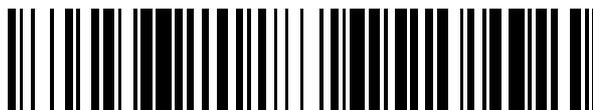


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 809 680**

51 Int. Cl.:

A61K 31/192 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61K 36/15 (2006.01)
A23K 20/105 (2006.01)
A23K 20/10 (2006.01)
A23K 50/10 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2014** **E 16186985 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2020** **EP 3124021**

54 Título: **Complemento alimenticio que comprende ácidos resínicos**

30 Prioridad:

13.11.2013 FI 20136113

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

05.03.2021

73 Titular/es:

HANKKIJA OY (50.0%)
Peltokuumolantie 4
05800 Hyvinkää, FI y
FORCHEM OY (50.0%)

72 Inventor/es:

RINTOLA, MIKKO;
ORTE, JUHA y
VUORENMAA, JUHANI

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes

ES 2 809 680 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Complemento alimenticio que comprende ácidos resínicos

5 SECTOR DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una utilización no terapéutica de un complemento alimenticio que comprende una composición basada en ácido resínico.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Los desequilibrios en las poblaciones microbianas y el crecimiento de bacterias dañinas en el tracto digestivo de los animales pueden causar pérdidas significativas en el crecimiento y la producción de animales. Estos desequilibrios se manifiestan como trastornos intestinales, tales como la diarrea. Aunque las infecciones microbianas de los animales se han prevenido mediante la utilización, por ejemplo, de antibióticos y otros agentes que previenen el crecimiento de microorganismos, se esperan regulaciones más estrictas sobre su utilización. Los animales rumiantes pueden utilizar materias primas ricas en fibra que tienen poco o ningún valor nutricional para monogástricos, tales como el ser humano. Sin embargo, la eficiencia de conversión alimenticia de los rumiantes es relativamente baja y su producción de metano representa una parte notable de las emisiones mundiales de gases de efecto invernadero. Con la creciente demanda de alimentos, existe la necesidad de mejorar la eficiencia de conversión alimenticia de los rumiantes y disminuir su producción de metano. En general, existe una creciente demanda de ingredientes para la utilización en la alimentación animal que puedan modular la población microbiana en el tracto digestivo del animal, pero que estén fácilmente disponibles, sean bien tolerados y respetuosos con el medio ambiente.

La destilación fraccionada de aceite de resina crudo (CTO, "crude tall oil"), obtenido como un subproducto del proceso Kraft de fabricación de pasta celulósica, produce aceite de resina desbreado que normalmente comprende más del 10 % de ácidos resínicos y menos del 90 % de ácidos grasos. El refinamiento adicional del aceite de resina desbreado produce ácido graso de aceite de resina (TOFA, "tall oil fatty acid"), aceite de resina destilado (DTO, "distilled tall oil") y colofonia de aceite de resina (TOR, "tall oil rosin") que están disponibles en una variedad de composiciones que difieren en el contenido de ácidos grasos y ácidos resínicos. Dado que el TOFA es una fuente económica de ácidos grasos, se ha utilizado previamente en la nutrición animal como fuente de energía. Por ejemplo, la Patente GB 955316 da a conocer la utilización de sales de metales alcalinos de ácidos grasos de aceite de resina para mejorar el aumento de peso y la retención de nitrógeno en animales rumiantes.

La Patente WO 02/02106 A1 da a conocer composiciones que comprenden una mezcla de un complemento dietético y MTO o CLA para mejorar las composiciones corporales de seres humanos o animales y procedimientos de alimentación de esas composiciones a seres humanos o animales.

El Artículo SONIA SAVLUCHINSKE-FEIO ET AL: "Antimicrobial activity of resin acid derivatives", APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 72, no. 3, 5 de agosto de 2006 da a conocer la actividad antimicrobiana de los derivados de ácidos resínicos contra bacterias, virus y hongos.

La Patente FI 20110371 A da a conocer una composición de resina acuosa (dispersión) para la utilización como agente farmacéutico antimicrobiano y un agente aditivo antimicrobiano en soluciones diluibles en agua, así como en materiales técnicos.

La Patente EP0078152 A1 da a conocer una sal farmacéuticamente aceptable de ácido sulfodeshidroabiético para la utilización en el tratamiento terapéutico o la profilaxis de una enfermedad gastrointestinal.

Las toxinas son sustancias venenosas producidas dentro de las células u organismos vivos. Las toxinas, tales como las micotoxinas, son un grupo químicamente variable de metabolitos secundarios de hongos, que se pueden encontrar en granos y otros piensos incluso en ausencia de cualquier crecimiento visible de hongos. La alta temperatura y la humedad del aire durante el almacenamiento aumentan la probabilidad de crecimiento de hongos, pero la contaminación por micotoxinas también puede producirse en el campo. La apariencia visible o el olor de granos o forraje no indica la presencia o ausencia de contaminación por micotoxinas. Los efectos de las toxinas, tales como las micotoxinas, en los animales de granja son muy variables y varían desde una mayor mortalidad hasta una disminución de la fertilidad y el rendimiento. Las micotoxinas también pueden alterar el sistema inmunitario de los animales y hacerlos más susceptibles a las enfermedades.

Debido a la variabilidad química de las micotoxinas, el análisis de todos los lotes de pienso incluso para las micotoxinas más comunes sería demasiado costoso. Por lo tanto, a menudo se utilizan adsorbentes de micotoxinas para proporcionar protección adicional contra la contaminación por micotoxinas en piensos. Los adsorbentes de micotoxinas son sustancias que no son digeridas ni absorbidas por el animal. Se supone que se unen a las toxinas durante el paso a través del canal alimentario. De este modo, en lugar de ser absorbidas por los animales, las toxinas finalmente se evacúan a través de las heces.

Los aglutinantes de toxinas también pueden adsorber otros tipos de toxinas, tales como toxinas bacterianas o metabolitos secundarios de plantas del tracto digestivo. El carbón activado (carbón vegetal) es un aglutinante de toxinas eficiente. Es un aglutinante de toxinas general recomendado en diversas intoxicaciones. Sin embargo, el carbón vegetal también se une a vitaminas y minerales, lo que lo hace inadecuado para utilización continua en piensos.

CARACTERÍSTICAS

La presente invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Figura 1 El cambio de turbidez durante 8 horas de crecimiento de *Cl. perfringens* como respuesta a colofonia de aceite de resina (TOR) y aceite de resina destilado (DTO).

Figura 2 Producción de gas durante 8 horas por crecimiento de *Cl. perfringens* como respuesta a colofonia de aceite de resina (TOR) y aceite de resina destilado (DTO).

La presente divulgación se basa en la constatación de que un complemento alimenticio que comprende una composición basada en ácido resínico puede utilizarse en la prevención del crecimiento de bacterias dañinas en el tracto digestivo de animales, en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo de animales, en la prevención de trastornos intestinales, para mejorar la fermentación ruminal, disminuir la producción de metano ruminal y/o para unirse a toxinas.

Los ácidos resínicos están presentes en los árboles coníferos, y hay tres especies principales de productos de ácido resínico, a saber, colofonia de aceite de resina (TOR), colofonia de madera y colofonia de goma. TOR es la fracción de ácido resínico separada por destilación al vacío del aceite de resina crudo (CTO) que se produce mediante la preparación de pasta. El CTO se obtiene a través de la acidulación del jabón de aceite de resina crudo o el jabón de sulfato crudo (TOS de "crude sulphate soap"). El TOS se separa del líquido de cocción en la planta de celulosa, a menudo llamado licor negro durante el proceso de fabricación de la pasta. La colofonia de madera es la fracción separada por destilación al vapor u otros medios de árboles muertos, tocones, ramas, etc. y colofonia de goma es la fracción de resina que ha sido destilada al vapor o separada por otros medios de la resina cosechada, a menudo llamada sangría de un árbol vivo.

La colofonia de goma se produce ampliamente en China, Indonesia y Brasil. La colofonia de madera proviene principalmente de los Estados Unidos. La TOR se produce en los Estados Unidos y Escandinavia y, en menor medida, en Europa Central, Nueva Zelanda y Rusia. Las sustancias que contienen ácido resínico y obtenidas por destilación al vacío del aceite de resina crudo incluyen aceite de resina destilado (DTO), ácido graso de aceite de resina (TOFA) y brea de aceite de resina (TOP, "tall oil pitch"). El DTO contiene el 10 - 40 % de ácidos resínicos. El CTO normalmente contiene el 15 - 70 % de ácidos resínicos, y los contenidos más bajos de ácido resínico generalmente son proporcionados por la cocción de pasta celulósica mixta.

Debe entenderse que la expresión "colofonia de aceite de resina" o "TOR" se refiere a una composición obtenida por destilación de aceite de resina crudo y refinamiento adicional de aceite de resina destilado. La TOR normalmente comprende el 60 - 99 % (p/p) de ácidos resínicos.

Debe entenderse que la expresión "colofonia de madera" se refiere a una composición obtenida por destilación u otros medios a partir de árboles muertos, tocones, ramas, etc. La colofonia de madera normalmente comprende el 50 - 99 % (p/p) de ácidos resínicos.

Debe entenderse que la expresión "colofonia de goma" se refiere a una composición obtenida por destilación o separada por otros medios a partir de resina cosechada de un árbol vivo. La colofonia de goma normalmente comprende el 50 - 99 % (p/p) de ácidos resínicos.

Debe entenderse que la expresión "aceite de resina destilado" o "DTO" se refiere a una composición obtenida por destilación de aceite de resina crudo y refinamiento adicional de aceite de resina destilado. El DTO normalmente comprende el 10 - 60 % (p/p) de ácidos resínicos.

La composición basada en ácido resínico TOR, colofonia de madera, colofonia de goma, CTO, TOS y DTO también se puede producir mezclando una o más composiciones de ácido resínico y una o más composiciones de ácido graso en forma de aceites o grasas. Los derivados de ácido resínico producidos son, por ejemplo, ésteres, éteres o sales de metales alcalinos.

Se sabe que los ácidos resínicos tienen propiedades antimicrobianas, que incluyen las antibacterianas.

El complemento alimenticio de la presente divulgación comprende una composición basada en ácido resínico que comprende más del 10 % (p/p) de ácidos resínicos.

En una realización, el complemento alimenticio comprende una composición basada en ácido resínico que comprende más del 12 % (p/p) de ácidos resínicos.

5 El complemento alimenticio es eficaz en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo de animales.

El complemento alimenticio que comprende una composición basada en ácido resínico se utiliza en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo de animales para mejorar la proporción de conversión alimenticia.

10 En una realización, el complemento alimenticio se utiliza para mejorar la utilización del pienso.

En este contexto, debe entenderse que la expresión “complemento alimenticio” se refiere a una composición que puede añadirse a un pienso o utilizarse como tal en la alimentación de animales.

15 En este contexto, debe entenderse que la expresión “ácidos resínicos” se refiere a una mezcla compleja de diversos compuestos ácidos derivados de la madera, especialmente madera de pino. También pueden ser ácidos resínicos modificados, tales como dímeros y ácidos resínicos descarboxilados. La composición exacta de los ácidos resínicos presentes en la composición basada en ácido resínico varía, por ejemplo, según las especies de los árboles de los que se obtiene la composición y las condiciones de procesamiento en las cuales se fabrica. Los ácidos resínicos normalmente incluyen compuestos, tales como ácido abiético, ácido deshidroabiético, ácido levopimárico, ácido neoabiético, ácido pimárico y ácido isopimárico, por mencionar solo algunos.

20 En el contexto del aditivo de pienso, la composición a base de ácido resínico puede ser cualquier composición descrita en la presente memoria descriptiva.

25 En una realización de la presente divulgación, la composición basada en ácido resínico del complemento alimenticio comprende, como mínimo, uno de los siguientes ácidos resínicos, ácido abiético, ácido deshidroabiético, ácido palústrico, ácido neoabiético, ácido pimárico y ácido isopimárico y/o derivados de los mismos. Los derivados se obtienen modificando el ácido resínico químicamente, biológicamente o de otras formas. En una realización, la composición basada en ácido resínico comprende, como mínimo, uno de los siguientes ácidos resínicos, ácido abiético, ácido deshidroabiético, ácido palústrico, ácido neoabiético, ácido pimárico y ácido isopimárico. En una realización, la composición a base de ácido resínico comprende, como mínimo, un ácido resínico modificado químicamente de ácido abiético, ácido deshidroabiético, ácido palústrico, ácido neoabiético, ácido pimárico y ácido isopimárico. La composición basada en ácido resínico también puede ser una mezcla de ácidos resínicos sin modificar y modificados.

30 En una realización, la composición basada en ácido resínico es colofonia de aceite de resina (TOR).

35 En una realización, la composición basada en ácido resínico y/o TOR comprende más del 60 % (p/p) de ácidos resínicos. En una realización, la composición basada en ácido resínico y/o TOR comprende más del 85 % (p/p) de ácidos resínicos.

40 La TOR puede comprender el 32 - 44,5 % de ácido abiético, el 18 - 25 % de ácido deshidroabiético, el 0 - 3 % de ácido dihidroabiético, el 3,0 - 11,5 % de ácido isopimárico, el 0 - 1,5 % de ácido 8,5-isopimárico, el 0 - 2,5 % de ácido levopimárico, el 3,3 - 4 % de ácido neoabiético, el 7,5 - 10 % de ácido palústrico, el 3 - 4,5 % de ácido pimárico y el 0 - 4,0 % de ácido sandaropimárico. La TOR puede comprender <0,1 % de dímeros y el 0 - 7 % de otros componentes.

45 En una realización, la composición basada en ácido resínico es colofonia de madera.

50 En una realización, la composición basada en ácido resínico y/o colofonia de madera comprende más del 10 y hasta el 99 % (p/p) de ácidos resínicos. En una realización, la composición basada en ácido resínico y/o colofonia de madera comprende el 50 - 99 % (p/p) de ácidos resínicos.

55 La colofonia de madera puede comprender el 45 - 51 % de ácido abiético, el 7,9 - 8,5 % de ácido deshidroabiético, el 0 - 1 % de ácido dihidroabiético, el 11 - 15,5 % de ácido isopimárico, el 0 - 4,2 % de ácido 8,5-isopimárico, el 0 - 0,2 % de ácido levopimárico, el 4,7 - 7 % de ácido neoabiético, el 8,2 - 10 % de ácido palústrico, el 3 - 7,1 % de ácido pimárico y el 0 - 2,0 % de ácido sandaropimárico. La colofonia de madera puede comprender el 0 - 4,2 % de dímeros y el 0 - 1 % de otros componentes.

60 En una realización, la composición basada en ácido resínico es colofonia de goma.

65 En una realización, la composición basada en ácido resínico y/o colofonia de goma comprende más del 10 y hasta el 99 % (p/p) de ácidos resínicos. En una realización, la composición basada en ácido resínico y/o colofonia de goma comprende el 50 - 99 % (p/p) de ácidos resínicos.

ES 2 809 680 T3

- 5 La colofonia de goma puede comprender el 15 - 45 % de ácido abiético, el 3 - 15 % de ácido deshidroabiético, el 0 - 0,6 % de ácido dihidroabiético, el 3,6 - 28 % de ácido isopimárico, el 0 - 0,3 % de ácido 8,5-isopimárico, el 0 - 1,8 % de ácido levopimárico, el 10 - 19 % de ácido neobiético, el 5 - 25 % de ácido palústrico, el 2 - 7,4 % de ácido pimárico y el 0 - 1,5 % de ácido sandaropimárico. La colofonia de goma puede comprender el 0 - 1,0 % de dímeros y el 0 - 3,5 % de otros componentes.
- 10 En una realización, la composición basada en ácido resínico es aceite de resina destilado (DTO). En una realización, la composición basada en ácido resínico es una fracción de destilación de aceite de resina. En una realización, la composición basada en ácido resínico es una mezcla de DTO y una fracción de destilación de aceite de resina. La fracción de destilación de aceite de resina es cualquier fracción de CTO que contiene ácidos resínicos disponible durante el refinado de CTO.
- 15 En una realización, la composición basada en ácido resínico y/o DTO comprende más del 10 y hasta el 60 % (p/p) de ácidos resínicos. En una realización, la composición basada en ácido resínico y/o DTO comprende más del 10 y hasta el 40 % (p/p) de ácidos resínicos.
- 20 En una realización, la composición basada en ácido resínico se separa del licor negro durante el proceso de fabricación de pasta o TOS o CTO.
- 25 Los ácidos resínicos de la composición basada en ácido resínico son insolubles en agua. Los ácidos resínicos de la composición basada en ácido resínico pueden estar sin modificar o modificados.
- 30 En una realización, los ácidos resínicos de la composición basada en ácido resínico y el complemento alimenticio están sin modificar. Debe entenderse que la expresión "sin modificar" se refiere a la composición basada en ácido resínico que comprende más del 10 % (p/p) de ácidos resínicos que no están modificados, es decir, tratados química o biológicamente. El complemento alimenticio que comprende la composición basada en ácido resínico puede utilizarse como tal.
- 35 En una realización, los ácidos resínicos de la composición basada en ácido resínico son composiciones de ácido resínico modificadas químicamente, biológicamente o de otras formas. La modificación química y/o biológica de los ácidos resínicos de la composición basada en ácido resínico mejora la solubilidad de sus componentes y ácidos resínicos en el tracto digestivo de un animal. La composición basada en ácido resínico puede estar químicamente modificada, por ejemplo, parcial o totalmente hidrogenada, desprotonada, isomerizada, oxidada, polimerizada, eterificada, saponificada y/o esterificada con compuestos adecuados, por ejemplo, alcoholes grasos, glicol, glicerol o compuestos de ácidos grasos glicerídicos, tales como monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos y poliglicéridos o ésteres basados en azúcar o poliál. También se pueden utilizar como reactivos en la reacción de Diels-Alder.
- 40 En una realización, el complemento alimenticio comprende una composición basada en ácido resínico que se modifica por saponificación.
- 45 Diversos procesos para la saponificación de la composición basada en ácido resínico utilizando, por ejemplo, NaOH o CaOH son conocidos por un experto en la materia. En una realización de la presente invención, la composición basada en ácido resínico para la utilización, según la presente divulgación, se modifica por eterificación.
- 50 En una realización, la composición basada en ácido resínico del complemento alimenticio comprende el 1 - 90 (p/p) de ácidos grasos y/o sus derivados. Los ácidos grasos pueden estar en forma de aceites o grasas o en otras formas como ácidos grasos libres o ésteres, éteres o sales de metales alcalinos o alcoholes grasos.
- 55 En una realización, la composición basada en ácido resínico incluye insaponificables que no tienen un grupo ácido, por ejemplo, sustancias lipófilas neutras y ésteres de madera. En una realización, la composición basada en ácido resínico incluye menos del 15 % de insaponificables. La cantidad de insaponificables es, normalmente, en productos de DTO menos del 5 % y en TOR, colofonia de madera y de goma menos del 6 %.
- 60 En una realización, el complemento alimenticio comprende una composición basada en ácido resínico que se seca. La composición basada en ácido resínico puede secarse mediante secado por pulverización, secado en tambor o mediante cualquier otro procedimiento de secado adecuado conocido.
- 65 En una realización, el complemento alimenticio comprende diferentes principios activos.
- 60 El complemento alimenticio puede añadirse al pienso en una concentración de 0,0001 - 10 kg/tonelada de peso seco de la cantidad total del pienso. El complemento alimenticio que comprende la composición basada en ácido resínico puede añadirse al pienso o al complemento alimenticio como tal, o en general puede procesarse adicionalmente, según se desee.
- 65 El complemento alimenticio que comprende una composición basada en ácido resínico puede modificarse a una forma que sea funcional y eficaz en piensos. Se pueden añadir portadores, tales como aceite, ácidos grasos, a la

composición para mejorar la funcionalidad. Se pueden añadir emulsionantes adicionales, tales como glicerol, lecitina, etc., a la composición basada en ácido resínico para mejorar la solubilidad.

5 En una realización, el complemento alimenticio que comprende la composición basada en ácido resínico puede comprender derivados de ácido resínico modificados químicamente. Los derivados de ácido resínico también podrían comprender anhídridos de ácido basados en colofonia, dímeros, aminas, maleimidadas, alquenos, composiciones epoxídicas y/o mezclas de los mismos o con otros ácidos resínicos modificados químicamente adecuados conocidos por el experto en la materia.

10 En una realización, el complemento alimenticio comprende una composición basada en ácido resínico que se absorbe en un material portador adecuado para la composición alimenticia, tal como pulpa de remolacha azucarera.

15 En una realización, el complemento alimenticio comprende una composición basada en ácido resínico que se mezcla con un material portador líquido adecuado para la composición alimenticia, tal como aceites vegetales o ácidos grasos.

20 Además, el complemento alimenticio que comprende la composición basada en ácido resínico se puede añadir al pienso, o se puede administrar a un animal por separado (es decir, no como parte de ninguna composición alimenticia).

En este contexto, debe entenderse que la expresión "composición alimenticia" o "pienso" se refiere a la composición alimenticia total de una dieta animal o a una parte de la misma, incluyendo, por ejemplo, pienso suplementario, premezclas y otras composiciones alimenticias. El pienso puede comprender diferentes principios activos.

25 También se da a conocer una composición alimenticia que comprende el complemento alimenticio.

La composición alimenticia comprende el complemento alimenticio en una cantidad del 0,00001 - 1,0 % (p/p) del peso seco de la cantidad total del pienso.

30 La presente invención se refiere a una utilización del complemento alimenticio en una composición alimenticia.

La presente invención también se refiere a una utilización del complemento alimenticio que comprende la composición basada en ácido resínico que comprende más del 10 % (p/p) de ácidos resínicos en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo de animales, para mejorar la proporción de conversión alimenticia.

35 En este contexto, debe entenderse que la expresión "bacterias dañinas" se refiere a cualquier bacteria que sea capaz de afectar al tracto digestivo o a la salud de un animal de manera adversa, incluyendo la competencia por los nutrientes con el animal huésped. En este contexto, debe entenderse que la expresión "población microbiana" se refiere a los microorganismos que habitan en el tracto digestivo, que incluyen los dominios de bacterias y arqueas y los miembros microscópicos del dominio eucariota y también los parásitos intestinales. La población microbiana variará para diferentes especies animales dependiendo, por ejemplo, de la salud de un animal y los factores ambientales.

40 En este contexto, debe entenderse que la expresión "trastorno intestinal" se refiere a diversos trastornos del tracto digestivo en un animal, que incluyen, por ejemplo, diarrea y otros problemas de salud intestinal.

45 En este contexto, debe entenderse que el término "animal" se refiere a todo tipo de animales diferentes, tales como animales monogástricos, rumiantes, animales de peletería, mascotas y acuicultura. Entre los ejemplos no limitantes de diferentes animales, incluyendo los descendientes, se incluyen vacas, ganado vacuno, cerdos, aves de corral, ovejas, cabras, caballos, zorros, perros, gatos y peces.

50 En este contexto, debe entenderse que el término "toxina" se refiere a cualquier sustancia venenosa producida dentro de células u organismos vivos. Las toxinas son productos de plantas, animales, microorganismos, por ejemplo, bacterias, virus, hongos, rickettsias, protozoos, etc. En este contexto, debe entenderse que el término "micotoxina" se refiere a un metabolito secundario tóxico producido por hongos, tales como levaduras y mohos. Las micotoxinas más comunes en granos o forraje son, por ejemplo, aflatoxinas, zearalenona, ocratoxina A, desoxinivalenol, fumonisina y toxina T-2. Las toxinas variarán dependiendo de los factores ambientales.

55 En una realización de la presente invención, la composición basada en ácido resínico se administra a un animal en una cantidad eficaz.

El complemento alimenticio que comprende la composición basada en ácido resínico que comprende más del 10 % (p/p) de ácidos resínicos es eficaz en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo de animales.

60 El complemento alimenticio que comprende la composición basada en ácido resínico es un material fácilmente disponible, natural, de bajo coste y respetuoso con el medio ambiente. Además, no es tóxico y se tolera bien. El

complemento alimenticio que comprende la composición basada en ácido resínico se puede utilizar como tal. Las composiciones dadas a conocer son eficaces para modular la composición de la microbiota en el tracto digestivo de animales en una dirección que es beneficiosa para el rendimiento del animal. Posteriormente, otros beneficios son, por ejemplo, la mejora de la salud y productividad de los animales, una mayor calidad del producto, uniformidad, el valor nutricional y la seguridad de los alimentos y productos, menores costes por unidad de producción y menores cargas ambientales. La divulgación permite la producción de composiciones y complementos alimenticios a bajo coste.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1.

Prueba de inhibición de patógenos

Clostridium perfringens es una bacteria patógena que causa enteritis necrosante en pollos de engorde y otras especies de aves de corral. Este experimento se realizó para estudiar la inhibición de *Cl. perfringens* por las composiciones basadas en ácido resínico.

Se probaron dos composiciones basadas en ácido resínico de colofonia de aceite de resina (TOR) y aceite de resina destilado (DTO) obtenidas de la destilación de aceite de resina crudo en cuanto a su eficacia contra el crecimiento de *Clostridium perfringens*. La composición de TOR contenía el 88 % (p/p) de ácidos resínicos y la composición de DTO contenía el 27,5 % (p/p) de ácidos resínicos.

Compuestos de prueba

TOR (ácidos resínicos libres, 88 %)	0,03 g de 1:1 en aceite de nabina
DTO (ácidos resínicos libres, 27,5 %)	0,015 g
TOR (ácidos resínicos libres, 88 %)	0,15 ml de solución madre al 10 % en etanol
DTO (ácidos resínicos libres, 27,5 %)	0,15 ml de solución madre al 10 % en etanol
TOR (ácidos resínicos libres, 88 %)	0,15 ml de solución madre al 1 % en etanol
DTO (ácidos resínicos libres, 27,5 %)	0,15 ml de solución madre al 1 % en etanol
etanol	0,15 ml de etanol

La eficacia de las composiciones de prueba se probó en una prueba de inhibición del crecimiento de *Cl. perfringens* que mide tanto la turbidez del medio de cultivo clostridial como resultado del aumento del número de células bacterianas en un volumen unitario de medio, como la producción acumulada de gas durante la simulación.

La eficacia de TOR y DTO contra el crecimiento de *Cl. perfringens* se probó a concentraciones del 0,01 %. La TOR con el 88 % de ácido resínico se fundió a +105 °C y se mezcló 1:1 en aceite de nabina, para lograr la misma forma fluida que los otros dos productos oleosos. Este producto diluido se dosificó como una cantidad doble en la simulación.

Procedimiento de simulación: la simulación se realizó en frascos de vidrio de 25 ml que contenían 15 ml de medio TSGY anaeróbico estéril (medio de caldo triptico de soja-extracto de levadura con glucosa) y los frascos se cerraron con tapones herméticos para garantizar condiciones anaerobias durante todo el experimento. Al comienzo de la simulación, se inyectaron inóculos al 0,1 % del cultivo de *Cl. perfringens* desarrollado durante una noche en frascos de TSGY. Se añadieron compuestos de prueba o agua desionizada estéril para el tratamiento de control en un volumen final de 150 µl de la solución madre respectiva según el tratamiento. Los frascos de simulación se aleatorizaron para evitar sesgos artificiales entre tratamientos. Los frascos se mantuvieron a una temperatura uniforme de 37 °C y se mezclaron 1 minuto antes de la medición de turbidez en cada punto temporal. El tiempo total de simulación fue de 8 horas.

La densidad óptica se midió en los puntos temporales de 0,5, 4 y 8 horas. La turbidez (densidad óptica, DO) de los medios de crecimiento aumenta proporcionalmente a medida que aumenta el número de células y la densidad celular de *Cl. perfringens*.

La producción total de gas se midió al final de la simulación de 8 horas como un indicador de la eficacia del crecimiento, ya que *Cl. perfringens* produce cantidades detectables de gas debido al metabolismo activo durante el crecimiento exponencial.

Resultados

Los resultados se ilustran en las figuras 1 y 2. Los tratamientos con TOR y DTO inhibieron muy eficazmente el crecimiento de *Cl. perfringens*, que se detectó como la falta de cambio de turbidez (figura 1) y la producción de cantidades insignificantes de gas (figura 2). Las composiciones de TOR y DTO inhibieron el crecimiento de *Clostridium perfringens* de forma muy eficaz independientemente de la concentración de ácido de colofonia

EJEMPLO 2.

Prueba de inhibición de metano

5 Dos composiciones basadas en ácido resínico de colofonia de aceite de resina (TOR) y aceite de resina destilado (DTO) se probaron en la prueba de inhibición de metano. La composición de TOR contenía el 88 % (p/p) de ácidos resínicos y la composición de DTO contenía el 27,5 % (p/p) de ácidos resínicos. La composición de TOR que contenía el 88 % (p/p) de ácidos resínicos se mezcló 1:1 con aceite de nabina.

10 La prueba de inhibición de metano se realizó con vacas lecheras con fístula ruminal para estudiar el potencial de TOR y DTO para disminuir la tasa de producción de metano en el rumen. Las muestras de fluido ruminal se midieron para determinar el número de bacterias metanógenas, ya que son los organismos productores de metano. Se midieron los perfiles de ácidos grasos de cadena corta, incluyendo la concentración de ácidos grasos de cadena ramificada, de las muestras, ya que indican si las composiciones basadas en ácido resínico tuvieron efectos en la fermentación ruminal.

15 Tres vacas lecheras lactantes con fístula ruminal recibieron 3,0 g de composiciones de prueba secas/cabeza/día durante 21 días, en cuatro porciones. Las composiciones de TOR y DTO se secaron primero sobre pulpa de remolacha azucarera y después se mezclaron en el pienso compuesto. Se tomaron muestras de rumen antes de la intervención dietética, una vez a la semana durante la alimentación de la composición de prueba y después de un período de lavado de dos semanas. Las muestras del ensayo se analizaron para determinar los ácidos grasos de cadena corta (SCFA, "short chain fatty acids") por cromatografía de gases y el número de metanógenos, protozoos y bacterias totales por qPCR.

25 Resultados

Los resultados muestran que el número de bacterias productoras de metano disminuyó numéricamente durante el período de alimentación de TOR y DTO, mientras que el producto no afectó a los protozoos ni al número total de bacterias. Los niveles de ácidos láctico, propiónico y valérico y los ácidos grasos de cadena corta totales tendieron a disminuir en el fluido ruminal durante el período de alimentación de TOR y DTO. La concentración y la proporción relativa de los ácidos grasos de cadena ramificada tendieron a disminuir como respuesta a TOR y DTO.

30 El experimento muestra que la TOR y el DTO reducen la cantidad de metanógenos y, por lo tanto, disminuyen la producción de metano en el rumen. El experimento también muestra que la TOR y el DTO mejoran la fermentación ruminal.

EJEMPLO 3

40 Este experimento se realizó para estudiar el efecto de DTO saponificado con ácidos resínicos al 35 % (p/p) con o sin portador de pulpa de remolacha azucarera (SBP, "sugar beet pulp") sobre la población microbiana y la fermentación del íleon de pollo de engorde *in vitro*.

45 El DTO saponificado se fabricó añadiendo NaOH (hidróxido de sodio) al DTO, añadiendo suficiente agua para ajustar el porcentaje total de materia seca (DTO) de la mezcla al 18-20 %, calentando la mezcla a + 90 °C, manteniendo la temperatura a + 90 °C durante 120 minutos, tiempo durante el cual la mezcla se agitó suavemente a intervalos de 15 minutos.

Experimento

50 Los contenidos ileales de pollos de engorde de 40 días de edad se utilizaron para los medios de simulación y como inoculantes en los modelos de simulación. Los tratamientos de ensayo se prepararon a partir de un lote de DTO saponificado.

Se produjeron preparaciones de DTO con el 35 % de ácidos resínicos:

- 55 1. DTO saponificado con el 20 % de contenido de materia seca
Una parte alícuota del jabón DTO se calentó a 90 °C, se mezcló con polvo de SBP finamente molido y se secó.
2. DTO saponificado
Digestión gastrointestinal del DTO saponificado: parte del jabón de DTO líquido y el jabón de DTO absorbido por el portador se digirió mediante un tratamiento con pepsina-HCl (pH 2,25) seguido de un tratamiento con pancreatina-ácido biliar-NaOH (pH 6,2) en una serie de diluciones. La digestión se realizó para evaluar si los productos resistirían las condiciones del tracto gastrointestinal superior antes de que entren en el intestino distal con una mayor actividad microbiana.

65 La simulación se realizó en un total de 160 viales de microcentrífuga de plástico de 2 ml, en un volumen de 1,5 ml, con 10 horas de tiempo de simulación. Las muestras se analizaron a cuatro concentraciones de la materia seca de

DTO: 0 %, 0,005 %, 0,01 %, 0,01 % y 1 %.

5 Todas las muestras de simulación fueron analizadas para ácidos grasos de cadena corta y el número total de microbios. Además, las muestras seleccionadas se analizaron para varias especies o grupos microbianos mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR, "quantitative real-time PCR"). Se analizaron muestras de simulación ileal para lactobacilos y estreptococos.

Resultados

10 En el modelo de simulación ileal, el jabón de DTO a un nivel de 0,5 kg/tonelada aumentó las concentraciones de ácido acético y propiónico y disminuyó la concentración de ácido láctico. Esto sugiere la modulación del metabolismo microbiano desde la ruta metabólica homofermentativa hacia la heterofermentativa, lo que puede considerarse un cambio muy positivo que mejora la relación de conversión alimenticia. El portador de pulpa de remolacha azucarera tuvo poco efecto sobre la fermentación.

15 EJEMPLO 4.

Prueba A: adsorción de toxinas en fase sólida *in vitro*

20 La capacidad de un producto de prueba para eliminar toxinas del medio acuoso se midió en esta prueba. Un adsorbente de toxina eficaz debe ser capaz de unirse la toxina en todos los compartimentos del tracto digestivo, para impedir que la toxina sea absorbida por el animal. Para evaluar la eficacia del aglutinante en el estómago ácido, la prueba se realizó a un valor de pH de 2,5 (tampón de glicina 50 mM-HCl).

25 El producto de prueba fue un producto de DTO saponificado que contiene el 20 % de ácidos resínicos. El DTO saponificado se fabricó tal como en el ejemplo 3. El producto probado fue el DTO saponificado (20 %) con o sin portador de silicato.

30 La prueba A se realizó con dos toxinas Ocratoxina A (OTA) y Zearalenona (ZEA), a un valor de pH de 2,5, tres niveles de sustancia de prueba 0,2, 0,5 y 1 kg/tonelada y cuatro muestras repetidas por tratamiento. El tratamiento de control se repitió 8 veces.

35 Las micotoxinas OTA y ZEA estaban disponibles como compuestos puros marcados con ³H, y la radiactividad, medida por recuento de centelleo líquido, se utilizó para su cuantificación en las muestras.

40 El experimento se realizó en viales de vidrio silanizado en 1 ml de volumen de tampón. En el sistema de prueba, la toxina radiactiva unida se elimina de la fase líquida a través de la cosedimentación con los componentes insolubles del posible aglutinante. Se utilizó el siguiente procedimiento: 1. Los productos de prueba se pesaron en los viales, 2. La micotoxina intacta y marcada con ³H se mezcló con los tampones para obtener la concentración final de toxina de 10 µg/l, 3. Se añadió 1 ml de la solución de tampón-micotoxina a los viales, 4. Los viales se sellaron y se mantuvieron durante 2 horas a 37 °C en agitación lenta constante, 5. Los viales se centrifugaron durante 10 minutos a 3.000 x g 6. Se mezclaron 50 µl del sobrenadante con 150 µl de cóctel de centelleo líquido (Optiphase) en pocillos de una placa de microtitulación de 96 pocillos y 7. La radiactividad de las muestras se midió con un contador de centelleo líquido durante cinco minutos.

45 Resultados

50 El DTO saponificado fue capaz de unirse a OTA del medio acuoso de forma estadísticamente significativa, y la unión dependía de la concentración del producto de prueba. El DTO saponificado adsorbió el 25-60 % de la OTA libre del medio.

55 El DTO saponificado disminuyó significativamente la cantidad de ZEA libre incluso a las dosis más bajas. El DTO saponificado eliminó aproximadamente el 30-60 % de la toxina libre.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización no terapéutica de un complemento alimenticio que comprende una composición basada en ácido resínico que comprende más del 10 % (p/p) de ácidos resínicos en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo de animales para mejorar la proporción de conversión alimenticia.
- 10 2. Utilización, según la reivindicación 1, **caracterizada por que** la composición basada en ácido resínico comprende, como mínimo, uno de los siguientes ácidos resínicos, ácido abiético, ácido deshidroabiético, ácido palústrico, ácido neoabiético, ácido pimárico y ácido isopimárico y/o derivados de los mismos.
- 15 3. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 2, **caracterizada por que** la composición basada en ácido resínico es colofonia de aceite de resina (TOR) y/o comprende más del 60 % (p/p) de ácidos resínicos.
- 20 4. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 2, **caracterizada por que** la composición basada en ácido resínico es colofonia de madera.
- 25 5. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 2, **caracterizada por que** la composición basada en ácido resínico es colofonia de goma y/o comprende más del 10 y hasta el 99 % (p/p) de ácidos resínicos.
- 30 6. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 2, **caracterizada por que** la composición basada en ácido resínico es aceite de resina destilado (DTO) y/o comprende más del 10 y hasta el 60 % (p/p) de ácidos resínicos.
- 35 7. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 6, **caracterizada por que** los ácidos resínicos están modificados química o biológicamente.
8. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 7, **caracterizada por que** la composición basada en ácido resínico comprende el 1 - 90 % (p/p) de ácidos grasos y/o sus derivados.
9. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8, **caracterizada por que** la composición basada en ácido resínico está modificada por saponificación.
10. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 9, **caracterizada por que** la composición basada en ácido resínico se ha secado.
11. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 10, **caracterizada por que** el complemento alimenticio se añade en el pienso en una concentración de 0,0001 - 10 kg/tonelada del peso seco de la cantidad total del pienso.

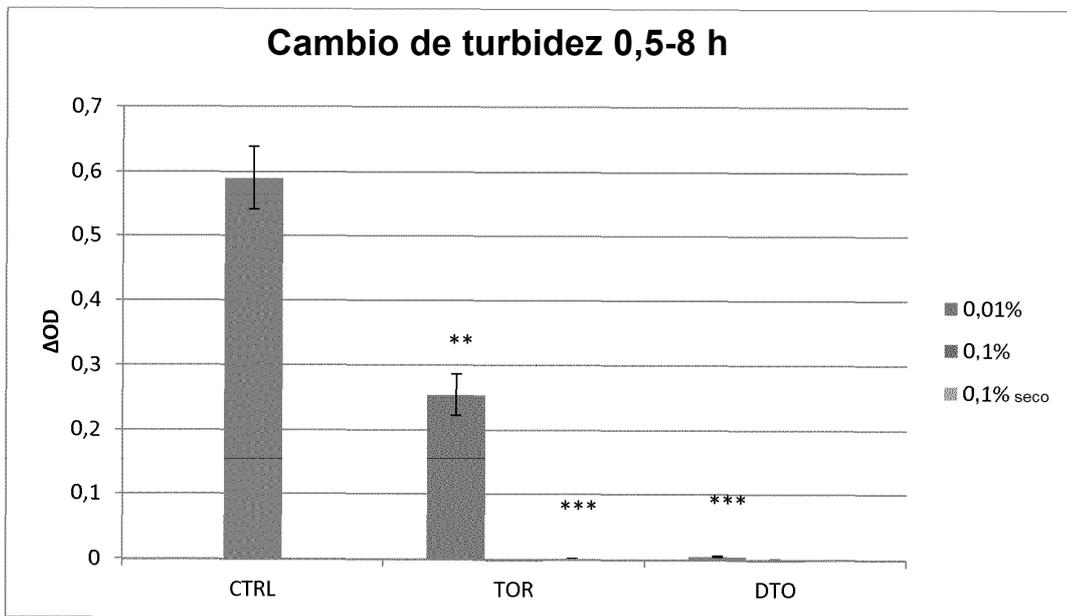


FIG 1

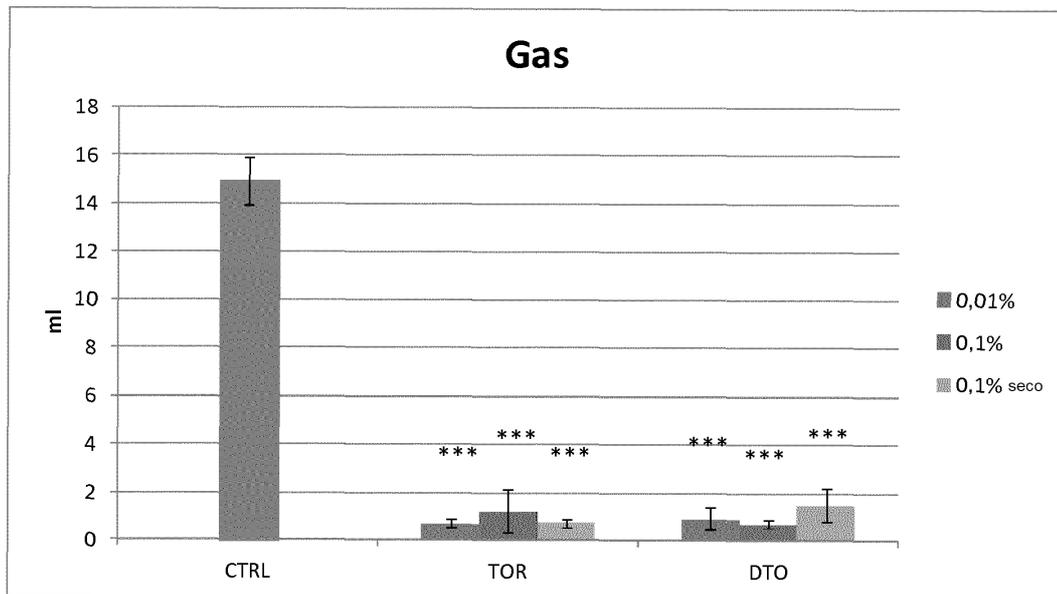


FIG 2

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

5 *Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.*

Documentos de patentes citados en la descripción

- GB 955316 A
- WO 0202106 A1
- FI 20110371 A
- EP 0078152 A1

10

Literatura no patente citada en la descripción

- Antimicrobial activity of resin acid derivatives.
SONIA SAVLUCHINSKE-FEIO et al. APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. SPRINGER, 05 August 2006, vol. 72