibiótico de tetraciclina, caracterizado por agregar a dicho mosto de fermentación, y antes de la cosecha del mismo, una cantidad efectiva de ion aluminio para estabilizar al antibiótico contra las pérdidas de potencia durante períodos de tiempo largos, cuando el suplemento se incorpora a una cantidad mayor de un material alimenticio animal comestible.
15. 2<sup>a</sup>.- Un procedimiento de conformidad con la reivindicación 1<sup>a</sup>, en donde se utiliza una sal de aluminio como fuente del ion aluminio, y en donde la sal
- 20.
- 25.
- 30.

308377



- 19 -

está presente en un grado comprendido entre aproximadamente 0,5 y 5% con base en el peso del mosto de fermentación.

5. 3ª.- Un procedimiento de conformidad con la reivindicación 1ª, en donde el antibiótico de tetraciclina es clorotetraciclina, tetraciclina, oxitetraciclina o desmetilclorotetraciclina.

10. 4ª.- Un procedimiento de conformidad con la reivindicación 1ª, en donde el mosto de fermentación que contiene al ion aluminio se calienta a una temperatura comprendida entre aproximadamente 90º a 100º C, a modo de impartir estabilidad adicional al alimento terminado.

15. 5ª.- "Procedimiento para la producción de suplementos alimenticios para ganado"; tal y como queda sustancialmente descrito en la presente memoria.

Esta memoria consta de diecinueve hojas escritas a máquina por una sola cara.

21 ENE. 1965

Madrid,

AMERICAN CYANAMID COMPANY.-

J. GOMEZ ACEBO Y MODEY