



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 323 036**

② Número de solicitud: 200702567

⑤ Int. Cl.:

A61K 31/205 (2006.01)

A61K 31/20 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

② Fecha de presentación: **02.10.2007**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **03.07.2009**

Fecha de la concesión: **08.04.2010**

⑤ Fecha de anuncio de la concesión: **22.04.2010**

⑥ Fecha de publicación del folleto de la patente:
22.04.2010

⑦ Titular/es:

**Consejo Superior de Investigaciones Científicas
c/ Serrano, nº 117
28006 Madrid, ES**

⑧ Inventor/es: **Fernández-Figares Ibáñez, Ignacio;**

Lachica López, Manuel;

Nieto Liñán, Rosa María y

Aguilera Sánchez, José Fernando

⑨ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

④ Título: **Aditivo alimentario para mejorar la composición corporal de los animales disminuyendo su contenido graso y aumentando el contenido proteico.**

⑦ Resumen:

Aditivo alimentario para mejorar la composición corporal de los animales disminuyendo su contenido graso y aumentando el contenido proteico.

La presente invención se refiere a un aditivo alimentario que contiene una mezcla de betaína y ácido linoleico conjugado (CLA) en el que la concentración de betaína y CLA se encuentran respectivamente en el rango de 0.025 a 0.5 y de 0.25 a 5.5% (porcentajes expresados en peso) siendo la concentración de betaína preferentemente del 0.5% y la del ácido linoleico conjugado de 1.0%.

ES 2 323 036 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Aditivo alimentario para mejorar la composición corporal de los animales disminuyendo su contenido graso y aumentando el contenido proteico.

Sector de la técnica

La presente invención está relacionada con la industria agroalimentaria. Concretamente con la alimentación animal y en particular con los animales monogástricos, en la elaboración de piensos que mejoren la composición corporal de dichos animales aumentando la relación proteína/grasa.

Estado de la técnica

A lo largo de las últimas décadas se han utilizado múltiples compuestos como aditivos en la alimentación de distintas especies animales para intentar conseguir mejorar su crecimiento y composición.

Además, con vistas a la aplicación en alimentación humana se han ensayado distintos compuestos modificadores de la composición animal en cerdos ya que este animal se utiliza como un buen modelo de laboratorio para el estudio de biomedicina y salud en humanos (técnicas quirúrgicas, trasplantes de órganos, inmunología, toxicología, metabolismo, etc.), en especial en estudios nutricionales por su similar anatomía gastrointestinal y fisiología, por lo que los resultados obtenidos en los ensayos con estos animales pueden extrapolarse al ser humano.

Según el Reglamento (CE) n° 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2003 sobre aditivos en alimentación animal, éstos son sustancias, microorganismos y preparados distintos de las materias primas utilizadas para los piensos y premezclas, que se añaden intencionadamente a los piensos o al agua a fin de realizar, en particular, una o varias de las funciones siguientes: satisfacer las necesidades alimenticias de los animales, influir positivamente en las características del pienso o de los productos animales, en las repercusiones medioambientales de la producción animal, en la producción, la actividad o el bienestar de los animales, tener un efecto coccidiostático (sustancia usada para el tratamiento de la coccidiosis, enfermedad protozoaria que afecta a los animales de granja) o histomonostático (sustancia que inhibe el crecimiento de histomonas, protozoos causantes de enterohepatitis en pavos), es decir, eliminando o reduciendo los protozoos que producen patologías que interfieren con la producción.

Entre los aditivos nutricionales utilizados tradicionalmente en nutrición animal cabe destacar:

Los agentes *antimicrobianos* como por ejemplo los antibióticos, son sustancias que suprimen o inhiben el crecimiento de microorganismos. Se añaden al alimento en dosis sub-terapéuticas para promover el crecimiento, la mejora de la eficiencia bruta del alimento, la reducción de la mortalidad y morbilidad y la mejora de la capacidad reproductora. A niveles moderados o altos se usan como profilácticos de enfermedades y a niveles altos, como tratamiento de ciertas enfermedades. Su uso como promotores del crecimiento se ha prohibido en la Unión Europea.

Los *antihelmínticos*, estas sustancias se incluyen en el alimento para controlar los parásitos internos.

Los *probióticos* son microorganismos viables naturales (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* o *Saccharomyces cerevisiae*, entre otros) que mejoran el equilibrio de las poblaciones microbianas intestinales.

Ciertos *oligosacáridos* (fructooligosacáridos, manooligosacáridos) adicionados a la dieta alteran la capacidad de ciertos patógenos de colonizar el tracto intestinal.

Enzimas: β -glucanasas, pentosanasas, fitasas y proteasas, entre otras, se añaden en ocasiones al alimento para mejorar la digestibilidad de los hidratos de carbono complejos, fósforo y proteína.

Se ha demostrado que los *acidificantes* como el ácido cítrico, ácido fórmico, ácido fosfórico y el ácido clorhídrico son beneficiosos en lechones o cerdos jóvenes.

Aromatizantes y potenciadores del sabor se incorporan para mejorar la palatabilidad o enmascarar el sabor de ciertos compuestos del pienso. Se ha demostrado que si el animal tiene la oportunidad, prefiere una dieta con aromatizantes frente a una sin ellos.

Se pueden añadir compuestos *desodorizantes* que disminuyen el olor de la excreta de los animales, como los prebióticos y zeolitas.

Antioxidantes: adicionados para disminuir la oxidación de la grasa y vitaminas liposolubles de los piensos, como el butilhidroxitoluol o BHT.

Suplementos minerales: el cobre (100-250 ppm), en cerdos destetados y en fase de crecimiento temprana, estimula la ingesta, el crecimiento y la eficiencia del uso del alimento. El zinc (3000 ppm) se añade a las dietas de cerdos jóvenes para estimular la ingesta y la tasa de crecimiento.

Modificadores de la canal: sustancias que modifican la partición de nutrientes de forma que aumentan el porcentaje de magro en la canal a expensas, generalmente, de la grasa. Entre ellos están los β -agonistas adrenérgicos (no autorizados en la UE), la carnitina o el picolinato de cromo.

5 La betaína y el ácido linoleico conjugado (CLA) se encuentran entre éstos últimos (modificadores de la canal). La betaína (trimetilglicina) es un compuesto aminoacídico formado por un amonio cuaternario con tres grupos metilo unidos al átomo de nitrógeno. Este compuesto se encuentra en la mayoría de las plantas y animales. Se forma por oxidación de la colina e interviene, junto a los folatos, en las reacciones de metilación en el organismo. Industrialmente se obtiene de la remolacha, ya que su concentración en ésta es muy elevada. Se puede obtener por reacción del ácido monocloroacético con trimetilamina, aunque en el organismo se forma gracias a la oxidación de la colina por la enzima colina oxidasa.

15 El uso de este compuesto como aditivo en las dietas de animales de granja no es algo nuevo, así por ejemplo, en la industria aviar lleva usándose desde la década de los cincuenta como sustitutivo parcial de la metionina y la colina. Aunque su uso en otras especies como el ganado porcino es más reciente (Cadogan, DJ, RG Campbell, D Harrison, AC Edwards. 1993. The effects of betaine on the growth performance and carcass characteristics of female pigs. En: ES Batterham (ed.), Manipulating pig production. Australasian Pig Science Association, Attwood, Vic., Australia, pp. 219-225).

20 Se trata de un modificador metabólico capaz de alterar las proporciones relativas de proteína y grasa que deposita el animal, aumentando la proporción de músculo en detrimento de la de grasa. Son conocidas sus funciones como osmoprotector (sustancia capaz de preservar el equilibrio osmótico) así como donador de grupos metilo.

25 Como osmoprotector, la betaína se acumula en las células u orgánulos celulares sometidos a estrés osmótico o salino protegiendo las enzimas y las membranas celulares de la inactivación iónica. Parece existir un papel de la betaína en relación con el sistema inmune del animal. Así, la betaína interacciona con aquellos procesos que son regulados por la osmolaridad del medio, como son la fagocitosis y la producción de citoquinas y prostaglandinas por parte de los fagocitos hepáticos.

30 Además, la betaína es un donador de grupos metilo que regenera la metionina (un aminoácido esencial). Ésta, dona a su vez grupos metilo participando en la síntesis de numerosos compuestos implicados en procesos de vital importancia tales como la carnitina, en la oxidación de ácidos grasos; la creatina, en la contracción muscular; los ácidos nucleicos, en la formación del ADN; la acetil-colina, que actúa como neurotransmisor; los fosfolípidos, que forman parte de las membranas celulares, diversas hormonas y la regulación de la actividad del ADN y ARN.

35 La actividad de la enzima colina oxidasa (la encargada de producir la betaína endógena) es muy baja en los cerdos, por lo que la cantidad de betaína sintetizada a partir de la colina de la dieta puede ser insuficiente para cubrir las necesidades del animal. De aquí que la adición de betaína a las dietas de cerdos haya aumentado en la última década. Sin embargo, los resultados obtenidos en los distintos ensayos no son concluyentes, quizás porque las dosis del aditivo utilizadas y otras condiciones experimentales han sido muy variables.

40 Los primeros estudios en cerdos (Cadogan, D. J., R. G. Campbell, D. Harrison and A. C. Edwards. 1993. The effects of betaine on the growth performance and carcass characteristics of female pigs. In: E. S. Batterham (ed.) Manipulating Pig Production IV. pp 219. Australasian Pig Science Association, Attwood, Victoria, Australia) indicaban que la betaína disminuía el grosor de la capa de tocino dorsal, sin influenciar parámetros de crecimiento; aunque en estos estudios no pudo determinarse si la disminución de grosor del tocino estaba asociada a una reducción de la grasa en la canal o simplemente era debido a una redistribución de la grasa. En estudios posteriores, autores como Lawrence y col. (Lawrence By, AP Schinckel, O Adeola, K Cera. 2002. Impact of betaine on pig finishing performance and carcass composition. J Anim Sci. 80:475-482) no observaron diferencia en el grosor del tocino dorsal estimado mediante ultrasonidos (Real Time Ultrasonic) en las costillas décima y última. Matthews y col. (Matthews, JO, Southern LL, Bidner TD, Persica MA. 2001a. Effects of betaine, pen space, and slaughter handling method on growth performance, carcass traits, and pork quality of finishing barrows. J Anim Sci. 79(4): 967-974) no encontraron diferencias en contenido de tejido magro, estimado mediante medidas de conductividad eléctrica (TOBEC), al igual que Lawrence y col. (Lawrence By, AP Schinckel, O Adeola, K Cera. 2002. Impact of betaine on pig finishing performance and carcass composition. J Anim Sci. 80: 475-482), éstos últimos mediante ultrasonidos. Matthews y col. (Matthews, JO, LL Southern, AD Higbie, MA Persica, TD Bidner. 2001b. Effects of betaine on growth, carcass characteristics, pork quality, and plasma metabolites of finishing pigs. J. Anim. Sci. 79: 722-728) encontraron una mayor ganancia de tejido magro, estimada mediante conductividad eléctrica (TOBEC) y Fernández Figares y col. (Fernández Figares I, D Wray-Cahen, NC Steele, RG Campbell, DD Hall, E Virtanen, TJ Caperna. 2001. Effect of dietary betaine on energy utilization and partitioning in the young growing feed restricted pig. J. Anim. Sci. 80:421-428), mediante sacrificios comparados, observaron mayor contenido de proteína en la canal, tasa de deposición de proteína y eficiencia de ganancia de tejido magro en cerdos (36-64 Kg) con restricción de alimento.

65 Las medidas de grosor de tocino en distintas localizaciones de la canal no son en sí una medida de la grasa total de la canal sino de la distribución de la grasa existente en la canal. Las medidas de conductividad eléctrica (como el TOBEC) estiman la composición en proteína o grasa en función de la conductividad de la canal, pero tampoco

suponen una medida directa de grasa o proteína. Lo mismo puede decirse de la estimación mediante ultrasonidos del grosor del tocino dorsal por lo que la validez de estas estimaciones está abierta a discusión. La determinación química de la proteína o la grasa es y debe ser el parámetro que verdaderamente indica la composición real de la canal. Si se hace un ensayo de sacrificios comparados, se puede además saber la cantidad de proteína o grasa depositada durante el periodo experimental.

El ácido linoleico conjugado (CLA) es una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico (ácido 9cis, 12cis C18:2, 18 átomos de carbono, con doble enlace en las posiciones 9 y 12). El aceite de girasol, rico en ácido linoleico, se usa para preparar industrialmente CLA, calentándolo en condiciones alcalinas o por hidrogenación parcial del mismo. Existen relativamente pocas publicaciones en las que se emplee el CLA como aditivo en alimentación animal y además la mayoría de los trabajos desarrollados hasta el momento se han centrado en la composición de la grasa (es decir, en ver cómo el CLA altera el perfil o composición relativa en ácidos grasos individuales, no la cantidad de grasa total), en la posibilidad de enriquecer los tejidos en CLA o en estudios de metabolismo, entre otros.

En cuanto a la utilización del CLA para intentar disminuir el contenido graso los efectos obtenidos en los distintos estudios, al igual que lo que ocurre con la betaína, son variables dependiendo entre otras cosas de la edad del animal. Por ejemplo, se ha observado que es menor la efectividad del CLA en animales jóvenes en relación a parámetros de crecimiento (Ostrowska, E, M Muralitharan, RF Cross, DE Baumann, FR Dunshea. 1999. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. J. Nutr. 129:2037-2042). El efecto del CLA sobre el contenido magro, estimado por el área del *Longissimus dorsi*, es más heterogéneo que el efecto sobre el contenido graso y la magnitud del efecto es menor.

Estos trabajos (mayoritariamente en animales de laboratorio) han demostrado que el CLA (o alguno de sus isómeros) modifica la regulación metabólica de los animales (Belury MA. 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. Annu. Rev. Nutr. 22: 505-531), lo que afecta a un gran número de funciones, tales como la respuesta inmune (Cook ME, CC Miller, Y Park, M Pariza. 1993. Immune modulation by altered nutrient metabolism - nutritional control of immune-induced growth depression. Poultry Sci. 72 (7): 1301-1305), la osificación (Li Y, BA Watkins. 1998. Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E2 biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids. Lipids 33(4): 417-425) o el reparto de nutrientes (López-Bote, CJ, AI Rey, L Ortiz, D Menoyo. 2002. Cambios en el perfil de ácidos grasos en productos animales en relación con la alimentación animal y humana. Importancia del ácido linoleico conjugado. 2. Monogástricos. XX Curso de Especialización FEDNA: *Avances en Nutrición Y Alimentación Animal*. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Eds.: P.G. Rebollar, C. de Blas y G.G. Mateos. Fira de Barcelona, España) produciendo, entre otros efectos, una disminución de la cantidad de grasa en pollos (Cook ME, CC Miller, Y Park, M Pariza. 1993. Immune modulation by altered nutrient metabolism - nutritional control of immune-induced growth depression. Poultry Sci. 72 (7): 1301-1305), ratones (Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. 1997. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. Lipids 32: 853-858), ratas (Sisk MB, Hausman DB, Martin RJ, Azain MJ. 2001. Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese Zucker rats. J Nutr. 131:1668-1674) y en humanos (Smedman A, Vessby B. 2001. Conjugated linoleic acid supplementation in humans-metabolic effects. Lipids 36: 773-781). En cuanto a los estudios realizados con cerdos, al igual que ocurre con la betaína, los resultados obtenidos en los distintos trabajos de investigación no son concluyentes. Algunos de los estudios de crecimiento en cerdos alimentados con CLA han mostrado una disminución en la grasa determinada mediante análisis químicos (12W, Ostrowska, E, M Muralitharan, RF Cross, DE Baumann, FR Dunshea. 1999. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. J. Nutr. 129: 2037-2042; 11%, Ostrowska, E, D Suster, M Muralitharan, RF Cross, BJ Leury, DE Bauman FR Dunshea. 2003. Conjugated linoleic acid decreases fat accretion in pigs: evaluation by dual-energy X-ray absorptiometry. Brit. J. Nutr. 89: 219-229), y estimada mediante el grosor del tocino dorsal (11W, Tischendorf, F, F Schöne, U Kirchheim, G Jahreis. 2002. Influence of a conjugated linoleic acid mixture on growth, organ weights, carcass traits and meat quality in growing pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 86:117-128) o estimada usando DEXA (efecto lineal, Ostrowska, E, D Suster, M Muralitharan, RF Cross, BJ Leury, DE Bauman FR Dunshea. 2003. Conjugated linoleic acid decreases fat accretion in pigs: evaluation by dual-energy X-ray absorptiometry. Brit. J. Nutr. 89:219-229) y un aumento del nivel de contenido magro determinado químicamente (5.7%, Ostrowska, E, M Muralitharan, RF Cross, DE Baumann, FR Dunshea. 1999. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. J. Nutr. 129:2037-2042) o de la proteína de la canal estimada por disección de cortes comerciales (2,3%, Dugan, MER, JL Aalhus, AL Schaefer, JKG Kramer. 1997. The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. Can. J. Anim. Sci. 77:723-725). Sin embargo, Thiel-Cooper y col. (Thiel-Cooper, RL, JRFC Parrish, JC Sparks, BR Wiegand, RC Ewan. 2001. Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. J. Anim. Sci. 79:1821-1828) sólo encontraron una disminución significativa en el grosor del tocino medido en la décima costilla en cerdos alimentados con 0,12 y 0,25% de CLA, pero a dosis superiores (0,5 y 1,0%) y en otras localizaciones (primera y última costilla, última vértebra lumbar) y el grosor del tocino no cambió. Ostrowska y col. (Ostrowska, E, D Suster, M Muralitharan, RF Cross, BJ Leury, DE Bauman FR Dunshea. 2003. Conjugated linoleic acid decreases fat accretion in pigs: evaluation by dual-energy X-ray absorptiometry. Brit. J. Nutr. 89:219-229) no encontraron un efecto del CLA sobre la cantidad de grasa o tejido magro de la canal estimadas usando DEXA; igualmente, tampoco encontraron diferencias significativas en cuanto al contenido en proteína de la canal en cerdos alimentados con CLA estimado mediante DEXA o medido químicamente. Algunos autores no observaron cambios ni en la cantidad de grasa ni de proteína de la canal (O'Quinn, PR, JL Nelsens, RD. Goodband, JA Unruh, JC. Woodworth, JS Smith, MD Tokach. 2000. Effects of modified tall oil versus a commercial source of conjugated linoleic acid and increasing levels of modi-

fied tall oil on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs. J. Anim. Sci. 789:2359-2368. Demaree, SR, CD Gilbert, HJ Mersmann, SB Smith. 2002. Conjugated linoleic acid differentially modifies fatty acid composition in subcellular fractions of muscle and adipose tissue but not adiposity of postweaning pigs. J. Nutr. 132: 3272-3279).

5 Como se observa, no hay consenso entre los resultados de los distintos ensayos realizados tanto con betaína como con el ácido linoleico conjugado (CLA) en cerdos. Además, no existe hasta la fecha ningún trabajo que haya estudiado de forma conjunta el posible efecto sinérgico de la mezcla de betaína y CLA en ningún animal, cuantificando bien la modificación en la composición química o bien la ganancia o pérdida de grasa y proteína de los animales.

10 Los mecanismos de acción de ambos compuestos pueden ser distintos entre otras razones por ser moléculas muy diferentes: la betaína es un aminoácido y el CLA es una mezcla de isómeros de un ácido graso. Incluso aunque ejercieran su acción sobre las mismas rutas metabólicas, éstas son tan complejas y poseen tantas etapas que *a priori* sería difícil prever que la adición de ambas moléculas diera lugar a una potenciación del efecto que cada una de ellas ejerce de forma individual sobre estos mismos procesos.

Descripción breve

20 El objeto de la presente invención consiste en un aditivo alimentario compuesto por una mezcla de betaína y ácido linoleico conjugado (CLA) y su uso para mejorar la composición corporal de los animales, incluyendo en este grupo al ser humano, al aumentar el contenido en proteína y agua y disminuir el contenido graso entre otras modificaciones, como son un aumento de las deposiciones diarias de agua, proteína y de la energía depositada por unidad de energía metabolizable ingerida en la dieta.

25 En una realización particular de la invención, este aditivo actúa como modificador de la composición de animales monogástricos, y en una realización más particular de la invención actúa como modificador de la canal de cerdos Ibéricos aumentando el contenido proteico a la vez que disminuye el contenido graso.

30 Descripción detallada de la invención

El objeto de la presente invención consiste en un aditivo alimentario constituido por una mezcla de aditivos, la betaína y el ácido linoleico conjugado (CLA), y su uso para modificar la composición corporal de los animales incluyendo en este grupo al ser humano.

35 En una realización particular de la invención el uso conjunto de estos dos aditivos produce una modificación de la composición corporal de los animales monogástricos y en una realización aun más particular de la invención se produce una modificación de la canal de cerdos Ibéricos.

40 Estos compuestos se añaden a la dieta habitual de los animales en las proporciones que se indican a continuación: betaína en un rango comprendido entre 0,025-0,5% y ácido linoleico conjugado (CLA) en un rango comprendido entre 0,25-5,5%. En una realización particular de la invención en la dieta suministrada, el porcentaje de betaína y de ácido linoleico conjugado (CLA) añadido a la dieta es, respectivamente, del 0.5% y del 1.0%.

45 El uso de estos dos compuestos en el rango especificado junto con la dieta habitual produce una modificación en la composición corporal de los animales de forma que se produce una disminución del contenido graso del animal y un aumento del contenido de proteína, del contenido de agua, así como un aumento en la deposición diaria de proteína y agua (la cantidad de agua no es interesante en si misma, pero suele estar asociada a la cantidad de proteína formando el tejido magro y por eso es interesante medir su evolución), y un aumento también de la cantidad de proteína depositada por unidad de energía metabolizable ingerida con la dieta.

50 El hecho de que la composición corporal de los animales alimentados con la mezcla de CLA y betaína presente un mayor contenido en proteína y un menor porcentaje graso, hace que el producto sea más valioso ya que la proteína animal es el nutriente más apreciado por el consumidor cuando no se produce un detrimento de las peculiaridades organolépticas del producto.

55 Como se ha explicado previamente, los distintos estudios realizados en cerdos usando betaína o ácido linoleico conjugado (CLA) anteriores a nuestra invención no muestran resultados concluyentes. Sin embargo, al utilizar conjuntamente estos dos compuestos junto con la dieta habitual de los animales, se potencia el efecto de ambos (comparándolo con el que ejerce individualmente cada uno de los compuestos), hecho que difícilmente podría preverse teniendo en cuenta que los mecanismos de acción de estos dos compuestos son totalmente diferentes y que aunque ambos compuestos ejercieran su acción sobre las mismas rutas metabólicas, éstas son tan complejas y poseen tantas etapas que *a priori* sería difícil prever que la adición de ambas moléculas diera lugar a una potenciación del efecto que cada una de ellas ejerce de forma individual sobre estos mismos procesos.

65

ES 2 323 036 B1

Ejemplo de la invención

En el ensayo se emplean 10 cerdos Ibéricos 100% puros, proporcionados por Sánchez Romero de Carvajal (Jabugo S.A., Sevilla, España). Estos cerdos, se mantienen inicialmente juntos y se alimentan con una dieta perfectamente adecuada a las necesidades nutritivas y energéticas del animal. La dieta está basada en cebada y torta de soja y se formula de forma que contenga un 12,0% de proteína bruta, 0,81% de lisina y 14,8 MJ EM/Kg MS (Tabla 1).

Para comparar los resultados, se emplean dos grupos de cerdos, por una parte 5 cerdos, los denominados cerdos control, a los que no se le suministra betaína ni ácido linoleico conjugado (CLA) en la dieta y otro grupo de 5 cerdos, a los que se les suministra un 0.5% de betaína y un 1% de ácido linoleico conjugado (CLA) junto con la dieta experimental.

El ácido linoleico conjugado (CLA) que se emplea tiene una riqueza aproximada del 60% (los análisis realizados por cromatografía de gases confirman que el 30% del aceite es 9c-lit CLA, 30% 10t-12c CLA, 21% oleico, 8% palmítico, 5% esteárico).

Para poder conocer la composición corporal inicial de los cerdos, se emplea un tercer grupo de cerdos tal y como se indica más adelante.

A continuación, en la Tabla 1, se detalla la composición de la dieta suministrada a los cerdos ibéricos. La proporción en que aparece cada uno de los ingredientes se expresa como porcentaje en peso.

TABLA 1

Composición de la dieta suministrada a los cerdos

Ingrediente	% (peso) en la dieta	
	Control	CLA+Betaína
Cebada	90	90
torta de soja	2	2
Cloruro sódico	0,5	0,5
Vitaminas/ minerales (1)	0,3	0,3
Carbonato cálcico	1,1	1,1
Fosfato de calcio dibásico	1,2	1,2
L-Lys-HCl (2)	0,51	0,51

ES 2 323 036 B1

Ingrediente	% (peso) en la dieta	
	Control	CLA+Betaína
L-Thr (2)	0,1	0,1
L-His (2)	0,015	0,015
Almidón de maíz	3,263	2,765
Aceite de girasol	1	-
BHT (3)	0,0125	0,0125
Aceite CLA	-	1
Betaína	-	0,5

- (1) Que proporcionan por Kg de la dieta completa 3,38 mg de retinol como acetato de retinol; 56,3 µg de calciferol; 2,52 mg de DL-α-tocoferol como DL-α-acetato de tocoferol; 1,5 mg de menadiona como bisulfito sódico de menadiona; 0,15 mg de tiamina; 3 mg de riboflavina; 0,15 mg de piridoxina; 15 µg de cianocobalamina; 15 µg de ácido fólico; 22,5 mg de ácido nicotínico; 15 mg de D-ácido pantoténico como pantotenato de calcio; 15 mg de manganeso como MnSO₄ · 4H₂O; 75 mg de hierro como FeSO₄ · 7H₂O; 120 mg de cinc como ZnO; 450 µg de yodo como KI; 60 mg de cobre como CuSO₄ · 5H₂O; 300 µg de cobalto como CoSO₄ · 7H₂O.
- (2) L-Lys HCl que contiene 78,8% de L-Lys; L-Thr y L-His, añadidas como bases libres, contienen 98,5% y 100% de L-Thr y L-His, respectivamente.
- (3) BHT Butilhidroxi tolueno (E-321).

Como figura en la Tabla 1, la concentración de proteína bruta es la misma para los dos grupos de cerdos, de forma que se trabaja con niveles similares de proteína (dietas isoproteicas) en ambos tratamientos. El nivel de proteína es más bajo que el usado en cerdos de razas mejoradas de crecimiento rápido, debido a la menor capacidad de deposición de proteína del cerdo Ibérico. El nivel óptimo de proteína ha sido determinado previamente para el cerdo Ibérico en fase de crecimiento por Nieto y col. (Nieto, R., A. Miranda, M. A. García, and J. F. Aguilera. 2002. The effect of dietary protein content and feeding level on the rate of protein deposition and energy utilization in growing Iberian pigs from 15 to 50 kg body weight. Br. J. Nutr. 88:39-49). El resto de nutrientes se añade teniendo en cuenta los niveles recomendados (National Research Council. 1998. Nutrient Requirements of Swine. 10th ed. National Academy Press, Washington, DC) para evitar el déficit de nutrientes. La lisina, treonina e histidina se añaden en su forma cristalina. La betaína (betaína S1, cristalina, 96% de pureza) proviene de Danisco (Copenhague, Dinamarca) y el ácido linoleico conjugado (CLA), lo proporciona la empresa BASF (Ludwigshafen, Alemania), con una riqueza del 60%, y los isómeros cis-9, trans-11 y trans-10, cis-12 en la misma proporción.

Todos estos componentes de la dieta, se mezclan de forma que se consigue una distribución homogénea. Para asegurar que éstos están distribuidos homogéneamente, se usa la regla de las mezclas, que consiste en mezclar cantidades similares de dos o más ingredientes. De esta forma se van mezclando los ingredientes sucesivamente, desde los que están en proporciones más bajas hasta los que lo están en mayores proporciones.

ES 2 323 036 B1

Los cerdos se alimentan con la dieta descrita en la Tabla 1, suministrándoles el 95% de la cantidad que tomarían a voluntad, es decir, se produce una restricción del 5% para que los animales puedan expresar al máximo su potencial de crecimiento con la menor cantidad de restos de alimento, ya que éstos dificultan la cuantificación precisa de la ingesta de alimento. La cantidad de dieta ofrecida se calcula según el peso vivo del animal, siguiendo la función lineal descrita por Nieto y col. para cerdos Ibéricos (Nieto, R., L. Lara, M.A. García, F. Gómez, M. Zalvide, M. Cruz, J.M. Pariente, A. Moreno, J.F. Aguilera. 2001. Evaluación de un sistema integrado de alimentación en el cerdo ibérico. Análisis del consumo de alimento e índices productivos. Sólo cerdo ibérico 6: 57-69) que viene dada por la siguiente ecuación:

$$\text{Ingesta voluntaria (g/d)} = 448 (\pm 48) + 55,0 (\pm 1,35) \times \text{Peso vivo (Kg)};$$

$$P < 0,001, r^2 = 89,1$$

La dieta se les suministraba una vez al día, a las 9 de la mañana. Ajustando la cantidad de alimento diario de cada animal semanalmente y aumentándose la misma en función de los requerimientos de cada animal debido al aumento de su peso.

El ensayo comienza cuando los cerdos pesan 20 Kg. Se inicia en este punto porque se considera que a este peso (o edad) el animal se encuentra en una fase en la que puede expresar su mayor potencial de crecimiento y deposición de proteína. Al alcanzar este peso, para conocer su composición inicial, se sacrifican cinco de estos animales y se realiza un análisis químico de la composición de la canal, de forma que nos permite determinar la composición inicial de éstos, y poder determinar así la ganancia de proteína, grasa y agua de la canal a lo largo del experimento.

A lo largo del experimento no se realiza ninguna medida de composición corporal (para ello es necesario sacrificar al animal). Se realiza un seguimiento semanal del crecimiento (aumento del peso), y además, la recogida y cuantificación de heces y orina (obtenida mediante una sonda uretral) en jaulas metabólicas durante 4 días para comprobar si los tratamientos producen diferencias en digestibilidad de nutrientes. La prueba de digestibilidad se inicia cuando los animales se han adaptado perfectamente a las dietas experimentales y a las condiciones ambientales. Esto ocurre cuando los animales pesan aproximadamente 30 Kg. En ese momento, tres días antes de comenzar la recogida de muestras, los animales que inicialmente se encontraban todos juntos, se separan, colocándose en jaulas metabólicas individuales, con un ambiente con temperatura controlada ($20 \pm 1.5^\circ\text{C}$) de forma que se puedan recoger las heces y la orina de forma individual y se pueda también realizar la cuantificación individual de los posibles restos de comida no ingerida.

De las muestras totales de heces y orina recogidas se toman alícuotas representativas (recogidas en 200 ml de una disolución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) con una concentración 4M) que se guardan a -20°C . Después de descongelar estas muestras durante toda una noche, se mezclan minuciosamente y se muelen para obtener una única muestra fecal o de orina representativa de cada animal.

Los animales se sacrifican cuando alcanzaron los $51,1 \pm 0,85$ Kg, momento en el que se da por concluido el ensayo ya que se estima que en ese periodo, el animal está dentro de una fase de crecimiento máximo y es el momento idóneo para comprobar si los compuestos añadidos producen algún efecto sobre el crecimiento y la deposición de proteína, grasa y agua ya que un periodo de crecimiento de 30 Kg (50-20 Kg) es suficiente para determinar los posibles efectos de los tratamientos empleados.

El sacrificio se lleva a cabo después de mantener una noche a los cerdos en ayuno. Los animales se desangran previo aturdimiento mediante electronarcosis. Inmediatamente después del sacrificio, se extrae el contenido del tracto gastrointestinal y se pesa el intestino y el estómago vacíos, junto con el resto de vísceras.

La canal eviscerada, pero con cabeza, pezuñas y cola, se enfría durante una noche y se pesa. Posteriormente se quita la cabeza cortando en la unión del atlas y el occipital y las pezuñas, cortando en las uniones del carpo-metacarpo y tarso-metatarso. El proceso termina con la división de la canal longitudinalmente, obteniéndose dos medias canales.

La media canal derecha se coloca en bolsas de plástico a -20°C para evitar la deshidratación. Ésta, posteriormente se descongela y corta en pequeños trozos, para proceder a su picado (Talleres Cato, Sabadell, España) y homogenización en una picadora industrial (Talleres Cato, Sabadell, España). Una alícuota representativa de estas muestras se utiliza para calcular la grasa y proteína de la canal. El resto de las muestras se congelan para posteriores análisis.

Los análisis químicos de las muestras liofilizadas de la canal, de las muestras fecales y de las de alimento se llevan a cabo por duplicado, siguiendo procedimientos estándar. El contenido en materia seca de alimento, heces y canal liofilizados se determina por diferencia de pesada después de permanecer en estufa a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 18 horas. El nitrógeno total se determina por el procedimiento Kjeldahl mediante mineralización (Digestor Selecta, S-509, España), destilación (modelo B-324 Laboratorios Büchi, Suiza) y valoración automática (modelo 702 SM Titrino, Metrohm, Suiza). La proteína se obtiene multiplicando el contenido de nitrógeno total x 6,25. Los lípidos en alimentos se determinan por extracción con éter. Las cenizas totales se determinan por incineración a 550°C durante 5 horas. La energía bruta se determina mediante combustión en bomba calorimétrica adiabática (Gallemkamp, Autobomb CBA 305, Reino Unido).

ES 2 323 036 B1

La grasa de la canal se estima deduciendo del contenido energético total el correspondiente a la fracción proteica y asignando el resto de la energía a la fracción grasa. Para ello se asumen unos contenidos energéticos de 23,8 KJ/g de proteína y de 39,8 KJ/g de grasa (Wenk, C., P.C., Colombani, J., van Milgen, and A., Lemme. 2001. Glossary: Terminology in animal and human energy metabolism. *Energy Metabolism in Animals*. EAAP Publ. No. 103, pp. 409-421 Snekkersten, Denmark.). El tejido magro se determina como la suma de proteína más agua.

Además, se realiza un análisis de varianza de los resultados obtenidos usando el modelo lineal general (Statgraphics plus para Windows, versión 2.0, Manugistics INC., Rockville, MD) para comprobar la representatividad de los resultados obtenidos.

El protocolo experimental empleado en este estudio ha sido revisado y aprobado por el Comité Bioético del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y los animales empleados han sido cuidados de acuerdo a las directrices de la Unión Europea (No 86/609/EEC).

Los resultados del efecto de la adición de betaína y ácido linoleico conjugado (CLA) en la deposición de proteína, grasa, el contenido de agua y la energía de la canal, se muestran a continuación en la Tabla 2.

TABLA 2

Efecto de la betaína y el ácido linoleico conjugado (CLA) en la deposición diaria de proteína, grasa, agua, tejido magro y energía de la canal (1)

Elemento	Contro l	CLA+Betaín a	Valor de P
Proteína (g/d)	49,0	58,7	0,003
Agua (g/d)	173	215	0,005
Magro (g/d)	222	274	0,003
Grasa (g/d)	155	138	0,541
Proteína depositada/energí a metabolizable ingerida (g/MJ)	2,24	2,86	0,018

(1) Los valores que se detallan en la tabla se corresponden con los valores medios.

Como puede verse en la Tabla 2, la deposición diaria de proteína aumenta un 19,8% cuando en la dieta se añade betaína y ácido linoleico conjugado (CLA). En el caso de la ganancia de agua diaria en la canal, el aumento es del 24,3% y el del tejido magro del 23,4% al usar como aditivos ambos compuestos. La grasa sufre también una reducción como puede verse en la Tabla 2.

Con respecto a la cantidad de proteína depositada por unidad de energía metabolizable ingerida, se produce también un aumento del 27,7% cuando en la dieta se añadió betaína y ácido linoleico conjugado (CLA).

Con respecto al contenido en proteína, grasa, agua y magro en la canal, los resultados obtenidos para los cerdos sacrificados a 51,1±0,85 Kg se muestran en la Tabla 3.

ES 2 323 036 B1

TABLA 3

Contenido en proteína, grasa, agua, y magro de la canal (1)

Composición de la canal (g/Kg)	Control	CLA+Betaína	Valor de P
Proteína	130	138	0,093
Grasa	358	309	0,087
Agua	481	521	0,089
Magro	612	660	0,071

(1) Los valores que se detallan en la tabla se corresponden con los valores medios.

De la composición de la canal en los cerdos una vez sacrificados, se extrae que tienden a acumular una mayor cantidad de proteína (6,1% más de proteína), mientras que la tendencia en cuanto a la acumulación de grasa es la inversa (se produce un descenso del 13,7%) cuando a la dieta se añade betaína y ácido linoleico conjugado (CLA).

Con respecto a la acumulación de agua y magro, en ambos casos la tendencia es a aumentar (8,3% y 7,8%, respectivamente) en los cerdos alimentados con la dieta que incluye betaína y CLA.

Podemos concluir por tanto, que los resultados que se logran cuando en la dieta de los cerdos Ibéricos se añade un 0,5% de betaína y un 1% de CLA, son muy positivos, ya que se produce una disminución del contenido en grasa de la carne fresca y un aumento en el contenido de ésta en proteína, de forma que el producto obtenido es más equilibrado desde un punto de vista nutricional.

El aumento de proteína, y consecuentemente del tejido magro (ya que se define éste como la suma de proteína y agua en la canal), ha sido uno de los criterios principales en la selección genética que ha dado lugar a las razas mejoradas, de crecimiento rápido. El cerdo Ibérico, sin embargo, tiene una baja capacidad para el crecimiento en general y de deposición de proteína en particular, por lo que la consecución de una canal más magra (con más contenido en proteína y agua y menor en grasa) mediante un adecuado manejo nutricional, lo que puede incluir el uso de aditivos alimentarios, es un logro para los productores de cerdo Ibérico, que tienen problemas con el excesivo engrasamiento de la canal.

ES 2 323 036 B1

REIVINDICACIONES

5 1. Aditivo alimentario que contiene una mezcla de betaína y ácido linoleico conjugado (CLA) en el que la concentración de betaína y CLA se encuentran respectivamente en el rango de 0.025 a 0.5% y de 0.25 a 5.5% (porcentajes expresados en peso) siendo la concentración de betaína preferentemente del 0.5% y la del ácido linoleico conjugado del 1.0%.

10 2. Uso del aditivo alimentario según la reivindicación 1, para modificar la composición corporal de los animales incluyendo al ser humano. En una realización particular de la invención la composición corporal que se modifica es la de los animales monogástricos y más preferentemente la de los cerdos Ibéricos.

3. Uso del aditivo alimentario, de acuerdo con las reivindicaciones 1-2, para modificar la composición corporal aumentando el contenido en proteína.

15 4. Uso del aditivo alimentario, de acuerdo con las reivindicaciones 1-2, para modificar la composición corporal disminuyendo el contenido en grasa.

20 5. Uso del aditivo alimentario, de acuerdo con las reivindicaciones 1-2, para modificar la composición corporal aumentando el contenido en agua.

6. Uso del aditivo alimentario, de acuerdo con las reivindicaciones 1-2, para aumentar la deposición diaria de proteína.

25 7. Uso del aditivo alimentario, de acuerdo con las reivindicaciones 1-2, para aumentar la deposición diaria de agua.

8. Uso del aditivo alimentario, de acuerdo con las reivindicaciones 1-2, para aumentar la cantidad de energía depositada por unidad de energía metabolizable ingerida en la dieta.

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 323 036

② Nº de solicitud: 200702567

③ Fecha de presentación de la solicitud: 02.10.2007

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	FERNÁNDEZ-FÍGARES, I. et al.: "Use of Betaine and Conjugated Linoleic Acid as Growth Promotants in Growing Iberian Pigs", 2004 ASAS Annual Meeting, 24-29 julio, St. Louis, MO, USA & J. Anim. Sci. 82 (Suppl. 1), p.: 176, (Abstr. T52.).	1-8
A	WO 0202106 A1 (KANSAS STATE UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION) 10.01.2002, todo el documento.	1-8
A	US 6020377 A (O'QUINN et al.) 01.02.2000, todo el documento.	1-8
A	DUNSHEA, F.R. et al.: "Effects of Dietary Factors and other Metabolic Modifiers on Quality and Nutritional Value of Meat", Meat Sci., (2005), vol. 71, pp.: 8-38, todo el documento.	1-8

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

18.06.2009

Examinador

A. Maquedano Herrero

Página

1/4

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K 31/205 (2006.01)

A61K 31/20 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A23K, A23L

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, CA, AGRICOLA, CABA

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 18.06.2009

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	SÍ
	Reivindicaciones 1-8	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	SÍ
	Reivindicaciones 1-8	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	FERNÁNDEZ-FIGARES, I.M. et al. , J. Anim. Sci. 82, p. 176.	2004

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud reivindica un aditivo alimentario que contiene una mezcla de betaína y ácido linoleico conjugado (CLA). Este aditivo puede utilizarse en humanos, aunque va dirigido especialmente al consumo porcino. Se emplea para modificar la composición corporal, aumentando el contenido en proteína y agua y disminuyendo el contenido en grasa.

D01 describe el efecto sinérgico que tiene la utilización conjunta de betaína y CLA como aditivos alimentarios en ganado porcino. Así, el efecto sobre la disminución de contenido en grasa y aumento de peso fue mayor en animales alimentados con ambos aditivos conjuntamente, que la suma de los efectos obtenidos por separado. A la vista del estado de la técnica anterior, las reivindicaciones 1-8 de la solicitud no cumplen los requisitos de novedad y de actividad inventiva.