

343817



343817

P A T E N T E
D E
I N V E N C I Ó N

a favor de COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANIZATION, entidad australiana, domiciliada en East Melbourne (Victoria, Australia), 314 Albert Street, por "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE COMPOSICIONES DE PIEN SO PARA LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES"

- . -

MEMORIA DESCRIPTIVA

- Esta invención se refiere a alimentos o suplementos de alimentación proteínicos o que contienen aminoácidos, utilizables para aumentar el rendimiento en la producción de proteínas, con respecto al consumo de alimento, en los rumiantes. En particular, está relacionada con el aumento del rendimiento en la producción de lana en ovejas, aunque también es aplicable a ovejas y otros rumiantes tales como ganado vacuno y cabras, para aumentar el crecimiento del cuerpo y producción de carne, para aumentar la producción de leche y, en general, para
- 5.
 - 10.

343817

27



reducir el gasto de alimento requerido para el mantenimiento de estos animales.

- Como es bien sabido, el crecimiento de la lana y del cuerpo, y la producción de carne y de leche, requieren las síntesis de proteínas. Mientras que la lana es proteína casi pura, la carne y la leche contienen, en adición a las proteínas, proporciones variables de agua, grasa, carbohidratos y otras sustancias. No obstante, en la producción de carne y de leche, así como en la producción de lana, la síntesis de las proteínas es una etapa limitada:
5. El procedimiento no puede seguir adelante sin la síntesis de proteínas. Por tanto, la producción de lana, carne y leche es denominada en general "producción de proteínas", y en la presente memoria se utilizará este mismo término. Asimismo, en esta memoria la expresión "proteínáceo" será aplicada igualmente a los aminoácidos sencillos como a las mezclas de polipéptidos y aminoácidos, y a las proteínas naturales.
- 10.
- 15.

- También es bien sabido que todas las proteínas que se encuentran en los animales, aves y plantas, son compuestos químicos que contienen diferentes combinaciones de unos 22 aminoácidos, siendo el número y disposición de tales ácidos constante en cada proteína particular. Doce de estos aminoácidos pueden ser sintetizados a partir de otras sustancias por procedimientos bioquímicos normalmente presentes en la mayoría de los animales, pero los restantes diez, llamados aminoácidos esenciales, no pueden ser sintetizados de esta manera y han de ser
- 20.
- 25.

343817



- ingeridos por el animal. Como que las proporciones de los aminoácidos constituyentes de una proteína particular no pueden ser variadas, el aminoácido esencial que ocupa el último lugar en el suministro limita la cantidad de esta
5. proteína que puede ser producida por el animal. En consecuencia, para cada dieta dada habrá un aminoácido esencial particular que limitará la producción de la proteína que incorpore este aminoácido, a menos como es natural, de que dos o más de tales aminoácidos sean igualmente limitadores.
10. La apreciación de los anteriores principios ha llevado a la formulación de dietas para aves y animales no rumiantes, las cuales proveen la proporción óptima de aminoácidos y han hecho posible conseguir aumentos significativos en la producción de proteínas. En el rumiante las
15. proteínas y aminoácidos dietéticos son degradados a amoníaco, en proporción variable, por la fermentación microbiana de los dos primeros compartimientos del estomago (el rumen y el retículo). Las bacterias y protozoos de estas cámaras utilizar el amoníaco para su propio crecimiento y multiplicación, y la proteína microbiana formada de esta manera pasa al abomaso, el compartimiento del estomago que corresponde al estomago de los no rumiantes, donde es dirigida parcialmente. El proceso es completado en el intestino delgado, donde son absorbidos los aminoácidos.
- 20.
25. La composición en aminoácidos de la proteína microbiana determina, más que la proteína de alimentación, la proporción de aminoácidos disponible para el rumiante. Además, cuando el contenido en proteínas de la dieta sube

343817

27



por encima de 6-8%, los microbios del rumen no pueden utilizar el amoniaco tan deprisa como es formado, y gran parte del mismo es absorbido y excretado. De esta manera se ha encontrado que al aumentar el porcentaje de proteínas de la dieta no aumenta el crecimiento de la lana, mientras que aumentando el gasto total de alimento (que ha demostrado aumentar la cantidad de síntesis microbiana) estimula el crecimiento de la lana.

10. Como que las proporciones de aminoácidos esenciales en la proteína microbiana no son similares a las proporciones correspondientes de la carne, leche y lana, se esperaba que la producción de proteínas en los rumiantes podría ser aumentada si la absorción de los aminoácidos esenciales limitadores pudiera ser aumentada. A fin de demostrar esta hipótesis, P. J. Reis y P. G. Schinkel (1961, 1963, 1964) instilaron la proteína caseína directamente al abmaso, por medio de un tubo colocado allí quirúrgicamente, y observaron aumentos extraordinarios en el crecimiento de la lana y del peso del cuerpo.

15. También se obtuvieron aumentos después de la instilación de los aminoácidos cisteína y metionina. La cisteína (o su otra forma, la cistina) no es un aminoácido esencial ya que puede ser sintetizada en el cuerpo a partir de la metionina, pero puede substituir esta última en cuanto se refiere a las necesidades de cisteína por parte del animal. La administración de cantidades similares de caseína por la vía normal, produjeron sólo un pequeño aumento en el crecimiento de la lana y del peso del cuerpo, mientras

20.

25.

343817



- proteínáceo, tratado a fin de devolverlo resistente al ataque dentro del rumen del animal. La manera similar, la invención comprende asimismo, en la fabricación de alimentos o suplementos de alimentación proteínáceos para animales,
5. la etapa de tratar el alimento a fin de volver la proteína contenida en él resistente contra la degradación dentro del rumen del animal ruminante, sin volverlo, al mismo tiempo, indigerible dentro del abomaso e intestino delgado.

- Tal como se ha indicado anteriormente, la escala elegible de materiales de alimentación proteínáceos naturales, es muy amplia. Así, puede tratarse de una preparación de desperdicios de carne, harinas de pescado, caseínas o levaduras, u otros subproductos de la industria de la carne o de la leche, o de las industrias de la fermentación.
- 10.

15. Puede incluir, por otro lado, plantas ricas en proteínas y preparaciones tales como barcias, ensilajes, harinas, gránulos, concentrados o similares formados a partir de granos, nueces, habas y otras partes de plantas, por ejemplo barcias o ensilajes de alfalfa, harinas de coco, soja, cacahuetes, linazas, semillas de algodón y de hojas de alfalfa. También se puede utilizar proteínas más purificadas, extraídas de los anteriores materiales.
- 20.

- En adición a los anteriores materiales proteínáceos naturales también se pueden utilizar aminoácidos o péptidos, tanto sintéticos como derivados de proteínas.
- 25.

A causa de la variable composición de aminoácido y de las propiedades físicas, las proteínas individuales pueden variar considerablemente en su valor nutritivo. Sus deficiencias, no obstante, pueden ser compensadas por la

343817 27



adición de preparaciones adecuadas de aminoácidos o péptidos.

5. Aunque los alimentos proteínáceos son preferiblemente de una forma sólida y particulada, pueden ser preparados como líquidos o pastas, o bien pueden ser incorporados en un bloque o lamedero de sal. (La preferencia por la forma sólida y particulada será explicada más adelante).

10. En la inmensa mayoría de los casos, la administración de estas sustancias alimenticias proteínáceas, protegidas de acuerdo con la invención tendrá por resultado un aumento del peso del cuerpo, pero este aumento no es siempre pari passu con el aumento en el crecimiento de la lana o la producción de leche. Esto es tal como era de esperar, a causa de las diferentes necesidades en aminoácidos para la síntesis de las diferentes proteínas implicadas. Por ejemplo, se ha encontrado que las instalaciones abomásicas de harina de soja producen un mayor aumento del peso del cuerpo que las instalaciones similares de harina de pescado, pero que la harina de pescado instilada es superior a la harina de soja en relación con el crecimiento de la lana. Se puede, de esta manera, resaltar una forma de producción con respecto de la otra por la simple elección de un equilibrio adecuado de aminoácidos dentro de la dieta. No obstante, en la ulterior ilustración de la naturaleza de la invención, los ejemplos ilustrativos se referirán ampliamente al crecimiento de la lana, y a este respecto los ejemplos, 2, 3 y 4 proporcionarán una comparación entre una variedad de alimentos preparados de acuer

15.

20.

25.

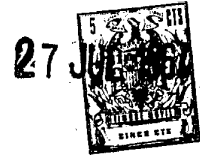
343817



do con uno de los procedimientos preferidos que serán descritos.

- Al producir alimentos de acuerdo con la presente invención, es importante apreciar que, para las ovejas,
5. el tiempo de permanencia de las sustancias alimenticias normales dentro del rumen es de aproximadamente 20 horas, y que el tiempo de permanencia dentro del abomaso e intestino delgado es, raramente, mayor de cuatro horas, y frecuentemente menos de dos; el tiempo de permanencia en otros
10. rumiantes es similar. Es decir, el tratamiento protector deseado ha de ser capaz de resistir el ataque por las enzimas digestivas de la microflora del rumen durante 20 horas, y con todo ser tan ineficaz contra las enzimas digestivas normales del abomaso, que las proteínas puedan ser
15. absorbidas durante las dos horas, aproximadamente, que el alimento permanece en el abomaso e intestino delgado. Es de apreciar que el sistema nutricional del animal rumiante es tal que los ensayos in vitro de diferentes métodos de proteger el alimento, dan sólo una guía basta y a veces
20. desorientadora con respecto a los métodos relativos de tales procedimientos como medios para aumentar el rendimiento de la producción de proteínas.

- Generalizando, se prevé que el alimento proteínico pueda ser protegido contra la degradación dentro
25. del rumen por modificación de la propia proteína, por la aplicación de un revestimiento protector a la sustancia alimenticia, o por una combinación de ambos métodos. Es bien sabido que muchas proteínas nutritivas pueden ser mo



343817

dificadas y hechas más resistentes a la degradación microbiana, por tratamiento térmico, es decir, por cocción. Mientras que un tal tratamiento térmico puede dar una protección efectiva contra la microflora del rumen, no ha resultado ser muy satisfactorio ya que es difícil proyectar un tratamiento que proporcione la protección deseada sin un desmejoramiento substancial de la digeribilidad general de la proteína y sin pérdida de aminoácidos esenciales.

5. Se han encontrado dificultades similares al intentar la modificación química de los materiales proteínicos. Se han ensayado varios tratamientos similares al curtido, pero aquéllos que implican fuertes agentes de curtición metálicos reducen drásticamente la digeribilidad general de la proteína, mientras que el tratamiento con varios taninos vegetales, naturales y suaves no parecen dar una protección muy satisfactoria en el rumen a veces que el nivel de curtición sea cercano al tóxico o superior al mismo. Este último caso es ilustrado por el ejemplo 6 que sigue, el cual describe un intento de utilizar tres de tales taninos vegetales para proteger la caseína contra la degradación en el rumen.

10. La investigación sobre las sustancias de recubrimiento muestra que las formulaciones de absorción lenta, disponibles comercialmente, basadas en aceites y grasas vegetales, son únicamente capaces de proporcionar una protección relativamente limitada. Se creyó que esto era debido, al menos en parte, a la presencia de lipasa, u otras enzimas, y de agentes tensoactivos dentro del rumen,



343817 27 JUN 1954

- capaces de degradar tales recubrimientos durante el largo tiempo de permanencia que entra en cuenta. Por otra parte, estas investigaciones, y otras similares, ha mostrado la dificultad de proporcionar un revestimiento que sea razonablemente uniforme y exento de poros, y ello también resalta la notable capacidad de la microflora del rumen para operar eficazmente a través de tales poros. Se reconoce, no obstante, que las formulaciones y técnicas implicadas son susceptibles de significantes perfeccionamientos.
- 5.
10. Con todo, a la vista de las precedentes dificultades y de acuerdo con una característica preferida de la presente invención, es conveniente reconocer el hecho de que el pH del rumen es, usualmente, de aproximadamente 6 (aunque puede variar entre 5 y 7), mientras que el pH del abomaso está comprendido usualmente entre 2 y 3 (con seguridad por debajo de 4). Esto es, si la proteína es protegida por modificación química es de lo más deseable que se produzca un producto de reacción inestable bajo condiciones ácidas, o, si la proteína es protegida mediante un recubrimiento, emplear como revestimiento una substancia que se disuelva o se degrade bajo las condiciones ácidas del abomaso. En otras palabras, la superficie de las partículas del alimenproteínáceo es vuelta, de preferencia, substancialmente menos solubles en soluciones acuosas que
- 15.
- 20.
25. tengan valores de pH en exceso de 5, que en soluciones acuosas que tengan valores de pH de menos de 4.

En segundo lugar, y de acuerdo con otra característica preferida e importante de la presente invención,

343817



- es conveniente, en lo que a los materiales de revestimiento se refiere, el emplear un tal material que interactúe con la proteína que es protegida, de forma que se esparza eficazmente en toda la superficie de las partículas de proteína, reduciendo con ello, substancialmente, la posibilidad de poros. La interacción se realiza, preferiblemente, por vía de enlaces químicos débiles y/o adsorción física relativamente fuerte (siendo ambas propiedades consideradas como prácticamente indistinguibles), y por tanto tiene por resultado la formación de un complejo protector de una naturaleza proteínacea polimérica. Si esto se realiza, se pierde la distinción entre la modificación química preferida de la proteína y la formación de un revestimiento protector, ya que al menos la superficie de la proteína es modificada por la interacción en el complejo, y el propio complejo forma el recubrimiento. Así se puede decir que la realización más preferida de la invención implica una combinación de modificación química y recubrimiento superficial. Cuando las partículas proteínaceas son muy pequeñas, o en forma de copos, toda la proteína puede quedar implicada en el complejo protector, pero se cree que en el caso de grandes partículas únicamente la porción superficial quedará implicada usualmente. La naturaleza polimérica del complejo puede ser acrecentada tanto introduciendo reticulación ácido-reversible dentro de la proteína, como empleando un agente de tratamiento polimérico que interactúe con la superficie de la proteína y produzca un complejo inestable en ácidos. Aunque la naturaleza del complejo que se
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

343817

27



5. forme en un caso específico puede no ser conocida, la adecuación del procedimiento puede ser medida por simples ensayos de solubilidad, acumulación de amoniaco después de incubación un vitro con fluido de rumen, y de alimentación.

10. Una forma de tratamiento preferida particularmente, implica el empleo de un complejo protector que incluye el producto de reacción polimérico de un aldehído con el material proteínáceo. En general se puede esperar que el complejo incluya un polímero de formaldehído o un producto de condensación de formaldehído y aminas o amidas. Resulta un tratamiento particularmente sencillo y útil, del tratamiento directo del material de alimentación proteínáceo por una simple solución o pasta de formaldehído,

15. tal como se ilustra en los ejemplos 1 a 5 y 7, facilitados más adelante. Es este tratamiento las aminas o amidas pueden ser derivadas de la propia proteína, de fo ma que el complejo es, formado por reticulación de ácido-reversible en los grupos amino terminales de diferentes proteínas, o

20. en los grupos E-amino de la lisina, entre los grupos amido de la asparagina y glutamina, entre los grupos guanidilo de la arginina, entre los grupos imidazol de la histidina, entre los grupos indol del triptofano, o entre cualquier combinación de éstos. Por consiguiente, tal como

25. era de esperar, este tratamiento directo no presenta perspectivas en la protección de preparaciones de aminoácidos simples, aunque estos últimos pueden ser protegidos, como es natural, si son incorporados en la proteína formanili-

343817



27 JA

nizada.

- No sólo es posible tratar con formalina proteínas tales como la caseína, que han sido aplicadas como un revestimiento al material proteínáceo que se trata de proteger, sino que también es posible formar el polímero de formaldehído separadamente y aplicarlo luego al material que se trata de proteger. Por ejemplo, los de urea-formaldehído, N-metilol-poliacrilamida, melamina-formaldehído o guanidina formaldehído pueden ser adecuados y pueden ser formados in situ o separadamente con respecto del material de alimentación. Se pueden utilizar otros aldehídos, tales como el acetaldehído o glutaraldehído, o un sacarido tal como la sucrosa, pero al parecer dan lugar a la llamada "reacción Browning" que produce una pérdida de aminoácidos esenciales, y, por tanto, parecen ser algo inferiores al tratamiento con formaldehído. El formaldehído puede ser obtenido en cualquiera de las formas comercialmente disponibles, tales como la solución de formalina, paraformaldehído, "Formcel", etc.
- Tal como se ha indicado anteriormente y es ilustrado por los ejemplos 1 a 5 y 7, la gama de elección de las sustancias alimenticias proteínáceas es muy amplia, y son de esperar variaciones en la adecuabilidad de una o de la otra al tratamiento con formalina. Consecuentemente, no es posible especificar condiciones o procedimientos de tratamiento óptimos que sean ampliamente aplicables. El tratamiento es, no obstante, simple y está ilustrado en los ejemplos mencionados anteriormente. En general el for-

343817

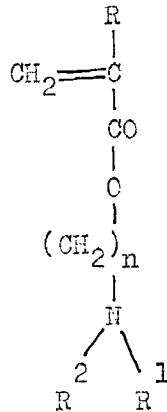


- maldehido puede ser aplicado por medio de una solución o pasta acuosa a concentraciones de entre 0,12 y 40% de formaldehido, y a temperaturas de hasta 120° C, pero preferiblemente a temperaturas ambientales. Las altas temperaturas pueden perjudicar el valor nutritivo de algunos de los alimentos mencionados anteriormente, más sensibles a la temperatura. La duración del tratamiento ha de ser ajustada para adaptarse a la temperatura y a las concentraciones empleadas, pero puede variar desde unos pocos minutos hasta unas cuantas horas. En general, el grado de protección proporcionado estará en relación con el pH, tiempo, concentración y temperatura. El formaldehido libre puede ser eliminado después del tratamiento por lavado o, más simplemente, por calentamiento.
- 5.
- 10.
15. Otra manera preferida de proteger el material proteináceo contra el ataque en el rumen, mediante el empleo de complejos solubles o inestables en ácidos, reside en el uso de polímeros o copolímeros sintéticos de monómeros acrílicos o vinílicos básicos. Las propiedades deseadas pueden ser aproximadas por regulación del número de átomos de nitrógeno cargables en la molécula del polímero, y controlando las proporciones y tipos de copolímeros empleados. La actividad deseable del polímero con respecto del material alimenticio proteináceo también puede ser regulada mediante residuos monoméricos subsidiarios.
- 20.
- 25.

Más específicamente, son polímeros básicos de acrilatos o metacrilatos de amino adecuados, los de la for



mula general:

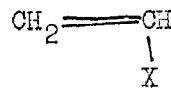


en la cual R1 = H o una cadena alquílica normal o ramificada; R2 ≠ H o una cadena alquílica normal o ramificada; R = H o metilo, y n = 2, 3 o 4. En particular se prefieren los polímeros y copolímeros de metacrilatos de aminoetilo, siendo los polímeros de este tipo más adecuados, de acuerdo con los conocimientos de la solicitante, los derivados del poli-(metacrilato de butilaminoetilo terciario) y, en menor grado, del poli-(metacrilato de dimetilaminoetilo).

5.

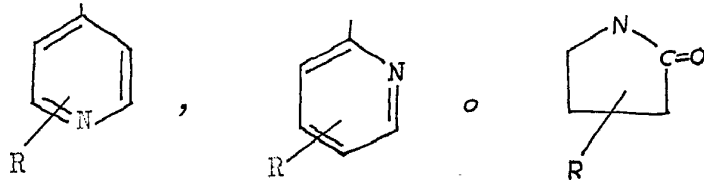
10.

Los polímeros o copolímeros de monómeros vinílicos básicos que presentan buenas perspectivas, son los derivados de monómeros de vinilo de fórmula general:



15.

en cuya fórmula X es



20.

en las cuales R = H o alquilo

343817



27

Son polímeros o copolímeros particulares interesantes de este grupo, los derivados de poli-(2-vinilpiridina), poli-(4-vinilpiridina) y poli-(N-vinilpirrolidona).

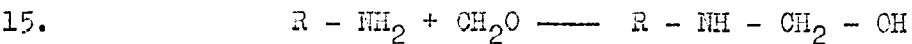
5. Cierta número de los polímeros o copolímeros incluidos en los grupos anteriores han sido hechos y caracterizados tal como lo describieron Harrap, Rosman y Solomon (1965). Tal como se ha indicado previamente, las características principales del complejo proteína-polímero
10. particular pueden ser reguladas en amplio grado mediante el empleo de copolímeros de otros monómeros vinílicos o acrílicos. El ejemplo 8 que se cita más adelante, ilustra los efectos de varias proporciones de copolímeros y diferentes homopolímeros. La elección de tales monómeros modi
15. ficadores puede ser dependiente del grado de basicidad proporcionado, esto es la capacidad de solución en ácido, y de las propiedades hidrófobas o hidrofílicas, o sea la solubilidad en condiciones normales. Por ejemplo, de esta manera se pueden emplear polímeros de estireno o estireno
20. substitudo, metacrilato o acrilato, para regular la hidrofobicidad y basicidad del complejo polimérico resultante. Los expertos en el arte también serán capaces de controlar los pesos moleculares de los polímeros y copolímeros resultantes para modificar apropiadamente las propiedades
25. de los revestimientos.

Es de ~~de~~ apreciar que los anteriores requisitos para los polímeros y copolímeros pueden ser indicados únicamente en términos generales desde el momento en que estos po



límeros han sido seleccionados para formar complejos con las proteínas a revestir. En el caso del poli-(metacrilato de butilaminoetilo terciario) preferido, cuando es empleado para recubrir caseína se produce un complejo de proteína polimérico que es altamente eficaz para resistir el ataque bacteriano (ejemplo 8).

El uso de los polímeros como los descritos anteriormente, en conjunción con un tratamiento con formalina también está previsto en la presente invención. Estos tratamientos combinados pueden ser aplicados como procedimientos de una o de dos etapas, pero de preferencia implican el producto de reacción de una reacción de metilolación entre el polímero y la formalina de acuerdo con la siguiente fórmula general:



a aplicación efectiva del tratamiento de protección a los materiales alimenticios proteínicos puede ser llevada a cabo de cualquier manera conocida adecuada, algunas de las cuales han sido ilustradas en los ejemplos.

20. El uso de un lecho fluidificado, del revestimiento a partir de una emulsión, solución o pasta, la formación del recubrimiento protector in situ o separadamente, quedan previstos todos ellos.

Es obviamente deseable, dado un alimento o suplemento de alimentación protegido particular, reducir el tiempo de permanencia de este alimento dentro del rumen. Esto puede ser conseguido, en general de dos maneras. En

343817



- primer lugar, el tamaño de partículas del alimento ha de ser mantenido pequeño, de preferencia entre 0,1 y 1 mm de diámetro, y la densidad relativa ha de ser cercana a la inidad. El empleo de un tamaño de partícula y de una densidad de este orden reduce las posibilidades de que el alimento sea devuelto para la rumiación o que sea atrapado por la espuma y quede retenido en el rumen. En segundo lugar, la adición de hasta 15 a 20% de sal a la dieta acelerará de modo considerable, mayormente a causa del aumento corres-
5. pondiente en el consumo de agua, el paso de este material particulado a través del rumen, haciendo posible reducir a la mitad los tiempos de permanencia normales. El ejemplo 10 ilustra este efecto, pero la aplicación de este procedimiento requiere la administración de cantidades adecuadas de agua.
- 10.
- 15.

- Mientras que se ha resaltado, de acuerdo con las realizaciones preferidas de la invención, que los mejores resultados pueden ser obtenidos con un agente de tratamiento que interactúa con al menos la superficie de la proteína para formar un complejo polimérico que tiene las características deseadas, puede ser posible, con técnicas de recubrimiento mejoradas, aplicar un revestimiento puramente mecánico a la proteína o aminoácido que es esencialmente inerte respecto a él. Como es natural, resulta característico de tales recubrimientos el hecho de que sus solubilidades quedan substancialmente inalteradas por su aplicación a la proteína o a los aminoácidos.
- 20.
- 25.

La invención será descrita ahora más completamen-

343817



te por medio de los siguientes ejemplos ilustrativos:

E J E M P L O 1

- Varios lotes de 250 kg de caseína comercial precipitada con HCl (galga inferior a 30) son agitados durante una hora con 10 volúmenes de solución de formalina preparada mezclando un volumen de formalina comercial (40% de formaldehído) con 9 volúmenes de agua. La caseína es dejada precipitarse y la solución de formalina es decantada.
5. El residuo es agitado con 10 volúmenes de agua, dejado precipitarse, y el agua es decantada. Este procedimiento de lavado es repetido otra vez y el residuo es secado sobre bandejas en una estufa a 80° C.
- 10.

- Se procede a la incubación de muestras de caseína tratada con formalina y de caseína sin tratar, con 20 ml de contenido del rumen, in vitro a 39,5° C, y la acumulación de amoniaco en el medio a medida por destilación con solución saturada de borax sódico y titulación con HCl 0,01 N. La acumulación de amoniaco al cabo de diferentes periodos de incubación se halla ilustrada en la tabla 1.
- 15.

T A B L A 1

Incubación in vitro de caseína formalinizada.

Acumulación de NH₃ por encima del valor inicial después de la incubación (% de nitrógeno adicionado).

	<u>3 hrs</u>	<u>6 hrs</u>	<u>12 hrs</u>	<u>24 hrs</u>
Caseína sin tratar	40.4	73.6	82.5	89.2
Caseína formalinizada	0.6	0.4	0.6	4.1

343817



Los resultados de la tabla 1 están corregidos en cuánto a la pequeña acumulación de amoniaco que se produce en ausencia de proteína adicionada. Los resultados indican que el tratamiento con formalina evitan la degradación de la caseína tratada, por los microbios de los frascos de incubación. La caseína tratada es recuperada intacta de los frascos, mientras que la caseína sin tratar había desaparecido ampliamente.

Se obtienen resultados similares cuando se añade una muestra de 60 g de la caseína tratada, al rumen de una oveja a través de una fístula: No se produce aumento en la concentración de amoniaco, mientras que 60 g de caseína sin tratar hacen subir la concentración de amoniaco de 15 a 37 mg de N. por 100 ml.

Se añade 100 g de caseína tratada a la ración diaria de 8 ovejas que ya reciben 400 g de barcia de alfalfa y 400 g de barcia trigada. Cuatro de las ovejas son puestas a la dieta de barcia sola que es suficiente para mantener constante el peso del cuerpo. La razón de crecimiento de la lana y el peso del cuerpo de las ovejas antes y después de la adición de la caseína tratada a la dieta, están indicados en la tabla 2. El crecimiento de la lana es medido en áreas de muestra definidas por líneas de tatuaje en la parte central de los costados. Las razones de crecimiento de lana totales, en gramos por día, ilustradas en la tabla 3, son obtenidas multiplicando el peso de la lana y e ca y limpia del área de muestra, por un factor que repre sen ta la proporción entre las razones de crecimiento de la la-

343817

27



na en la muestra y total.

T A B L A 2

Respuesta del peso del cuerpo (P.C.) y del crecimiento de la lana a la caseína tratada con formalina.

Grupo	Oveja Nº	Tratamiento previo		Semanas de tratamiento					
		Lana g/día	P.C. Kg	2-3		4-5		6-7	
				Lana g/día	P.C. Kg	Lana g/día	P.C. Kg	Lana g/día	P.C. Kg
Control	6016	6.1	55.3	7.4	55.4	6.8	55.2	6.9	54.6
	6030	6.2	45.8	5.4	46.1	6.9	45.4	5.7	45.9
	6033	6.2	52.0	4.8	52.1	5.8	51.8	4.8	51.8
	6034	6.8	55.0	7.0	55.5	6.2	55.3	7.4	55.6
	Promedio	6.8	52.2	6.2	52.3	6.4	51.9	6.2	52.0
Trata- da.	6018	6.1	54.8	9.5	57.2	12.0	58.0	13.1	58.2
	6024	5.9	56.4	7.4	57.4	7.9	58.3	8.1	59.1
	6029	7.3	52.2	9.5	54.4	12.8	55.2	12.8	55.7
	6031	7.2	53.2	8.6	54.8	10.4	55.0	10.4	55.6
	6014	5.8	47.2	7.9	48.7	11.0	49.0	10.5	49.9
	6020	5.5	57.0	6.5	59.2	8.9	60.5	7.8	61.2
	6026	7.5	56.7	9.5	58.0	10.2	58.5	10.4	58.4
	6036	8.0	44.5	9.8	46.7	13.8	48.0	13.6	49.3
	Promedio	6.7	52.6	8.6	54.6	10.9	55.3	10.8	55.9

El crecimiento de la lana de las ovejas que reciben la caseína tratada es 74% superior que el de las ovejas de control, al cabo de 7 semanas. Los pesos del cuerpo tam-

343817



5. bién aumentan en las ovejas que reciben la caseína tratada. En otros experimentos, la adición de caseína sin tratar a la misma dieta básica aumenta el crecimiento de la lana en tan sólo 10-15% y no producen ningún efecto sobre el peso del cuerpo.

10. Cuatro semanas después del cambio de la dieta se toman muestras de sangre de 4 de las ovejas tratadas y de las cuatro ovejas de control. El análisis de las muestras reunidas en cuanto a aminoácidos libres mediante cromatografía de intercambio iónico proporciona los resultados indicados en la tabla 3.

T A B L A 3

Aminoácidos en el plasma de las ovejas después de la adición de caseína tratada con formalina a la dieta.

<u>Aminoácido</u>	<u>Concentración mM</u>		
	<u>Control</u>	<u>Tratada</u>	<u>% de aumento</u>
Taurina	0.01	0.020	+ 100
Urea	0.366	0.542	+ 48
Acido aspártico	0.033	0.032	- 3
Acido glutámico	0.059	0.050	- 15
Prolina	0.092	0.280	+ 204
Citrulina	0.166	0.234	+ 41
Glicina	0.688	0.439	- 36
Alanina	0.220	0.173	- 21
Valina	0.107	0.244	+ 128
1/2-cistina	0.014	0.037	+ 164
Metionina	0.013	0.018	+ 38
Isoleucina	0.055	0.084	+ 53
Leucina	0.070	0.135	+ 93
Tirosina	0.060	0.082	+ 37
Fenilalanina	0.032	0.046	+ 44
Ornitina	0.106	0.125	+ 18
Lisina	0.113	0.220	+ 95
Histidina	0.112	0.112	0



343817

27

Se pueden apreciar pronunciados aumentos en la concentración de aminoácidos esenciales en el plasma de las ovejas que reciben la caseína tratada con formalina en la dieta. Se observan cambios similares en la concentración de aminoácido en el plasma cuando la caseína es instilada directamente en el abomaso.

También se añade 100 g de caseína tratada con formalina a la ración diaria de 15 ovejas que recibieron, adicionalmente, 400 g de barcia de alfalfa. Anteriormente las ovejas había sido alimentadas con una dieta que comprendía 250 g de barcia de alfalfa y 250 g de harina concentrada compuesta (trigo, avena y harinas de linaza y coco). El efecto sobre el crecimiento de la lana y el peso del cuerpo está ilustrado en la tabla 4.

El crecimiento de la lana de las ovejas aumenta en 60,8 % al cabo de 5-6 semanas. Antes del principio del tratamiento, el crecimiento de la lana no había variado en más del 10 % durante el año precedente. Con el tratamiento también se produce un aumento del peso del cuerpo.

E J E M P L O 2

El procedimiento para el tratamiento de la caseína con formalina, descrito en el ejemplo 1, es aplicado a lotes de 227 kg de harinas de pescado, cacahuete, semillas de algodón y de soja. Este tratamiento provoca la pérdida de algo de material soluble de estas harinas y un aumento en el porcentaje de proteínas brutas excepto para la harina de pescado, en cuyo caso este porcentaje declina.

Una muestra de dos de las harinas tratadas son

343817²⁷JUL



incubadas con contenido de rumen, in vitro, para evaluar el grado de protección conseguido contra la degradación microbiana. En la tabla 5 se indican los resultados para las harinas de pescado y de cacahuete.

T A B L A 4

Respuesta del crecimiento de la lana y del peso del cuerpo (P.C.) a la caseína tratada con formalina.

Oveja	<u>Tratamiento previo</u>		<u>Semanas de tratamiento</u>					
	Lana g/día	P.C. kg	Lana g/día	P.C. kg	Lana g/día	P.C. kg	Lana g/día	P.C. kg
FA30	3.6	37.6	3.4	36.9	5.2	36.9	3.8	27.2
FA46	3.0	42.5	2.5	41.9	4.9	42.4	4.4	43.4
FA70	3.3	36.5	3.1	36.6	5.7	37.2	5.0	37.5
FA82	3.1	45.8	4.1	46.3	3.5	45.3	3.8	46.8
FA84	2.1	39.6	3.6	40.7	5.3	41.2	5.1	41.1
FA86	2.6	42.0	3.1	41.1	4.6	41.8	5.5	42.2
4078	2.2	44.8	3.3	45.7	4.8	46.6	5.5	46.5
4092	3.5	41.2	4.3	41.5	4.4	41.8	5.7	41.8
4093	2.1	42.8	3.8	43.2	4.4	43.6	5.0	44.2
A665	2.4	32.9	3.3	32.7	3.1	32.5	2.8	32.6
5569	2.8	27.2	3.1	28.0	5.2	28.6	5.6	29.3
5577	4.6	38.2	5.3	39.2	7.2	39.8	6.3	40.2
5585	3.6	37.8	4.0	38.0	4.6	38.4	4.9	38.8
5590	3.0	38.1	3.2	37.6	3.6	38.9	4.7	39.4
5592	4.8	34.4	5.5	35.3	5.9	35.3	5.9	35.4
Promedio	3.1	38.8	3.7	39.0	4.8	39.4	5.1	39.8

5.

Se puede apreciar que la harina de pescado sin tratar no conduce a una gran acumulación de amoniaco en el medio de cultivo, a causa de una resistencia natural contra el ataque microbiano, o el empleo del amoniaco para la síntesis microbiana. En los dos casos, no obstante, el tra-

343817



tamiento con formalina rebaja substancialmente la acumulaci3n de amoniaco.

T A B L A 5

Incubaci3n in vitro de harinas de pescado y de cacahuete tratadas con formalina.

Acumulaci3n de NH3 por encima del valor inicial despu3s de la incubaci3n (% de nitr3geno a1adido).

	3 horas	6 horas	10 horas	24 horas
Harina de pescado sin tratar	19.3	14.9	16.1	10.4
Harina de pescado tratada.	- 0.4	- 2.1	- 0.1	- 3.1
Harina de cacahuete sin tratar	60.1	64.3	66.6	66.0
Harina de cacahuete tratada	0.9	1.4	3.3	2.3

Las harinas tratadas son mezcladas con partes iguales de barcia de alfalfa y granuladas. Se administra 500 g de granos por oveja y d1a en cada dieta, a grupos de 6 ovejas, y se compara las razones del crecimiento de la lana con los valores medidos anteriormente con dietas similares que conten1an las harinas sin tratar.

Se puede apreciar que el tratamiento con formalina decrece el valor nutritivo de la harina de pescado en relaci3n con el crecimiento de la lana, posiblemente a causa de la p3rdida de constituyentes solubles durante el procedimiento de lavado. El valor de la harina de linaza no es alterado por el tratamiento, pero los valores de la ha-

343817 27



rinas de soja y de cacahuete son aumentados considerablemen
te.

T A B L A 6

Crecimiento de la lana con dietas que contienen hari-
nas de proteínas tratadas con formalina

Dieta	Oveja Nº 4	Crecimiento de la lana, g/día dieta sin tra- tar	Crecimiento de la lana, g/día dieta tratada al cabo de 4-5 semanas	% de cam- bio.
Harina de caca- huete	6560	6.0	6.7	
	6545	4.4	7.0	
	6538	4.2	8.4	
	6552	3.4	7.9	
	6554	2.8	4.6	
	6541	4.3	5.1	
	Promedio	4.2	6.6	+57%
Harina de soja	6526	6.9	8.5	
	6553	5.9	7.0	
	6543	6.3	6.9	
	6549	7.0	9.2	
	6537	5.2	7.5	
	6521	4.2	6.6	
	Promedio	5.9	7.6	+29%
Harina de sangre	6562	8.4	8.5	
	6528	7.4	7.0	
	6542	7.2	6.2	
	6548	5.6	7.0	
	6532	6.2	6.2	
	6519	5.4	6.6	
	Promedio	6.7	6.9	+3%
Harina de pescado	6559	8.5	5.3	
	6533	7.7	5.8	
	6540	7.8	5.3	
	6558	6.7	4.5	
	6550	8.3	6.4	
	6524	4.5	3.0	
	Promedio	7.3	5.1	-30%

343817

27



E J E M P L O 3

En vista de las variables respuestas en el crecimiento de la lana, obtenidas por el tratamiento con formalina de diferentes harinas proteínicas, se ha medido la capacidad de distintas proteínas para estimular el crecimiento de la lana cuando son instiladas directamente en el abomaso.

5.

Se establecen fístulas abomásticas y las instilaciones son realizadas tal como las describen Reis y Schinckel (1961).

10.

Los efectos de la instilación y abomástica sobre el crecimiento de la lana y el peso del cuerpo se hallan ilustrados en la tabla 7.

T A B L A 7

Aumento en el crecimiento de la lana y del cuerpo (P.C.) ocasionando por la instilación de diferentes proteínas en el abomaso.

Proteína	Nº de la oveja	Dieta basal, g/día	Razón de instilación de proteína g/día	Crecimiento lana 5 -7 semanas % de aumento.	Aumento de peso en 7 semanas, Kg.
Caseína	3	800	60	148	4.5
Gelatina	1	800	60	20	3.0
Harina de sangre	2	400	62	31	2.4
Harina de pescado	1	800	83	47	4.0
Harina de soja	1	800	80	27	4.9

Estos resultados muestran que la instilación de diferentes proteínas en el abomaso proporcionan distintas respuestas del crecimiento de la lana y del peso del cuer-

15.

343817

27



- po, de forma que no es de esperar que la protección de las diferentes proteínas contra el ataque microbiano mediante el tratamiento con formalina, proporcione la misma respuesta en el crecimiento de la lana. Es de notar que el aumento en el peso del cuerpo no es proporcional al aumento de la razón de crecimiento de la lana. Se obtienen respuestas de crecimiento de lana adicional cuando se instilan 1,5 a 3,0 g/día de L-cisteína o DL-metionina con la gelatina o caseína, lo cual indica la importancia de la composición del aminoácido de la proteína instilada.
- 5.
- 10.

E J E M P L O 4

- El tratamiento con formalina descrito en el ejemplo 1 también es aplicado a hierba, trébol y barcia de alfalfa frescos. En todos los casos el tratamiento con formalina de las sustancias alimenticias reduce marcadamente la acumulación de amoníaco después de la incubación (in vitro (Tabla 8). El análisis de los ácidos grasos volátiles indica que el tratamiento con la formalina no rebaja la fermentación de los carbohidratos presentes en las sustancias alimenticias.
- 15.
- 20.

E J E M P L O 5

- El procedimiento diseñado en el ejemplo 1 para el tratamiento de la caseína con formalina implica las desventajas de requerir una etapa de lavado y de extraer los constituyentes solubles, cuando es aplicado a algunas sustancias alimenticias ricas en proteínas. Estas desventajas son vencidas añadiendo solamente suficiente solución de formalina para formar una pasta y efectuando la elimina-
- 25.



343817

27

ción del formaldehído libre por el procedimiento de secado.

T A B L A 8

Incubación in vitro de hierba, legumbres y barcia de alfalfa frescos. Acumulación de NH₃ sobre el inicial. % de N adicionado.

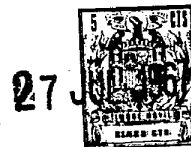
	<u>3 horas</u>	<u>6 horas</u>	<u>10 horas</u>	<u>24 horas</u>
Hierba (<i>Kikuyu penni setum clandestinum</i>)				
(sin tratar)	22.8	14.1	- 4.4	- 17.1
(tratado)	-0.9	-9.0	-14.9	- 47.4
Subtrébol (<i>Trifolium subterraneum</i>)				
(sin tratar)	12.9	8.5	6.9	12.6
(tratado)	-0.7	-3.8	-6.3	- 29.1
Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)				
(sin tratar)	22.7	23.4	22.8	39.0
(tratado)	2.6	0.8	-3.1	- 9.7
Barcia de alfalfa				
(sin tratar)	9.3	4.7	7.5	11.0
(tratado)	- 1.5	-4.0	-19.0	-12.5

Siete muestras de 50g de caseína precipitada con HCl son mezcladas con 3 volúmenes (peso/volumen) de soluciones de formalina que contienen 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% 5. 25% y 50% de formalina comercial. Después de una hora a 20° C, las pastas son colocadas es una estufa a 80° C hasta que ya no existiera olor de formaldehído detectable.

10. Luego las muestras son incubadas in vitro con fluido de rumen tal como se ha descrito en el ejemplo 1.

Se obtiene un grado satisfactorio de protección contra la degradación microbiana, por tratamiento de la caseína con formalina al 2,5%, e incluso las concentraciones más bajas dan una protección satisfactoria.

343817



T A B L A 9

Incubación in vitro de caseína formalinizada como pasta. Acumulación de NH₃ sobre el inicial después de la incubación. (% de nitrógeno adicionado)

	<u>3 horas</u>	<u>6 horas</u>	<u>12 horas</u>	<u>24 horas</u>
Caseína sin tratar	40.4	73.6	82.5	89.2
Caseína tratada con formalina al 2,5%	-0.2	-0.2	-0.1	-0.1
Caseína tratada con formalina al 5%	-0.4	0.0	-0.6	-2.4
Caseína tratada con formalina al 7,5%	-0.2	0.0	-2.2	-4.7
Caseína tratada con formalina al 10%	-0.6	0.0	-1.9	-5.8
Caseína tratada con formalina al 12.5%	0.0	-1.3	-2.9	-3.7
Caseína tratada con formalina al 25%	-1.0	-3.0	-6.2	-9.3
Caseína tratada con formalina al 50%	-4.3	-11.0	-20.3	-28.4

A las concentraciones más altas de formalina, la acumulación de amoniaco es menor que en los tubos a los cuales no se ha añadido caseína, indicado; una inhibición microbiana debida a la presencia de formaldehido libre en el medio de incubación.

5.

E J E M P L O 6

Tres preparaciones de tanino vegetales son evaluadas en cuánto a su capacidad para volver la proteína resistente a la degradación microbiana en el rumen. Las preparaciones de tanino eran de Quebracho (de la madera de Quebracho colorado), Myrobalans (fruto de Terminalia chebula) y Chesnut (madera de Castanea Vasca). Se mezcla 5 Kg de caseína precipitada con HCl (galga inferior a 30) con 15% en peso de tanino pulverizado, y se añade 3 volúmenes de

10.

343817



agua. La mezcla es agitada para formar una pasta homogénea y dejada luego durante 16 horas a la temperatura ambiente. Entonces la pasta es secada en estufa a 70-80°C.

- 5. Se añaden muestras del material secado a frascos que contienen contenido de rumen y se incuba durante 24 horas tal como se ha descrito en el ejemplo 1.

T A B L A 10

Incubación in vitro de caseína tratada con taninos vegetales. Acumulación de NH₃ sobre el valor inicial después de la incubación (% de nitrógeno adicionado).

	<u>3 horas</u>	<u>6 horas</u>	<u>10 horas</u>	<u>24 horas</u>
Caseína sin tratar	25.7	51.6	71.0	81.1
Caseína tratada con Quebracho	25.1	48.1	67.0	74.7
Caseína tratada con Myrobalans	22.6	44.2	63.1	79.3
Caseína tratada con Chestnut.	23.0	46.8	60.9	69.3

- 10. Se puede ver de la tabla 10 que el tratamiento de la caseína con taninos vegetales produce únicamente una ligera reducción de la degradación microbiana de la caseína.

- 15. Cuando una oveja es alimentada a base de una dieta que contiene 70 g de la caseína tratada con tanino de Myrobalans, más de 400 g de partes iguales de barcia de alfalfa y trigada, la dieta es comida durante un día, pero rechazada luego por la oveja, Una segunda oveja acepta una dieta similar que contiene el tanino de Quebracho, pero no se observa ningún aumento en el crecimiento de la lana.

343817

27 JUN 1967



Una oveja a la que se suministra una dieta similar que contiene tanino de Chestnut, también rechaza su alimento al cabo de un día.

E J E M P L O 7

5. También se evalúan los aldehidos glioxal y glutaraldehido, y la sucrosa disacárida en cuanto a medios para volver las proteínas resistentes a la degradación microbiana en el rumen.

10. Muestras independientes de caseína precipitada con HCl (galga inferior a 30), son agitadas con 10 volúmenes de glioxal al 30% y con varias concentraciones de glutaraldehido, respectivamente, durante una hora. Entonces la caseína es dejada precipitarse y la solución es decantada; el residuo es lavado dos veces con agua y secado luego a 80°C. También se mezcla una muestra de caseína con un peso igual de sucrosa, y la mezcla es agitada con un volumen de agua. La mezcla es secada en la estufa a 80°C, lavada con agua y vuelta a secar.

15. La caseína seca, producida por las anteriores reacciones, es de color tostado, indicando posible pérdida de aminoácidos, particularmente lisina, a causa de la reacción Browning. La caseína tratada con formalina permanece blanca. Las muestras tratadas son incubadas in vitro tal como se describe en el ejemplo 1.

20. Es de ver que la caseína tratada con glioxal sólo es protegida ligeramente contra la degradación microbiana, mientras que el tratamiento con glutaraldehido vuelve la caseína inmune a la acción microbiana. En la caseína



343817

27

tratada con sucrosa se obtiene una considerable protección.

T A B L A 11

Incubación in vitro de caseína tratada con glicoxal, glutaraldehído o sucrosa. Acumulación de NH₃ sobre el valor inicial, después de la incubación (% de nitrógeno adicionado).

	<u>3 horas</u>	<u>6 horas</u>	<u>12 horas</u>	<u>24 horas</u>
Caseína sin tratar	43.2	78.4	90.7	89.8
Caseína tratada con glicoxal al 30%	31.3	71.0	87.7	86.1
Caseína tratada con 1% de glutaraldehído	- 0.2	- 0.1	- 0.1	2.7
Caseína tratada con 3,125 % de glutaraldehído	- 0.8	- 0.6	- 0.2	- 0.4
Caseína tratada con 6,25 % de glutaraldehído.	- 0.8	- 0.4	0.0	0.4
Caseína tratada con 12,5 % de glutaraldehído	- 1.0	- 0.8	0.2	- 0.2
Caseína tratada con 25 % de glutaraldehído.	- 1.3	- 0.4	0.2	0.6
Caseína tratada con sucrosa.	2.1	5.8	12.9	23.9

Se suministra a las ovejas unas dietas que contienen respectivamente caseína tratada con 1% de glutaraldehído y sucrosa. Las observaciones preliminares indican un menor aumento en el crecimiento de la lana que el obtenido por la adición de caseína tratada con formalina a la dieta. Aunque la caseína tratada está protegida contra el ataque microbiano del rumen, el tratamiento puede no haber aumentado substancialmente la absorción de aminoácidos esenciales limitadores en el intestino delgado.

10. E J E M P L O 8

También se ha investigado el empleo de los polímeros polibásicos para proteger la proteína contra el ata-

343817 27



que microbiano. Unas muestras de caseína precipitada con HCl son revestidas con varios polímeros, y se mide la velocidad de disolución de la proteína revestida, a pH 6, utilizando una célula de flujo controlada a 280 milimicras. Los

5. polímeros habían sido preparados y caracterizados según lo describen Harrap, Rosman y Solomon (1965), y comprenden los siguientes:

1. Polo-(N-vinilpirrolidona)
2. Copolímero de N-vinilpirrolidona-estireno (50:50)
10. 3. Copolímero de N-vinilpirrolidona-estireno (75:25)
4. Poli-(2-vinilpiridina)
5. Copolímero de 2-vinilpiridina-estireno (50:50)
6. Copolímero de 2-vinilpiridina-estireno (75:25)
7. Poli-(metacrilato de butilaminoetilo terciario)
15. 8. Copolímero de metacrilato de butalaminoetilo terciario - estireno (50:50).
9. Copolímero de butilaminoétilo terciario-estireno (75:25)
10. Poli-(4-vinilpiridina)
11. Copolímero de 4-vinilpiridina-estireno (50:50)
12. Copolímero de 4-vinilpiridina-estireno (75:25)

20. Se ha encontrado que el polímero Nº 7 poli-(metacrilato de butilaminoetilo terciario) y, en grado menor los Nº 4 y Nº 10, vuelven la caseína insoluble al pH 6. Unas muestras de la caseína precipitada con ácido (galga 30-40) son tratadas con el 48% de su peso de los polímeros Nº 7 y

25. Nº 12 disueltos en 10% (peso/volumen) de metiletilcetona. (Ha resultado suficiente un 20% del polímero Nº 7 para volver la caseína insoluble al pH 6,0). Las muestras son seca-

343817



das e incubadas luego con contenido de rumen, in vitro, tal como se describe en el ejemplo 1. Los resultados están indicados en la tabla 12.

T A B L A 12

Incubación in vitro de caseína tratada con polímeros polibásicos. Acumulación de NH₃ por encima del valor inicial. % de N adicionado como caseína.

	<u>3 horas</u>	<u>6 horas</u>	<u>12 horas</u>	<u>24 horas</u>
Caseína sin tratar	21.2	46.2	76.5	88.0
Caseína tratada con el polímero 7	2.7	7.9	6.0	5.4
Caseína tratada con el polímero 9	29.0	44.7	54.7	62.2
Polímero 7	- 0.9	- 4.1	-13.5	- 21.7

- La caseína queda protegida con el polímero N^o 7
5. poli-(metacrilato de butilaminoetilo terciario) contra el ataque microbiano, mientras que el copolímero con estireno (polímero N^o 12) es menos efectivo. El polímero N^o 7, adicionado solo al frasco de incubación disminuye los niveles de acumulación de NH₃ por debajo de los iniciales.
 10. Este efecto está asociado con una acción tóxica sobre los microbios. Algunos protozoos revientan cuando el polímero es añadido a suspensiones de microbios del fluido del rumen, y la motilidad de otros es reducida marcadamente. Ninguna de estas acciones es observada cuando se añade caseína tratada con el mismo polímero a una suspensión de microbios de rumen.
 - 15.

E J E M P L O 9

Este ejemplo ilustra el empleo de la formalina para proteger el aminoácido metionina del metabolismo del



343817

rumen. Los mismos procedimientos pueden ser aplicados a la cistina y otros aminoácidos. Se ha indicado que la instilación de cisteína o metionina en el abomaso produce un substancial aumento del crecimiento de la lana (Reis y Schinckel 1963).

5.

Se recubren muestras de 1 g de metionina con una solución acuosa que contiene 5 g de caseinato cálcico (Casinal-Glaxo). Después de sacarla a 80°C, la metionina revestida es tratada con formalina como pasta, utilizando 10%

10.

de formalina como en el ejemplo 5. También se preparan tubos de control en los que se ha añadido separadamente metionina y caseína tratada con formalina. Las preparaciones son incubadas entonces con contenido de rumen in vitro, y se mide la concentración de metionina en el fluido de incubación, después de la precipitación de los microbios y proteínas con ácido sulfúrico 0,1 N, mediante electroforesis de papel de alta tensión. (Tabla 13).

15.

T A B L A 13

Metionina recuperada en el fluido de incubación, %
de metionina añadida

	<u>3 horas</u>	<u>6 horas</u>	<u>12 horas</u>	<u>24 horas</u>
Metionina	93	93	81	67
Metionina revestida con caseína tratada con formalina	53	52	62	62
Metionina + caseína tratada con formalina	100	92	87	60

Se puede ver que el revestir la metionina con caseína y tratándola subsiguientemente con formalina, reduce la solubilidad de la metionina en el fluido de incubación.

343817 27



ción.

E J E M P L O 10

Este ejemplo ilustra el efecto del aumento de consumo de agua por adición de sal a la dieta, sobre el crecimiento de la lana. Se suministra a una oveja una dieta que contiene 180 g de proteína en harina de linaza y 20% de sal. La relación entre el consumo de agua y el crecimiento de la lana está ilustrada en el gráfico adjunto en el que la curva -1- corresponde al crecimiento de la lana, y la -2- al consumo de agua. Las ordenadas representan semanas de experimento; la abscisa de la izquierda está graduada en gramos de lana grasa por cada 10 cm² y 14 días, y la derecha los litros de agua administrada cada día. Las flechas -3-, -4- y -5- indican respectivamente la introducción del 20% del cloruro sódico en la dieta; 1% del cloruro sódico en la dieta, y 20% de cloruro sódico en la dieta con 0,5% de cloruro sódico en el agua.

El tiempo de permanencia de la ingesta en el rumen es disminuído a medida que aumenta el consumo de agua, y los resultados confirman las teorías sobre las que se basa la invención.

Los detalles completos de las referencias facilitadas en la precedente descripción son los siguientes:

HARRAP, B.S., ROSMAN, R.E. & SOLOMON, D.H. (1965).
J. Appl. Polymer Sci., 9: 535
REIS, P.J. & SCHINCKEL, P.G. (1961). Aust. J. agric. Res., 12: 335.
REIS, P.J. & SCHINCKEL, P.G. (1963). Aust. j. biol. Sci.



343817

16: 218.

REIS, P.J. & SCHINCKEL, P.G. (1964). Aust J. biol. Sci.,
17: 532.

- . -

N O T A

5. Se reivindica como objeto de esta patente de invención:

10. 1. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, destinadas a aumentar la producción de proteínas de los animales rumiantes, caracterizado por el hecho de comprender el tratamiento de un material alimenticio proteínico de origen vegetal, animal o sintético, a fin de volverlo resistente al ataque dentro del rumen del animal rumiante, pero de manera que permanece susceptible de descomposición y digestión dentro del abomaso e intestino delgado del animal.

20. 2. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según la reivindicación 1, caracterizado porque incluye la etapa de tratar las partículas del material de alimentación proteínicos con un agente tal que forme un complejo polimérico proteínico en al menos la superficie de las partículas, cuyo complejo es inestable en soluciones que tienen valores de pH inferiores a 4, pero que es relativamente

34381727 JUL 1987



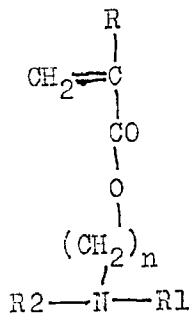
te estable en soluciones con valores de pH superiores a 5.

5. 3. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por el hecho de comprender la etapa de tratar el material proteínáceo con un aldehído aplicado a partir de una solución, pasta o gas.

10. 4. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según la reivindicación 3, caracterizado por el hecho de que el aldehído es formaldehído.

15. 5. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por el hecho de aplicar un revestimiento del polímero de un polímero vinílico o acrílico a las partículas de material proteínáceo.

20. 6. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por el hecho de comprender la etapa de aplicar un revestimiento de un polímero o copolímero de un monómero de acrilato o metacrilato de amino, de fórmula general:



343817

27



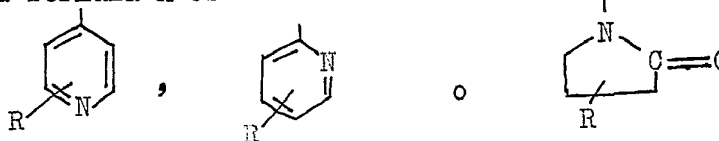
en la cual R1 = H o una cadena alquílica normal o ramificada, R2 = H o una cadena alquílica normal o ramificada; R = H o metilo, y n = 2, 3 o 4.

5. 7. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según la reivindicación 6, caracterizado por el hecho de que el polímero aplicado es poli-(metacrilato de butilaminoetilo terciario).

10. 8. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por el hecho de comprender la etapa de aplicar un recubrimiento del polímero o copolímero de un monómero de vinilo de fórmula general



en cuya fórmula X es



9. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado por el hecho de comprender la etapa de tratar las partículas revestidas con un aldehído a fin de metilolar el recubrimiento.

10. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según

343817



- la reivindicación 1 a 9, caracterizado por el hecho de que el material alimenticio tratado es integrado en un alimento o suplemento de alimentación para animales rumiantes, de manera que este último, contiene un material alimenticio
5. proteináceo, de origen vegetal, animal o sintético y que ha sido vuelto resistente al ataque microbiano y a la descomposición durante los tiempos de permanencia normal dentro del rumen, pero que permanece susceptible de descomposición y digestión dentro del abomaso e intestino delgado
10. del animal.

11. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según la reivindicación 10, caracterizado por el hecho de que el material es substancialmente menos soluble a valores de pH
15. superiores a 5, que a valores de pH de menos de 4.

12. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según las reivindicaciones 10 u 11, en el que el material proteináceo se encuentra en forma de partículas y en el que la superficie de estas partículas está formada por una substancia que protege el material contra el ataque microbiano en
20. el rumen, y que es inestable en soluciones ácidas que tienen valores de pH inferiores a 4,0.

13. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que el material proteináceo está en forma de partículas y en el que
25. al menos el material proteináceo expuesto de las particu-

343817

27



las, forma parte de un complejo proteináceo polimérico que es resistente al ataque microbiano en el rumen y que es inestable en ácidos fuertes.

5. 14. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según las reivindicaciones 12 o 13, en el que dicha substancia o complejo superficial es el producto de reacción del material proteináceo de la partícula y de un aldehído.

10. 15. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 12 o 14, en el que la substancia o complejo superficial incluye un polímero de formaldehído o de sus productos de condensación, con aminos y/o amidas.

15. 20. 16. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el que la substancia o complejo superficial es un producto de reacción polimérico de formaldehído y del material proteináceo de las partículas.

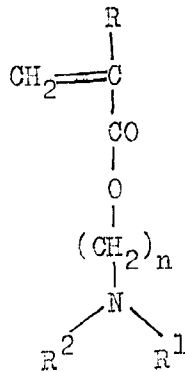
25. 17. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, en el que la substancia o complejo superficial incluye un polímero o copolímero de un monómero básico de vinilo o acrílico.

18. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según la reivindicación 17, en el que el monómero es un acrilato

343817



o metacrilato de amino, que tiene la fórmula general:

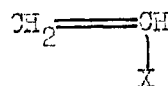


en la que R¹ = H o una cadena alquílica normal o ramificada; R = H o metilo; R² = H o una cadena alquílica normal o ramificada, y n = 2, 3 o 4.

5. 19. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en el que la substancia o complejo superficial incluye un polímero o copolímero de metacrilato de aminoetilo.

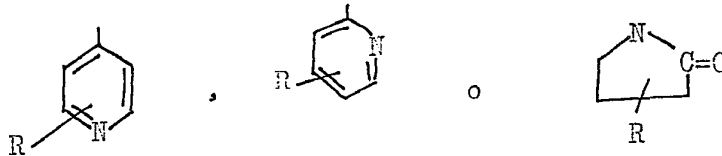
10. 20. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según la reivindicación 19, en el que la substancia o complejo superficial incluye poli-(metacrilato de butilaminoetilo terciario) o poli-(metacrilato de dimetilaminoetilo).

15. 21. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según la reivindicación 17, caracterizado en que el monómero es un monómero vinílico de la siguiente fórmula general:



en cuya fórmula X es

343817 27



22. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 21, en el que la substancia o complejo superficial incluye un polímero o copolímero de poli-(2-vinilpiridina), poli-(4-vinilpiridina) o poli-(N-vinilpirrolidona).

23. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 22, caracterizado porque en polímero es metilolado.

24. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes, según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el material proteínáceo es de una naturaleza particulada en la que el tamaño de partícula promedio se encuentra entre 2 y 0,1 mm de diámetro, y en el que el peso específico de las partículas se aproxima a la unidad.

25. Procedimiento para la obtención de composiciones de pienso para la alimentación de rumiantes.

20.

Todo ello tal y como puede describirse en la presente memoria descriptiva que consta de cuarenta y cinco

343817

27



hojas foliadas escritas a máquina por una sola cara.

Barcelona, 27 de julio de 1967

COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUS-
TRIAL RESEARCH ORGANIZATION

p.a.

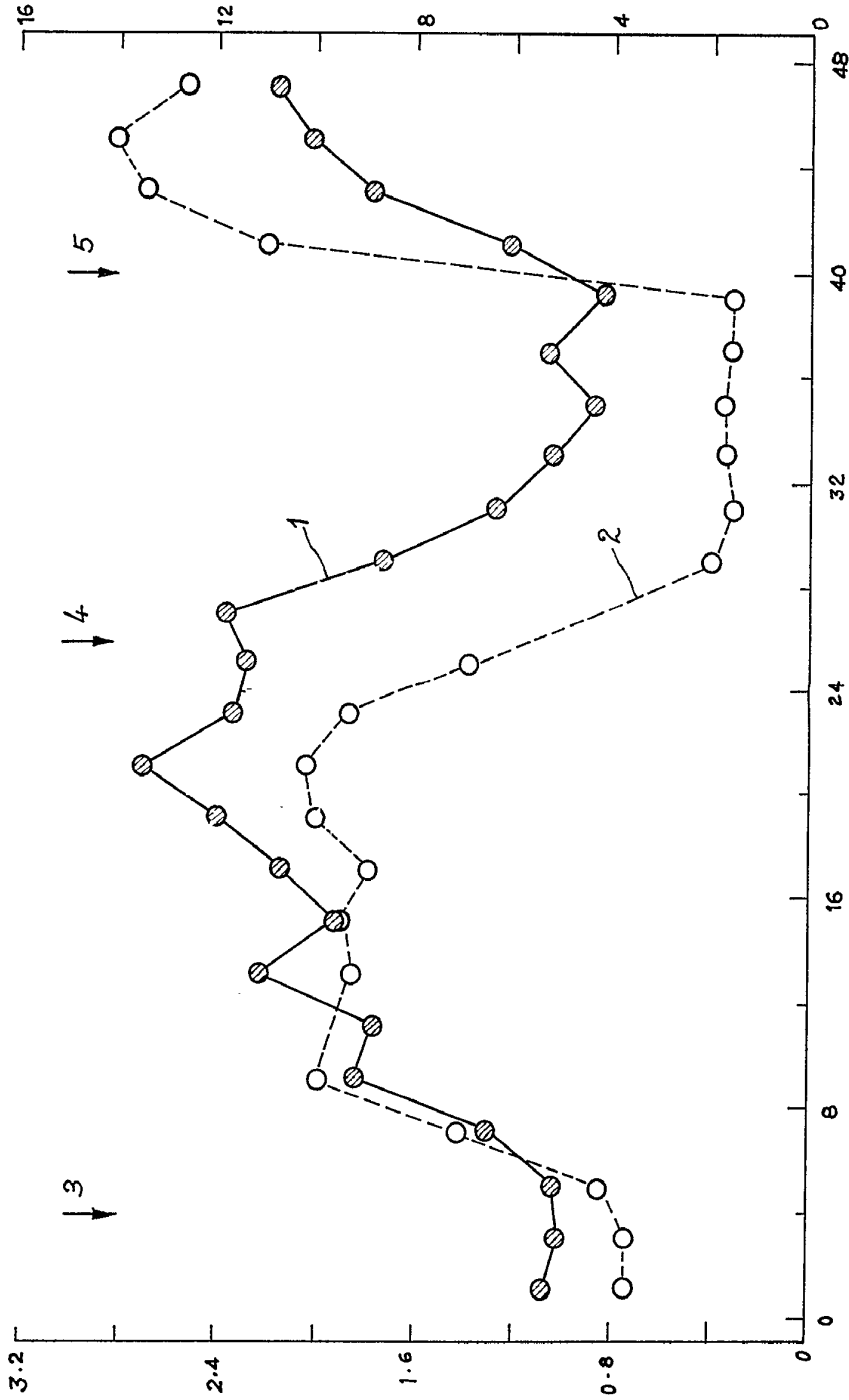
343817

343817

343817



343817



Procedim., 17 de Julio de 1967.

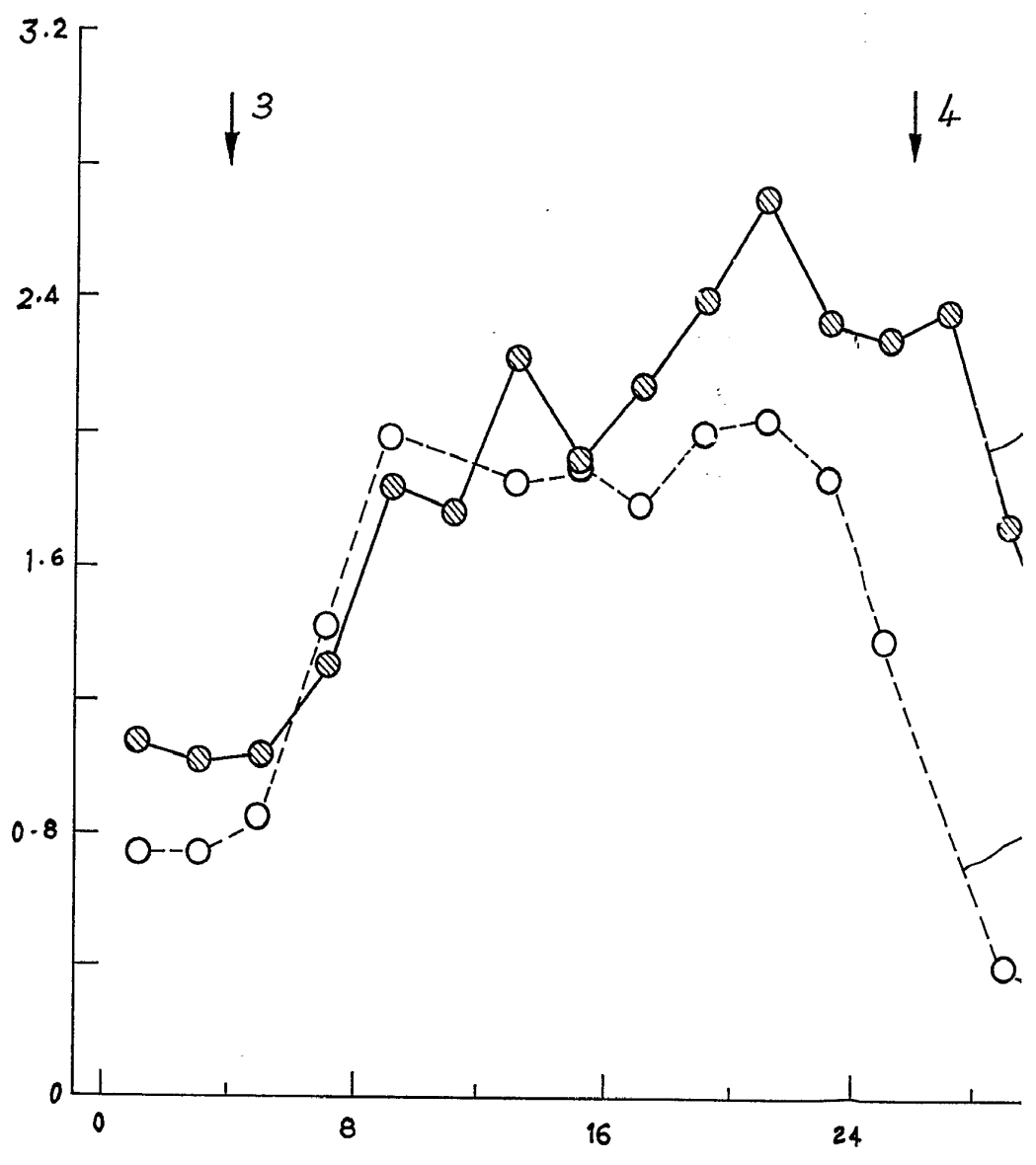
COMUNIDAD CIENCÍFICA E INDUSTRIAL
DE AUSTRALIA

P. 11

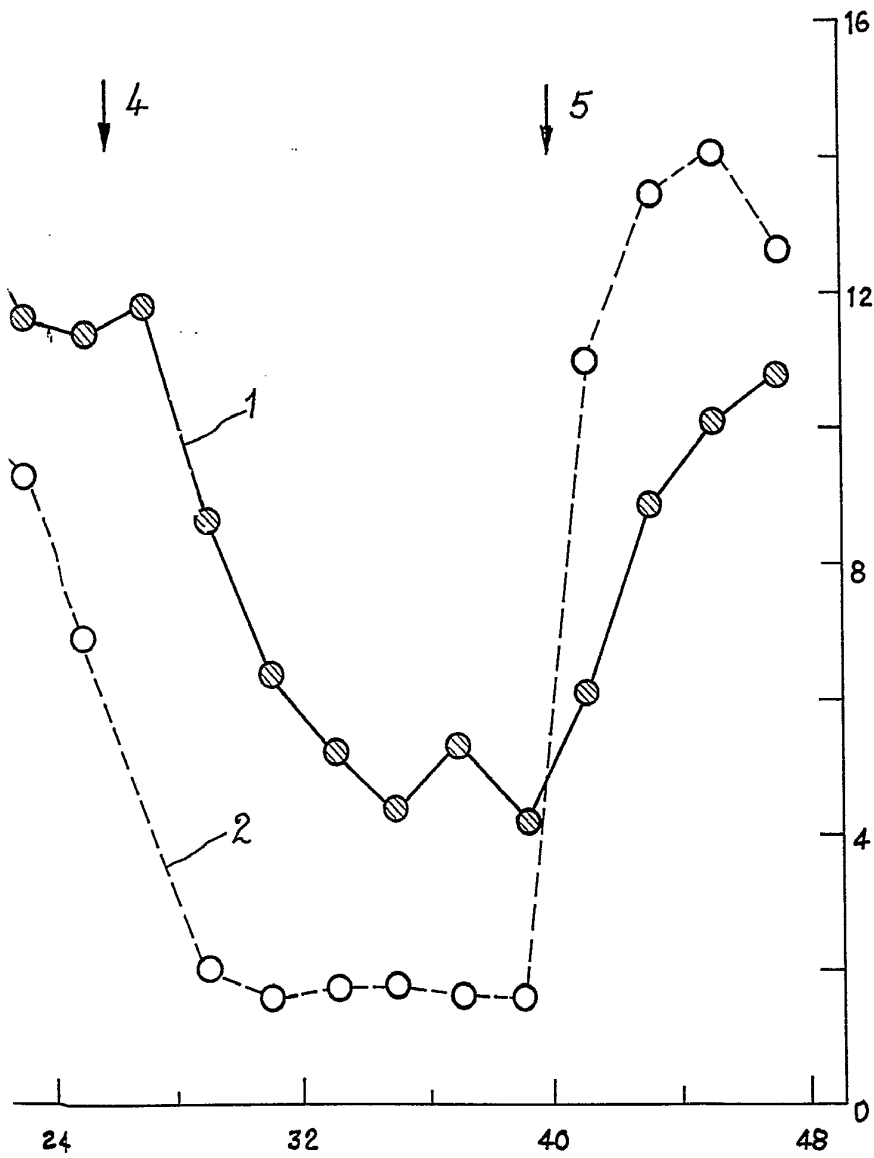
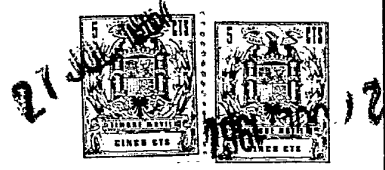
343817

343817

10/12/11



343817



343817

Barcelona, 27 de julio de 1967.

COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANIZATION.

p.2.

A handwritten signature in dark ink is located at the bottom right of the page, below the text of the Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.