



100 C12D

PATENTE DE INVENCION

Ref: Case No. 24.954.

425744

## *Memoria Descriptiva*

*sobre:*

Procedimiento para recuperar un complejo de anti-  
biótico AV290-sulfato alquílico.

=====

*Solicitante:*

AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana,  
residente en Berdan Avenue, Township of Wayne, Esta-  
do de New Jersey, EE.UU. de A.

=====

La presente invención se relaciona con un méto-  
do para recuperar el antibiótico AV 290 a partir de  
masas enteras de cosecha que lo contienen. Más parti-  
cularmente, el procedimiento comprende agregar un sul-  
fato alquílico de metal alcalino (o mezcla de los mis-  
5



5

mos) ya sea a la masa entera de cosecha o al licor de fermentación filtrado, y recuperar el complejo reversible así precipitado del antibiótico-sulfato alquílico (o mezcla de complejo) mediante cualquier medio conveniente. La presente invención también se relaciona con el uso del complejo así preparado en composiciones de suplemento alimenticio para animales para mejorar el régimen de crecimiento de animales como ser aves, cerdos, cochinitos tempranamente destetados y rumiantes como ser vacunos, ovejas y cabras.

10

El antibiótico AV 290 se forma por biosíntesis de fermentación durante el cultivo bajo condiciones controladas de Streptomyces candidus NRRL 3218 y mutantes del mismo. La preparación y propiedades del antibiótico AV 290 se dan en la patente de los Estados Unidos N° 3.338.786. El problema de recuperar el antibiótico económicamente ha sido uno muy serio.

15

En la patente precedentemente citada, se emplea absorción en carbón vegetal seguido por levigación y cromatografía por columna. Este procedimiento no es excesivamente costoso cuando se requiere un antibiótico puro para uso medicinal. Sin embargo cuando el antibiótico ha de utilizarse para composiciones de suplemento alimenticio para animales el factor de costo es muy serio y por lo tanto existe una necesidad para un procedimiento económico para la recuperación del antibiótico para este fin.

20

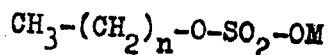
25

La presente invención se relaciona con un procedimiento y en un aspecto más específico también con un producto. El procedimiento comprende la precipitación del antibiótico ya sea a partir de la masa entera de cosecha o a partir del caldo de fermentación filtrado mediante la adición de sulfatos

30

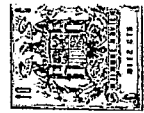


alquílicos de metal alcalino. Los sulfatos alquílicos de metal alcalino útiles en el procedimiento novedoso de la presente invención pueden representarse mediante la siguiente fórmula general:



en donde n es un entero de 9 a 17, inclusive, y M es sodio o potasio. Sulfatos alquílicos de metal alcalino típicos que pueden emplearse son, por ejemplo, sulfato decílico de sodio, sulfato endecílico de potasio, sulfato laurílico de sodio, sulfato tridecílico de sodio, sulfato miristílico de sodio, sulfato pentadecílico de sodio, sulfato cetílico de sodio, sulfato heptadecílico de potasio, y sulfato octadecílico de sodio. También puede emplearse mezclas de sulfatos alquílicos de metal alcalino como ser una mezcla de sulfatos endecílicos de sodio y sulfatos octadecílicos de potasio; una mezcla de sulfato decílico de potasio y sulfato heptadecílico de sodio; una mezcla de sulfato laurílico de potasio y sulfato cetílico de potasio; una mezcla de sulfato tridecílico de sodio, sulfato miristílico de potasio y sulfato pentadecílico de sodio; y similares. Cuando se emplea mezclas de sulfatos alquílicos de metal alcalino, entonces se obtienen mezclas correspondientes de complejos del antibiótico-sulfato alquílico.

El procedimiento novedoso de la presente invención provee una eliminación casi completa de la actividad antibiótica a partir de la masa o caldo de fermentación. Además, el complejo del antibiótico-sulfato alquílico así obtenido puede utilizarse sin separación de los constituyentes en composiciones de suplemento alimenticio para animales, que es una ventaja económica importante. Por lo tanto, en uno de los as



pectos de la presente invención el complejo del antibiótico AV290 y un sulfato alquílico de metal alcalino está incluido como un producto.

5 El producto del antibiótico y sulfato alquílico de metal alcalino ha sido referido como un complejo reversible de antibiótico-sulfato alquílico. Su naturaleza química exacta no ha sido determinada, pero no está involucrado un enlace covalente y el producto no es una mezcla física. Este complejo, derivado de la interacción del antibiótico y un sulfato alquílico de metal alcalino, no está necesariamente combinado en una estequiometría limitada. Los enlaces químicos son reversibles dado que el antibiótico AV290 puede recuperarse a partir del complejo mediante diversos medios como absorción en una columna de gel de carboximetildextrano entre cruzado 10 seguido por levigación con ácido acuoso.

15 Con material de partida para el procedimiento novedoso de la presente invención puede emplearse la masa entera de cosecha obtenida luego de completarse una fermentación con S. candidus NRRL 3218 o mutantes del mismo. Preferiblemente, se emplea el licor o caldo de fermentación que ha sido clarificado eliminando el micelio y otros insolubles mediante filtración. Para asistir en la filtración puede emplearse tierra de diatomeas u otro auxiliar convencional de filtración. En cualquier caso, el pH de la masa entera o del caldo filtrado 20 se regula primeramente entre 1, 9 y 2, 1, preferiblemente aproximadamente 2, 0, con un ácido. Acidos apropiados para este propósito, pueden ser, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido trifluoroacético y similares, si bien puede utilizarse inclusive ácido acético glacial. Esta regulación del pH para ser crítica dado que por debajo de un pH 25 30



de 1,9 parece haber una degradación del antibiótico AV 290 durante el secado de la torta de filtro a un 40<sup>o</sup> C bajo vacío. Luego, se agrega lentamente con agitación a temperaturas ambientes una solución acuosa de un sulfato alquílico de metal alcalino (o una mezcla de sulfatos alquílicos de metal alcalino). Todo el procedimiento de la presente invención se lleva a cabo preferiblemente entre aproximadamente 15<sup>o</sup>C y aproximadamente 30<sup>o</sup>C, convenientemente temperatura ambiente. El antibiótico y el sulfato alquílico forman un complejo que es insoluble en agua y por lo tanto se precipita. El complejo precipitado o, en el caso de la masa entera, el complejo precipitado junto con los sólidos de la masa de fermentación, luego se separa por filtración o centrifugación y secado. Los productos así obtenidos pueden secarse por (1) suspensión de los sólidos húmedos en no solventes miscibles en agua como ser acetonas seguido por filtración, lavado y secado al aire; o por (2) volviendo a suspender los sólidos húmedos en agua y secando por congelación o secando por rocío.

Cuando los productos de la presente invención se secan cuidadosamente bajo condiciones de temperatura que no degradan el antibiótico AV290, estos son generalmente polvos de un color blanco a canela en el caso del complejo de sulfato alquílico. En el caso del complejo de sulfato alquílico asociado con los sólidos de la masa de cosechas secadas, los productos son generalmente polvos o sólidos de color gris a castaño. En la forma seca, estos productos son extremadamente estables, manteniendo sin una pérdida significativa la actividad antibiótica durante considerables periodos de tiempo. Esta larga vida de almacenamiento es naturalmente una ventaja práctica importante.



5 En una ventaja de la presente invención que la canti-  
dad de sulfato alquílico de metal alcalino agregada para pre-  
cipitar el complejo con el antibiótico no es particularmente  
crítica y no necesitan seguirse relaciones estequiométricas  
exactas. En general, la cantidad de sulfato alquílico de me-  
tal alcalino requerida para precipitar el antibiótico AV290  
a partir de la masa entera de cosecha es 1,5-2,5 gramos por  
gramo de actividad de AV290 en la masa. En el caso general,  
se prefiere aproximadamente 2,0 gramos de sulfato alquílico  
10 de metal alcalino por gramo de actividad antibiótica en la ma-  
sa. El contenido de AV290 de la masa entera puede fácilmente  
determinarse mediante un ensayo microbiológico luego de regu-  
lar el pH de 8,0-9,0 como se señala en la patente de los Esta-  
dos Unidos Nº 3.338.786. El método preferido es una adapta-  
15 ción del ensayo turbidimétrico de Staphylo-coccus aureus para  
tetraciclina que se describe en "Assay Methods of Antibiotic,  
a Laboratory Manual" por Grove & Randall, Medical Encyclope-  
dia, Inc. (1955). páginas 48-52. La cantidad requerida de  
sulfato alquílico de metal alcalino luego se disuelve o se  
20 suspende preferiblemente en una cantidad conveniente de agua  
y la solución acuosa o suspensión se agrega a la masa entera  
como se describió anteriormente. Cualquier exceso de sulfato  
alquílico de metal alcalino presente simplemente permanecerá  
en solución al filtrarse.

25 En general, la cantidad de sulfato alquílico de metal  
alcalino requerida para precipitar el antibiótico AV290 a par-  
tir de un licor clarificado es aproximadamente de un gramo  
por gramo de actividad de AV290 en el licor clarificado. El  
nivel superior de sulfato alquílico de metal alcalino requeri-  
30 do para precipitar AV290 a partir de la masa entera que del li



5 cor clarificado es debido a la coprecipitación de otro mate-  
rial proteico presente en la masa entera. Convenientemente,  
la cantidad mínima de sulfato alquílico de metal alcalino re-  
querida para formar el complejo con el antibiótico en el li-  
cor clarificado a partir de cualquier tanda de fermentación  
particular puede fácilmente determinarse como sigue. Una mues-  
tra (convenientemente 50-100 ml) de la masa entera de cosecha  
de fermentación se toma y se clarifica eliminando el micelio  
y otros insolubles por filtración, preferiblemente con un  
10 auxiliar de filtro. El filtrado luego se acidifica a un pH  
de 1,9-2,1 con ácido mineral acuoso diluido como ser ácido  
clorhídrico diluido, ácido sulfúrico diluido, ácido fosfórico  
diluido y similares. La solución luego se tritura con la so-  
lución acuosa particular de sulfato alquílico de metal alcali-  
15 no que debe utilizarse hasta que no se forma ningún precipi-  
tado o turbidez adicional. La cantidad de solución de sulfa-  
to alquílico de metal alcalino para el licor clarificado de  
la carga de fermentación luego se calcula a partir de la tri-  
turación de la muestra tomada, proveyendo también para un le-  
ve exceso.

20 La presente invención también se relaciona con compo-  
siciones de suplemento alimenticio para animales efectivas  
para acelerar el régimen de crecimiento para animales y aves.  
En años recientes el uso de antibióticos en alimentos para  
25 animales para mejorar las características de crecimiento y  
eficiencia de utilización de alimentos se ha tornado de consi-  
derable importancia económica. De acuerdo con la presente in-  
vención, el complejo de sulfato alquílico secado o los sólidos  
de la masa de cosecha secada que contienen el complejo de sul-  
30 fato alquílico, ya sea solo o en combinación con portadores



apropiados, cuando se agrega a un alimento para animales, ayuda para aumentar el régimen de crecimiento. Además, se mejora la eficiencia del alimento. La presente invención tiene la ventaja de que el régimen de crecimiento de no rumiantes como ser aves y cerdos y especialmente cochinitos recién destetados es significativamente mejorada, y que los regímenes de conversión del alimento son notablemente aumentados.

Las composiciones de suplemento alimenticio de la presente invención se administran en una cantidad suficiente para proporcionar aproximadamente los siguientes niveles de dosis en mg/cabeza/día:

|                    |     |
|--------------------|-----|
| Rumiantes grandes  | 350 |
| Rumiantes pequeños | 200 |
| No rumiantes       | 100 |
| Aves               | 2   |

Los miligramos por kilogramo de antibiótico AV290 presente en cualquier composición de suplemento particular de la presente invención pueden fácilmente determinarse por bioensayo (luego de regular el pH a 8,0-9,0) como se señala en la patente de los Estados Unidos Nº 3.338.786. El método preferido es una adaptación del ensayo turbidimétrico de Staphylococcus aureus para tetraciclina que se describe en el manual "Assay Methods of Antibiotics, a Laboratory Manual" por D.C. Grove y W.A. Randall, Medical Encyclopedia, Inc. (1955) páginas 48-52. De los datos de potencia así obtenidos, pueden fácilmente calcularse los kilogramos de composición de suplemento alimenticio que deben utilizarse por tonelada de alimento.

Puede utilizarse una amplia variedad de portadores en



la preparación de las composiciones de suplemento alimenticio de la presente invención que contienen el complejo de sulfato alquílico secado a los sólidos de la masa de cosecha secada que contiene el complejo de sulfato alquílico. Portadores apropiados para el uso para formular las composiciones de suplemento alimenticio incluyen lo siguiente: harina de soya, harina de alfalfa, harina de aceite de semilla de algodón, harina de aceite de lino, harina de maíz, melasas de caña, urea, harina de hueso, harina de caroso de maíz, y similares. El portador promueve una distribución uniforme del complejo en el alimento terminado en donde se mezcla el suplemento. Se realiza así una función importante asegurando una apropiada distribución del complejo a través del alimento.

Para un entendimiento más claro de la presente invención, se dan a continuación ejemplos específicos. Estos ejemplos son meramente ilustrativos, y no deben interpretarse como limitativos del alcance y principios de la presente invención.

Ejemplo 1

Precipitación del complejo de antibiótico AV290-Sulfato laurílico de sodio a partir del licor clarificado.

Para estos ensayos se empleó, una muestra de sulfato de AV290 técnico que tenía una potencia microbiológica de 63,8 %. Las porciones del sulfato AV290 se disolvieron en agua y el pH de las soluciones se reguló a 2,0 con  $H_2SO_4$  al 15 %. Se agregó Celite 545<sup>R</sup> (una tierra de diatomeas) como un auxiliar de filtro y se agregó gota a gota con agitación solución de sulfato laurílico de sodio acuoso al 2 %. La suspensión se dejó envejecer durante 30 minutos a temperatura ambiente y los sólidos se separaron por filtración y se secó ba



jo vacío a 40°C. El filtrado agotado y los sólidos secos se analizaron microbiológicamente y los resultados se señalan en la Tabla I siguiente.

T A B L A I

| ENSAYO Nº | CONC. DE AV290 g/lit. | RELACION $C_{12}H_{25}OSO_3Na:AV290$ | Filtrado Torta Balance |      |       |
|-----------|-----------------------|--------------------------------------|------------------------|------|-------|
|           |                       |                                      | Agotado                | Seca | AV290 |
| 1         | 9,57                  | 0,785                                | 0,9                    | 84,9 | 85,8  |
| 2         | 6,38                  | 0,785                                | 1,5                    | 93,5 | 95,0  |
| 3         | 3,19                  | 0,785                                | 2,8                    | 89,9 | 92,7  |

Ejemplo 2

Precipitación del complejo de antibiótico AV290-Sulfato laurílico sódico a partir de una masa entera de cosecha.

Se tomaron muestras de masas enteras de cosecha de fermentación de un frasco agitador de S. candidus y la potencia de las mismas se fortaleció mediante la adición de sulfato de AV290 técnico. En los ensayos tabulados en la Tabla II siguiente, se emplearon porciones de 100 ml. de la masa y el pH se reguló a 2,0 con ácido sulfúrico acuoso al 15 %. Luego, se agregaron 3,0 gramos de Dicalite 478<sup>R</sup> (una tierra de diatomeas) y se agregó gota a gota con agitación una solución de sulfato laurílico de sodio acuoso al 2 %. Las suspensiones dejaron envejecer durante 3 horas a temperatura ambiente y los sólidos se separaron por filtración y se secaron al vacío a 40°C. Los filtrados agotados y las tortas secas se analizaron microbiológicamente



T A B L A II

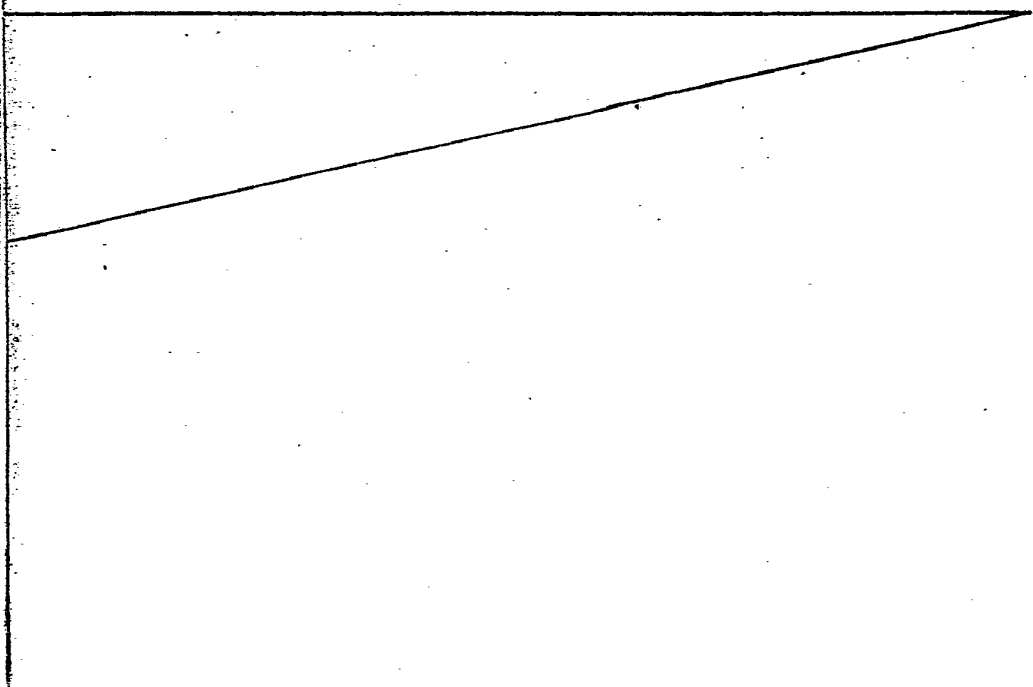
| Ensayo                                  | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Ensayo de masa en $\gamma$ /ml.         | 1300 | 1300 | 1400 | 1400 | 1130 | 1130 | 975  | 975  |
| Masa fortalecida a $\gamma$ /ml.        | 5130 | 5130 | 5230 | 5230 | 4960 | 4960 | -    | -    |
| Relación de $C_{12}H_{25}OSO_3Na:AV290$ | 0,78 | 0,78 | 1,15 | 1,53 | 1,61 | 2,02 | 3,08 | 4,10 |
| % de entrada de filtrado agotado        | 44,8 | 48,5 | 20,3 | 12,0 | 2,0  | 6,5  | 9,2  | 6,2  |
| Torta seca                              | 49,9 | 50,7 | 76,7 | 85,6 | 7,6  | 90,5 | 88,6 | 88,7 |
| Balance de AV290                        | 94,7 | 99,2 | 97,0 | 97,6 | 9,6  | 97,0 | 97,8 | 94,9 |

T A B L A   I I

| Ensayo                                     | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    |
|--|------|------|------|------|------|
| Ensayo de masa en $\gamma$ /ml.            | 1300 | 1300 | 1400 | 1400 | 1130 |
| Masa fortalecida a $\gamma$ /ml.           | 5130 | 5130 | 5230 | 5230 | 4960 |
| Relación de<br>$C_{12}H_{25}OSO_3Na:AV290$ | 0,78 | 0,78 | 1,15 | 1,53 | 1,61 |
| % de entrada de filtrado<br>agotado        | 44,8 | 48,5 | 20,3 | 12,0 | 2,0  |
| Torta seca                                 | 49,9 | 50,7 | 76,7 | 85,6 | 7,6  |
| Balance de AV290                           | 94,7 | 99,2 | 97,0 | 97,6 | 9,6  |



| 5    | 6    | 7    | 8    |
|------|------|------|------|
| 1130 | 1130 | 975  | 975  |
| 4960 | 4960 | -    | -    |
| 1,61 | 2,02 | 3,08 | 4,10 |
| 2,0  | 6,5  | 9,2  | 6,2  |
| 7,6  | 90,5 | 88,6 | 88,7 |
| 9,6  | 97,0 | 97,8 | 94,9 |

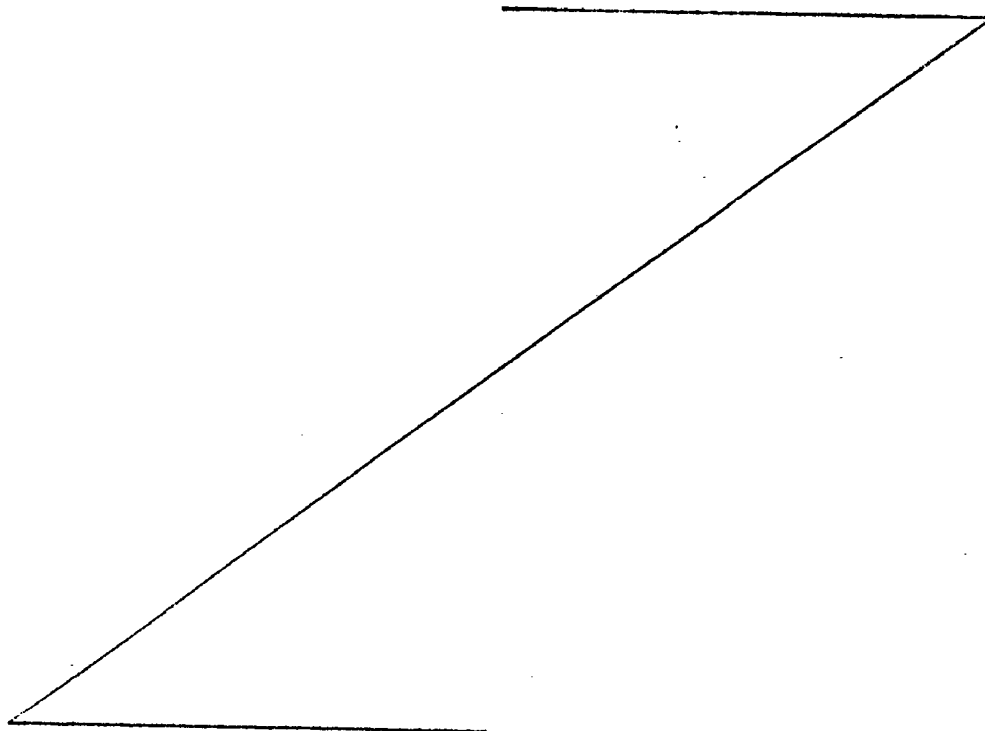




Ejemplo 3

Efecto del pH sobre la precipitación del complejo a partir de una masa entera de cosecha.

5 Muestras de masas enteras de cosecha de fermentación de S. candidus se fortalecieron a 4,930  $\gamma$ /ml mediante la adición de sulfato de AV290 técnico y el pH de las muestras se reguló con ácido sulfúrico acuoso al 15 % como se indica en la Tabla III siguiente. Luego, se agregaron 3,0 gramos de Dicalite 478 <sup>R</sup> seguido por 40 ml de solución de sulfato 10 laurílico de sodio acuoso al 2 %, agregado lentamente con agitación, hasta una relación de  $C_{12}H_{25}OSO_3Na:AV290$  de 1,62. Las suspensiones se dejaron envejecer durante 3 horas a temperatura ambiente y los sólidos se separaron por filtración y se secaron bajo vacío a 40°C. Los filtrados agotados y 15 las tortas secas se analizaron microbiológicamente y los resultados se señalan en la Tabla III siguiente.





T A B L A 111

| Muestra Nº                       | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    |
|----------------------------------|------|------|------|------|------|
| 5 pH de masa para precipitación  | 1,6  | 1,8  | 2,0  | 2,2  | 2,4  |
| % de entrada en filtrado agotado | 7,3  | 6,4  | 6,1  | 6,9  | 10,1 |
| Torta seca                       | 55,3 | 71,6 | 92,8 | 83,3 | 64,2 |
| 10 Balance de AV290              | 62,6 | 78,0 | 98,9 | 90,2 | 74,3 |

Ejemplo 4

Precipitación del antibiótico AV290 a partir de una masa entera de cosecha utilizando sulfato laurílico de sodio.

15 Una muestra de 30 litros de una masa de fermentador piloto que tiene un análisis microbiológico de 3.740  $\gamma$ /ml se trató como sigue. El pH de la masa se reguló a 2,0 mediante la adición de 219 ml de ácido sulfúrico concentrado, luego se agregó como auxiliar de filtro un kilogramo de Dicalite 478 R.

20 A la masa agitada se agregó lentamente una solución de 240 g de sulfato laurílico de sodio en 3 litros de agua. La masa tratada luego se dejó envejecer con agitación durante 1 hora a temperatura ambiente y los sólidos se separaron por medio de una prensa de filtro. La torta de filtro se secó bajo vacío a 50°C por la cual se obtuvieron 1.978 g de productos secos

25 que tenían un análisis microbiológico de 4,72 %. Esto representa una recuperación del antibiótico AV290 a partir de la masa la torta seca de 83,2 %.

Ejemplo 5

30 Preparación del antibiótico AV290 a partir de una masa entera



de cosecha utilizando sulfato decílico de sodio.

Una muestra de 400 ml de una masa entera de frasco agi-  
tador (análisis microbiológico de 4,590  $\gamma$ /ml) se reguló un  
pH de 2,0 mediante la adición de 3,9 ml de ácido sulfúrico  
concentrado y luego se agregaron 5 gramos de Dicalite 478<sup>R</sup>  
como un auxiliar de filtro. A la masa agitada se agregó  
lentamente 9,68 gramos de Empicol 0137<sup>R</sup> (una solución acti-  
va de 30,5 % de sulfato decílico de sodio fabricado por Al-  
bright & Wilson Chemicals, Ltd.) diluida a 50 ml con agua.  
La masa tratada luego se dejó envejecer con agitación duran-  
te 1 hora a temperatura ambiente y los sólidos se separaron  
por medio de un filtro al vacío. La torta de filtro se secó  
bajo vacío a 50°C por lo cual se obtuvieron 20,2 gramos de  
producto seco que tenía un análisis microbiológico de 9,14 %.  
Esto representa una recuperación del antibiótico AV290 a par-  
tir de la masa a torta seca de 100,5 %.

#### Ejemplo 6

Precipitación del antibiótico AV290 a partir de una masa en-  
tera de cosecha utilizando una mezcla de sulfato cetílico de  
sodio y sulfato oleílico de sodio.

Una muestra de 400 ml de masa entera de frasco agita-  
dor (análisis microbiológico de 4.590  $\gamma$ /ml.) se reguló a un  
pH de 2,0 mediante la adición de 3,9 ml de ácido sulfúrico  
concentrado, y luego se agregaron 5 gramos de Dicalite 478<sup>R</sup>  
como un auxiliar de filtro. A la masa agitada se agregó len-  
tamente 13,51 gramos de Empicol CHC 30<sup>R</sup> (una pasta activa de  
30 % de una mezcla de sulfato cetílico de sodio y sulfato  
oleílico de sodio fabricado por Albright & Wilson Chemicals,  
Ltd.) dispersada en agua para dar un volumen de dispersión  
total de 50 ml. La masa tratada luego se dejó envejecer con



agitación durante 1 hora a temperatura ambiente y los sólidos se separaron por medio de un filtro al vacío. La torta de filtro se secó bajo vacío a 50°C por lo cual se obtuvieron 24,0 gramos de producto seco que tenía un análisis microbiológico de 8,08 %. Esto representa una recuperación del antibiótico AV290 a partir de la masa a torta seca a 105,6 %.

Ejemplo 7

Efecto promotor del crecimiento del complejo de antibiótico AV290-Sulfato Laurílico.

Diseño Experimental

La evaluación de un promotor del crecimiento se basa en los resultados promedios obtenidos con una serie de cuatro ensayos de alimentación de 2 semanas. En cada ensayo, hay tres jaulas de diez polluelos para cada tratamiento.

Materiales de ensayo

El complejo de AV290 sulfato laurílico se ensayó a niveles de 5, 10, 20, y 40 ppm equivalente de AV290 en la dieta.

Dieta

La dieta basal utilizada en estos experimentos era la Ración Broiler N° 453 (Tabla V). Las dietas experimentales se prepararon mezclando la cantidad apropiada de material de ensayo con la dieta basal en un mezclador Hobart. Todas las dietas fueron suministradas ad libitum y el suministro de las dietas experimentales se comenzó con el arribo de los polluelos.

Incubación

Polluelos parrilleros de un día de vida Hubbard x Arbor Acres fueron alojados en incubadoras eléctricamente calentadas en un ambiente con aire acondicionado (24°C) durante dos semanas. Había cinco polluelos y cinco polluelas por jaula.

**POOR  
QUALITY**



Datos

Los datos registrados incluyen los pesos iniciales, los pesos promedio por sexo a dos semanas, y la consumición de alimentos en dos semanas.

5

Resultados

10

El complejo de AV290-sulfato laurílico mejoró la ganancia de peso y utilización de alimento en todos los niveles ensayados. El grado de respuesta estaba relacionado a la cantidad de antibiótico suministrado. Los resultados promedio de dos semanas para los cuatro ensayos son los que siguen en la Tabla IV con la mejora porcentual con relación al control en paréntesis.

T A B L A IV

15

| Tratamiento                           | Nivel (ppm) | Promedio de Ganancia/polluelo (g) | Relación Alimento/Ganancia |
|---------------------------------------|-------------|-----------------------------------|----------------------------|
| Control                               | ---         | 191,38                            | 1,46                       |
| Complejo de AV290-Sulfato de laurilo. | 5           | 200,12 (4,6)                      | 1,43 (2,4)                 |
| Complejo de AV290-sulfato de laurilo  | 10          | 200,12 (4,8)                      | 1,42 (2,6)                 |
| Complejo de AV290-Sulfato de laurilo  | 20          | 204,65 (6,9)                      | 1,40 (4,6)                 |
| Complejo de AV290-Sulfato de laurilo  | 40          | 212,08 (10,8)                     | 1,38 (5,8)                 |

25

Como equivalente de AV290.



T A B L A V

Ración Broiler Nº 453

|    | <u>Ingrediente</u>                    | <u>%</u>   |
|----|---------------------------------------|------------|
|    | Maiz amarillo molido                  | 53,45      |
| 5  | Harina de aceite de soya (49 %)       | 28,0       |
|    | Harina de pescado (60 %)              | 5,0        |
|    | Harina de gluten (60 %)               | 5,0        |
|    | Harina de alfalfa (17 %) deshidratada | 2,0        |
|    | Grasa estabilizada                    | 4,0        |
| 10 | Fosfato dicálcico                     | 1,2        |
|    | Cal molida                            | 0,5        |
|    | Cloruro sódico                        | 0,3        |
|    | Tra-Min. nº 3                         | 0,05       |
|    | Premezcla de vitamina                 | <u>0,5</u> |
| 15 | Total                                 | 100,00     |

Premezcla de Vitamina para 1-Tonelada

|    | <u>Ingredientes</u>                   | <u>gramos</u> |
|----|---------------------------------------|---------------|
|    | DL metionina                          | 453,6         |
| 20 | BRT                                   | 113,6         |
|    | Vitamina A (30.000 u/g)               | 100,0         |
|    | Vitamina D <sub>3</sub> (200.000 u/g) | 5,0           |
|    | Vitamina E (20.000 u/g)               | 45,4          |
|    | Riboflavina                           | 4,0           |
| 25 | Niacinamida                           | 25,0          |
|    | Ca. Pantotenato                       | 8,0           |
|    | Vitamina K (menadiona)                | 1,0           |
|    | Parvo (10 %), ácido fólico            | 13,0          |
|    | Cloruro de Colina (50 %)              | 908,0         |
| 30 | Proferm (9,2 mg B <sub>12</sub> /kg)  | 227,0         |



| Ingredientes |                  | gramos        |
|--------------|------------------|---------------|
|              | Aceite de maíz   | 50,0          |
|              | Maíz molido fino | <u>2582,4</u> |
|              | TOTAL            | 4536,0        |

| <u>Tra-Min Nº 3</u> |       |                                   |
|---------------------|-------|-----------------------------------|
| Elemento            | %     | 0,45 kg/Ton.<br>Proporciona (ppm) |
| Manganeso           | 12,50 | 62,5                              |
| Hierro              | 6,00  | 30,0                              |
| Cinc                | 5,00  | 25,0                              |
| Cobre               | 0,65  | 3,25                              |
| Yodo                | 0,35  | 1,75                              |
| Cobalto             | 0,25  | 1,25                              |
| Calci min.          | 15,30 | 1,25                              |
| máx.                | 18,35 |                                   |

- N O T A -

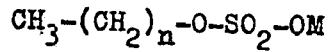
Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas, son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una Solicitud de Patente, presentada en Norteamérica, con fecha 27 de abril de 1.973, bajo el número 355.240, 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, sobre: PROCEDIMIENTO PARA RECUPERAR UN COMPLEJO DE ANTIBIOTICO AV29C-SULFATO ALQUILICO; caracterizándose por lo siguiente:



5

1º.- Procedimiento para recuperar un complejo de anti-  
biótico AV290-sulfato alquílico, a partir de una masa entera  
de cosecha de fermentación que contiene el antibiótico AV290  
caracterizado porque comprende las etapas de: (a) producir un  
licor de fermentación clarificando la masa entera de cosecha;  
(b) acidificar el licor de fermentación a un pH de 1,9 a 2,1;  
(c) agregar al licor acidificado, una cantidad suficiente  
para producir un complejo con el antibiótico AV290, un agente  
formador de complejos seleccionados del grupo que consiste en  
compuestos de la fórmula:

10



15

donde n es un entero de 9 a 17, inclusive, y M es sodio o po-  
tasio, y mezclas de los mismos; (d) separar el complejo de  
antibiótico AV290-sulfato alquílico precipitado; y (e) secar  
el complejo de antibiótico AV290-sulfato alquílico.

20

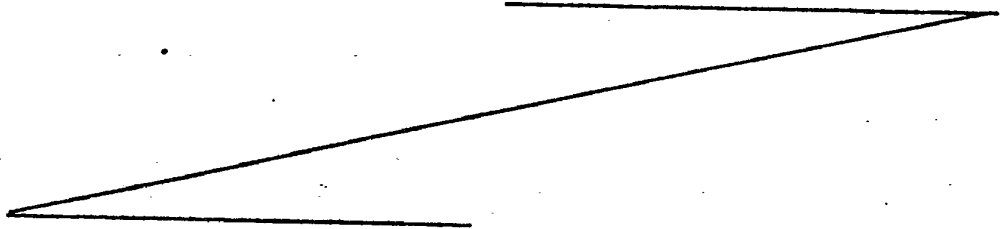
2º.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracte-  
rizado porque el agente formador de complejo es sulfato decí-  
lico de sodio.

3º.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracte-  
rizado porque el agente formador de complejo es sulfato lau-  
rílico de sodio.

25

4º.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracte-  
rizado porque el agente formador de complejo es una mezcla de  
sulfato cetílico de sodio y sulfato oleílico de sodio.

ONE





5ª.- Procedimiento para recuperar un complejo de anti-  
biótico AV290-sulfato alquílico, tal y como queda sustancial-  
mente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 20 hojas, escritas a máquina  
por una sola cara.

5

Madrid

1 JUN. 1974

AMERICAN CYANAMID COMPANY

A. GOMEZ ACEDO Y ROBET  
Firmado: L. Gacia Fernández

MG