

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 821 791**

51 Int. Cl.:

**A23D 9/00** (2006.01)  
**A61K 36/13** (2006.01)  
**C11C 1/04** (2006.01)  
**A23K 10/32** (2006.01)  
**A61K 31/19** (2006.01)  
**A61K 31/20** (2006.01)  
**A23L 33/115** (2006.01)  
**A23K 20/158** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.05.2014 PCT/FI2014/050347**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.11.2014 WO14184431**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.05.2014 E 14797745 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2020 EP 2996484**

54 Título: **Utilización de ácido graso de aceite de resina**

30 Prioridad:

**14.05.2013 FI 20135506**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**27.04.2021**

73 Titular/es:

**HANKKIJA OY (100.0%)  
Peltokuumolantie 4  
05800 Hyvinkää, FI**

72 Inventor/es:

**VUORENMAA, JUHANI y  
KETTUNEN, HANNELE**

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 2 821 791 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

Utilización de ácido graso de aceite de resina

### 5 SECTOR DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la utilización de un ácido graso de aceite de resina ("tall oil").

### ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

10 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. 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.

20 La destilación fraccionada de aceite de resina crudo, obtenido como un subproducto del proceso Kraft de fabricación de pasta celulósica, produce aceite de resina destilado (DTO, de "distilled tall oil") que normalmente comprende más del 10 % de ácidos resínicos y menos del 90 % de ácidos grasos. El refinamiento adicional del aceite de resina destilado produce ácido graso de aceite de resina (TOFA, de "tall oil fatty acid"), que está disponible 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.

30 La Patente US 3 458 625 da a conocer un complemento proteico para mejorar el crecimiento y la producción de leche y la eficiencia de utilización del pienso de los rumiantes.

### PROPÓSITO DE LA INVENCION

35 El propósito de la presente invención es dar a conocer un nuevo tipo de ácido graso de aceite de resina/complemento alimenticio para la utilización en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal.

40 Los inventores de la presente invención han descubierto sorprendentemente que el TOFA modula la población microbiana del tracto digestivo del animal.

### CARACTERÍSTICAS

45 La utilización de un ácido graso de aceite de resina, según la presente invención, se caracteriza por lo que se presenta en la reivindicación 1.

### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Figura 1. Efecto de TOFA sobre la producción de SCFA totales en la simulación ileal.

50 Figura 2. Efecto de TOFA sobre la producción de ácido acético en la simulación ileal.

Figura 3. Efecto de TOFA sobre la producción de ácido propiónico en la simulación ileal.

55 Figura 4. Efecto de TOFA sobre la producción de ácido láctico en la simulación ileal.

La presente invención se basa en la constatación de que el ácido graso de aceite de resina se puede utilizar en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal.

60 La modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal se lleva a cabo desde la ruta metabólica homofermentativa hacia la heterofermentativa y, en una realización de la presente invención, mejora la utilización del pienso (valor nutricional mejorado). En otra realización de la presente invención, la modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal mejora la tasa de conversión alimenticia.

65 Debe entenderse que la expresión "ácido graso de aceite de resina" o "TOFA" se refiere a una composición obtenida por destilación de aceite de resina crudo y refinamiento adicional de aceite de resina destilado. El TOFA normalmente comprende el 90-98 % (p/p) de ácidos grasos. Además, el TOFA puede comprender el 1-10 % (p/p) de

ácidos resínicos.

El ácido graso de aceite de resina comprende el 1-10 % (p/p) de ácidos resínicos.

5 En una realización de la presente invención, el TOFA comprende el 2-9 % (p/p) de ácidos resínicos.

En una realización de la presente invención, el TOFA comprende el 5-9 % (p/p) de ácidos resínicos.

10 En este contexto, debe entenderse que la expresión “ácidos resínicos” se refiere a una mezcla compleja de diversos compuestos ácidos compuestos por aceite de resina que comparten el mismo esqueleto básico que incluye un anillo triple condensado. La composición exacta de los ácidos resínicos presentes en el TOFA varía, por ejemplo, según las especies de los árboles de los que se obtiene el TOFA y las condiciones de procesamiento en las que 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 sólo algunos.

15 En una realización de la presente invención, el TOFA comprende el 90-98 % (p/p) de ácidos grasos.

20 El ácido graso de aceite de resina (TOFA) se produce por refinamiento a partir de aceite de resina destilado. El aceite de resina destilado (DTO) se produce por destilación fraccionada del aceite de resina crudo, obtenido como un subproducto del proceso Kraft de fabricación de pasta celulósica.

En una realización de la presente invención, el TOFA se seca. El TOFA puede secarse mediante secado por pulverización, secado en tambor o mediante cualquier otro procedimiento de secado adecuado conocido.

25 La presente divulgación también se refiere a la utilización de un complemento alimenticio que comprende el ácido graso de aceite de resina en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal.

30 El complemento alimenticio de la presente divulgación es eficaz en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal.

En una realización de la presente divulgación, el complemento alimenticio comprende un ácido graso de aceite de resina que comprende el 1-10 % (p/p) de ácidos resínicos.

35 En una realización de la presente divulgación, el complemento alimenticio comprende un ácido graso de aceite de resina que comprende el 2-9 % (p/p) de ácidos resínicos.

En una realización de la presente divulgación, el complemento alimenticio comprende un ácido graso de aceite de resina que comprende el 5-9 % (p/p) de ácidos resínicos.

40 En este contexto, debe entenderse que la expresión “complemento alimenticio” se refiere a una composición que puede añadirse a un pienso o utilizarse tal cual en la alimentación de animales. El complemento alimenticio puede comprender diferentes principios activos. El complemento alimenticio se puede añadir al pienso en una concentración de 0,0001 - 5 kg/tonelada de peso seco, preferentemente 0,005 - 1 kg/tonelada del peso seco de la cantidad total del pienso. El TOFA o el complemento alimenticio que comprende el TOFA, según la presente  
45 invención, puede añadirse al pienso o al complemento alimenticio tal cual, o en general puede procesarse adicionalmente según se desee.

50 Además, el TOFA o el complemento alimenticio que comprende el TOFA, según la presente invención, puede añadirse al pienso o al complemento alimenticio, o se puede administrar a un animal por separado (es decir, no como parte de ninguna composición alimenticia).

55 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.

En una realización de la presente divulgación, el complemento alimenticio comprende TOFA que se absorbe en un material portador adecuado para la composición alimenticia tal como pulpa de remolacha azucarera.

60 En una realización de la presente divulgación, el complemento alimenticio comprende TOFA que se seca.

La presente divulgación también se refiere a la utilización de una composición alimenticia que comprende el complemento alimenticio que comprende el ácido graso de aceite de resina en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal.

65 En una realización de la presente divulgación, la composición alimenticia comprende el complemento alimenticio en una cantidad del 0,00001 - 0,5 % (p/p), del peso seco de la cantidad total del pienso.

En una realización de la presente divulgación, la composición alimenticia comprende el complemento alimenticio en una cantidad del 0,0005 - 0,1 % (p/p) del peso seco de la cantidad total del pienso.

5 En una realización de la presente divulgación, el procedimiento de producción de un ácido graso de aceite de resina o complemento alimenticio comprende, además, una etapa de secado. El secado puede llevarse a cabo mediante secado por pulverización, secado en tambor o mediante cualquier otro procedimiento de secado conocido.

10 Un procedimiento de modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal comprende la etapa de administrar a un animal el ácido graso de aceite de resina, según la presente invención.

15 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, incluyendo 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.

20 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.

25 En una realización de la presente invención, el TOFA se administra a un animal en una cantidad eficaz.

30 La presente invención tiene una serie de ventajas. El TOFA es un material fácilmente disponible, natural, de bajo coste y respetuoso con el medio ambiente. Además, no es tóxico y se tolera bien. La presente invención es eficaz para modular la composición de la microbiota en el tracto digestivo del animal en una dirección que es beneficiosa para el rendimiento animal. Posteriormente, otros beneficios de la presente invención son, por ejemplo, mejora de la productividad animal, mejora del índice de conversión alimenticia, mayor calidad del producto, uniformidad, valor nutricional y seguridad del pienso y del producto y menores costes por unidad de producción. La presente invención también permite la producción de composiciones y complementos alimenticios a bajo coste.

35 Las realizaciones de la presente invención descritas anteriormente en el presente documento pueden utilizarse en cualquier combinación entre sí. Varias de las realizaciones pueden combinarse entre sí para formar una realización adicional de la presente invención. Un producto, un procedimiento o una utilización, a la que se refiere la presente invención, puede comprender, como mínimo, una de las realizaciones de la presente invención descritas anteriormente en el presente documento.

40

## EJEMPLOS

En lo sucesivo, la presente invención se describirá con más detalle.

45 Ejemplo 1

Este experimento se realizó para estudiar el efecto de TOFA con el 5 % de ácidos resínicos con o sin portador de pulpa de remolacha azucarera (SBP, de "sugar beet pulp") sobre la población microbiana y la fermentación del íleon de pollos de engorde *in vitro*.

50

Experimento

El contenido ileal de pollos de engorde de 40 días de edad se utilizó como medio de simulación y como inoculantes en los modelos de simulación. Los tratamientos de prueba se prepararon a partir de un lote de TOFA.

55

Se produjeron preparaciones de TOFA con el 5 % de ácidos resínicos:

1. TOFA con un 20 % de contenido de materia seca

60 Una alícuota de TOFA se calentó a 90 °C, se mezcló con polvo de SBP finamente molido y se secó para contener 375 g de TOFA seco/kg.

2. TOFA digerido

65 *Digestión gastrointestinal del TOFA*: parte del TOFA líquido y el TOFA 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 ingresar al intestino distal con mayor actividad microbiana.

5 La simulación se realizó en un total de 160 viales de microcentrifuga de plástico de 2 ml, en un volumen de 1,5 ml, con un tiempo de simulación de 10 horas. Las muestras se pusieron a prueba a cuatro concentraciones de la materia seca de TOFA: 0 %, 0,005 %, 0,01 %, 0,01 % y 1 %.

10 Todas las muestras de simulación se analizaron en busca de ácidos grasos de cadena corta y el número total de microbios. Además, las muestras seleccionadas se analizaron en busca de una serie de especies o grupos microbianos mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR). Se analizaron muestras de simulación ileal en busca de lactobacilos, enterococos y estreptococos.

#### Resultados

15 Los resultados muestran que, en el modelo de simulación ileal, el TOFA a un nivel de 1 kg/tonelada aumentó las concentraciones de los ácidos acético y propiónico y redujo la concentración de ácido láctico. Esto sugiere una modulación del metabolismo microbiano desde la ruta metabólica homofermentativa hacia la heterofermentativa, lo que puede verse como un cambio muy positivo que mejora la tasa de conversión alimenticia. La modificación de TOFA a 0,1 kg/tonelada afectó negativamente a los números poblacionales de lactobacilos, enterococos y estreptococos, todos los cuales son productores de lactato. El número total de bacterias en el íleon no se vio afectado por el TOFA, lo que puede indicar que otras poblaciones bacterianas aumentaron como respuesta a la modificación del TOFA. La predigestión del TOFA afectó a muchos de los parámetros estudiados, mientras que el portador de pulpa de remolacha azucarera tuvo poco efecto sobre la fermentación.

#### 25 Ejemplo 2

Este experimento se realizó para estudiar el efecto de TOFA con el 5 % de ácidos resínicos sobre el valor nutricional del pienso y la tasa de conversión alimenticia.

#### 30 Experimento

240 pollos de engorde Ross 508 macho recién nacidos se asignaron a 40 corrales abiertos, seis aves por corral y ocho corrales repetidos por tratamiento con pienso.

35 Se absorbió TOFA con un contenido de ácido resínico del 5 % en el portador de pulpa de remolacha azucarera (SBP) molida y se añadió a los piensos. El pienso era una fórmula de inicio a base de trigo y soja. Los tratamientos dietéticos:

- 40 1. Control, sin TOFA
2. Control + TOFA al 0,1 % (1 kg/tonelada)
3. Control + TOFA al 0,05 % (500 g/tonelada)
- 45 4. Control + TOFA al 0,01 % (100 g/tonelada)

Los pollos se pesaron los días 1, 11, 14 y 17. Se midió el consumo de pienso y se calculó la tasa de conversión alimenticia (FCR) para los mismos períodos. Se registró la mortalidad diaria.

50 Después del día 17, se analizaron 105 muestras de digesta ileal y 105 de cecal en busca de ácidos grasos de cadena corta (SCFA, de "short chain fatty acids") con cromatografía de gases y una serie de especies o grupos microbianos mediante qPCR.

#### Resultados

55 Los resultados muestran que el TOFA dietético con el 5 % de ácidos resínicos, administrado a un nivel de 0,1-1 kg/tonelada, aumentó de manera dependiente de la dosis el peso corporal de los pollos de engorde en los días 8, 11 y 14. El TOFA a 0,1-1 kg/tonelada moduló de manera favorable y dependiente de la dosis la fermentación microbiana en el intestino delgado desde la dirección homofermentativa hasta la heterofermentativa. Los números ileales y cecales de *Cl. perfringens* no se vieron significativamente afectados por la modificación de TOFA dietético. El TOFA a 0,5 kg/tonelada redujo la frecuencia de muestras con más de  $1 \times 10^9$  células de enterococos o estreptococos, o más de  $1 \times 10^{12}$  células de lactobacilos. El TOFA a 1 kg/tonelada redujo la frecuencia de muestras con recuentos altos de estreptococos o lactobacilos.

65 Los resultados muestran que el TOFA modula la población microbiana del tracto digestivo de pollos de engorde u otras especies de aves de corral si se administra en el pienso y mejora la tasa de conversión alimenticia.

Ejemplo 3

5 Este experimento se realizó para estudiar el efecto de TOFA con el 9 % de ácidos resínicos sobre la población microbiana y la fermentación del intestino delgado porcino *in vitro*.

Experimento

10 Los tratamientos de prueba se prepararon a partir de aceite de TOFA con un contenido de ácido resínico del 9 %. Para imitar las condiciones que prevalecen en el estómago y el duodeno de lechones vivos, el producto sometido a prueba se trató inicialmente con pepsina-HCl (pH 3-4) durante 1 hora y con ácido biliar + pancreatina + NaOH (pH 6,8-7,2) durante 3 horas a 37 °C antes de introducirlos en los recipientes de simulación. Las muestras se sometieron a prueba a dos concentraciones de materia seca de TOFA: 0, 1,5 y 3,0 kg/tonelada, es decir, 0 %, 0,15 % y 0,3 %.

15 Para el medio de crecimiento anaerobio auténtico de la simulación del intestino delgado, se recuperó y combinó la digesta ileal distal de 5 lechones (25-30 kg). Posteriormente, la digesta se centrifugó para eliminar las partículas sólidas y se combinó con una solución tampón (pH 6,5). El medio de crecimiento final preparado se mantuvo anaerobio y se trató con TOFA a dos dosis.

20 Se introdujo inóculo de digesta ileal recién combinada de dos lechones en recipientes de simulación en una cabina con guantes anaerobia. Después de la inoculación, los recipientes se sellaron con tapones gruesos de caucho butílico, se transfirieron a 37 °C y se mezclaron de manera continua en un agitador giratorio a 100 r.p.m. Las simulaciones tenían 5 recipientes por replicado para cada concentración de TOFA y la inoculación se realizó en un orden aleatorio para evitar posibles cambios sistemáticos. Se continuó la incubación durante 10 horas antes de  
25 tomar muestras de los recipientes para análisis metabólicos microbianos.

La simulación se realizó en un total de 25 viales de vidrio de 20 ml, en un volumen de 10 ml, con un tiempo de simulación de 10 horas.

30 Todas las muestras de simulación se analizaron en busca de ácidos grasos de cadena corta totales, así como los ácidos acético, propiónico y láctico.

Resultados

35 Los resultados se ilustran en las figuras 1 - 4.

En el modelo de simulación ileal, se observó inhibición de la formación de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) totales con tratamientos con TOFA (figura 1). La magnitud de la inhibición fue del -11 al -14 % del control.

40 El TOFA aumentó las concentraciones de los ácidos acético (+23 a +31 %) y propiónico (+94 % a +113 %) y redujo la concentración de ácido láctico (-64 % a -82 %) de una manera dependiente de la dosis respecto al tratamiento de control (figuras 2 a 4). Esto sugiere una modulación del metabolismo microbiano desde la ruta metabólica homofermentativa hacia la heterofermentativa, lo que puede verse como un cambio muy positivo.

45 Es obvio para un experto en la materia que, con el avance de la tecnología, la idea básica de la presente invención se puede implementar de diversas maneras. La presente invención y sus realizaciones, por lo tanto, no se limitan a los ejemplos descritos anteriormente; en cambio, pueden variar dentro del alcance de las reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Utilización no terapéutica de un ácido graso de aceite de resina que comprende el 1-10 % (p/p) de ácidos resínicos en la modulación de la población microbiana del tracto digestivo del animal, en la que el ácido graso de aceite de resina que comprende el 1-10 % (p/p) de ácidos resínicos se añade al pienso en una concentración de 0,005 - 1 kg/tonelada del peso seco de la cantidad total del pienso para mejorar la utilización del pienso y/o para mejorar la tasa de conversión alimenticia.
- 10 2. Utilización, según la reivindicación 1, **caracterizada por que** el ácido graso de aceite de resina comprende el 2-9 % (p/p) de ácidos resínicos.
3. Utilización, según la reivindicación 1, **caracterizada por que** el ácido graso de aceite de resina comprende el 5-9 % (p/p) de ácidos resínicos.
- 15 4. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 - 3, **caracterizada por que** el ácido graso de aceite de resina comprende el 90-98 % (p/p) de ácidos grasos.
- 20 5. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 - 4, **caracterizada por que** el ácido graso de aceite de resina se seca.

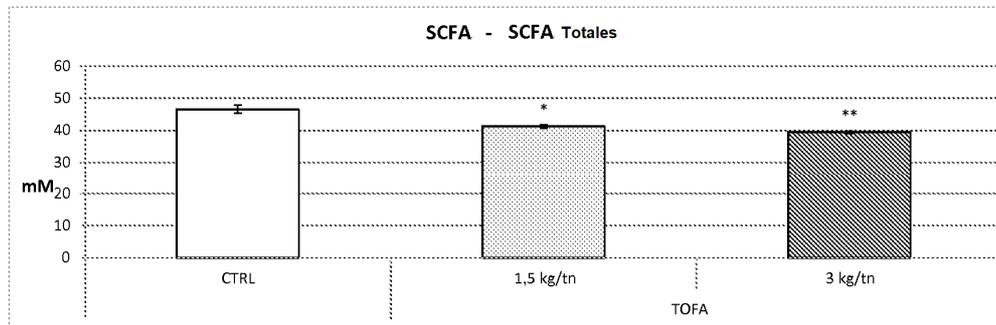


FIG 1

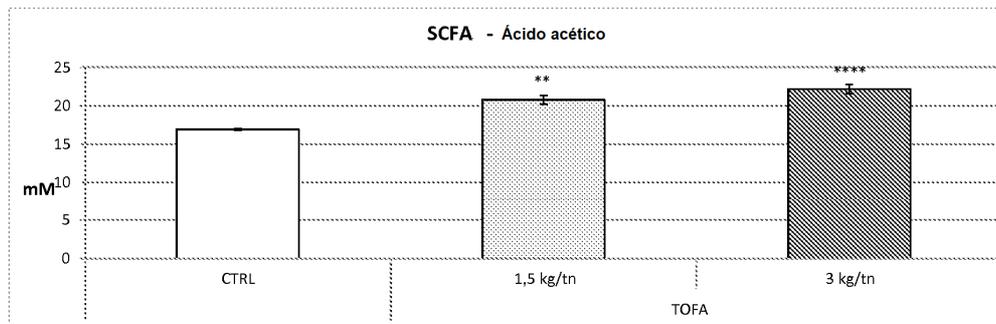


FIG 2

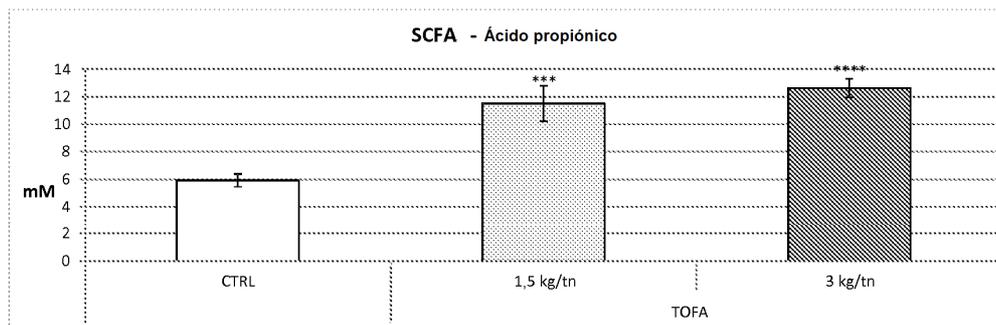


FIG 3

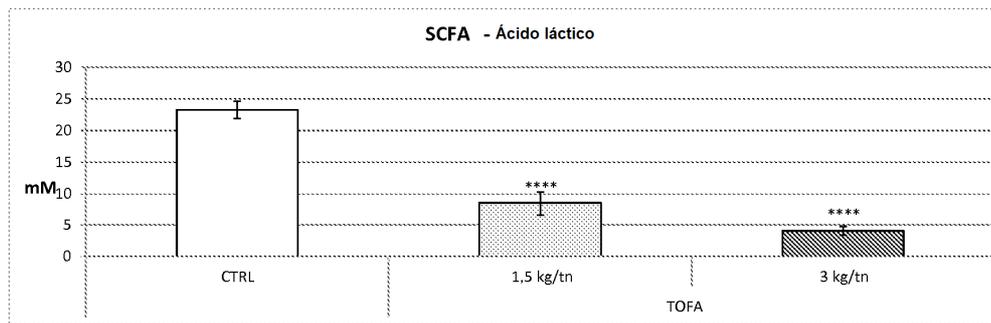


FIG 4

**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

• US 3458625 A

10