

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 009 757**

51 Int. Cl.:

A23K 20/00 (2006.01)

A23K 20/163 (2006.01)

A23K 20/10 (2006.01)

A23K 20/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.01.2018** **PCT/US2018/014978**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.08.2018** **WO18140450**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2018** **E 18705039 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2024** **EP 3573472**

54 Título: **Complemento de pienso granulado y métodos de preparación y uso**

30 Prioridad:

24.01.2017 US 201762449959 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.03.2025

73 Titular/es:

OMNIGEN RESEARCH, L.L.C. (100.00%)
1767 NW Kings Blvd.
Corvallis OR 97330, US

72 Inventor/es:

COSTIGAN, TIMOTHY, E.;
MCLEAN, DEREK, J.;
MITCHELL, GORDON, R.;
JACOBSEN, ERICH, M.;
WALKER, ELVIN, D.;
DESKINS, GREGORY, A. y
BEAIRSTO, TAYLOR, D.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 3 009 757 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 de pienso granulado y métodos de preparación y uso

5 **Campo**

La presente invención se refiere a una composición de complemento de pienso para animales, granulada, homogénea y con bajo contenido en polvo, y a métodos para su administración. En el presente documento también se desvelan métodos para la fabricación de la composición aunque no se definen en las reivindicaciones. La invención es como se define en el conjunto de reivindicaciones adjunto.

Antecedentes

Los complementos de pienso en polvo para animales pueden presentar dificultades durante su fabricación y uso, ya que las partículas muy finas que suelen estar presentes en dichas composiciones, pueden comportarse de forma muy diferente en los intervalos normales de condiciones de funcionamiento. Estas dificultades pueden incluir un entorno de trabajo polvoriento, segregación, suministro en oleadas y en puente. La tendencia de un material a experimentar un efecto triboeléctrico es una de las principales causas de estas dificultades. Las cargas electrostáticas pueden acumularse en las partículas durante el transporte y la mezcla. Estas cargas son particularmente problemáticas cuando son transportadas por partículas muy finas (polvos).

El polvo creado durante la manipulación de los materiales o que se escapa de los sistemas de fabricación puede permanecer suspendido en el aire durante varias horas. En lugares donde estas actividades se realizan en interiores, el polvo puede afectar a la capacidad de mantener las condiciones sanitarias, la comodidad y la salud de los trabajadores, y tiene el potencial de crear un riesgo de explosión. Esto puede obligar a utilizar sistemas de recogida para controlar el polvo fugitivo.

Además, las partículas de polvo pueden contener cantidades significativas y desiguales de los ingredientes del complemento como resultado de las diferentes propiedades electrostáticas de cada ingrediente individual. Las partículas de polvo cargadas tienen más probabilidades de convertirse en polvo fugitivo, lo que puede dar lugar a la eliminación eficaz de una proporción de un ingrediente deseado del producto mezclado. Las partículas de polvo cargadas también pueden adherirse al equipo de transporte y a otros equipos de procesamiento, lo que da lugar a la acumulación y liberación de una parte de uno o más de los ingredientes, provocando un mayor grado de variación en el producto final.

Por tanto, el propio polvo puede provocar una falta de uniformidad en la concentración de cada ingrediente dentro del complemento. Además, el reciclaje de las corrientes de subproductos y materiales procedentes de la recogida de polvo puede hacer que las mezclas de piensos tengan una concentración mayor o menor de un ingrediente complementario específico. Y este problema puede agravarse en varios lotes.

En el documento WO 2015/017336 A1 se desvela una combinación de un material vegetal que contiene polifenoles, un extracto vegetal derivado del material vegetal que contiene polifenoles y una composición que comprende glucano, sílice, arcilla mineral y mananos.

En el documento WO 2015/123456 A1 se desvela una composición que comprende un glucano, sílice, arcilla mineral, manano, y opcionalmente una endoglucanohidrolasa y puede administrarse a un animal.

En el documento WO 2007/021262 A1 se desvela una combinación de β -1,3-(4)-endoglucanohidrolasa, β -1,3-(4)-glucano, tierra de diatomeas, arcilla mineral y glucomanano, que pueden incorporarse en piensos o alimentos.

Sumario

De acuerdo con la invención, se proporciona una composición granulada que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, teniendo la composición granulada un valor de dispersión igual o inferior al 20 % a los 2 minutos, en donde el valor de dispersión se calcula pulverizando con agua la composición granulada utilizando un cabezal pulverizador mecánico colocado sobre un tamiz de malla 500 (0,025 mm) y midiendo un porcentaje de material que permanece en el tamiz después de 2 minutos, en donde al menos el 40 % en peso de las partículas de la composición granulada son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,15 mm (malla 100) a 4,8 mm (malla 4), en donde además, el tamaño de partícula se mide de acuerdo con la norma ANSI/ASAE S319.4.

También se proporciona la composición granulada de la invención para su uso en la administración a un animal para tener un efecto beneficioso en el animal, en donde el efecto beneficioso comprende el aumento del sistema inmunitario innato del animal, aumentar la producción de leche del animal, tratar o impedir una enfermedad infecciosa, tratar o impedir una enfermedad no infecciosa, tratar o impedir el estrés, tratar o impedir una afección o enfermedad relacionada con el estrés, ayudar a aumentar la longevidad del animal y/o mejorar su índice de conversión de pienso

(o alimenticia).

En el presente documento se desvela una composición, que comprende sílice, arcilla mineral, glucano, mananos o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones de la invención, la composición comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos. La composición puede ser granulada y/o tener una densidad aparente suelta de 640,7 kg/m³ (40 lb/pie³) a 2402,8 kg/m³ (150 lb/pie³). En algunas realizaciones, cada gránulo de la composición granulada comprende sílice, arcilla mineral, glucano y/o mananos, y opcionalmente endoglucanohidrolasa, en cantidades relativas sustancialmente iguales a una cantidad relativa de cada ingrediente en la composición en su conjunto. Cada gránulo de la composición granulada puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, sílice, arcilla mineral, glucano, mananos y endoglucanohidrolasa. Como alternativa, o adicionalmente, cada gránulo puede comprender una mezcla sustancialmente homogénea de sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, y opcionalmente endoglucanohidrolasa. La composición comprende más del 40 % en peso de gránulos que tienen al menos una dimensión entre 0,15 mm (100 de malla, tamaño de malla estándar estadounidense) y 4,8 mm (4 de malla), y en algunas realizaciones, la composición comprende más del 90 % en peso de gránulos que tienen al menos una dimensión entre 0,15 mm (100 de malla) y 2 mm (10 de malla). Y/o la composición puede comprender de más de 0 % a 100 % de gránulos en peso y de 0 % a no más de 60 %, tal como no más de 10 %, partículas en peso, teniendo los gránulos al menos una dimensión entre malla 10 (2 mm) y malla 100 (0,15 mm), y teniendo las partículas al menos una dimensión inferior a (es decir, menor que) malla 100 (0,15 mm). En cualquier realización, la composición granulada comprende al menos un gránulo, y puede comprender varios gránulos. Cada gránulo puede comprender sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, teniendo los gránulos un tamaño que cuando se administran a un animal aumenta la expresión del receptor β de interleucina 10 (IL10RB) durante un periodo de tiempo posterior a la administración, tal como posterior al inicio de la administración, en relación con un animal que no recibe la composición. En algunas realizaciones, el periodo de tiempo puede ser desde el inicio de la administración hasta 28 días o al menos 42 días. Y/o la composición puede tener un coeficiente de variación mineral de 0 % a 10 % o un coeficiente de variación próximo de 0 % a 20 %, o ambos.

En cualquier realización, la composición puede comprender además una endoglucanohidrolasa, tal como de 0,05 % en peso a 5 % en peso de endoglucanohidrolasa, o de 0,1 % en peso a 3 % en peso de endoglucanohidrolasa. En algunas realizaciones, el % en peso de la endoglucanohidrolasa se basa en un producto de endoglucanohidrolasa que tiene aproximadamente 70.000 unidades/gramo de endoglucanohidrolasa. Sin embargo, un experto familiarizado con la materia, comprenderá que la presente divulgación también contempla el uso de un producto de endoglucanohidrolasa que tenga una cantidad de unidades/gramo mayor o menor que aproximadamente 70.000 unidades/gramo, y el uso de una cantidad de dicho producto suficiente para proporcionar sustancialmente la misma cantidad de enzima en la composición que los intervalos desvelados anteriormente para el producto de 70.000 unidades/gramo. En cualquier realización, la endoglucanohidrolasa puede ser β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa.

La composición puede comprender 1-40 % en peso de sílice, 0,5-25 % en peso de glucano y mananos, y 40-92 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí; 5-40 % en peso de sílice, 0,5-15 % en peso de glucano y mananos, y 40-80 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí; 20-40 % en peso de sílice, 0,5-10 % en peso de glucano y mananos, y 50-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí; 20-30 % en peso de sílice, 0,5-3,5 % en peso de glucanos, 0,5-6,0 % en peso de mananos y 60-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí; 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 1-40 % en peso de sílice, 1-30 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 40-92 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí; 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 10-40 % en peso de sílice, 5-20 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 40-80 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí; o 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 15-30 % en peso de sílice, 5-15 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 50-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí.

En algunas realizaciones de una composición granulada, al menos el 90 % de los gránulos tiene al menos una dimensión de entre 0,15 mm (100 de malla) y 1,7 mm (12 de malla). Adicionalmente, o como alternativa, al menos el 85 % de los gránulos puede tener al menos una dimensión de entre 0,25 mm (60 de malla) y 1,7 mm (12 de malla). Y/o al menos el 60 % de los gránulos pueden tener al menos una dimensión de entre 0,595 mm (malla 30) y 1,7 mm (12 de malla).

Adicionalmente, o como alternativa, la composición puede contener uno o más de: una diferencia de densidad aparente entre una densidad aparente de una muestra suelta envasada y una densidad aparente de una muestra compactada o agitada inferior a 240,3 kg/m³ (15 lb/pie³); un valor de dispersión igual o inferior a 20 % a los 2 minutos; un valor de dispersión igual o inferior a 15 % a los 5 minutos; o un valor de dispersión igual o inferior a 10 % a los 10 minutos. Y/o cada gránulo de la composición puede tener una densidad específica de desde 800,9 kg/m³ (50 lb/pie³) a 2402,8 kg/m³ (150 lb/pie³).

En realizaciones particulares de la composición granulada, cada gránulo comprende una mezcla sustancialmente homogénea de sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, comprendiendo la composición de más de 0 % a 100 % de gránulos en peso y de 0 % a no más de 20 % de partículas en peso, teniendo los gránulos al menos una dimensión entre 0,15 mm (malla 100) y 2 mm (malla 10), y teniendo las partículas al menos una dimensión inferior a 0,15 mm (malla 100), teniendo los gránulos un tamaño que cuando se administran a un animal aumenta la expresión del receptor

β de interleucina 10 durante un periodo de tiempo posterior al inicio de la administración, tal como desde el inicio de la administración hasta 28 y 42 días después, en relación con un animal que no recibe la composición, en donde la composición tiene un coeficiente de variación mineral de 0 % a 10 % y un coeficiente de variación próximo de 0 % a 20 %. La composición granulada puede comprender 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 15-30 % en peso de sílice, 0,5-3,5 % en peso de glucanos, 0,5-6,0 % en peso de mananos y 50-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí, y/o al menos el 85 % de los gránulos puede tener un tamaño de 0,25 mm (60 de malla) a 1,7 mm (12 de malla).

La composición puede comprender además uno o más componentes adicionales, tal como de más de cero a 40 % de componentes adicionales, seleccionados de una sal metálica, tal como un carbonato metálico, una especie de cobre que proporciona un ion de cobre, un oligoelemento, un agente de voluminosidad, levadura, un vehículo, un colorante, un potenciador del sabor, un conservante, un aceite, una vitamina, yuca, quillaja, un probiótico, alicina, aliina, alinasa, algas, un polifenol o material vegetal que comprenda polifenol, o un ácido sórbico o una sal del mismo. Los componentes adicionales pueden comprender micro radiomarcadores, aceite mineral, vitaminas, sorbato de potasio, levadura activa, fibra de trigo, carbonato cálcico, o una combinación de los mismos. Y/o los componentes adicionales pueden comprender además maíz, maíz en copos, harina de soja, trigo, fibra de trigo, cebada, centeno, cáscaras de grano de arroz, alfalfa, aceite de colza, caliza, sal, granos deshidratados de destilería con solubles (DDGS, por sus siglas en inglés), fosfato dicálcico, sesquicarbonato de sodio, fuente de metionina, fuente de lisina, L-treonina, biotina, ácido fólico, kelp, bisulfito de menadiona dimetilpirimidinol, aluminosilicato de calcio, especies de *Yucca*, tal como *Yucca schidigera*, especies de *Quillaja*, tal como *Quillaja saponaria*, un probiótico, tal como una especie de *Bacillus* tal como *Bacillus coagulans*, o cualquier combinación de los mismos.

También se desvela una composición que comprende una composición granulada desvelada en el presente documento y un pienso. En realizaciones particulares, el pienso comprende una especie de cobre, tal como una especie de cobre que proporciona un ion de cobre, en particular sulfato de cobre.

En el presente documento también se desvela una composición que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, y que tiene una densidad específica de desde 800,9 kg/m³ (50 lb/pie³) a 2402,8 kg/m³ (150 lb/pie³). La composición puede ser una briqueta, cinta, lámina, copo, barra, lápiz, gránulo que tenga al menos una dimensión superior a 0,15 mm, o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la composición es una briqueta, cinta, lámina, copo, barra que tiene al menos una dimensión superior a 4,8 mm. En otras realizaciones, la composición es un gránulo que tiene al menos una dimensión de más de 0,177 mm a 1,7 mm.

También se desvela un método, que comprende administrar a un animal una composición desvelada en el presente documento. El animal puede ser un animal terrestre, un animal acuático, un ave, o un anfibio, y en algunas realizaciones, el animal es un mamífero no humano, y puede ser un bovino, ovino, equino, porcino o caprino. En algunas realizaciones, el animal es una oveja, cabra, vaca, toro, novillo, novilla, becerro, buey, gamo, bisonte, búfalo, alce, alpaca, camello, llama, caballo, burro o cerdo. Como alternativa, el animal puede ser aviar, tal como un pollo, pavo, ganso, pato, gallina de Cornualles, codorniz, perdiz, faisán, gallina de Guinea, avestruz, emú, cisne o paloma.

De acuerdo con la invención, la administración al animal puede comprender administrar una cantidad de la composición de más de cero a 500 gramos por animal al día; administrar una cantidad de la composición de más de cero a 1000 mgs por kilogramo de peso corporal del animal al día; y/o administrar en una cantidad de más de cero a 0,165 kg por kg de pienso (150 kg por tonelada (2000 libras) de pienso).

De acuerdo con la invención, la administración de la composición comprende la administración de una cantidad de la composición suficiente para tener un efecto ventajoso en el animal, en donde el efecto beneficioso comprende el aumento del sistema inmunitario innato del animal, aumentar la producción de leche del animal, tratar o impedir una enfermedad infecciosa, tratar o impedir una enfermedad no infecciosa, tratar o impedir el estrés, tratar o impedir una afección o enfermedad relacionada con el estrés, aumentar la longevidad del animal y/o mejorar su índice de conversión de pienso. En determinadas realizaciones, la administración de la composición comprende administrar una cantidad de la composición suficiente para aumentar el sistema inmunitario innato del animal. El aumento del sistema inmunitario innato del animal puede comprender el aumento de la expresión de IL10RB en relación con un animal al que no se le haya administrado la composición. Y/o la composición puede administrarse de forma sustancialmente continua, pero en determinadas realizaciones la composición se administra al menos diariamente durante al menos 28 días, y puede administrarse durante al menos 42 días. El método puede comprender mezclar la composición con un pienso para formar una composición mezclada, antes de la administración.

En el presente documento también se desvela un método para aumentar la función del sistema inmunitario innato de un animal. El método puede comprender la administración sustancialmente continua o al menos diaria durante al menos 28 días, tal como al menos 42 días, de la composición desvelada, a un animal seleccionado de una especie de mamífero o aviar, aumentando de este modo la expresión de un biomarcador inmunitario, tal como del IL10RB, durante los primeros 28 o 42 días, en relación con un animal al que no se le haya administrado la composición, y aumentar el sistema inmunitario innato del animal.

En el presente documento también se desvela un método de preparación de la composición. El método puede

comprender proporcionar una mezcla que comprenda sílice, arcilla mineral, glucano y mananos; compactar la composición para formar aglomerados; moler los aglomerados para formar partículas; y cribar las partículas para seleccionar una primera parte de las partículas que tenga un tamaño de partícula inferior a malla 4, y de tal manera que menos del 20 % de la primera parte de las partículas tenga un tamaño de partícula inferior a malla 100. El método también puede comprender el reciclado de una segunda parte de las partículas que tenga o un tamaño de partícula de 4 de malla o superior, o un tamaño de partícula inferior a 100 de malla. El reciclado puede comprender añadir a la mezcla la segunda parte de las partículas antes de la compactación.

En cualquier realización, proporcionar la mezcla puede comprender proporcionar una mezcla premezclada que comprenda sílice, arcilla mineral, glucano y mananos. O como alternativa, proporcionar la mezcla puede comprender proporcionar sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, y mezclar para formar una mezcla íntima.

Lo anterior y otros objetos, características, y ventajas de la invención, serán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, que procede con referencia a las figuras adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una fotografía que ilustra la diferencia de volumen entre una muestra de una composición en polvo realizada de acuerdo con el método 1, como se ha desvelado en el presente documento, y una muestra del mismo peso de una composición granulada ilustrativa realizada de acuerdo con el método 3, como se desvela en el presente documento.

La figura 2 es una fotografía que ilustra las diferentes velocidades de dispersión en agua después de 10 segundos de agitación entre una muestra en polvo y una composición granulada ilustrativa como se desvela en el presente documento.

La figura 3 es un diagrama de flujo de un método ilustrativo de preparación de la composición de pienso granulada desvelada.

La figura 4 es un diagrama esquemático de una planta de granulación a gran escala.

La figura 5 es un diagrama esquemático de la Región de agarre y del Ángulo de agarre de un Compactador de Rodillo Suministrado Verticalmente de la figura 4.

La figura 6 es un gráfico de densidad de briqueta frente a presión hidráulica, que ilustra la distribución de densidad simulada de un intervalo de presiones hidráulicas.

La figura 7 es un gráfico de presión frente a tiempo, que ilustra cambios de nivel de presión durante simulaciones de Matlab en el ejemplo 2.

La figura 8 es un gráfico de densidad frente a tiempo, que ilustra los cambios de densidad asociados a los cambios de presión mostrados en la figura 7.

La figura 9 es un gráfico de anchura de hueco frente a tiempo, que ilustra los cambios de anchura de hueco asociados a los cambios de presión mostrados en la figura 7.

La figura 10 es un gráfico de velocidad de rodillo frente a tiempo, que ilustra cambios de nivel de velocidad de rodillo durante simulaciones de Matlab en el ejemplo 2.

La figura 11 es un gráfico de densidad frente a tiempo, que ilustra los cambios de densidad asociados a los cambios de velocidad de rodillo mostrados en la figura 10.

La figura 12 es un gráfico de anchura de hueco frente a tiempo, que ilustra el cambio de anchura de hueco asociado a los cambios de velocidad de rodillo mostrados en la figura 10.

La figura 13 es un gráfico de velocidad de avance frente a tiempo, que ilustra cambios de nivel de velocidad de avance durante simulaciones de Matlab en el ejemplo 2.

La figura 14 es un gráfico de densidad frente a tiempo, que ilustra los cambios de densidad asociados a los cambios de velocidad de avance mostrados en la figura 13.

La figura 15 es un gráfico de anchura de hueco frente a tiempo, que ilustra los cambios de anchura de hueco asociados a los cambios de velocidad de avance mostrados en la figura 13.

La figura 16 es un gráfico de velocidad de avance frente a tiempo, que ilustra cambios de nivel de velocidad de avance a lo largo del tiempo.

La figura 17 es un gráfico de velocidad de rodillo frente a tiempo, que ilustra cambios de velocidad de rodillo simultáneos con los cambios de velocidad de avance mostrados en la figura 16.

La figura 18 es un gráfico de anchura de hueco frente a tiempo, que ilustra la anchura de hueco simulada durante los cambios simultáneos de velocidad de avance y velocidad de rodillo mostrados en las figuras 16 y 17.

La figura 19 es un gráfico de densidad frente a tiempo, que ilustra la densidad simulada durante los cambios simultáneos de velocidad de avance y velocidad de rodillo mostrados en las figuras 16 y 17.

La figura 20 es un gráfico de anchura de hueco frente a ángulo de agarre (*nip angle*), que ilustra los valores esperados y los resultados del ajuste lineal del ángulo de agarre en función de la anchura de hueco.

La figura 21 proporciona resultados de transferencia Western que demuestran el efecto de realizaciones ilustrativas de la combinación sobre la expresión de L-selectina de neutrófilo como se describe en el Ejemplo 3.

La figura 22 proporciona resultados de transferencia Western que demuestran los efectos de una realización desvelada de la combinación en formas no calentadas y calentadas (peletizadas) sobre la expresión de L-selectina de neutrófilo como se describe en el Ejemplo 4.

La figura 23 es un gráfico que resume los efectos de una realización desvelada de la combinación sobre la expresión de ARNm que codifica L-selectina en neutrófilos de rata como se describe en el Ejemplo 5.

La figura 24 proporciona resultados de transferencia Western demuestran los efectos de una realización desvelada de la combinación sobre la expresión de interleucina-1 β (IL-1 β) de neutrófilo como se describe en el Ejemplo 6.

La figura 25 es un gráfico que resume los efectos de diferentes composiciones sobre la capacidad de los neutrófilos de rata para afectar a la viabilidad de las bacterias *Staphylococcus aureus* como se describe en el Ejemplo 10.

La figura 26 es un gráfico que resume los efectos de diferentes realizaciones de la combinación sobre la expresión de ARNm que codifica el receptor de interleucina 8 en neutrófilos de rata como se describe en el Ejemplo 10.

La figura 27 es un gráfico que resume los efectos de diferentes realizaciones de la combinación sobre la expresión de ARNm que codifica L-selectina en neutrófilos de rata como se describe en el Ejemplo 10.

La figura 28 es una tabla de datos que ilustra el porcentaje en peso de partículas de diversos tamaños de muestras realizadas con cada uno de los Métodos 1-8.

La figura 29 es un gráfico de cantidad frente a tamaño de malla, que ilustra el perfil de tamaño de las partículas de las muestras producidas con cada uno de los métodos 1-8.

La figura 30 es un gráfico de cantidad frente a Método, que ilustra el porcentaje de material de malla -100 en una muestra realizada con cada método.

La figura 31 es una tabla de datos que proporciona la densidad aparente suelta y la densidad aparente compactada (en lb/pie³) y la diferencia de densidad aparente (en lb/pie³) de una muestra realizada con cada método.

La figura 32 es un gráfico de densidad aparente frente a método, que ilustra la densidad suelta (en lb/pie³) de una muestra fabricada con cada método.

La figura 33 es un gráfico de densidad aparente frente a método, que ilustra la densidad aparente compactada (en lb/pie³) de una muestra fabricada con cada método.

La figura 34 es un gráfico de densidad aparente frente a método, que ilustra la diferencia de densidad aparente (en lb/pie³) entre las densidades aparente suelta y compactada de una muestra fabricada con cada método.

La figura 35 es una tabla que proporciona datos de desgaste y dispersión de una muestra fabricada con cada método.

La figura 36 es un gráfico de desgaste frente a composición, que ilustra la cantidad de cada muestra granulada que permanece en un tamiz de malla de 50 después de girar durante 5 minutos con rodamientos de bolas.

La figura 37 es un gráfico de dispersión frente a composición, que ilustra la diferente cantidad de dispersión después de 2 minutos en un tamiz húmedo -500 de una muestra fabricada con cada método.

La figura 38 es un gráfico de dispersión frente a composición, que ilustra la diferente cantidad de dispersión después de 5 minutos en un tamiz húmedo -500 de una muestra fabricada con cada método.

La figura 39 es un gráfico de dispersión frente a composición, que ilustra la diferente cantidad de dispersión después de 10 minutos en un tamiz húmedo -500 de una muestra fabricada con cada método.

La figura 40 es una tabla de datos que ilustra los coeficientes de variación (C.V.) mineral y próximo entre partículas de diferentes tamaños de muestras producidas con cada método.

La figura 41 es un gráfico de porcentaje frente a método, que ilustra el coeficiente de variación mineral de las muestras realizadas con cada método.

La figura 42 es un gráfico de porcentaje frente a método, que ilustra el coeficiente de variación próximo de las muestras realizadas con cada método.

La figura 43 es un gráfico de expresión génica relativa frente a día de complementación, que ilustra la expresión del gen CXCR2 en células inmunitarias circulantes de animales alimentados sin complemento (control), con la composición en polvo y con la composición granulada.

La figura 44 es un gráfico de expresión génica relativa frente a día de complementación, que ilustra la expresión del gen IL10RB en células inmunitarias circulantes de animales alimentados sin complemento (control), con la composición en polvo y con la composición granulada.

La figura 45 es un gráfico de ingesta de materia seca (IMS) frente a día de complementación, que ilustra la ingesta de materia seca de los animales alimentados con control, con un complemento de composición en polvo y con un complemento de composición granulada durante 42 días.

La figura 46 es un gráfico de copias de ARN total frente a días, que ilustra el nivel de expresión del gen IL10RB (copias/ng de ARN total) en células inmunitarias circulantes de animales alimentados durante los primeros 42 días con una composición en polvo y con la composición granulada desvelada.

La figura 47 es un gráfico de copias de ARN total frente a días, que ilustra el nivel de expresión del gen IL10RB (copias/ng de ARN total) en células inmunitarias circulantes de animales alimentados durante 63 días con una composición en polvo y con la composición granulada desvelada.

Para convertir de Psi a MPa, en valor se divide entre 145. Para convertir de pie a m, en valor se divide entre 3,281. Para convertir de Pcf (*pounds per cubic feet*, libras por pie cubico) o lb/pie³ a kg/m³, el valor se multiplica por 16,018. Para convertir de pulg. a mm, el valor se multiplica por 25,4. Para convertir de °F a °C, al valor se le resta 32, y después se multiplica por 5/9.

Descripción detallada

I. Definiciones

Las siguientes explicaciones de términos y abreviaturas se proporcionan para describir mejor la presente divulgación y para orientar a los expertos en la materia en lo que respecta a la práctica de la presente divulgación. Como se utiliza en el presente documento, "que comprende" significa "que incluye" y las formas en singular "uno(a)", "un" o "el/la"

incluyen referencias en plural, salvo que el contexto indique claramente lo contrario. El término "o" se refiere a un único elemento de los elementos alternativos indicados o a una combinación de dos o más elementos, salvo que el contexto indique claramente lo contrario.

- 5 Salvo que se explique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos que se utilizan en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende normalmente un experto familiarizado con la materia a la que pertenece esta divulgación. Aunque en la práctica o ensayo de la presente divulgación pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, a continuación, se describen métodos y materiales adecuados. Los materiales, métodos y ejemplos son meramente ilustrativos y no pretenden ser limitativos. Otras características de la divulgación son obvias a partir de la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones.

- 10 Salvo que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de componentes, pesos moleculares, porcentajes, temperaturas, tiempos, etc., que se utilizan en la memoria descriptiva o en las reivindicaciones, deben entenderse como modificados por el término "aproximadamente". Por consiguiente, salvo que se indique lo contrario, 15 implícita o explícitamente, los parámetros numéricos expuestos son aproximaciones que pueden depender de las propiedades deseadas que se buscan y/o de los límites de detección, en las condiciones/métodos de ensayo convencionales. Cuando se distinguen directa y explícitamente las realizaciones de la técnica anterior analizada, los números de la realización no son aproximados salvo que se indique la palabra "aproximadamente".

- 20 Como se utiliza en el presente documento, los tamaños de malla se refieren a tamaños de malla estándar estadounidenses.

- Administración:** Administración a un sujeto mediante cualquier vía. Como se utiliza en el presente documento, administración se refiere, normalmente, pero no necesariamente, a administración oral.

- 25 **Agente aglutinante o aglutinante:** Material o sustancia que se utiliza para mantener o unir otros materiales para formar una unidad cohesiva.

- 30 **Dispersión:** Medida de la cantidad de una composición compactada que vuelve a su forma original, no compactada, cuando se expone a un líquido.

Durabilidad: Medida de la resistencia de un gránulo a triturarse o a romperse cuando se manipula, transporta y/o envasa.

- 35 **Pulverulencia:** Como se utiliza en el presente documento, la "pulverulencia" de un material se refiere a la cantidad de partículas de polvo que comprende el material, normalmente se mide como partículas de malla -100 (inferior a 0,15 mm). En algunas realizaciones, una partícula de polvo tiene al menos una dimensión, tal como una dimensión, dos dimensiones, o tres dimensiones, inferior a malla -100 (inferior a 0,15 mm).

- 40 **Eficacia del pienso:** Medición de la eficacia de un animal a la hora de convertir la masa de pienso en la producción deseada, p. ej., aumento de peso, producción de leche. La eficacia del pienso también puede denominarse relación de conversión de pienso, índice de conversión de pienso o eficacia de conversión de pienso.

- 45 **Pienso:** Como se utiliza en el presente documento, el término "pienso" se refiere a piensos sólidos y líquidos para animales (p. ej., una ración de pienso), complementos (p. ej., un complemento mineral, un complemento proteínico), una premezcla, agua, vehículos de aditivos de pienso (es decir, melazas), y combinaciones de los mismos.

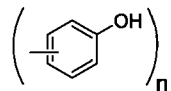
- 50 **Mananos:** Clase de polisacáridos que incluye el azúcar manosa. La familia de los mananos incluye mananos puros (es decir, la cadena principal del polímero consiste en monómeros de manosa), glucomananos (la cadena principal del polímero comprende manosa y glucosa) y galactomananos (mananos o glucomananos en los que restos individuales de galactosa están unidos a la cadena principal del polímero). Los mananos se encuentran en las paredes celulares de algunas especies vegetales y levaduras.

- 55 **Arcilla mineral:** De acuerdo con los comités de nomenclatura de la AIPEA (*Association Internationale pour l'Etude des Argiles* (Asociación Internacional para el Estudio de Arcillas)) y del CMS (*Clay Minerals Study* (Estudio de Minerales Arcillosos)), la expresión "arcilla mineral" se refiere a un mineral que confiere plasticidad a una arcilla y se endurece al secarse o quemarse. Las arcillas minerales incluyen silicatos de aluminio, tales como filosilicatos de aluminio. Las arcillas minerales suelen incluir pequeñas cantidades de impurezas, tal como potasio, sodio, calcio, magnesio y/o hierro.

- 60 **Gránulo:** Un gránulo es una partícula que tiene un diámetro medio superior a malla -100, es decir, normalmente superior a 0,15 mm. En algunas realizaciones, un gránulo tiene al menos una dimensión, tal como una dimensión, dos dimensiones, o tres dimensiones, superior a malla -100 (0,15 mm) e inferior a malla 4 (4,8 mm).

- 65 **Farmacéuticamente aceptable:** La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que un sujeto puede ingerir sin que se produzcan efectos toxicológicos adversos significativos en el mismo.

Polifenoles: Una clase de productos químicos orgánicos, naturales, sintéticos o semisintéticos, que se caracteriza



por la presencia de diversas unidades estructurales fenólicas

- 5 **Segregación:** Como se utiliza en el presente documento, segregación se refiere a la separación de diferentes componentes en una composición o mezcla, dando lugar a diferentes muestras de la composición o mezcla que tiene diferentes cantidades relativas de los componentes. La segregación puede producirse entre partículas de diferentes tamaños, donde, durante el transporte o la manipulación, puede producirse una separación entre partículas más pequeñas y partículas más grandes. Por lo tanto, en una mezcla de pienso y partículas de complemento de pienso
10 granulado, puede producirse segregación, cuando las partículas de pienso y complemento tienen tamaños sustancialmente diferentes. La segregación también puede producirse en determinados procesos de compactación en los que algunos componentes tienen una mayor tendencia a adherirse entre sí que a adherirse a los restantes componentes de la composición. Esto puede dar lugar a partículas que tienen diferentes cantidades relativas de los componentes y, por tanto, es posible que un animal al que se le administre el complemento no ingiera los componentes
15 en las cantidades relativas correctas y suficientes para producir el efecto beneficioso en el animal.

Densidad suelta: Como se utiliza en el presente documento, densidad suelta se refiere a la densidad de una muestra que no se ha sometido a golpeteo o a otro tipo de agitación o presión para eliminar el aire atrapado y/o compactar las partículas de la muestra.

20 **Densidad compactada:** Como se utiliza en el presente documento, densidad compactada se refiere a la densidad de una muestra que se agita, tal como mediante golpeteo, para eliminar el aire atrapado y/o producir un mayor empaquetamiento de las partículas. La agitación se mantiene durante un tiempo suficiente para que el volumen de la muestra deje de variar sustancialmente.

25 En las patentes estadounidenses n.º 7.598.061, n.º 7.939.066, n.º 8.568.715, n.º 8.663.644, n.º 9.497.981 y n.º 2011201420, se proporciona información adicional.

30 II. Visión general

Las composiciones que comprenden sílice, arcilla mineral, glucano y/o mananos, y opcionalmente endoglucanohidrolasa, se han formulado como un polvo. Sin embargo, dichos polvos pueden causar problemas durante su fabricación y uso. Las partículas finamente divididas presentes en un polvo suelen cargarse electrostáticamente, tal como al rozarse entre sí y/o con las paredes de un recipiente. Dicha carga electrostática a
35 menudo hace que las partículas se repelan entre sí. Esta repulsión puede producir espolvoreo en el aire, tal como cuando las partículas parecen estar suspendidas en la atmósfera; dificultad para verter el polvo en un recipiente, ya que las partículas tenderán a ser atraídas hacia el exterior de un recipiente; y atrapamiento de aire, donde las partículas que están en un recipiente tienen una baja densidad aparente debido al aire atrapado entre las partículas, lo que da lugar a volúmenes relativamente grandes. La figura 1 ilustra la diferencia de densidad aparente suelta entre una muestra de una composición en polvo 2, realizada proporcionando componentes en polvo y mezclándolos con una mezcladora de paleta para formar la composición, y una muestra del mismo peso de una composición granulada 4,
40 realizada de acuerdo con el método de compactación en seco desvelado en el presente documento. La única diferencia entre las dos muestras es la formulación en polvo o granulada; ambas composiciones comprenden los mismos componentes en las mismas cantidades relativas. Como puede observarse en la figura 1, la composición granulada 4 ocupa un volumen mucho más pequeño que la composición en polvo 2, por lo que puede envasarse en bolsas más pequeñas, lo que reduce considerablemente la probabilidad de que se produzcan daños durante el transporte.

Asimismo, si algunos componentes de la composición son más propensos a la repulsión electrostática que otros, la repulsión electrostática y el espolvoreo pueden modificar las cantidades relativas de los componentes de la
50 composición. Por ejemplo, si un primer componente es más propenso a la repulsión electrostática que un segundo componente, entonces la cantidad del primer componente que se pierde por espolvoreo puede ser mayor que la cantidad que se pierde del segundo componente. Esto puede provocar una falta de uniformidad en las cantidades relativas de los componentes en diferentes lotes.

55 Por lo tanto, es necesario producir una composición que no sea en polvo, tal como una composición granulada, que resuelva los problemas de la composición en polvo y siga proporcionando a los animales al menos los mismos beneficios que los de la composición en polvo. Además, la composición que no es en polvo debe ser suficientemente duradera de tal manera que cuando se transporte, tal como desde su fabricación a su envasado, las partículas no se disgreguen sustancialmente y vuelvan a formar el polvo. Sin embargo, las partículas tampoco pueden ser demasiado
60 duras, de tal forma que no se dispersen una vez ingeridas por el animal y, por tanto, no aporten los beneficios asociados a la composición. Una composición que no es en polvo, tal como una composición granulada, puede tener diversos beneficios sobre una composición en polvo que comprenda los mismos componentes en las mismas cantidades relativas. Dichos beneficios pueden incluir, pero sin limitación:

Distribución más uniforme en el pienso animal, de tal manera que a) la separación del componente individual de la composición se limite con la compactación, tal como la granulación, de la composición en polvo, b) la segregación en los complementos y en el pienso del animal se reduce con partículas, tales como gránulos, que son más similares a los tamaños de partícula del pienso e ingredientes de pienso, y c) las partículas se dispersan sustancialmente por completo cuando se exponen a la humedad en el pienso o líquido en el tubo digestivo del animal;

La reducción de la pulverulencia limita la cantidad de polvo que se crea al manipular la composición y, por lo tanto, limita la exposición humana y la contaminación de los equipos;

Las características de fluidez mejoran y son fiables en comparación con la composición en polvo, al permitir medir con precisión el producto granulado en sistemas de pesaje automatizados;

Las características de manipulación del complemento de pienso granulado mejoran a con cargas superficiales y una superficie reducidas, lo que reduce el arrastre de aire que, a su vez, a) mejora la capacidad de mezclar la composición no en polvo a tasas de inclusión más altas en mezclas posteriores de piensos y/o complementos, b) reduce la pérdida de producto en los sistemas de mezcla y manipulación al reducir significativamente el polvo fugitivo, c) reduce la probabilidad de alimentación por inundación y filtración de los sistemas mecánicos y permite pesajes más precisos de los sistemas automatizados, d) permite un envasado más eficaz en bolsas impermeables al aire/agua, e) permite el uso de envases más duraderos, y f) mejora la precisión del peso del envase y las tasas de envasado; y

Tamaño de envase reducido que permite un mejor apilamiento en palés y menos daños durante el transporte y la manipulación.

Además, algunos componentes se adhieren entre sí mejor que otros. Por lo tanto, el proceso debe proporcionar partículas, tales como gránulos, de tal manera que cada partícula tenga una cantidad relativa correcta de cada componente. Sin embargo, es preferible no añadir a la composición un aglutinante distinto. La adición de un aglutinante puede diluir el producto y complicar su registro en distintos países. Asimismo, algunos aglutinantes habituales, tales como el almidón, pueden aumentar la probabilidad de que se forme moho durante el almacenamiento.

Por otro lado, el tamaño de las partículas puede ser importante. Como se desvela en el presente documento, se selecciona un tamaño promedio de las partículas granuladas para limitar la segregación en los complementos de pienso para animales, para inhibir o impedir sustancialmente la separación del complemento de pienso granulado con otros complementos del pienso durante la manipulación y/o el transporte; limitar la segregación en el pienso animal, para inhibir o impedir sustancialmente la separación del complemento del pienso granulado con las partículas de pienso; ayudar a la distribución en el pienso del animal; permitir que las partículas se dispersen totalmente cuando se exponen a la humedad en el pienso, tal como en un pienso líquido, o en el líquido del tubo digestivo de un animal; limitar la cantidad de polvo que se genera al manipular el producto; y/o garantizar características de flujo fiables, de tal manera que el producto pueda fluir libremente de forma controlada, tal como para permitir su medición precisa en un sistema de pesaje automatizado. Las partículas que tienen un tamaño de partícula inferior a 149 micrómetros (tamiz de malla estándar estadounidense -100) pueden formar un polvo. En algunas realizaciones, el producto granulado comprende menos del 60 % en peso de partículas de polvo con un tamaño de partícula inferior a 0,15 mm (malla -100), tal como inferior a 50 %, inferior a 40 %, inferior a 30 %, inferior a 25 %, inferior a 20 %, inferior a 15 %, inferior a 10 %, inferior a 5 %, inferior a 3 % o inferior a 2 % en peso de partículas de 0,15 mm (malla -100) de tamaño de partícula. Malla -100 indica que las partículas pasarán a través de un tamiz de malla 100 (0,15 mm).

Además, las partículas que tienen un tamaño superior a 4,75 mm (malla 4) pueden ser sustancialmente más grandes que el tamaño de las partículas de piensos habituales, tal como pienso para ganado vacuno u ovino. Y los piensos y/o complementos de pienso con los que podría combinarse el presente complemento de pienso granulado, pueden tener partículas, tales como los macro ingredientes, que normalmente no superan los 2 mm (malla 10). Y el tamaño de los gránulos también puede seleccionarse para obtener una composición que fluya de forma más uniforme y libre que un polvo o partículas de gran tamaño, tal como a través equipos de procesamiento, envasado y/o suministro. La partículas finas, tales como partículas de polvo y polvos finos, pueden desplazarse con un "flujo en oleadas" o "en puente" durante el transporte y/o vertido. El "flujo en oleadas" es cuando el polvo no fluye de forma uniforme, sino que fluye en oleadas donde se acumula una cantidad de polvo que después sobrecarga o desborda la trayectoria de flujo. El desplazamiento "en puente" se produce normalmente cuando un polvo no pasa por una abertura, tal como por una salida o una entrada de un recipiente, sino que parece saltar o formar un puente sobre la abertura. La formación del puente puede deberse, al menos en parte, a las cargas eléctricas de las partículas que provocan una repulsión mutua entre ellas y/o una atracción hacia las paredes del recipiente y los lados de la abertura. La formación del puente puede limitarse alterando el impedimento estático (que impide que las partículas entren en los campos de atracción de las demás) y/o reduciendo las cargas eléctricas.

Por lo tanto, los tamaños de partícula se seleccionan para minimizar el polvo y reducir al mínimo la segregación de las partículas en el pienso, y/o para facilitar la dosificación del complemento de pienso granulado, tal como durante la mezcla con el pienso. Al menos el 40 % en peso de las partículas de la composición, tal como al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o al menos el 97 % de las partículas, son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,15 mm (malla 100) a 4,8 mm (malla 4), tal como de más de 0,15 mm (malla 100) a 2 mm (malla 10), de más de 0,18 mm (malla 80) a 2 mm (malla

10), de más de 0,15 mm (malla 100) a 1,7 mm (malla 12), de más de 0,18 mm (malla 80) a 1,7 mm (malla 12), de más de 0,25 mm (malla 60) a 1,7 mm (malla 12), de más de 0,4 mm (malla 40) a 1,7 mm (malla 12) o de más de 0,6 mm (malla 30) a 1,7 mm (malla 12). En algunas realizaciones, al menos el 90 % en peso, tal como al menos el 95 % o al menos el 97 %, de las partículas de la composición, son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,15 mm (malla 100) a 1,7 mm (malla 12). En otras realizaciones, al menos el 90 % en peso, tal como al menos el 95 % o al menos el 97 %, de las partículas de la composición, son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,18 mm (malla 80) a 1,7 mm (malla 12). En realizaciones adicionales, al menos el 85 % en peso, tal como al menos el 90 %, al menos el 95 % o al menos el 97 %, de las partículas de la composición, son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,25 mm (malla 60) a 1,7 mm (malla 12). En determinadas realizaciones, al menos el 85 % en peso, tal como al menos el 90 %, al menos el 95 % o al menos el 97 %, de las partículas de la composición, son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,4 mm (malla 40) a 1,7 mm (malla 12). Y en realizaciones particulares, al menos el 60 % en peso, tal como al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o al menos el 97 %, de las partículas de la composición, son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,6 mm (malla 30) a 1,7 mm (malla 12).

III. Composiciones de complemento de pienso

Determinadas realizaciones desveladas de la composición comprenden glucano (p. ej., β -1,3(4)glucano), sílice, arcilla mineral, mananos, o combinaciones de los mismos. Realizaciones particulares de la composición comprenden glucano (p. ej., β -1,3(4)glucano), sílice, arcilla mineral y mananos. En cualquier realización, la composición puede comprender además una endoglucanohidrolasa, tal como β -1,3(4)-endoglucanohidrolasa, ya sea de forma endógena o como ingrediente añadido afirmativamente.

En cualquier realización desvelada en el presente documento, la composición puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, glucano (p. ej., β -1,3 (4)glucano), sílice, arcilla mineral y mananos. En algunas realizaciones, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, glucano (p. ej., β -1,3 (4)glucano), sílice, arcilla mineral, mananos y endoglucanohidrolasa. En cualquier realización desvelada en el presente documento, el glucano y los mananos pueden provenir, al menos en parte, de pared celular de levadura o un extracto de la misma. Por tanto, en algunas realizaciones, la composición puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, sílice, arcilla mineral y pared celular de levadura o un extracto de la misma, o la composición puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, sílice, arcilla mineral, pared celular de levadura o un extracto de la misma, y endoglucanohidrolasa.

Entre las fuentes adecuadas de sílice se incluyen, pero sin limitación, arena, tierra de diatomeas y sílice sintética. En una realización, puede utilizarse cuarzo. En determinadas realizaciones, los mananos comprenden glucomanano.

Los componentes de la composición se preparan mediante métodos comúnmente conocidos en la técnica y pueden obtenerse de fuentes comerciales. La β -1,3(4)-endoglucanohidrolasa puede producirse a partir de la fermentación sumergida de una cepa de *Trichoderma longibrachiatum*. La tierra de diatomeas está disponible como producto comercializado con entre un 70 % y un 95 % de sílice (SiO_2) y con sus restantes componentes no ensayados, pero principalmente cenizas (minerales), según la definición de la Asociación de productos químicos analíticos (*Association of Analytical Chemists*, AOAC, 2002). Las arcillas minerales (p. ej., aluminosilicatos) utilizadas en esta composición pueden ser cualquiera de una variedad de arcillas disponibles comercialmente, incluidas, pero sin limitación, arcilla montmorillonita, bentonita y zeolita. El glucano, los mananos y/o la endoglucanohidrolasa pueden obtenerse a partir de paredes celulares vegetales, de levadura o de la pared celular de levadura o de un extracto de las mismas (p. ej., *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*), determinados hongos (p. ej., setas), algas y bacterias. En determinadas realizaciones, la levadura puede administrarse afirmativamente para proporcionar glucano, mananos y/o endoglucanohidrolasa de forma endógena.

En una realización de la invención, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 1-40 % en peso de sílice, 0,5-25 % en peso de glucano y mananos, y 40-92 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En otra realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 5-40 % en peso de sílice, 0,5-15 % en peso de glucano y mananos, y 40-80 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En otra realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 20-40 % en peso de sílice, 0,5-10 % en peso de glucano y mananos, y 50-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En otra realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 15-40 % en peso de sílice, más de cero a 15 % en peso de glucanos, más de cero a 10 % en peso de mananos y 50-81 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En otra realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 15-40 % en peso de sílice, 0,5-5,0 % en peso de glucanos, 0,5-8,0 % en peso de mananos y 50-81 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En otra realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 20-30 % en peso de sílice, 0,5-3,5 % en peso de glucanos, 0,5-6,0 % en peso de mananos y 60-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí.

En algunas realizaciones, los β -glucanos y los mananos se obtienen de la levadura o de la pared celular de la levadura o de un extracto de la misma. La levadura o la pared celular de la levadura o un extracto de la misma puede comprender además endoglucanohidrolasa. La composición puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, 1-40 %

en peso de sílice, 1-30 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 40-92 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En una realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 10-40 % en peso de sílice, 5-20 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 40-80 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En otra realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 15-30 % en peso de sílice, 5-15 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 50-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición puede comprender además una endoglucanohidrolasa, tal como la β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa. La composición puede incluir de 0,025 % en peso de endoglucanohidrolasa a 5 % en peso de endoglucanohidrolasa o más, tal como de 0,05 % en peso a 3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, en relación con las cantidades de sílice, arcilla mineral, glucano, mananos y/o levadura, pared celular de levadura o extracto de pared celular de levadura presente en la composición. En una realización de la invención, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 20-40 % en peso de sílice, 0,5-20 % en peso de glucano y mananos y 50-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En otra realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 20-40 % en peso de sílice, 0,5-10 % en peso de glucano y mananos, y 50-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. Como alternativa, en otra realización, la composición puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 1-40 % en peso de sílice, 5-30 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 40-92 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En una realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 10-40 % en peso de sílice, 5-20 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 40-80 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí. En otra realización, la composición comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 15-30 % en peso de sílice, 5-15 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 50-70 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí.

En cualquiera de las realizaciones desveladas, la sílice puede proceder de tierra de diatomeas. En cualquiera de las realizaciones desveladas, los glucanos pueden ser β -glucanos. En algunas realizaciones, los β -glucanos pueden obtenerse de levaduras u otros materiales, tales como hongos, algas, bacterias, o similares. En cualquiera de las realizaciones desveladas, los mananos pueden comprender glucomanano. En algunas realizaciones, la composición no comprende un aglutinante distinto además de los componentes de la composición.

El glucano y los mananos (o la levadura o pared celular de levadura o un extracto de la misma) pueden prepararse mediante un método conocido por un experto habitual en la materia. La pared celular de levadura o un extracto de la misma puede tener una composición que comprenda 0-15 % de humedad y 85-100 % de materia seca. La materia seca puede comprender 10-65 % de proteína, 0-25 % de grasa, 0-3 % de fósforo, 5-30 % de β -glucano, 5-35 % de mananos y 0-15 % de ceniza. Puede utilizarse una fuente comercial de β -1,3 (4) glucano y glucomanano procedente de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) primaria inactivada con la siguiente composición química: humedad 2-5 %; proteínas 40-50 %; grasas 3-8 %; fósforo 0-2 %; mananos 10-16 %; β -1,3-(4) glucano 10-20 %; y ceniza 2-12 %.

La pared celular de levadura o un extracto de la misma comprende una humedad del 1-7 % y una materia seca del 93-99 %, y la materia seca puede comprender proteínas 18-28 %, grasas 10-17 %, fósforo 0-2 %, mananos 20-30 %, β -1,3-(4) glucano 18-28 % y ceniza 2-5 %.

En una realización independiente de la composición, se combinan sílice, glucano y mananos y arcilla mineral al 1-40 %, 0,5-25 % y 40-92 % en peso, respectivamente. En una realización independiente de la composición y/o combinación, β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, sílice, tal como tierra de diatomeas, pared celular de levadura o un extracto de la misma, y arcilla mineral, se combinan al 0,05-3 %, 1-40 %, 1-20 % y 40-92 % en peso, respectivamente. En una composición y/o combinación independiente, β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, sílice, tal como tierra de diatomeas, pared celular de levadura o un extracto de la misma, y arcilla mineral, se combinan al 0,1-3 %, 5-40 %, 2-15 % y 40-80 % en peso, respectivamente. En otra realización independiente de la composición y/o combinación, β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, sílice, tal como tierra de diatomeas, pared celular de levadura o un extracto de la misma, y arcilla mineral, se combinan al 0,1-3 %, 30-40 %, 4-15 % y 50-65 % en peso, respectivamente.

La composición de complemento de pienso granulada puede incluir uno o más componentes adicionales. En algunas realizaciones, cada gránulo comprende una mezcla sustancialmente homogénea de sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, uno o más componentes adicionales, y opcionalmente endoglucanohidrolasa. Los componentes adicionales pueden utilizarse para cualquier propósito deseado, tal como un material inerte sustancialmente biológico añadido, por ejemplo, como un relleno, o para proporcionar un efecto beneficioso deseado. Por ejemplo, la composición puede incluir un carbonato (incluido un carbonato metálico tal como carbonato cálcico); un sulfato, incluido un sulfato metálico, tal como, pero sin limitación, sulfato de cobre, sulfato de cinc, sulfato de sodio y/o sulfato de potasio; una especie de cobre, tal como una especie de cobre que proporciona un ion de cobre, por ejemplo, una sal de cobre, incluyendo, pero sin limitación, sulfato de cobre, fluoruro de cobre, cloruro de cobre, bromuro de cobre, yoduro de cobre, óxido de cobre, carbonato de cobre o una combinación de los mismos; un oligoelemento, tal como, pero sin limitación, cloruro, fluoruro, yoduro, cromo, cobre, cinc, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, fósforo, potasio, sodio, azufre, selenio,

o una combinación de los mismos; un agente de voluminosidad; un micro radiomarcador, tal como partículas de hierro recubiertas con un colorante; levadura; un vehículo; un colorante; un potenciador del sabor; un conservante; un aceite; una vitamina; yuca; quillaja; un probiótico; alicina; aliina; alinasa; algas; un polifenol o material vegetal que comprenda polifenol; un ácido sórbico o una sal del mismo; o una combinación de los mismos. La levadura puede ser un cultivo de levadura, levadura activa, una levadura viva, una levadura muerta, extracto de levadura o una combinación de los mismos. La levadura puede ser una levadura de panadería, levadura de cerveza, una levadura de destilería, una levadura probiótica o una combinación de las mismas. Como ejemplos de levaduras se incluyen, pero sin limitación, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces pastorianus*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces anomalus*, *Brettanomyces custersianus*, *Brettanomyces naardenensis* y *Brettanomyces nanus*, *Candida utilis*, *Candida stellate*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Torulaspora delbrueckii* o *Zygosaccharomyces bailii*.

El conservante puede ser ácido benzoico o una sal de la misma, p. ej., benzoato sódico; ácido láctico o una sal del mismo, p. ej., lactato sódico, lactato potásico o lactato cálcico; ácido propiónico o una sal del mismo, p. ej., propionato sódico; ácido ascórbico o una sal del mismo, p. ej., ascorbato sódico; ácido gálico o una sal del mismo, p. ej., galato sódico; dióxido de azufre y/o sulfitos; nitritos; nitratos; colina, o una sal de la misma, tal como una sal aniónica de colina, p. ej., haluro de colina, tal como cloruro, bromuro, yoduro, fluoruro o hidróxido de colina; o cualquier combinación de los mismos. El aceite puede ser aceite mineral, aceite de maíz, aceite de soja o una combinación de los mismos. La yuca puede ser una o más de *Yucca aloifolia*, *Yucca angustissima*, *Yucca arkansana*, *Yucca baccata*, *Yucca baileyi*, *Yucca brevifolia*, *Yucca campestris*, *Yucca capensis*, *Yucca carnerosana*, *Yucca cernua*, *Yucca coahuilensis*, *Yucca constricta*, *Yucca decipiens*, *Yucca declinata*, *Yucca de-smetiana*, *Yucca elata*, *Yucca endlichiana*, *Yucca faxoniana*, *Yucca filamentosa*, *Yucca filifera*, *Yucca flaccida*, *Yucca gigantea*, *Yucca glauca*, *Yucca gloriosa*, *Yucca grandiflora*, *Yucca harrimaniae*, *Yucca intermedia*, *Yucca jaliscensis*, *Yucca lacandonica*, *Yucca linearifolia*, *Yucca luminosa*, *Yucca madrensis*, *Yucca mixtecana*, *Yucca necopina*, *Yucca neomexicana*, *Yucca pallida*, *Yucca periculosa*, *Yucca potosina*, *Yucca queretaroensis*, *Yucca reverchonii*, *Yucca rostrata*, *Yucca rupicola*, *Yucca schidigera*, *Yucca schottii*, *Yucca sterilis*, *Yucca tenuistyla*, *Yucca thompsoniana*, *Yucca treculeana*, *Yucca utahensis* o *Yucca valida*, normalmente comprendiendo *Yucca schidigera*. La quillaja puede ser una o más de *Quillaja brasiliensis*, *Quillaja lanceolata*, *Quillaja lancifolia*, *Quillaja molinae*, *Quillaja petiolaris*, *Quillaja poeppigii*, *Quillaja saponaria*, *Quillaja sellowiana* o *Quillaja smegmadermos*, normalmente comprendiendo *Quillaja saponaria*.

El probiótico puede ser una especie de *Bacillus*, tal como *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus alvei*, *Bacillus aminovorans*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus aneurinolyticus*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus aquaemaris*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus boroniphilus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus caldolyticus*, *Bacillus centrosporus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus flavothermus*, *Bacillus fusiformis*, *Bacillus galliciensis*, *Bacillus globigii*, *Bacillus infernus*, *Bacillus larvae*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus natto*, *Bacillus pantothenicus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus pseudoanthracis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus schlegelii*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus sporothermodurans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thermoglucosidasius*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus vulgatus* o *Bacillus weihenstephanensis*, o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el probiótico es, o comprende, *Bacillus coagulans*. En algunas realizaciones, el probiótico es, o comprende, *Bacillus subtilis*. En algunas realizaciones, el probiótico es, o comprende, *Bacillus amyloliquefaciens*. En algunas realizaciones, el probiótico es, o comprende, *Bacillus licheniformis*. En determinadas realizaciones, el probiótico es, o comprende, una combinación de *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Bacillus licheniformis*. En otras realizaciones, el probiótico es o comprende *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus coagulans*.

La alicina (tiosulfato de dialilo; S-2-propenil éster del ácido 2-propenol-1-sulfonotiotico) es un compuesto presente en el ajo, tal como el ajo crudo. La alicina se produce normalmente a partir de la aliina (ácido (2R)-2-amino-3-[(S)-prop-2-enilsulfonil] propanoico) en células de ajo dañadas por la acción de la enzima aliinasa. La alicina, la aliina y/o la aliinasa pueden proporcionarse como dientes o bulbos de ajo enteros; ajo triturado, machacado o picado; un extracto de ajo; y/o como compuesto sintetizado o aislado.

El ácido sórbico o sal del mismo, puede ser sorbato potásico, sorbato sódico, sorbato amónico o una combinación de los mismos. La vitamina puede ser vitamina A; vitamina B₁, tal como mononitrato de tiamina; vitamina B₂, tal como riboflavina-5-fosfato; vitamina B₃, tal como niacina o niacinamida; vitamina B₅, tal como ácido pantoténico o pantotenato d-cálcico; vitamina B₆, tal como piridoxina o clorhidrato de piridoxina; vitamina B₁₂; vitamina C, tal como ácido ascórbico, ascorbato de sodio o ascorbato de calcio; vitamina D; vitamina E; vitamina K o una combinación de las mismas. La vitamina D puede comprender vitamina D₁, vitamina D₂, vitamina D₃, vitamina D₄, vitamina D₅, 25-hidroxi vitamina D₃, 25-dihidroxi vitamina D₃, o combinaciones de las mismas.

El alga puede ser un alga verdeazulada (cianobacteria), una diatomea (bacilariófita), un alga pedregosa (cariófita), un alga verde (clorófita), un alga dorada (crisófita), un dinoflagelado (dinófita), un alga parda (feófito) o un alga roja (rodófita). En algunas realizaciones, el alga es una clorófita, y puede ser un alga del género *Chlorella*, incluyendo, pero sin limitación, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella angustelloipsoidea*, *Chlorella botryoides*, *Chlorella capsulata*, *Chlorella ellipsoidea*, *Chlorella emersonii*, *Chlorella fusca*, *Chlorella homosphaera*, *Chlorella luteo-viridis*, *Chlorella marina*, *Chlorella miniata*, *Chlorella minutissima*, *Chlorella mirabilis*, *Chlorella ovalis*, *Chlorella parasitica*, *Chlorella peruviana*, *Chlorella rugose*, *Chlorella saccharophila*, *Chlorella salina*, *Chlorella spaerckii*, *Chlorella sphaerica*, *Chlorella*

stigmatophora, *Chlorella subsphaerica*, *Chlorella trebouxoides*, o una combinación de las mismas. En otras realizaciones, el alga es una cianobacteria, tal como *Arthrospira platensis* o *Arthrospira maxima* (espirulina). Otras algas incluyen, pero sin limitación, algas del género *Pediastrum*, tal como *Pediastrum dupl*, *Pediastrum boryanum*, o una combinación de las mismas; algas del género *Botryococcus*, tal como *Botryococcus braunii*; algas del género

5 *Porphyra*, tal como *Porphyra dioica*, *Porphyra linearis*, *Porphyra lucasii*, *Porphyra mumfordii*, *Porphyra purpurea*, *Porphyra umbilicalis*, o una combinación de las mismas.

El polifenol puede proceder de un extracto vegetal de un material vegetal que contenga polifenol. El material vegetal también puede incluir compuestos no polifenólicos, incluidos los productos de degradación del polifenol, tal como ácido

10 gálico y ácido trans-caftárico. Puede producirse degradación, por ejemplo, mediante procesos oxidativos y/o biológicos. Tanto los polifenoles como los compuestos no polifenólicos pueden tener actividad biológica. El extracto vegetal puede prepararse de un solo material vegetal o de una combinación de materiales vegetales. Los materiales vegetales adecuados a partir de los cuales puede obtenerse un extracto vegetal incluyen, pero sin limitación,

15 té verde, lúpulo, cebollas, quillaja, ciruelas, granados, frambuesas, fresas y yuca.

En algunas realizaciones, el extracto vegetal se prepara a partir de un material vegetal prensado, tal como orujo de uva, un material vegetal deshidratado, tal como té, o una combinación de los mismos. El orujo puede obtenerse casi inmediatamente después del prensado o como producto ensilado, es decir, orujo recogido y conservado hasta varios

20 meses después del prensado. Las plantas adecuadas tienen una pluralidad de polifenoles y/u otros compuestos no polifenólicos incluidos, pero sin limitación, ácidos orgánicos no polifenólicos (tales como ácido gálico y/o ácido trans-caftárico), flavanoles, ésteres de galato, flavanodíoles, floriglucinol, pirogalol y catecol. En algunas realizaciones, el extracto vegetal se prepara a partir de orujo de Pinot noir, orujo de Pinot gris, o té verde.

En algunas realizaciones, el material vegetal prensado o deshidratado se tritura hasta convertirlo en polvo antes de, o durante, la extracción. Los materiales vegetales prensados pueden congelarse para facilitar la trituración. Pueden extraerse polifenoles y otros compuestos no polifenólicos para su administración. Por ejemplo, los polifenoles y otros compuestos no polifenólicos pueden extraerse del polvo utilizando una solución que comprenda un disolvente polar,

30 tal como agua, un alcohol, un éster o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la solución comprende un alcohol miscible en agua, un éster, o combinaciones de los mismos, tal como un alcohol de alquilo inferior, un éster de alquilo inferior, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la solución es agua o una solución acuosa que comprende 25-99 % de disolvente, tal como 25-95 % de disolvente, 30-80 % de disolvente o 50-75 % de disolvente y agua. En determinadas realizaciones, la solución es una solución acuosa que comprende metanol, etanol, isopropanol, acetato de etilo o una combinación de los mismos. La solución puede acidificarse mediante la adición de

35 un ácido. El ácido puede impedir o minimizar la degradación oxidativa de los polifenoles biológicamente activos y otros compuestos no polifenólicos del extracto. El ácido puede ser cualquier ácido adecuado, tal como un ácido mineral (p. ej., ácido clorhídrico), o un ácido orgánico como ácido cítrico o ácido acético. En algunas realizaciones, la solución comprende entre 0,01 % y 1 % de ácido, tal como 0,02-0,5 %, 0,025-0,25 % o 0,05-0,15 %. En algunos ejemplos, la solución incluye 0,1 % de ácido clorhídrico.

La extracción puede realizarse a una temperatura que varíe entre 0 y 100 °C. En algunas realizaciones, la extracción se realiza a una temperatura que varía entre 20 y 70 °C, o a temperatura ambiente. La extracción puede realizarse durante un periodo de tiempo que varíe entre varios minutos y varios días. Para aumentar la eficacia de la extracción, el material vegetal y la solución pueden mezclarse o agitarse durante la extracción, tal como moliendo el material

45 vegetal durante la extracción, removiendo la mezcla, agitando la mezcla u homogeneizando la mezcla. En algunas realizaciones, la extracción puede repetirse una o más veces con solución reciente para aumentar la recuperación de polifenoles y otros compuestos no polifenólicos del material vegetal. A continuación, las fases líquidas de cada ciclo de extracción se combinan para su posterior procesamiento.

La fase líquida puede recuperarse, y los sólidos residuales, o la pasta, puede desecharse. La recuperación de la fase líquida puede comprender la decantación del líquido de los sólidos restantes y/o el filtrado de la fase líquida para eliminar los sólidos residuales. El disolvente (alcohol, éter, o una combinación de los mismos) puede eliminarse de la solución líquida por cualquier medio adecuado, tal como evaporación (p. ej., roto-evaporación), para producir un extracto acuoso que contenga los componentes biológicamente activos en una solución ligeramente ácida.

En determinadas realizaciones en las que el material vegetal incluye una cantidad significativa de aceites, o lípidos, puede realizarse una extracción inicial de los componentes no polares antes de extraer los polifenoles y otros compuestos polares no polifenólicos. Los componentes no polares pueden extraerse homogeneizando el material vegetal en un disolvente no polar, p. ej., alcanos, tales como hexanos, heptanos, o combinaciones de los mismos. La

60 capa de disolvente que incluye los componentes no polares extraídos se separa del material vegetal y se desecha.

El extracto vegetal acuoso puede purificarse aún más por medios adecuados, p. ej., extracción, métodos cromatográficos, destilación, etc., para eliminar los compuestos no polifenólicos y/o aumentar la concentración de polifenoles en relación con otros compuestos del extracto.

El extracto vegetal acuoso puede deshidratarse, por ejemplo, mediante liofilización u otros métodos de deshidratación

- a baja temperatura, y se tritura hasta alcanzar el tamaño deseado, tal como un polvo, para obtener un extracto vegetal deshidratado. En algunas realizaciones, el extracto vegetal deshidratado comprende de 0,01 % en peso a 25 % en peso de polifenoles totales, tal como de 0,01 % en peso a 10 % en peso, de 0,01 % en peso a 5 % en peso, de 0,01 % en peso a 2,5 % en peso, de 0,01 % en peso a 1 % en peso, de 0,01 % en peso a 0,5 % en peso, de 0,02 a 0,25 % en peso o de 0,03-0,1 % en peso de polifenoles totales. En determinadas realizaciones, el extracto vegetal deshidratado comprende además compuestos no polifenólicos. Por ejemplo, el extracto vegetal deshidratado puede comprender 0,01-1 mg/g de ácido gálico, tal como 0,05-0,5 mg/g o 0,09-0,25 mg/g de ácido gálico, y/o 0,001-0,1 mg/g de ácido trans-caftarico, tal como 0,005-0,05 mg/g o 0,01-0,025 mg/g de ácido trans-caftarico.
- 5 El extracto vegetal acuoso puede concentrarse a un volumen más pequeño, p. ej., por evaporación, y utilizarse como un extracto vegetal acuoso. En otras realizaciones, el extracto vegetal acuoso se mezcla con un vehículo antes de deshidratarse y molerse. Los vehículos adecuados incluyen, por ejemplo, tierra de diatomeas, sílice, maltodextrina, grano molido (p. ej., maíz), harinas (p. ej., harina de soja o de algodón) subproductos (p. ej., granos deshidratados de destilería, cáscaras de grano de arroz, trigo molido), arcillas (p. ej., bentonita), y combinaciones de los mismos. El extracto vegetal puede combinarse con un vehículo en una proporción que varía de 10:1 a 1:10 en peso, tal como de 5:1 a 1:5. Por ejemplo, el extracto vegetal puede mezclarse con tierra de diatomeas en una proporción de 3:1 en peso.
- 10 Adicionalmente, o como alternativa, los componentes adicionales pueden comprender granos, maíz, maíz en copos, harina de soja, trigo, fibra de trigo, cebada, centeno, cáscaras de grano de arroz, alfalfa, aceite de colza, caliza, sal, granos deshidratados de destilería con solubles (DDGS, por sus siglas en inglés), fosfato dicálcico, sesquicarbonato de sodio, fuente de metionina, fuente de lisina, L-treonina, biotina, ácido fólico, kelp, bisulfito de menadiona dimetilpirimidinol, aluminosilicato de calcio, o cualquier combinación de los mismos.
- 20 Puede encontrarse información adicional sobre otros componentes en la solicitud PCT n.º PCT/US2015/053439 y en las solicitudes estadounidenses n.º 15/359.342, 14/699.740 y 14/606.862.
- 25 En algunas realizaciones, la composición no comprende componentes adicionales. En otras realizaciones, la composición comprende de más de cero a 40 % o más en peso de componentes adicionales, tal como de 0,1 % a 40 % en peso, o de 0,2 % a 35 % en peso de componentes adicionales. En determinadas realizaciones, la composición comprende de 0,1 % a 5 % en peso de componentes adicionales, tal como de 0,2 % a 3 % en peso. En otras realizaciones, la composición comprende de 5 % a 20 % en peso de componentes adicionales, tal como de 10 % a 15 % en peso. Y en otras realizaciones, la composición comprende de 20 % a 40 % en peso de componentes adicionales, tal como de 30 % a 35 % en peso de componentes adicionales.
- 30 En algunas realizaciones, la composición y/o cada gránulo de la composición granulada, comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, sílice, arcilla mineral, glucano, mananos y endoglucanohidrolasa; sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa, micro radiomarcadores y aceite mineral; sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa, micro radiomarcadores, aceite mineral y vitaminas; sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa, micro radiomarcadores, aceite mineral, vitaminas y sorbato potásico; sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa, vitaminas y levadura activa; sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa, micro radiomarcadores, aceite mineral y levadura activa; sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa y aceite mineral; sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa, vitaminas y carbonato cálcico; sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa, micro radiomarcadores y fibra de trigo; o sílice, arcilla mineral, glucano, mananos, endoglucanohidrolasa y micro radiomarcadores. En cualquiera de estas realizaciones, el glucano y los mananos pueden proceder de levadura, pared celular de levadura o extracto de pared celular de levadura.
- 35 En algunas realizaciones, la composición no comprende un aglutinante, tal como un aglutinante de almidón, como ingrediente añadido afirmativamente.
- 40 En algunas realizaciones, la composición no comprende agua como ingrediente añadido afirmativamente.
- 45 En algunas realizaciones, la composición no comprende agua ni un aglutinante de almidón como ingredientes añadidos afirmativamente.
- 50 En algunas realizaciones, la composición no comprende un compuesto de peróxido.
- 55 En algunas realizaciones, la composición no comprende peróxido de hidrógeno.
- 60 En algunas realizaciones, la composición no comprende peróxido de carbamida.
- En algunas realizaciones, la composición no comprende urea.
- 65 En algunas realizaciones, la composición no comprende peróxido de hidrógeno ni urea.
- En algunas realizaciones, los gránulos de la composición granulada no comprenden un pienso.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, prácticamente todas las partículas del complemento de pienso granulado incluyen cada uno de los componentes de la composición, incluida sílice, arcilla mineral, glucano y mananos procedentes opcionalmente de pared celular de levadura o de un extracto de la misma, endoglucanohidrolasa, y cualquier componente adicional, y puede comprender una mezcla sustancialmente homogénea de los componentes. Y en cualquiera de las realizaciones anteriores, la cantidad relativa de cada componente en cada gránulo es sustancialmente igual que la cantidad relativa del mismo componente en el complemento de pienso granulado en su conjunto. El coeficiente de variación (C.V.) del complemento de pienso granulado es una medida de la variación de composición entre distintas partículas, tal como entre partículas de diferentes tamaños. El C.V. es una medición de la segregación de los componentes entre los distintos tamaños de partículas. Cuanto más bajo sea el valor de C.V., más homogéneo es el complemento de pienso granulado entre partículas de distinto tamaño. Puede medirse el C.V. de los diferentes componentes de la composición. En algunas realizaciones, el C.V. del contenido mineral de la composición desvelada, opcionalmente medido midiendo el contenido de calcio, es igual o inferior a 10 %. Es decir, el contenido mineral de las partículas varía un 10 % o menos en una muestra del complemento de pienso granulado. El contenido próximo es una medición de las cantidades de humedad, proteína bruta, extracto de éter, fibra bruta, ceniza bruta y extractos sin nitrógeno, en la composición. En algunas realizaciones, el C.V. del contenido próximo, opcionalmente medido midiendo el contenido de proteínas, es igual o inferior a 20 %, tal como igual o inferior a 15 %, de partículas en una muestra del complemento de pienso granulado. Con fines comparativos, el C.V. del contenido mineral en una composición en polvo que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, es normalmente de aproximadamente 15 %, y el C.V. del contenido próximo en dicha composición en polvo es de aproximadamente 56 %.

Los gránulos del complemento de pienso granulado pueden tener un tamaño de partícula promedio seleccionado para su inclusión directa en un pienso, tal como un pienso disponible en el comercio, un producto alimenticio, o como complemento de una ración o dieta mixta total. El tamaño de partícula promedio puede seleccionarse para que sea compatible con el pienso con el que puede mezclarse el complemento de pienso granulado. El término "compatible", como se utiliza en el presente documento, significa que el tamaño de partícula es suficientemente similar como para reducir o eliminar la segregación del tamaño de partícula cuando los gránulos se mezclan con el pienso. Por ejemplo, si la composición granulada se mezcla con un pienso que tiene un tamaño de partícula promedio de malla 20 × 60 (de 0,841 mm a 0,250 mm), los gránulos de la composición granulada pueden tener un tamaño de partícula promedio similar, p. ej., del 80-120 % del tamaño de las partículas del pienso con las que se mezclan los gránulos. Como ejemplos de tamaños de material de pienso se incluyen, pero sin limitación, ensilado de maíz 30 %-40 % en peso de malla menos 12 (inferior a 1,7 mm), ensilado de heno 40 %-50 % en peso de malla menos 12, ración total mezclada (TMR, por sus siglas en inglés) 40 %-60 % en peso de malla menos 12. En algunas realizaciones, el tamaño de partícula promedio del complemento de pienso granulado se selecciona de forma que coincida con el tamaño de malla de menos 12 del material de pienso, minimizando de este modo la segregación con dicho pienso. Los gránulos pueden mezclarse con piensos sólidos o líquidos o con agua.

Las partículas del complemento de pienso granulado pueden seleccionarse para un tamaño inferior a 4,8 mm (malla - 4), tal como inferior a 2 mm (malla -10) y pueden tener un tamaño inferior a 1,7 mm (malla -12). Es decir, las partículas pueden pasar por un tamiz de 4,8 mm (malla 4), 2 mm (malla 10) o 1,7 mm (malla 12), respectivamente. En algunas realizaciones, al menos una dimensión, y opcionalmente dos o tres dimensiones, de las partículas son inferiores al tamaño deseado. En algunas realizaciones, las partículas se seleccionan de tal manera que la cantidad de polvo de la composición, medida por la cantidad de la composición que puede pasar a través de un tamiz de malla 100 (0,15 mm), es inferior a 60 % en peso, tal como al menos inferior a 50 %, inferior a 40 %, inferior a 30 %, inferior a 25 %, inferior a 20 %, inferior a 15 %, inferior a 10 %, inferior a 5 %, inferior a 3 % o inferior a 2 % en peso. En algunas realizaciones, menos del 20 % en peso de las partículas, tal como menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 7 %, menos del 5 %, menos del 3 %, menos del 2 % o menos del 1 % en peso, tienen al menos una dimensión, y opcionalmente dos o tres dimensiones, inferior a malla 100 (tamaño inferior a 0,15 mm). En algunas realizaciones, la composición se formula como gránulos que tienen un tamaño más pequeño que malla 4 a un tamaño más grande que malla 100, tal como malla 10 × 100, malla 10 × 80, malla 12 × 100, malla 12 × 80, malla 12 × 60, malla 12 × 40 o malla 12 × 30. En otras realizaciones, los gránulos tienen un tamaño de más de 0,15 mm a menos de 4,8 mm, tal como de 0,15 mm a 2 mm, de 0,177 mm a 2 mm, de 0,15 mm a 1,7 mm, de 0,177 mm a 1,7 mm, de 0,25 mm a 1,7 mm, de 0,42 mm a 1,7 mm o de 0,595 mm a 1,7 mm. En cualquiera de las realizaciones anteriores, al menos el 40 % en peso, tal como al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o al menos el 97 % en peso de los gránulos, tienen un tamaño dentro del intervalo de tamaño indicado. En cualquier realización desvelada en el presente documento, al menos una dimensión, y opcionalmente dos o tres dimensiones del gránulo, está dentro del intervalo indicado, y en algunas realizaciones, dos o tres dimensiones del gránulo o partícula, están dentro del intervalo indicado. De acuerdo con la invención, al menos el 40 % en peso de las partículas de la composición granulada son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,15 mm (malla 100) a 4,8 mm (malla 4).

La diferencia de densidad aparente del complemento de pienso granulado es la diferencia de densidad aparente entre una muestra envasada suelta y una muestra que se ha agitado, tal como golpeado o sacudido, para liberar parte del aire atrapado y/o conseguir un mejor envasado de las partículas de la muestra. En algunas realizaciones, la diferencia de densidad aparente es inferior a 240,3 kg/m³ (15 lb/pie³), tal como inferior a 160,2 kg/m³ (10 lb/pie³) o inferior a 128,1 kg/m³ (8 lb/pie³).

La dispersión es una medida de la capacidad de la partícula para volver a su forma original, no compactada en contacto con el líquido. Se mide pulverizando las partículas con agua utilizando un cabezal pulverizador mecánico colocado sobre un tamiz de malla 500 y midiendo el porcentaje de material que queda en el tamiz después de periodo de tiempo predeterminado. Normalmente, la dispersión se mide en determinados momentos, tal como 2 minutos, 5 minutos y/o 10 minutos. En algunas realizaciones, el complemento de pienso granulado tiene un valor de dispersión igual o inferior a 20 %, tal como igual o inferior a 15 %, a los 2 minutos; un valor de dispersión igual o inferior a 15 %, tal como igual o inferior a 12 % o inferior a 10 %, a los 5 minutos; y un valor de dispersión igual o inferior a 10 % a los 10 minutos.

La figura 2 muestra una fotografía que ilustra la dispersión en agua de una composición en polvo 6 y de una composición granulada 8, aproximadamente 10 segundos después de la adición y agitación. Sorprendentemente, una composición granulada 8, realizada con el método de compactación en seco desvelado en el presente documento, se dispersa más rápida y completamente que la composición en polvo 6. La figura 2 muestra claramente la composición en polvo 6 formando grumos 10 en el agua. En cambio, la composición granulada 8 ha formado una suspensión más uniforme en el agua, lo que indica que la composición está más dispersa que la composición en polvo 6. Esto indica que la composición granulada puede dispersarse más rápidamente que la composición en polvo al ser ingerida por un animal y, por lo tanto, proporcionarle un mayor beneficio. Además, si la composición se mezcla con un líquido, tal como agua, para su administración a animales, la composición granulada puede producir fácil y rápidamente una suspensión uniforme de la composición. Mientras que una suspensión de una composición en polvo, que comprende grumos del polvo, no será uniforme y, por tanto, dos animales que beban del mismo recipiente podrán ingerir cantidades diferentes de la composición y, por lo tanto, puede que no obtengan ningún beneficio asociado a la ingestión de la composición.

IV. Uso de la composición

A. Resultados beneficiosos

La composición desvelada puede administrarse a los animales para obtener uno o más resultados beneficiosos. Dichos beneficios pueden incluir, pero sin limitación: prevención y/o tratamiento de determinadas enfermedades o afecciones, tales como enfermedades infecciosas, enfermedades no infecciosas, estrés y afecciones y enfermedades relacionadas con el estrés; un efecto ventajoso sobre el sistema inmunitario del animal; aumento de la producción de leche; o una mayor longevidad del animal. Un animal puede seleccionarse afirmativamente para recibir las composiciones basándose en uno o más factores, entre los que se incluyen, la edad del animal, la disminución de la inmunidad, la exposición a factores estresantes o acontecimientos estresantes (p. ej., estrés por calor, hacinamiento, exposición a un entorno tóxico, tal como toxicidad del amoníaco, carga de trabajo, quimioterapia, terapia antiinflamatoria), trastornos gastrointestinales (p. ej., enfermedades diarreicas), o combinaciones de los mismos.

Adicionalmente, o como alternativa, la composición puede mejorar el índice de conversión de pienso de un animal, tal como un animal criado para el consumo. El índice de conversión de pienso, también conocido como relación de conversión de pienso, es una medición de la eficacia de un animal a la hora de convertir la masa de pienso en mayor masa corporal. Los animales con bajos índices de conversión de pienso se consideran eficaces, ya que requieren menos pienso para alcanzar un peso deseado. Los índices de conversión de pienso varían de una especie a otra. En algunas realizaciones, el índice de conversión de pienso puede aumentar del 0,5 % al 20 % o más, tal como del 1 % al 20 %, preferentemente del 2 % al 10 %, y en determinadas realizaciones, del 3 % al 5 %.

Sin desear quedar ligado a teoría alguna en particular, la composición de complemento de pienso granulada puede mejorar el sistema inmunitario del animal, tal como el sistema inmunitario innato o el adaptativo, o ambos. Cuando se administra a un animal, la composición puede producir un cambio simultáneo en un nivel de, por ejemplo, un biomarcador del sistema inmunitario o un biomarcador de inflamación en el animal de al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 50 %, al menos el 75 %, al menos el 100 %, al menos el 200 % o al menos el 500 %, tal como del 5-600 %, del 10-500 %, del 10-200 % o del 10-100 %, en comparación con un nivel promedio del biomarcador en un animal que no ha recibido la composición. El cambio puede ser un aumento o una disminución, en función del biomarcador concreto. Por ejemplo, la composición de complemento de pienso granulada puede influir en los niveles de biomarcadores inmunitarios, incluidos, pero sin limitación, L-selectina de neutrófilos, IL-1 β y/o expresión génica de IL10RB, Crp, Mbl2, Apcs, Il5, Ifna1, Ccl12, Csf2, Il13, Il10, Gata3, Stat3, C3, Tlr3, Ccl5, Mx2, Nfkb1, Nfkb1a, Tlr9, Cxcl10, Cd4, Il6, Ccl3, Ccr6, Cd40, Ddx58, Il18, Jun, Tnf, Traf6, Stall, Ifnb1, Cd80, Tlr1, Tlr6, Mapk8, Nod2, Ccr8, Irak1, Cd1d1, Stat4, Il1r1, Faslg, Irf3, Ifnar1, Slc11a1, Tlr4, Cd86, Casp1, Ccr5, Icam1, Camp, Tlr7, Irf7, Rorc, Cd40lg, Tbx21, Casp8, Il23a, Cd14, Cd8a, Cxcr3, Foxp3, Lbp, Mapk1, Myd88, Stat6, Agrina y/o IL33.

La administración a un animal del complemento de pienso granulado puede modificar el nivel de uno o más biomarcadores en el animal, en comparación con un animal no alimentado con la composición granulada. La cantidad del cambio puede ser mayor en el animal al que se le administra el complemento de pienso granulado que la cantidad del cambio, caso de haberla, en el nivel de uno o más biomarcadores en un animal al que se le haya administrado la misma cantidad de un complemento de pienso en polvo de la misma composición. Es decir, puede haber un mayor beneficio para el animal al que se le administra el complemento de pienso en forma granulada en comparación con un animal al que se le administra el complemento de pienso en forma de polvo, y con un animal al que no se le administra

el complemento de pienso en ninguna de las dos formas. En determinadas realizaciones, la administración de la composición granulada a un animal produce un cambio simultáneo en el nivel de un biomarcador, por ejemplo, un biomarcador del sistema inmunitario, tal como IL10RB, en el animal, en al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 50 %, al menos el 75 %, al menos el 100 %, al menos el 200 % o al menos el 500 %, tal como del 5-600 %, del 10-500 %, del 10- 200 % o del 10-100 %, en comparación con un nivel promedio del biomarcador en un animal que no ha recibido la composición granulada.

El cambio puede producirse durante un periodo de tiempo en particular, tal como durante los primeros 28 a 42 días de administración. En algunas realizaciones, la expresión de la subunidad beta del receptor de interleucina 10 (IL10RB), aumentó rápidamente en los animales a los que se administró el complemento de pienso granulado durante los primeros 28 días, en comparación con los animales no alimentados con el complemento de pienso granulado (los animales de control). En otras realizaciones, la expresión de la subunidad beta del receptor de interleucina 10 (IL10RB), aumentó rápidamente en los animales a los que se administró el complemento de pienso granulado durante los primeros 42 días, en comparación con los animales no alimentados con el complemento de pienso granulado (los animales de control). Los animales alimentados con una composición en polvo que comprende los mismos componentes en las mismas cantidades relativas, tuvieron la misma tasa de expresión de IL10RB que los animales de control durante el mismo periodo de tiempo. Es decir, los animales alimentados con la composición en polvo no experimentaron el rápido aumento de la expresión de IL10RB que experimentaron los animales a los que se administró la composición de pienso granulada. Posterior al periodo de tiempo, en todos los grupos, los niveles de expresión de IL10RB convergieron, lo que sugiere que la administración del complemento de pienso granulado aumentó la tasa de expresión de IL10RB, en comparación con los animales de control y alimentados con la composición en polvo, en lugar de aumentar la cantidad final de expresión. IL10RB es una proteína que forma parte del complejo receptor que actúa como mediador en la señalización celular después de la unión de IL10 al complejo. La IL10 es una citocina antiinflamatoria y está asociada a otros mecanismos de inmunorregulación, tales como la mejora de la supervivencia de los linfocitos B y la producción de anticuerpos. Por lo tanto, la complementación con la composición granulada que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, pueden potenciar los mecanismos antiinflamatorios y la regulación de las células inmunitarias, en comparación con la complementación con una composición en polvo que comprende las mismas cantidades relativas de sílice, arcilla mineral, glucano y mananos.

Como se desvela en la patente estadounidense n.º 8.142.798, la composición de complemento de pienso granulada también puede aumentar el sistema inmunitario adaptativo del animal, p. ej., aumentando la respuesta a una vacuna; puede aumentar los niveles de anticuerpos, tal como los niveles de IgG, en relación con un animal que ha recibido ninguna vacuna pero al que no se le ha administrado la composición de complemento de pienso granulada. La composición de complemento de pienso granulada también puede reducir los efectos del estrés en el animal, posiblemente mejorando los efectos del estrés (p. ej., estrés por calor, estrés por embarazo, estrés por parto, etc.) sobre el sistema inmunitario del animal. La composición de complemento de pienso granulada puede influir en los niveles de biomarcadores de inflamación, p. ej., COX-2, IL-1 β , factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), receptor de interleucina 8 (IL8R) y/o L-selectina.

En algunas realizaciones, aumentará la producción de leche de un animal al que se le administre la composición, en comparación con la producción de los animales a los que no se administra la composición. Por ejemplo, la producción de leche puede aumentar en 1 kg, 2 kg, 3 kg, 4 kg, hasta 10 kg por animal y día utilizando la composición desvelada. En realizaciones desveladas particulares, los animales a los que se suministra la composición producirán leche con menos grasa y/o proteínas lácteas (en términos de porcentaje). Por ejemplo, la grasa láctea puede reducirse del 0,2 % al 1 % o del 0,2 % al 0,8 % o del 0,2 % al 0,6 %, incluyendo realizaciones ilustrativas una reducción del 0,4 %. En algunas realizaciones, al animal, tal como una vaca lechera, se le administra la composición durante un periodo de tiempo eficaz para aumentar la producción de leche de la vaca. En determinadas realizaciones, una vaca lechera puede alimentarse con la composición durante el periodo seco (tiempo de descanso) entre periodos de lactancia, opcionalmente comenzando la administración antes del periodo seco y/o continuando en el periodo de lactancia posterior. Dicha vaca puede tener una mayor producción de leche en comparación con una vaca que no fue alimentada con la composición durante un periodo de tiempo similar.

B. Animales

Las realizaciones de la composición de complemento de pienso granulada desveladas, se suministran y/o administran a un animal, tal como a un animal humano o no humano. El animal puede ser un animal terrestre, un animal acuático, un ave o un anfibio. El animal puede ser un mamífero o un no mamífero. En alguna realización, el mamífero es un bovino, equino, ovino, porcino o caprino. Un bovino puede ser un animal lechero o un animal criado para carne de vacuno. El animal no humano puede ser un animal criado para el consumo humano o un animal doméstico. Como ejemplos de animales que pueden ser alimentados y/o administrados con la combinación desvelada se incluyen, pero sin limitación, especies de rumiantes, tales como una oveja, cabra, vaca, novilla, toro, novillo, becerro, buey, gamo, bisonte, búfalo, alce, alpaca, camello o llama; ungulados, tales como un caballo, burro o cerdo; aves, tales como pollos, incluidas las gallinas ponedoras y los pollos de engorde, pavo, ganso, pato, gallina de Cornualles, codorniz, perdiz, faisán, gallina de Guinea, avestruz, emú, cisne o paloma; animales acuáticos, tales como especies acuáticas, tales como peces (p. ej., salmón, trucha, tilapia, dorada, carpa, bacalao, fletán, pargo, arenque, bagre, lenguado, merluza, capellán, anchoa, molva, moi, perca, reloj anaranjado, róbalo, atún, pez delfín, caballa, anguila, barracuda, marlín,

perca oceánica del Atlántico, perca del Nilo, salvelino ártico, eglefino, hoki, abadejo de Alaska, rodaballo, corvina de agua dulce, lucioperca amarilla, raya, esturión, lenguado de Dover, lenguado común, pez lobo, pez sable, ábalo Americano, pez de San Pedro, mero, rape, jurel, corégono de lago, blanquillo, peto, bacaladito, amia, rosada, pez sol, marrajo común, pez espada, cobia, labrada o híbridos de los mismos, y similares), crustáceos (p. ej., langosta, camarón, gambas, cangrejo, krill, cangrejos de río, percebes, copépodos y similares), o moluscos (p. ej., calamar, pulpo, oreja de mar, caracola, caracoles de roca, buccino, almejas, ostras, mejillones, berberechos y similares). Adicionalmente, o como alternativa, el animal puede ser un animal de compañía, tal como los caninos; felinos; conejos; roedores, tal como una rata, ratón, hámster, jerbo, cobaya o chinchilla; aves, tales como loros, canarios, periquitos, pinzones, cakatúas, guacamayos, periquitos o cakatúas; reptiles, tales como serpientes, lagartos, tortugas; peces; crustáceos; y anfibios, tales como ranas, sapos y tritones.

C. Administración

La composición desvelada puede administrarse individualmente o junto con una o más composiciones adicionales, incluyendo, pero sin limitación, un pienso, un complemento de pienso adicional, un medicamento, una vacuna, un probiótico, una combinación de los mismos. Cuando la composición divulgada se administra en combinación, la composición y la(s) composición(es) adicional(es) pueden administrarse sustancialmente de forma simultánea o secuencial, en cualquier orden. Cuando se administra de forma secuencial, la composición desvelada y cualquiera de las composiciones adicionales pueden administrarse de tal manera que un periodo de tiempo eficaz de la composición desvelada se solape con los periodos de tiempo eficaces de todas las composiciones adicionales administradas junto con la composición desvelada, siendo los periodos de tiempo eficaces los periodos de tiempo durante los cuales el animal recibe un efecto, tal como un efecto beneficioso, de las respectivas composiciones.

El antimicrobiano puede ser un antibiótico, un antifúngico, un antiparasitario, un antivírico, o una combinación de los mismos. Un antibiótico puede ser una tetraciclina, una penicilina, una cefalosporina, un antibiótico políéter, un glucopéptido, una ortosomicina o una combinación de los mismos. El antibiótico puede seleccionarse de, como ejemplo y sin limitación, virginiamicina, Bacitracina MD, Bacitracina de zinc, Tilosina, Lincomicina, Flavomicina, bambermicinas, Terramicina, Neo-Terramicina, florfenicol, ácido oxolínico, oxitetraciclina, peróxido de hidrógeno (Perox-Aid® 35 %), bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol, Pyceze®), sulfadimetozina, ormetoprim, Sulfadiazina, Trimetoprim, o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el antibiótico no es, o no comprende, peróxido de hidrógeno. En algunas realizaciones, el antibiótico es virginiamicina, Bacitracina MD, Bacitracina de zinc, Tilosina, Lincomicina, Flavomicina, bambermicinas, Terramicina, Neo-Terramicina, florfenicol, ácido oxolínico, oxitetraciclina, bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol, Pyceze®), sulfadimetozina, ormetoprim, Sulfadiazina, Trimetoprim, o combinaciones de los mismos.

Un antifúngico puede seleccionarse de, como ejemplo, formol, formol-F, bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol, Pyceze®), o una combinación de los mismos. Los antiparasitarios ilustrativos pueden seleccionarse de un anticoccidial, sulfato de cobre, fenbendazol, formol, formol-F, hiposalinidad, hadaclean A, pracicuantel, benzoato de emamectina (SLICE®), o una combinación de los mismos.

Los agentes anticoccidiales adecuados incluyen, pero sin limitación, ionóforos y productos químicos anticoccidiales. Los ionóforos pueden incluir, pero sin limitación, Monensina, Salinomycin, Lasalocid, Narasina, Maduramicina, Semduramicina, o combinaciones de los mismos.

Los productos químicos anticoccidiales pueden incluir, pero sin limitación, Nicarbazina, Maxiban, Diclazuril, Toltrazuril, Robenidina, Estenrol, Clopidol, Decoquinato, DOT (zoaleno), Amprolio o combinaciones de los mismos.

Las vacunas adecuadas pueden seleccionarse de vacunas vivas contra la coccidiosis, tales como COCCIVAC (p. ej., una composición que comprende ooquistes vivos de *Eimeria acervulina*, *Eimeria mivati*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mitis*, *Eimeria tenella*, *Eimeria necatrix*, *Eimeria praecox*, *Eimeria brunetti*, *Eimeria hagani*, o combinaciones de los mismos), LivaCox (una composición que comprende de 300 a 500 ooquistes esporulados vivos de cada línea atenuada de *Eimeria acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* en una solución acuosa al 1 % en p/v de cloramina B); ParaCox (una composición que comprende ooquistes esporulados vivos derivados de *E. acervulina* HP, *E. brunetti* HP, *E. maxima* CP, *E. maxima* MFP, *E. mitis* HP, *E. necatrix* HP, *E. praecox* HP, *E. tenella* HP y combinaciones de los mismos); Hatch Pack Cocci III (una composición que comprende ooquistes derivados de *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima*, *Eimeria tenella*, o combinaciones de los mismos); INOVOCOX (una composición que comprende ooquistes derivados de *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima*, *Eimeria tenella*, y una solución de cloruro de sodio); IMMUCOX (una composición que comprende ooquistes vivos derivados de *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima*, *Eimeria necatrix*, *Eimeria tenella*, y combinaciones de los mismos), Advent o combinaciones de los mismos. Las vacunas también pueden comprender ooquistes vivos del género *Eimeria*, por ejemplo, *Eimeria aurati*, *Eimeria baueri*, *Eimeria lepidosirenis*, *Eimeria leucisci*, *Eimeria rutila*, *Eimeria carpelli*, *Eimeria subepithelialis*, *Eimeria funduli* y/o *Eimeria vanasi*. Las vacunas también pueden comprender ooquistes del género *Epeimeria*, un nuevo género de coccidios que infecta a los peces.

Otras vacunas adecuadas incluyen, pero sin limitación, ALPHA DIP® 2000, ALPHA DIP® Vibrio, ALPHA MARINE® Vibrio, ALPHA DIP® ERM Salar, ALPHA JECT micro® 1 ILA, ALPHA JECT micro® 7ILA, ALPHA JECT® Panga, ALPHA JECT® 1000, ALHPA JECT® 2000, ALPHA JECT® 3000, ALPHA JECT® 3-3, ALPHA JECT® 4000, ALPHA JECT® 4-1,

ALPHA JECT® 5-1, ALPHA JECT® 5-3, ALPHA JECT® 6-2, ALPHA JECT® micro 1 ISA, ALPHA JECT® micro 2, ALPHA JECT® micro 4, Apex®-IHN, AQUAVAC® ERM Oral, AQUAVAC® ERM inmersión, AQUAVAC® FNM Inyectable, AQUAVAC® IPN Oral, AQUAVAC® RELERA™, AQUAVAC® Vibrio Oral, AQUAVAC® Vibrio Pasteurella inyección, AQUAVAC® Vibrio inmersión e inyectable, AQUAVAC-COL™ inmersión, AQUAVAC-ESC™ inmersión, Birnagen Forte 2, Ermogen, Forte Micro, Forte V II, Forte V1, Fry Vacc 1, Furogen Dip, ICTHIOVAC JG inyección, ICTHIOVAC® PD inmersión, Lipogen DUO, Lipogen Forte, Microvib, Norvax® Compact PD inyección, Norvax® Minova 4WD, Norvax® Minova 6 inyección, Norvax® STREP Si inmersión e inyección, Premium Forte Plus, Premium Forte Plus ILA, Renogen, Vibrogen 2, o combinaciones de los mismos.

- 10 Los complementos de pienso adicionales incluyen cualquier complemento de pienso adecuado. El complemento de pienso adicional puede incluir yuca, quillaja, o combinaciones de las mismas, como se ha descrito anteriormente. En determinadas realizaciones, el complemento de pienso comprende *Yucca schidigera* y *Quillaja saponaria*. El probiótico puede ser cualquier probiótico adecuado conocido por un experto habitual en la materia. En algunas realizaciones, el probiótico es una especie de *Bacillus* como se ha descrito anteriormente. Y en determinadas realizaciones, el probiótico comprende *Bacillus coagulans*.

En algunas realizaciones, la composición desvelada se administra con el pienso. La composición puede mezclarse con el pienso, tal como en una mezcla, para formar una composición de pienso. El pienso puede comprender uno o más carbonatos (incluido un carbonato metálico tal como el carbonato cálcico); un sulfato, incluido un sulfato metálico, tal como, pero sin limitación, sulfato de cobre, sulfato de cinc, sulfato de sodio y/o sulfato de potasio; una especie de cobre, tal como una especie de cobre que proporciona un ion de cobre, por ejemplo, una sal de cobre, incluyendo, pero sin limitación, sulfato de cobre, fluoruro de cobre, cloruro de cobre, bromuro de cobre, yoduro de cobre, óxido de cobre, carbonato de cobre o una combinación de los mismos; un oligoelemento, tal como, pero sin limitación, cloruro, fluoruro, yoduro, cromo, cobre, cinc, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, fósforo, potasio, sodio, azufre, selenio, o una combinación de los mismos; un agente de voluminosidad; un micro radiomarcador, tal como partículas de hierro recubiertas con un colorante; levadura; un vehículo; un colorante; un potenciador del sabor; un conservante; un aceite; una vitamina; yuca; quillaja; un probiótico; alicina; aliina; alinasa; algas; un polifenol o material vegetal que comprenda polifenol; un ácido sórbico o una sal del mismo; o una combinación de los mismos, como se ha descrito anteriormente.

- 30 En algunas realizaciones, la composición se administra diariamente al animal a intervalos de tiempo que se cree o se determina que son eficaces para lograr un resultado deseado, tal como un resultado beneficioso. La composición puede administrarse en una sola dosis diaria o en dosis divididas a lo largo del día.

De acuerdo con la invención, la cantidad puede ser de más de cero a 500 gramos por animal al día, tal como de 0,5 gramos a 250 gramos, de 5 gramos a 200 gramos o de 10 gramos a 70 gramos por animal y día. Como alternativa, la combinación puede suministrarse o administrarse en una cantidad de más de cero a 1000 mgs o más por kilogramo de peso corporal del animal al día, tal como de más de cero a 500 mgs por kilogramo de peso corporal. En otras realizaciones, la combinación se suministra o administra por peso de pienso animal. La combinación puede suministrarse o administrarse en una cantidad de más de cero a 0,165 kg por kg (150 kg por tonelada (2000 libras)) de pienso, tal como de $1,10 \times 10^{-4}$ a 0,11 kg por kg (de 0,1 kg a 100 kg por tonelada) de pienso. Como alternativa, la combinación puede suministrarse o administrarse en una cantidad de más de cero a 20 gramos por kilogramo de pienso, tal como de más de cero a 10 gramos de pienso.

En una realización, cuando se incorpora directamente a los piensos, la composición de complemento de pienso granulada puede añadirse en cantidades que varían de $1,10 \times 10^{-4}$ a 0,11 kg por kg (de 0,1 a 100 kg por tonelada (2000 libras)) de pienso. En algunas realizaciones, la composición de complemento de pienso granulada se añade en cantidades que varían de $1,10 \times 10^{-4}$ a 0,06 kg por kg (de 0,1 a 50 kg por tonelada) o de $1,10 \times 10^{-4}$ a 0,02 kg por kg (de 0,1 a 20 kg por tonelada) de pienso. En otras realizaciones, la composición de complemento de pienso granulada se añade al pienso en cantidades de $5,5 \times 10^{-4}$ a 0,01 kg por kg (de 0,5 kg a 10 kg por tonelada) de pienso. En determinadas realizaciones, la composición de complemento de pienso granulada puede añadirse a los piensos en cantidades que varían de $1,1 \times 10^{-3}$ a $5,5 \times 10^{-3}$ kg por kg (de 1 a 5 kg por tonelada) de pienso.

Cuando se expresa como porcentaje de materia seca de pienso, la composición de complemento de pienso granulada puede añadirse al pienso del animal en cantidades que varían del 0,01 al 2,5 % en peso, tal como de 0,0125 % a 2 % en peso. En un caso, la composición de complemento de pienso granulada se añade al pienso del animal en cantidades de 0,05 a 1,5 % en peso, tal como de 0,06 % a 1 % en peso. En otro caso, la composición de complemento de pienso granulada se añade en cantidades de 0,1 a 0,7 % en peso, tal como de 0,125 % a 0,5 % en peso.

Como alternativa, la composición de complemento de pienso granulada puede suministrarse directamente a los animales como complemento en cantidades de más de 0,01 gramos a 20 gramos por kilogramo de peso corporal vivo, tal como de 0,01 gramos a 10 gramos por kilogramo de peso corporal vivo, de 0,01 gramos a 1 gramo por kilogramo de peso corporal vivo, de 0,01 gramos a 0,5 gramos por kilogramo de peso corporal vivo o de 0,02 gramos a 0,4 gramos por kilogramo de peso corporal vivo al día. En algunas realizaciones, la composición de complemento de pienso granulada puede suministrarse para su uso con muchas especies de mamífero en cantidades de 0,05 gramos a 0,20 gramos por kilogramo de peso corporal vivo al día.

Para el ganado, la composición de complemento de pienso granulada puede suministrarse en el intervalo de 10 gramos por cabeza y día a 70 gramos por cabeza y día, tal como de 45 gramos por cabeza y día a 70 gramos por cabeza y día o de 50 gramos por cabeza y día a 60 gramos por cabeza y día. Un experto en la materia apreciará que la cantidad de la composición de complemento de pienso granulada suministrada al animal puede variar en función de diversos factores, entre los que se incluye, la especie del animal, el tamaño del animal y el tipo de pienso al que se añade la composición de complemento de pienso granulada.

Normalmente, la composición de complemento de pienso granulada se administra diariamente al animal a intervalos de tiempo que se cree o se determina que son eficaces para lograr un resultado beneficioso. La composición de complemento de pienso granulada puede administrarse en una sola dosis diaria o en dosis divididas a lo largo del día. En algunos casos, uno o más componentes individuales de la composición de complemento de pienso granulada pueden administrarse al animal en un primer momento, y los componentes restantes pueden administrarse individualmente o junto con uno o más momentos posteriores durante el mismo día.

V. Métodos de preparación del complemento de pienso

A. Antecedentes

Desde hace varios años se está intentando producir un complemento de pienso granulado adecuado compuesto por sílice, arcilla mineral, glucano y mananos. Se probaron varios métodos diferentes, tal como se indica con más detalle a continuación, pero esos métodos no producían gránulos adecuados para sustituir a la composición en polvo. La composición en polvo se mezcla suficientemente de tal manera que dos muestras cualesquiera tendrán sustancialmente la misma composición, y un animal recibe una dosis sustancialmente consistente de los componentes de la composición con cada administración. Además, después de la mezcla, la composición en polvo requiere un mínimo procesamiento, caso de haberlo, tal como deshidratación y granulación, lo que reduce los gastos operativos.

Uno de los intentos fue mezclar entre sí los ingredientes granulados de forma similar a como se mezclan los ingredientes en polvo. Sin embargo, una composición realizada con este método comprende gránulos de diferentes materiales con diferentes tamaños de partícula y densidades. Esto puede provocar la segregación de los ingredientes, de tal manera que los pesajes individuales del producto pueden no proporcionar una composición uniforme a los piensos mezclados posteriores.

También se probó la compactación activada por la humedad. En este método, se añadía agua para unir los ingredientes entre sí antes de compactarlos. Sin embargo, esto requería una etapa de deshidratación, lo que incrementó sustancialmente los costes operativos.

En otro intento se utilizó la aglomeración activada por la humedad. Este método utilizaba un aglutinante de almidón y añadía humedad para unir los ingredientes entre sí. Aunque se fabricaban y comercializaban gránulos, la adición del aglutinante de almidón dio lugar a problemas de crecimiento de moho en el producto, con la consiguiente reducción de la vida útil y posibles problemas de salud tanto para los animales como para los seres humanos. Además, la adición del aglutinante puede dar lugar a complicaciones normativas en distintos países, ya que cambia la formulación. Por otro lado, los gránulos tenían problemas de dispersión. La dispersión es la capacidad de la composición para volver a su forma original en polvo en contacto con un líquido, tal como una vez ingerido por el animal. Como se describe en el Ejemplo 14 con referencia al Método 6, una composición fabricada por aglomeración activada por humedad se dispersa lentamente en contacto con un líquido. Por ejemplo, después de pulverizarse con agua durante 2 minutos, en un tamiz de malla 500 (25 micrómetros) aún quedaba un 64 % en peso de una composición fabricada por aglomeración activada por humedad. Esto contrasta con tal solo un 16 % en peso de la composición en polvo y un 13 % en peso de la composición granulada desvelada fabricada con un proceso de compactación en seco.

Además, la aglomeración activada por humedad tenía problemas de segregación, ya que el proceso producía gránulos que tenían composiciones sustancialmente diferentes. Esto también era un problema para el proceso de mezcla de bajo/alto cizallamiento, otro proceso que se intentó. Por ejemplo, con ambos procesos, se observó que los gránulos más finos tenían una composición diferente a la de los gránulos más grandes y del producto en polvo. Sin desear quedar ligado a una teoría particular, esto podría deberse a que algunos componentes de la composición se adhieren mejor que otros durante el proceso de compactación, dando lugar a que determinados gránulos sean ricos en esos componentes en particular, en comparación con otros, normalmente gránulos más pequeños.

También se probó la compactación en seco. Este método simplemente compacta el polvo para formar aglomerados que posteriormente pueden molerse hasta alcanzar el tamaño deseado. No se añade aglutinante ni humedad. Inicialmente, este método no funcionaba bien porque los problemas de flujo del polvo impedían la introducción uniforme en los rodillos de compactación. En lugar de ello, se hacía rodar alrededor de los rodillos, sin entrar en la zona de agarre. Esto podría deberse, en parte, a la carga eléctrica que puede acumularse en las partículas de polvo, provocando la repulsión de otras partículas y de las superficies. Este problema se abordó introduciendo un mecanismo de alimentación, tal como un tornillo o una barrena, que ayudó a eliminar el aire arrastrado y empujó el polvo hacia la zona de compactación. El tornillo o la barrena pueden tener un paso continuo, o el paso puede variar, tal como aumentando, a lo largo de la longitud del tornillo o barrena hacia la zona de compactación para desairear el polvo y/o

precompactar el material antes de la zona de compactación. El tornillo o la barrena también pueden ayudar a impedir que los distintos ingredientes se separen mientras ruedan antes de entrar en la zona de compactación, garantizando así que cada gránulo tenga sustancialmente la misma composición.

- 5 El método de compactación en seco dio como resultado gránulos lo suficientemente resistentes como para no romperse y/o formar polvo durante el transporte o la manipulación, pero también que fueran capaces de dispersarse fácilmente al ser ingeridos por un animal, garantizando así que el animal recibiera todos los efectos beneficiosos de la composición. Como se indica en el presente documento, tras su administración a un animal, un complemento de pienso granulado fabricado con el método de compactación en seco proporcionó un mayor beneficio al animal, en
10 comparación con un animal al que se le administró un complemento de pienso en polvo, o con un animal al que no se le administró un complemento de pienso. El aumento del beneficio puede ser durante un periodo de tiempo determinado, como desde los primeros 28 días de administración hasta al menos los primeros 42 días de administración, y/o puede ser un cambio beneficioso para uno o más biomarcadores, tal como IL10RB. En algunas realizaciones de la invención, el periodo de tiempo es durante los primeros 28 días de administración, y en otras realizaciones, el periodo de tiempo es durante los primeros 42 días de administración.

Además, dado que no se añadieron aglutinantes ni humedad junto con los componentes de la composición, el método de compactación en seco no dio lugar a problemas de registro relativos al etiquetado y/o la composición o a una reducción de la vida útil debido a un mayor riesgo de formación de moho.

20 *B. Método de fabricación*

Un método general de fabricación del complemento de pienso granulado de la divulgación comprende la compactación de una composición que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, para formar aglomerados, y moler y
25 cribar los aglomerados para producir gránulos de un tamaño o intervalo de tamaños deseados, donde cada gránulo comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos. En algunas realizaciones, no se añade aglutinante y/o humedad a los componentes de la composición para formar los aglomerados. La figura 3 muestra un diagrama de flujo de un proceso general de preparación del complemento de pienso granulado. En la figura 3, los procesos opcionales de premezclado y reciclado se indican con flechas discontinuas. Estos procesos adicionales pueden ayudar a conseguir un tamaño óptimo de las partículas del producto final. Y la figura 4 proporciona un diagrama esquemático de una planta de granulación.

Normalmente, los componentes de la composición se premezclan antes de la compactación en sus cantidades relativas deseadas. Los componentes de la composición pueden proceder y/o estar preparados para tener
35 prácticamente el mismo tamaño, tal como componentes en polvo, antes de la premezcla. Sin desear quedar ligado a una teoría particular, el tener componentes de sustancialmente el mismo tamaño, puede ayudar al proceso de premezcla a formar una mezcla íntima de los componentes. Esto, a su vez, puede ayudar en el proceso de granulación desvelado a formar gránulos que comprendan cada uno de los componentes de la composición en cantidades relativas sustancialmente iguales. La premezcla puede realizarse mediante cualquier dispositivo de mezcla adecuado, tal como
40 una mezcladora de tambor, de cinta o de paleta, configurada en modo por lotes o continuo. La premezcla puede realizarse en el mismo lugar o en un lugar distinto, y la composición premezclada puede transportarse al compactador mediante una técnica adecuada, tal como una cinta transportadora, un elevador de cangilones, un sistema neumático, una barrena o un ascensor.

La figura 4 muestra un diagrama esquemático de una planta de granulación adecuada para producir el complemento de pienso granulado desvelado. Con referencia a la figura 4, los componentes, tal como una mezcla no compactada premezclada de ingredientes, se transportan a un recipiente receptor 12, como indica la flecha 14. Los ingredientes pueden transportarse mediante cualquier técnica adecuada, tal como una cinta transportadora, un elevador de cangilones y/o un sistema neumático. El recipiente receptor puede ser cualquier recipiente receptor adecuado, tal
50 como una tolva o un filtro receptor. Como alternativa, los componentes pueden añadirse al recipiente receptor 12 por separado y mezclarse en él, mediante un método adecuado (no mostrado). Los ingredientes se transportan desde el recipiente receptor 12 hasta una tolva 16, como indica la flecha 18. Opcionalmente, los ingredientes pueden mezclarse, tal como mediante una mezcladora de paleta y/o un tornillo, con material reciclado del recipiente 20, como indica la flecha 22. Los ingredientes combinados y el material reciclado opcional pueden desairearse y/o densificarse mediante una técnica adecuada, tal como al vacío, uno o más tornillos de compactación 24, o una combinación de los mismos.
55 A continuación, el material se transporta a un compactador 26. El tornillo de compactación 24 también puede ayudar a proporcionar al compactador 26 un flujo sustancialmente constante de mezcla no compactada, y/o ayudar a impedir la separación de los ingredientes antes de la compactación. En algunos casos, se utiliza un aparato de compactación de doble tornillo. Y en casos alternativos, la mezcla no compactada puede introducirse en el compactador 26 utilizando alimentación por gravedad.

El compactador 26 puede ser cualquier compactador adecuado para compactar la mezcla en una forma compactada. Los compactadores adecuados incluyen, pero sin limitación, una prensa de rodillos, una prensa de comprimidos o una prensa de bloques. En determinados casos, el compactador 26 es un compactador de prensa de rodillo, que
65 normalmente comprende dos o más rodillos 28 que compactan la mezcla en aglomerados al pasar entre ellos. La forma de los aglomerados depende normalmente del tipo de compactador y/o de la forma de los rodillos. La forma de

- los aglomerados puede ser, pero sin limitación, una briqueta, cinta, lámina, copo, barra, lápiz o combinaciones de los mismos. En algunos casos, un aglomerado individual tiene una densidad específica de 961,1 kg/m³ (60 lb/pie³) a 2402,8 kg/m³ (150 lb/pie³) o mayor, tal como de 1201,4 kg/m³ (75 lb/pie³) a 1922,2 kg/m³ (120 lb/pie³), de 1441,7 kg/m³ (90 lb/pie³) a 1841,1 kg/m³ (115 lb/pie³) o de 1521,8 kg/m³ (95 lb/pie³) a 1762,0 kg/m³ (110 lb/pie³). En cambio, la
- 5 composición en polvo de partida puede tener una densidad aparente de más de cero a 961,1 kg/m³ (60 lb/pie³), tal como de 240,3 kg/m³ (15 lb/pie³), a 881,0 kg/m³ (55 lb/pie³), de 320,4 kg/m³ (20 lb/pie³) a 640,7 kg/m³ (40 lb/pie³) o de 400,5 kg/m³ (25 lb/pie³) a 720,8 kg/m³ (45 lb/pie³), para obtener una densidad aparente global de 720,8 kg/m³ (45 lb/pie³).
- 10 La figura 5 muestra un diagrama esquemático de un compactador 26, que ilustra la zona de agarre 50 entre dos rodillos 28 en un compactador de prensa de rodillo. Con referencia a la figura 5, la región de agarre 50 está situada entre los dos rodillos 28 en la región donde la distancia entre los rodillos se aproxima a una distancia 52 mínima. Las flechas 54 indican las respectivas direcciones de giro de los rodillos 28. Encima de la región de agarre 50 se encuentra la
- 15 región de deslizamiento 56. Las partículas de la región de deslizamiento 56 pueden rodar entre los rodillos 28 sin compactarse. Sin embargo, una vez que descienden a la región de agarre 50, la acción de los rodillos 28 compacta las partículas entre sí para formar aglomerados de la composición. Mientras los rodillos 28 siguen girando, la composición compactada se desplaza a través de la región de agarre 50 y se libera a medida que la distancia entre los lados de los rodillos aumenta desde la distancia 52 mínima.
- 20 En algunos casos, un sistema de suministro mecánico, tal como el tornillo de compactación 24 de la figura 4, agita las partículas no compactadas para liberar al menos una parte del aire atrapado y/o ejerce una presión sobre las partículas no compactadas (indicada con las flechas 60 en la figura 5) que empuja a las partículas desde la región de deslizamiento 56 hacia la región de agarre 50.
- 25 Las partículas no compactadas se compactan en aglomerados, tal como briquetas, en la región de agarre 50. La densidad específica de los aglomerados depende, al menos en parte, de la anchura de hueco, que, a su vez, viene determinada por la velocidad de los rodillos (velocidad de rodillo), la velocidad a la que las partículas no compactadas se introducen en la región de agarre 50 (velocidad de avance), y el punto de ajuste de la presión (presión del rodillo). La anchura de hueco y la velocidad del rodillo pueden ajustarse para conseguir la densidad específica deseada. Y en
- 30 algunos casos, la velocidad de avance y la velocidad del rodillo se ajustan al mismo tiempo para mantener sustancialmente una relación seleccionada, de este modo se mantiene sustancialmente la densidad de los aglomerados.
- De nuevo haciendo referencia a la figura 4, los aglomerados se transportan desde el compactador 26 a un molino 30, como indican las flechas 32 y 34. El transporte puede realizarse mediante cualquier aparato 36 adecuado, tal como una cinta transportadora, un elevador de cangilones, o una combinación de los mismos. Los aglomerados, tales como briquetas o láminas, se agrietan y/o rompen, tal como mediante un eje giratorio, y a continuación se sigue moliendo para formar gránulos. El molino 30 puede ser cualquier molino 30 adecuado, tal como un molino de impacto, un molino triturador, un molino de cizalla, un molino de compresión, o una combinación de los mismos. El molino 30 puede ser
- 40 un molino de martillo, pulverizador o molino de energía fluida, molino de torre, molino de volteo, molino de impacto mecánico, molino de cono, molino triturador de compresión, tal como una trituradora de mandíbula, trituradora giratoria, o trituradora de rodillo, o una combinación de los mismos. En algunos casos, se utiliza un molino de rodillo trifásico, con anchuras de separación progresivamente más estrechas que reducen el tamaño de las partículas a un intervalo de tamaño deseado.
- 45 El producto molido se criba después en una cribadora 38 para seleccionar gránulos que tengan un tamaño con un intervalo de tamaño deseado. Normalmente, la cribadora 38 comprende al menos una doble criba que elimina sustancialmente tanto las partículas sobredimensionadas (de tamaño excesivo) como las infradimensionadas (de tamaño insuficiente). Las cribadoras 38 adecuadas incluyen una cribadora vibratoria plana, aunque podrían utilizarse otros tipos de sistemas de cribado, tal como el cribado por rodillos, cribado vibratorio, cribado giratorio o clasificación por aire. En algunas realizaciones, el producto molido pasa primero por un tamiz o criba de malla grande, para eliminar los gránulos que superen el límite superior del intervalo de tamaño. A continuación, los gránulos se exponen a un tamiz o criba de malla pequeña que deja pasar las partículas de tamaño inferior al límite inferior del intervalo de tamaño deseado. En otros casos, el producto molido se expone primero al tamiz o criba de malla pequeña, para eliminar las
- 55 partículas de tamaño inferior. A continuación, los gránulos restantes se pasan por un tamiz o criba de malla más grande, para eliminar las partículas sobredimensionadas. En ambos casos, los gránulos restantes tienen el tamaño deseado. Normalmente, la cribadora 38 da como resultado una composición en la que aproximadamente el 95 % de los gránulos, tal como el 97 % o el 99 % de los gránulos, tiene un tamaño dentro del intervalo de tamaño deseado. El tamaño de los gránulos puede medirse de acuerdo con la norma ANSI/ASAE 5319.4, "Method of Determining and Expressing Fineness of Feed Material by Sieving". Las partículas seleccionadas se transportan a un recipiente de producto (no mostrado), tal como una tolva, como indica la flecha 40, por ejemplo, para su transporte y/o venta envasado. Opcionalmente, el material sobredimensionado o infradimensionado puede transportarse de vuelta al recipiente 20 para su reciclado, como indica la flecha 42, mediante una técnica adecuada, tal como una cinta transportadora, un elevador de cangilones, neumáticamente a presión reducida, o una combinación de los mismos.
- 60 Este reciclaje minimiza los residuos del proceso y ayuda a reducir costes. Como alternativa, el material sobredimensionado se separa del fino, se pasa por un molino, tal como el molino 30, y se devuelve al sistema de criba
- 65

para su reprocesamiento. Y/o los aglomerados del compactador 26 pueden separarse de los finos en un aparato de cribado (no mostrado) para reducir la carga de finos en el sistema de cribado 38.

VI. Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar un método ilustrativo de producción de la composición granulada desvelada, y para ilustrar determinados efectos ventajosos de administración a un animal, de una combinación que comprende sílice, glucano, mananos y arcilla mineral. Un experto familiarizado con la materia apreciará que el alcance de las realizaciones desveladas no se limita a las características ilustradas por estas realizaciones de trabajo.

Ejemplo 1

Ensayo piloto de granulación

Introducción

Utilizando un compactador de prensa de rodillo se obtuvo un complemento de pienso granulado para crear aglomerados que posteriormente se molieron y tamizaron hasta alcanzar el tamaño deseado. Este proceso se desarrolló a partir de los resultados obtenidos utilizando sucesivamente compactadores de rodillo, fresadoras y cribadoras de mayor tamaño para conseguir un proceso a escala real, tal como el aparato ilustrativo a escala real mostrado en la figura 4.

Ensayo piloto de investigación

Se realizó un estudio piloto en donde una composición en polvo que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos se compactó en briquetas. La composición en polvo tenía una densidad aparente de $640,7 \text{ kg/m}^3$ (40 lb/pe^3) y cada briketa tenía una densidad de aproximadamente $1650,0 \text{ kg/m}^3$ (103 lb/pe^3). La compactación se realizó con una prensa de rodillo Komarek B220 y un tornillo horizontal de "precompactación". Las briquetas compactadas se "trituraron cuidadosamente", tal como para evitar el uso de trituradoras de alta velocidad y cizalla, para conseguir un 42 % en peso de malla estándar estadounidense de 12×20 (de 1,7 mm a 0,841 mm) después del cribado.

En la tabla 1 se indican parámetros de funcionamiento importantes.

Tabla 1. Principales parámetros de funcionamiento de la prensa de rodillos B220

Parámetro	Producto	
	Cinta	Briketa
Rodillo inferior	5,1 cm de ancho $\times$ 30,5 cm de diámetro de onda (2 pulg. $\times$ 12 pulg.)	Bolsillo estándar de 5,1 cm de ancho $\times$ 30,5 cm de diámetro (2 pulg. $\times$ 12 pulg.)
Rodillo superior	5,1 cm de ancho $\times$ 30,5 cm de diámetro de onda (2 pulg. $\times$ 12 pulg.)	5,1 cm de ancho $\times$ 30,5 cm de diámetro liso (2 pulg. $\times$ 12 pulg.)
Juego de separación de rodillos, mm	4,06 (0,16 pulg.)	0,76 (0,03 pulg.)
Tornillo de alimentación	Paso constante	Paso constante
Presión del acumulador	4137 kPa (600 psi)	4137 kPa (600 psi)
Velocidad de accionamiento del motor de rodillo, Hz	12	7
Velocidad de accionamiento del motor de tornillo, Hz	30	18
Potencia del rodillo, kW	0,61	0,40
Potencia del tornillo, kW	0,70	0,50
Presión hidráulica del ariete, kPa	2068 (300 psi)	5171 (750 psi)
Potencia unitaria del rodillo, kWh/tonelada	6,3 (5,7 kWh/tonelada)	7,4 (6,7 kWh/tonelada)
Potencia unitaria del tornillo, kWh/tonelada	7,2 (6,5 kWh/tonelada)	9,3 (8,4 kWh/tonelada)
Fuerza de cierre unitaria, tonelada/cm anchura del rodillo	0,6 (1,8 ton/pulg.)	1,6 (4,4 ton/pulg.)

(continuación)

Parámetro	Producto	
	Cinta	Briqueta
Separación del rodillo en funcionamiento, mm	7,11 (0,28 pulg.)	2,54 (0.1 pulg.), temperatura de alimentación estimada,
°C	15 (59 °F)	12,8 (55 °F)
Temperatura del producto, °C	25 (77 °F)	25 (77 °F)
Producción, kg/h	97,5 (215 lb/h)	54,0 (119 lb/h)

Desarrollo del proceso

- 5 Para lograr la compactación en seco, es necesario aplicar una fuerza suficiente para superar las fuerzas de Van der Waals, concretamente la repulsión debida a las cargas electrostáticas, de modo que las partículas se veían obligadas a interactuar. Esto se consiguió dentro de la región de agarre (figura 5) en un compactador de rodillos con la fuerza adecuada. El estudio piloto fue una prueba de concepto de que la compactación por rodillo funcionaba, pero al principio no estaba claro si era necesario un tornillo de compactación para lograr una presión de alimentación constante (figura 10 5). Después de la prueba de alimentación por gravedad, se llegó a la conclusión de que la fuerza aplicada en la región de agarre era importante, pero insuficiente para compactar la composición. La composición simplemente retenía demasiado aire para usar sólo la compactación por rodillo. Se añadió un tornillo para conseguir una presión de alimentación más constante y se adquirieron briquetas utilizando los parámetros indicados en la Tabla 2.

- 15 **Tabla 2.** Parámetros de funcionamiento de la briqueteadora Komarek MS de 68 toneladas (75 toneladas)

Parámetro	
Velocidad de accionamiento del motor de rodillo (Hz)	25
Velocidad de rodillo (RPM)	2,2
Tornillo de alimentación	Paso constante
Velocidad de accionamiento del motor de tornillo (Hz)	60
Velocidad del tornillo (RPM)	88,5
Potencia del rodillo (kW)	12,5
Fuerza de cierre unitaria (kg/cm)	11,3 (4,5 st/pulg)
Distancia de rodillo en funcionamiento (mm)	2,0 (0,08 pulg)
Temperatura de alimentación (grados C)	12,8 (55 grados F)
Temperatura del producto (grados C)	38,9 (102 grados F)
Presión hidráulica del cilindro (kPa)	12410,6 (1800 psi)
Potencia unitaria del rodillo (kWh/kg)	1,4 (8,8 kWh/st)
Potencia unitaria del tornillo (kWh/kg)	2,6 (16,7 kWh/st)
Producción kg/h	1165,7 (2570 lb/h)
Densidad de briqueta kg/m ³	1730,0 (108 lb/pe ³)

- 20 El gran aumento de temperatura se debió probablemente al contacto de los rodillos, ya que la separación de los rodillos era desigual en toda su anchura. A una fuerza unitaria de cierre superior a 1,6 ton. mét./cm (4,5 ton (2000 libras)/pulg) se evidenciaron fracturas por tensión de deslizamiento que indicaban un exceso de compactación y el posterior "rebote" al salir de la zona de agarre.

- 25 Las briquetas producidas con esta máquina se probaron con diferentes fresadoras y cribadoras. La Tabla 3 muestra la distribución de los tamaños de los productos obtenidos moliendo las briquetas con un molino de rodillo. El análisis granulométrico se realizó en un agitador RoTap® durante 3 minutos.

Tabla 3. Análisis granulométrico de briquetas molidas

Tamaño en micrómetros	Peso en gramos	%	% inferior a
3.350	0	0,00 %	100,00 %
2.360	0,1	0,10 %	99,90 %
1700	0,4	0,40 %	99,50 %
1180	12,3	12,30 %	87,20 %
850	24,7	24,70 %	62,50 %

(continuación)

Tamaño en micrómetros	Peso en gramos	%	% inferior a
600	16,2	16,20 %	46,30 %
425	6,9	6,90 %	39,40 %
300	5,5	5,50 %	33,90 %
212	5,3	5,30 %	28,60 %
150	5,6	5,60 %	23,00 %
106	6,2	6,20 %	16,80 %
75	3,6	3,60 %	13,20 %
53	2,5	2,50 %	10,70 %
37	10,7	10,70 %	0,00 %
Total	100	100,0 %	

Utilizando estos resultados, se seleccionó un tamaño de producto final de 600 micrómetros a 1.700 micrómetros como objetivo para la composición granulada. Seguidamente, se probó una cribadora vibratoria para determinar si el cribado sería posible a una velocidad de producción total deseada, tal como un rendimiento de 30 toneladas/hora, con una carga de finos del 70 % (que tiene un tamaño de partícula inferior a 600 micrómetros). Los datos de cribado de la cribadora seleccionada se muestran en las tablas 4-7. Cualquier material que no cumplía el requisito de tamaño de 600 a 1.700 micrómetros se reciclaba de nuevo al compactador para ser compactado y molido de nuevo.

10

Tabla 4. Datos de cribado de una muestra de pienso

Abertura (mm)	Peso (g)	porcentaje	acumulado
3,350	0,1	0,1	0,1
2,360	1,0	0,7	0,7
2,000	1,1	0,7	1,5
1,700	0,9	0,6	2,1
1,400	2,1	1,4	3,5
1,180	10,5	7,0	10,4
1,000	10,0	6,6	17,1
0,850	8,5	5,7	22,7
0,710	7,9	5,3	28,0
0,600	5,9	3,9	31,9
0,500	8,2	5,5	37,4
0,425	13,6	9,0	46,4
0,355	11,7	7,8	54,2
0,300	10,6	7,0	61,2
0,250	11,3	7,5	68,8
0,212	5,7	3,8	72,5
0,180	8,4	5,6	78,1
0,150	7,0	4,7	82,8
	25,9	17,2	100,0
	150,4		

Tabla 5. Datos de cribado de un complemento de pienso compactado

Abertura (mm)	Peso (g)	porcentaje	acumulado
1,700	2,1	0,5	0,5
1,400	13,4	3,5	4,0
1,180	77,8	20,3	24,4
1,000	78,0	20,4	44,7

(continuación)

Abertura (mm)	Peso (g)	porcentaje	acumulado
0,850	67,1	17,5	62,3
0,710	63,2	16,5	78,8
0,600	43,0	11,2	90,0
0,500	31,9	8,3	98,4
0,425	4,8	1,3	99,6
0,355	0,6	0,2	99,8
0,250	0,3	0,1	99,8
0,150	0,1	0,0	99,9
	0,5	0,1	100,0
	382,8		

Tabla 6. Datos de cribado de un complemento de pienso compactado después de pasar cinco veces por el agitador Texas para evaluar su durabilidad.

Abertura (mm)	Peso (g)	porcentaje	acumulado
1,700	3,1	1,1	1,1
1,400	10,7	3,7	4,8
1,180	63,2	22,0	26,8
1,000	63,2	22,0	48,9
0,850	54,0	18,8	67,7
0,710	50,6	17,6	85,3
0,600	32,6	11,4	96,7
0,500	9,2	3,2	99,9
0,425	0,1	0,0	99,9
0,355	0,0	0,0	99,9
0,250	0,0	0,0	99,9
0,150	0,0	0,0	99,9
	0,2	0,1	100,0
	286,9		

5

Tabla 7. Resumen de los datos del cribado

Número de prueba:	Prueba 7	Prueba 8
Fuente de pienso:	muestra original	material infradimensionado de un proceso de compactación anterior
Tela de cribado:	abertura de tela de 0,055".	abertura de tela de 0,0233"
Capacidad simulada:	3051,5 kg/(m ² ·hr) (625 libras/(pie ² ·hora))	3002,7 kg/(m ² ·hr) (615 libras/(pie ² ·hora))
Tamaño simulado de la máquina para 22,7 ton. mét/hora (25 tph):	7,4 m ² (80 pie ²)	7,4 m ² (80 pie ²)
Sobredimensionado:	0,4 kg (0,8 libras)	6,6 kg (14,5 libras)
Finos (infradimensionado):	20,6 kg (45,5 libras)	13,2 kg (29 libras)
Porcentaje de finos:	98,3 %	66,7 %
Eficacia del cribado:		95,2 %
	Resumen	
Sobredimensionado	0,4 kg (0,8 libras)	1,8 %
Producto (intervalo de tamaño deseado)	6,6 kg (14,5 libras)	32,7 %
Finos (infradimensionado)	13,2 kg (29 libras)	65,5 %

Ampliación del compactador/tornillo de compactación

Para alcanzar una capacidad de producción deseada de producto acabado con 60-70 % de reciclado era necesario un compactador más grande que la máquina de ensayo Komarek MS. Se determinó que la Bollinger 230A tiene una fuerza de cierre unitaria (Tabla 8) y un rendimiento (Tabla 9) adecuados.

5

Tabla 8. Fuerza de cierre a 12,4 MPa (1800 PSI) Presión hidráulica

Tamaño del cilindro hidráulico (cm)	Superficie compacta (cm ²)	Fuerza de cierre (tonelada métrica)	Fuerza unitaria de cierre por unidad de anchura de rodillo (tonelada métrica/cm)
12,88 (5,07 pulg)	520,97 (80,75 pulg ²)	65,93 (72,68 ton)	1,73 (4,84 ton/pulg)

Tabla 9. Rendimiento de la compactadora de rodillos Bollinger 230A

Número de briquetas por rodillo	Número de filas	Briquetas por revolución	Volumen de briketa (cm ³)	Velocidad de rodillo máxima (RPM)	Densidad compactada (kg/m ³)
65	5	325	26,5 (1,62 pulg ³)	35,6	1601,9 (100 lb/pie ³)

10 Utilizando los datos obtenidos en la prueba piloto y en la simulación (véase el ejemplo 2), se diseñó un tornillo de compactación para controlar la presión de entrada en la zona de agarre. El tornillo se diseñó para poder desplazar al menos 61,43 m³/hora (2169,33 pies³/hora). Un tornillo que se espera que duplique la densidad (normalmente en la compactación por tornillo) a través de la desaireación necesitaría desplazar el doble de ese volumen.

15 **Ejemplo 2**

Introducción

20 Se podría obtener un producto granulado utilizando una prensa de rodillo para crear aglomerados. El modelo de Johanson para la compactación con rodillo se verificó experimentalmente para predecir las distribuciones de esfuerzo y la densidad compactada. Específicamente, el modelo de Johanson se aplicó a una composición que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, utilizando la información obtenida de los estudios de materiales descritos en el Ejemplo 1 como entradas para el modelo, para predecir resultados tales como la densidad compactada, rendimiento y anchura de hueco. Utilizando esta información, se produjeron briquetas de la composición en máquinas posteriores de mayor tamaño. Se planteó la hipótesis de que controlando la densidad compactada se obtendrían gránulos compactados con los siguientes parámetros manejables:

- Distribución por tamaño
- Solubilidad en agua
- 30 • Dureza/friabilidad

En otras palabras, la densidad compactada podría utilizarse para determinar la calidad de los gránulos creados en operaciones unitarias posteriores. La densidad podría controlarse directamente ajustando los parámetros de la prensa de rodillo, mientras que la propiedad del gránulo de interés dependería de etapas de procesamiento adicionales. La densidad, la anchura de hueco de rodillo y la velocidad de rodillo determinan el ritmo de producción. Una vez seleccionadas las briquetas de una determinada densidad en función de las características de los gránulos mencionadas anteriormente, la anchura de hueco y la velocidad de los rodillos se ajustaron para maximizar la producción del tipo de briketa de interés.

40 **Modelo de compactación con rodillo**

Utilizando el Modelo de Johanson para la compactación con rodillo y los parámetros de funcionamiento del Ejemplo 1, una simulación produjo briquetas que tienen densidades compactas dentro del 1 % de las briquetas creadas en el Ejemplo 1 en la prensa de rodillo B220 (Tablas 10 y 11).

45

Tabla 10. Condiciones de funcionamiento de la prensa de rodillo B220

Parámetro	Valor	Unidad	Descripción
δ	46	grados	Ángulo efectivo de fricción interna (informe sobre la manipulación de sólidos)
ϕ	29,06	grados	Ángulo de fricción de pared (Informe sobre la manipulación de sólidos)
R	0,15 (0,5 pies)	m	Radio del rodillo
A	0,01 (0,13 pies. ²)	m ²	Superficie compacta
W	0,05 (0,17 pies)	m	Anchura del rodillo

(continuación)

Parámetro	Valor	Unidad	Descripción
h	6,10 (0,02 pies)	mm	Punto de ajuste de la separación entre rodillos
C1	$2,58 \times 10^{-13}$ ($8,46 \times 10^{-13} (\text{lb}/\text{pie}^2)/(\text{lb}/\text{pie}^3)^{9,2336}$)	$\text{kg}/\text{m}^2/(\text{kg}/\text{m}^3)^{9,2336}$	Constante de compactación en relación con la densidad y la presión
K	9,23		Constante de compactación en relación con la densidad y la presión
P_h	5,17 (750 psi)	MPa	Presión hidráulica

Tabla 11. Densidad compactada del experimento y de un compactador de simulación

Densidad experimental de la briqueta (kg/m³)	Densidad simulada de la briqueta (kg/m³)	Diferencia porcentual
1655,19 (103,33 lb/pie³)	1634,84 (102,06 lb/pie³)	0,82 %

- 5 Al utilizar, en cambio, los parámetros de funcionamiento (Tabla 12) de la prensa de rodillo Komarek en el mismo lugar para los estudios piloto, se simuló la distribución de la densidad para un amplio intervalo de presión hidráulica (figura 6).

Tabla 12. Parámetros de funcionamiento de la prensa de rodillo Komarek

Parámetro	Valor	Unidad	Descripción
δ	46	grados	Ángulo efectivo de fricción interna (informe sobre la manipulación de sólidos)
φ	29	grados	Ángulo de fricción de pared (Informe sobre la manipulación de sólidos)
R	0,26 (0,84 pies)	m	Radio del rodillo
A	0,080 (0,86 pie²)	m²	Superficie compacta
W	0,20 (0,65 pies)	m	Anchura del rodillo
h	1,98 (0,078 pulg.)	mm	Distancia entre rodillos (total)
C1	$2,58 \times 10^{-13}$ ($8,46 \times 10^{-13} (\text{lb}/\text{pie}^2)/(\text{lb}/\text{ft}^3)^{9,2336}$)	$(\text{kg}/\text{m}^2)/(\text{kg}/\text{m}^3)^{9,2336}$	Constante de compactación en relación con la densidad y la presión
K	9,23		Constante de compactación en relación con la densidad y la presión
P_h	5,17-20,7 (750-3000 psi)	MPa	Presión hidráulica
ω	2	RPM	Velocidad del rodillo
u_{in}	0,57 (1,87 pie/min)	m/min	Velocidad lineal del tornillo (estimada)

La tabla 13 muestra la correspondencia entre la densidad de las briquetas simuladas y los resultados experimentales a presiones nominales de 13,8 MPa (2000 PSI) y 10,3 MPa (1500 PSI).

Tabla 13. Densidad compactada del experimento y de un compactador de simulación Komarek

Densidad experimental de la briqueta (kg/m³)	Densidad de la briqueta simulada (kg/m³)	Diferencia porcentual	Presión (MPa)
1821,0 (113,68 lb/pie³)	1783,3 (111,33 lb/pie³)	2,09 %	13,8 (2000 PSI)
1715,6 (107,10 lb/pie³)	1730,3 (108,02 lb/pie³)	0,85 %	10,3 (1500 PSI)

Los resultados indicaron que el modelo teórico podía ampliarse para controlar eficazmente la calidad de las briquetas con la prensa de rodillo de producción a escala real fabricada por Bollinger/Lewis Mechanical, se simularon las condiciones de funcionamiento que figuran en la Tabla 14 y se comprobó que eran satisfactorias sin necesidad de modificar significativamente la máquina. Los resultados de la simulación y los datos experimentales reales de densidad se comparan en las Tablas 15 y 16.

Tabla 14. Parámetros de funcionamiento de la prensa de rodillo Bollinger

Parámetro	Valor	Unidad	Descripción
δ	46	grados	Ángulo efectivo de fricción interna (informe sobre la manipulación de sólidos)

(continuación)

Parámetro	Valor	Unidad	Descripción
ϕ	29	grados	Ángulo de fricción de pared (informe sobre la manipulación de sólidos)
R	0,46 (1,5 pies)	m	Radio del rodillo
A	0,27 (2,94 pie ²)	m ²	Superficie compacta
W	0,38 (1,25 pies)	m	Anchura del rodillo
h	1,55 (0,061 pulg.)	mm	Distancia entre rodillos (total)
C1	$2,58 \times 10^{-13}$ ($8,46 \times 10^{-13}$ (lb/ft ²)/(lb/ft ³) ^{9,2336})	(kg/m ²)/(kg/m ³) ^{9,2336}	Constante de compactación en relación con la densidad y la presión
K	9,23		Constante de compactación en relación con la densidad y la presión
P _h	12,4 (1800 psi)	MPa	Presión hidráulica
ω	7,72	RPM	Velocidad del rodillo
u _{in}	3,84 (12,6 pies/min)	m/min	Velocidad lineal del tornillo

Tabla 15. Densidad compactada del experimento y de un compactador de simulación Bollinger

Densidad experimental de la briqueta (kg/m ³)	Densidad simulada de la briqueta (kg/m ³)	Diferencia porcentual
1748,74 (109,17 lb/pie ³)	1807,84 (112,86 lb/pie ³)	3,32 %

5

Tabla 16. Anchura de hueco del experimento y del compactador de simulación Bollinger

Anchura (mm) de hueco de la briqueta experimental	Anchura de hueco de la briqueta simulada (mm)
29,9 (0,098 pie)	21,0 (0,069 pie)

Las simulaciones indican que las densidades compactas son más sensibles a los cambios de presión en el extremo inferior del intervalo simulado de 5,2-20,7 MPa (750-3000 psi) (figura 6). Esta no linealidad es un aspecto importante para el diseño del control. Para dilucidar mejor la respuesta dinámica a los cambios en las entradas, se llevó a cabo una simulación que tenía en cuenta el balance de materiales. La introducción del balance de materia (ecuaciones 1 y 2) permite incluir una dependencia temporal en el modelo de compactación con rodillo.

10

$$\rho_{salida} R \omega h_0 = \rho_{en} u_{en} (h_0 + 1 - \cos \theta_{en}) - \left[\int_0^{x_{en}} \rho dx \right] \frac{dh_0}{dt} \quad (\text{Ecuación 1})$$

o

15

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{h_0}{R} \right) = \frac{\omega \left[\rho_{en} \cos \theta_{en} \left(\frac{u_{en}}{\omega R} \right) \left(\frac{h_0}{R} + 1 - \cos \theta_{en} \right) - \rho_{salida} \left(\frac{h_0}{R} \right) \right]}{\int_0^{\theta_{en}} \rho(\theta) \cos \theta d\theta} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Resolviendo iterativamente las ecuaciones diferenciales fue posible simular el comportamiento dinámico del proceso de compactación. Tenga en cuenta que cada variable controlable (velocidad de rodillo, punto de ajuste de presión y velocidad del tornillo, que a su vez afecta a la velocidad de avance) afecta a la anchura de hueco y, y, por tanto, la densidad de briqueta no es lineal. Por tanto, era importante determinar cómo afecta cada uno de ellos a la anchura de hueco y densidad de forma independiente. Todas las simulaciones se realizaron con valores nominales para facilitar la visualización de los efectos de los cambios de etapa.

20

Las figuras 7-9 ilustran el efecto que tiene un cambio de etapa en la presión (figura 7) sobre la densidad de la briqueta (figura 8) y la anchura de hueco (figura 9). Al aumentar la presión de 13,8 MPa (2.000 psi) a 27,6 MPa (4.000 psi) (línea 1 de la figura 7), la densidad aumenta (línea 1 de la figura 8) a medida que disminuye la anchura de hueco (línea 1 de la figura 9). Y las líneas 2 y 3 de las figuras 7-9 ilustran el efecto de aumentar la presión de 13,8 MPa (2.000 psi) a 20,7 MPa (3.000 psi), o de disminuir la presión de 13,8 MPa (2.000 psi) a menos de 10,3 MPa (1.500 psi), respectivamente.

25

Las figuras 10-12 ilustran el efecto que tienen los cambios de etapa en la velocidad de los rodillos (figura 10) sobre la densidad (figura 11) y la anchura de hueco (figura 12). A medida que aumenta la velocidad del rodillo (líneas 1 y 2 de la figura 10), aumenta la densidad (líneas 1 y 2 de la figura 11) y disminuye la anchura de hueco (líneas 1 y 2 de la figura 12). Se observó el efecto contrario para una disminución de la velocidad del rodillo (línea 3 en las figuras 10-12).

35

En la figura 13 se muestra un cambio de etapa en la velocidad de avance. Y en las figuras 14 y 15 se muestran los

efectos relacionados sobre la densidad y la anchura de hueco, respectivamente. La densidad disminuyó al aumentar la velocidad de avance (líneas 1 y 2 de las figuras 13 y 14), mientras que la anchura de hueco aumentó (líneas 1 y 2 de la figura 15). El efecto inverso se observó para una disminución escalonada de la velocidad de avance (línea 3 de las figuras 13-15).

Para determinar un esquema de control de la calidad de las briquetas, es necesario seleccionar dos de estos tres parámetros para reducir los grados de libertad a cero y hacer que el problema de control sea determinado. Proporcionalmente, teniendo en cuenta la magnitud del cambio, la presión de los rodillos tiene el mayor impacto en la densidad de las briquetas. Las tres variables afectaron a la anchura de hueco, pero la velocidad de avance tiene un efecto menos pronunciado sobre la densidad, proporcionalmente, que las otras dos variables. Por tanto, se seleccionaron como variables de interés la velocidad de avance y la presión de los rodillos. Por otro lado, el mantenimiento de una relación constante entre la velocidad de avance y la velocidad del rodillo permitió mantener una densidad y una anchura de hueco determinadas (figuras 16-19). Esto redujo considerablemente la complejidad de la simulación para un control de realimentación y permitió realizar ajustes sobre la marcha sin afectar gravemente a la calidad o mediante el control de realimentación. Nótese que los picos iniciales en los gráficos de anchura de hueco y densidad (figuras 18 y 19, respectivamente) se debieron a que las conjeturas iniciales en el solucionador ODE estaban ligeramente desviadas, como ilustra la magnitud del cambio en el eje y.

Para reducir aún más la complejidad computacional, la ecuación no lineal para resolver el ángulo de agarre en el modelo de compactación de Johanson podría aproximarse si escala linealmente (o casi linealmente) con la anchura de hueco. La figura 20 muestra que este es el caso de la composición desvelada, y por lo tanto el problema de control se simplificó aún más.

Análisis

Mediante simulación y posterior experimentación, se controló la calidad de la briketa y el rendimiento del proceso de compactación. El control de estos parámetros permitió controlar eficazmente la calidad del producto final y ayudó a determinar los puntos de ajuste de otros equipos, tales como sartenes vibratorias, cribadores, molinos, etc.

A continuación se incluye el código de ejemplo de Matlab para la simulación:

```
%% Ejemplo de simulación para el compactador Bollinger

%% Inicializar

% Tamaño del rodillo
R= 18/12; % radio de los rodillos (pie)
A= 2,94; %superficie compactada por rodillo (pie²)
W= 1,25; %anchura del rodillo (pie)
h0= 0,061; %anchura de hueco en el bolsillo (pie)

% Ángulos de fricción
d=46*(pi/180); %ángulo eficaz de fricción (informe sobre la manipulación de sólidos)
fi=29,0588*(pi/180); %ángulo de fricción superficial (informe sobre la manipulación de sólidos)

%constantes geométricas de la teoría de la compactación de Johanson
v=(pi-asin(sen(fi)/sen(d))-fi)/2;
u=(pi/4)-(d/2);
zeta en=(pi/2)-v;
xen=R*sen(zeta en);
% Constantes de compactación(lb/pie²)/(lb/pie³)9,2336 del informe sobre la manipulación de sólidos
C1=8,46*10-13;
K=9,23;

% Presión Hidráulica
Ph=1800*144;
%% Cálculo del ángulo de agarre

% x(1) es el gradiente de tensión y x(2) es el ángulo de agarre
f1 = @(x) [(x(1)-((4.*(pi./2-x(2)-v).*tan(d))./(cot(1./2.*...
(pi./2+x(2)+v)-u))-cot(1./2.*(pi./2+ x(2) +v)+u)))));
(x(1)-((K.*tan(x(2)).*(2.*cos(x(2))-1-(h0./R)))./(cos(x(2))))));
cálculo1=[0,1 0,1];
s_y_a=fresuelve(f1,cálculo1);
alfa=s_y_a(2);
```

```

%% Cálculo de fuerza de separación por unidad de anchura de rodillo y tensión máxima

% calcular integral
f2 = @(x) (((h0./R)./(1+h0./R-cos(x)).*cos(x)).^K). *cos(x);
5 int=cuad(f2,0,alfa);

% ahora resolver sistema no lineal de ecuaciones siendo fresuelve x(1) separación
% fuerza (lbp) por unidad de anchura de rodillo y x(2)(lbp/pie²) es la tensión máxima
f3 = @(x) [x(1) - (((x(2).*R)./(1 + sen(d))).*int);
10 x(1) - (A./W.*Ph)];
cálculo3=[30000 10000];
f_y_ms=fresuelve(f3,cálculo3);
fuerza_separadora=f_y_ms(1);
tensión_máx=f_y_ms(2);
15 %% Cálculo de la densidad de las briquetas
rho=(tensión_máx./C1).^(1./K);
Ph_psi=Ph./144;

%% matrices de preasignación
20 tstramo=espacio lineal(0,60, 60);
matriz_alfa=ceros(longitud(tramot),1);
matriz_alfa(1)=alfa;
tensión_máxima_matriz=ceros(longitud(tramo t),1);
25 matriz_estrés_máx(1)=estrés_máx;
matriz_rho=ceros(longitud(tramo t),1);
matriz_rho(1)=rho;
matriz_h0=ceros(longitud(tramot),1);
matriz_h0(1)=h0;
30 h0_salida=ceros(longitud(tramot),1);
matriz_Ph=repmat(Ph,longitud(tramo t),1);
matriz_Ph(1)=Ph;
%% Parámetros de funcionamiento
w=7,72; %rot/min
35 uin=12,6; %pie/min
rhoen=25; %lb/pie³

%% Resolución iterativa
40 para i=2:longitud(tramo t)
%función de anchura de hueco
f4= @(t,h,a,rho) (w*((rhoen*cos(zetaen)*(uen/(w*R)))*((h/R)+1-(cos(zetaen)))-rho*(h/R)))...
/(rho*(h/R)*((2*(1+(h/R)))/(((h/R)*(2+(h/R)))^5)*atan(((1+(2*R)/h)^5)*tan(a/2))-
a)+rhoen*(cos(v)-sin(a)));
45 [t h0_salida]=ode23s(@(t,h) f4(t,h,alfa_matriz(i-1),rho_matriz(i-1)),tramo t,h0_matriz(1));
h0_matriz(i)=h0_salida(i-1);
h0=h0_matriz (i);

%función para alfa
50 f5 = @(x) [(x(1)-((4.*(pi./2-x(2)-v). *tan(d))./(cot(1./2.*...
(pi./2+x(2)+v)-u))-cot(1./2.*(pi./2+ x(2) +v)+u)))));
(x(1)-((K.*tan(x(2)).*(2.*cos(x(2))-1-(h0./R)))./(cos(x(2)))));
s_y_a=fresuelve(f5,cálculo1);
alfa=s_y_a(2);
55 matriz_alfa(i)=alfa;

%calcular la fuerza de separación por unidad de anchura del rodillo
f6 = @(x) (((h0./R)./(1+h0./R-cos(x)).*cos(x)).^K). *cos(x);
int=cuad(f6,0,alfa);
60 f7 = @(x) [x(1) - (((x(2).*R)./(1 + sen(d))).*int);
x(1) - (A./W.*Ph_matriz(i))];
cálculo3=[30000 10000];
f_y_ms=fresuelve(f7,cálculo3);
tensión_máx=f_y_ms(2);
65 tensión_máx_matriz1 (i)=tensión_máx;

```

```
%calcular densidad
rho=(tensión_máx./C1).^(1./K);
rho_matriz(i)=rho;
fin
```

5

Ejemplo 3

Se realizó un experimento con ovejas con el objetivo de determinar la capacidad de una composición que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, para aumentar la expresión de la L-selectina de neutrófilos, un marcador del sistema inmunitario innato, en animales inmunodeprimidos. Los animales (seis por grupo) se dividieron en dos grupos: Control y experimental. El grupo de Control recibió una ración de alto valor energético consistente en heno picado disponible a libre demanda, una libra (0,45 kg) de maíz molido por cabeza y día y una libra (0,45 kg) de trigo cocido molido por cabeza y día durante un período de 28 días. Durante este tiempo, también recibieron inyecciones de dexametasona dos veces al día, un fármaco inmunosupresor. El grupo Experimental recibió la ingesta diaria de la composición (5 gramos por cabeza y día) durante 28 días y recibió la misma dieta y protocolo de inyección de dexametasona que el Control. Esta composición del grupo Experimental era de 65,8 por ciento en peso de arcilla mineral, 0,20 por ciento en peso de endoglucanohidrolasa, 9,0 por ciento en peso de glucanos y glucomanano, y 25 por ciento en peso de tierra de diatomeas calcinada. Al final del estudio, se extrajeron muestras de sangre y los neutrófilos se purificaron mediante centrifugación en gradiente de Percoll. Las cantidades de expresión de L-selectina en neutrófilos se evaluaron mediante técnicas de transferencia Western y anticuerpos específicos para L-selectina.

Como se muestra en la figura 21, cuadro superior, los animales que no recibieron la composición tenían una expresión baja y variable de L-selectina. Como se muestra en la figura 21, cuadro inferior, los animales que recibieron la composición demostraron un aumento constante de la expresión de L-selectina. El cuadro superior representa seis animales de control inmunodeprimidos. El cuadro inferior representa seis animales experimentales inmunodeprimidos que recibieron la composición en su dieta.

Ejemplo 4

En este estudio, se examinó la estimulación del sistema inmunitario innato en ovejas cuando la composición experimental del Ejemplo 3 se suministró en una dieta peletizada. La dieta basal consistía en 21,55 % de cebada, 10,0 % de harina de colza, 5 % de granos de destilería, 40 % de maíz molido, 1,50 % de piedra caliza, 0,01 % de sulfato de manganeso, 0,01 % de microvitamina E, 4,0 % de melaza, 0,25 % de monocal, 0,25 % de cloruro potásico, 0,60 % de cloruro sódico, 0,03 % de selenito sódico, 15,79 % de trigo molido, 0,01 % de sulfato de zinc, 0,75 % de sulfato de amonio y 0,25 % de sulfato de cobalto. Cuando se añadió la composición Experimental a esta dieta, se incluyó un 0,6 % en sustitución de esa parte de trigo molido. Se asignaron veintiocho ovejas a cuatro tratamientos que consistían en un grupo de Control, un grupo que recibió la composición Experimental en forma de polvo, un grupo que recibió la composición Experimental en forma de pellets donde los pellets se formaron a una temperatura de 71,1 °C (160 °F), y un grupo que recibió la composición Experimental en forma de pellets donde los pellets se formaron a 82,2 °C (180 °F). Todos los animales se inmunosuprimieron mediante inyección diaria de Dexametasona. Para formar el peletizado, se añadió humedad a la composición Experimental, y la mezcla resultante se comprimió y calentó para formar los pellets. Normalmente, los pellets fabricados con dicho método tienen características de dispersión deficientes, similares a las del Método 6 del ejemplo 14.

El estudio se llevó a cabo utilizando métodos idénticos a los del Ejemplo 3, salvo que la composición se administró en pellets que se fabricaron formando los pellets a altas temperaturas. La razón para realizar este estudio era determinar si el calentamiento de la composición (tal como se requiere en la formación del pellet) podría inactivar la capacidad de la composición para aumentar la inmunidad innata. Como se muestra en la figura 22, las ovejas (Control) que no recibieron la composición expresaron niveles muy bajos de L-selectina en los neutrófilos. El suministro de la composición Experimental, incluso en forma peletizada (calentada), aumentó notablemente la expresión de la L-selectina de los neutrófilos.

En la figura 22, el cuadro superior representa la expresión de L-selectina de neutrófilos en animales inmunodeprimidos alimentados con una dieta de control sin la composición. El segundo cuadro (composición en polvo) representa la expresión de L-selectina en animales inmunodeprimidos que recibieron la composición Experimental en forma de mezcla libre no calentada como en el Ejemplo 3 (grupo Experimental). Los cuadros 3 y 4 representan la expresión de L-selectina de neutrófilos en animales inmunodeprimidos que recibieron la composición experimental en forma de pellets. Los pellets utilizados en el Cuadro 3 se formaron calentándolos a 71,1 °C (160 °F) y los del Cuadro 4 se calentaron a 82,2 °C (180 °F) durante la fabricación de los piensos.

60

Ejemplo 5

Se realizó un experimento con ratas para investigar si la composición tenía capacidad para aumentar la inmunidad innata en un modelo no rumiante. En este estudio, las ratas se asignaron a uno de los dos tratamientos: un grupo de Control (dieta no complementada) y un grupo Experimental en el que la composición del Ejemplo 3 se añadió a la dieta al 1 % del peso seco del pienso. En este experimento, se alimentó a las ratas con un pienso comercial para ratas con

65

o sin la composición experimental. En este estudio, no se utilizaron protocolos de inmunosupresión mediante inyección de dexametasona. Después de 14 días, se extrajeron muestras de sangre de ratas anestesiadas mediante punción cardíaca. Los neutrófilos se aislaron de las muestras de sangre mediante centrifugación en gradiente Percoll y el ARN total se aisló con TriZol®.

A continuación, se determinó la concentración del ARN mensajero (ARNm) que codifica la L-selectina de rata en las muestras de ARN de neutrófilos mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa con transcriptasa inversa (QRT-PCR, siglas del inglés) utilizando cebadores desarrollados específicamente para el ensayo de la L-selectina de rata. Las cantidades de ARNm de L-selectina se normalizaron mostrándolas como una proporción de ARNm de β -actina, que se expresa en todas las células a un nivel bastante constante. Como se muestra en la figura 23, y de acuerdo con los resultados de los Ejemplos 3 y 4, la composición aumentó la expresión de ARNm de L-selectina en más de 6 veces ($P < 0,05$).

Este estudio demostró que el aumento de la expresión de la proteína L-selectina mostrado por transferencia Western en los Ejemplos 3 y 4 puede estar causado por un aumento del ARNm que codifica esta proteína. Esto implica que la composición altera la tasa de transcripción del gen que codifica la L-selectina.

Ejemplo 6

Los neutrófilos, células del sistema inmunitario innato, son capaces de señalar y por lo tanto de regular al alza la producción de anticuerpos por el sistema inmunitario adquirido a través de la secreción de interleucina- 1β (IL- 1β). Para investigar la capacidad de la composición para inducir a los neutrófilos a aumentar la síntesis de IL- 1β , se evaluó la concentración de IL- 1β en neutrófilos tomados de las mismas ovejas como se describe en el Ejemplo 3. Para completar este estudio, se utilizó transferencia Western y anticuerpos específicos para IL- 1β .

Como se muestra en la figura 24, los animales que no recibieron el suministro diario de la composición contenían niveles prácticamente indetectables de IL- 1β ; sin embargo, el suministro de la composición a los animales provocó un marcado aumento de la expresión de IL- 1β ($P < 0,05$). En la figura 24, el cuadro superior representa seis animales inmunodeprimidos alimentados con Control. El cuadro inferior representa seis animales inmunodeprimidos alimentados con la composición Experimental que recibieron la composición. Las concentraciones de IL- 1β se determinaron mediante análisis de transferencia Western y un anticuerpo específico para IL- 1β .

Estos datos indican que la composición no sólo aumenta los marcadores de inmunidad innata (p. ej., L-selectina; Ejemplos 3, 4 y 5), sino que también aumenta la expresión de la molécula de señalización clave (es decir, IL- 1β) que regula al alza el sistema inmunitario adaptativo.

Ejemplo 7

El objetivo de este experimento era determinar qué genes se expresaban de forma diferencial en los neutrófilos después de alimentar con la composición a vacas lecheras en el periodo de periparto. En este estudio, se examinó el mecanismo o mecanismos por los que la composición aumentaba la expresión de IL- 1β en los neutrófilos. Las vacas lecheras en el periodo de periparto son un buen modelo porque el estrés de la gestación provoca inmunosupresión, haciendo que las vacas sean particularmente susceptibles a la infección.

En este experimento, ocho vacas lecheras en el periodo de periparto se asignaron a una dieta de Control que no tenía la composición Experimental y otras ocho se asignaron a un grupo Experimental que recibió una realización de la composición en su dieta (56 gramos por día por cabeza). Los animales se alimentaron con las dietas durante aproximadamente 28 días hasta el parto. A las 12-15 horas después del parto, se extrajeron muestras de 500 ml de sangre mediante punción yugular y se prepararon neutrófilos mediante centrifugación en gradiente de Percoll a gran escala.

El ARN se aisló de los neutrófilos utilizando el método de TriZol® y a continuación se retrotranscribió en ADNc utilizando transcriptasa inversa. Durante la transcripción inversa, se emplearon colorantes basados en nucleótidos de colores diferentes (Cy3 y Cy5) de tal manera que los ADN complementarios (ADNc) sintetizados a partir de los dos grupos de tratamiento diferentes (Control y Experimental) incorporaron colores diferentes. A continuación, las muestras de ADNc de los grupos Experimental y Control se aplicaron a un portaobjetos de micromatriz BoTL-5. Esta micromatriz se preparó en el Centro de Genómica Funcional Animal de la Universidad Estatal de Michigan y contiene 1500 genes (cada uno dispuesto por triplicado) sobre un portaobjetos de vidrio. A continuación, se dejó que los ADNc generados a partir de las muestras de los grupos Experimental y Control, compitieran por unirse a los 1500 genes de la matriz y se evaluó la expresión relativa de los genes comparando la abundancia relativa de las señales de Cy3 y Cy5 en cada punto de la matriz. A continuación, se analizaron estadísticamente los datos para identificar los genes con expresión diferencial (aquellos en los que $P < 0,05$).

Los resultados mostraron que más de 20 genes se expresaban diferencialmente ($P < 0,05$) en los neutrófilos de bovino tomados del grupo Experimental. La enzima convertidora de interleucina (ECI) fue uno de esos genes regulados al alza. Esto se confirmó mediante QRT-PCR y cebadores específicos de la secuencia de la ECI bovina. La ECI es la

enzima limitante de la tasa de conversión de pro-IL-1 β inactiva en la IL-1 β secretada, activa. Por tanto, la composición puede regular al alza la inmunidad adaptativa (es decir, tal como aumentar el título de anticuerpos) a través de su capacidad para aumentar la expresión de actividad de ECI en neutrófilos y, en consecuencia, la secreción de IL-1 β .

5 **Ejemplo 8**

Un total de 60 vacas de una explotación lechera comercial se equilibró con respecto a la IMS, al número de partos y a la producción de leche y se asignaron a 1 de 2 grupos de tratamiento alimentados (1) con una realización de la composición que comprende entre 15 % y 40 % de sílice, entre 50 % y 81 % de arcilla mineral, entre 1,0 % y 5,0 % de β -glucanos, entre 0,05 % y 3,0 % de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa y entre 1 % y 8,0 % de mananos (EX, 30 vacas) o (2) dietas de control (CON, 30 vacas) durante 52 días después del parto. A los 52 días de lactancia se seleccionaron al azar vacas ($n = 12$) de ambos grupos (6 EX y 6 CON) y se instalaron en módulos con condiciones ambientales controladas durante 21 días. La combinación se aderezó 2 veces al día con melaza como vehículo y las vacas CON recibieron el vehículo de melaza 2 veces al día. Ambos se mezclaron en el tercio superior de la TMR. Durante la fase del estudio en una sala ambiental, las vacas alimentadas con la combinación (EX) tenían una mayor ingesta de alimento que las CON durante el estrés por calor (HS, *heat stress*) (46,8 kg frente a 42,9 kg, $P < 0,0001$) y no hubo ninguna diferencia durante la termoneutralidad (TN). Se utilizó un umbral de índice de temperatura-humedad (THI, *temperature-humidity index*) igual o superior a 68 para lograr el HS. La alimentación con la composición mantuvo una ventaja numérica de 1 kg en la producción de leche en comparación con CON (30,3 kg frente a 31,4 kg, $P = 0,26$) durante el HS pero no durante la TN. Las vacas alimentadas con la composición tenían menos grasa láctea (%) (4,2 % frente a 3,8 %, $P = 0,02$) y proteína láctea (%) ($P = 0,04$). No hubo diferencias en el 3,5 % de FCM entre tratamientos. El consumo de agua fue menor (12,4 litros/día en las vacas tratadas con la composición, $P < 0,01$) que el de las vacas de control. Las tasas de respiración fueron inferiores en las vacas tratadas a las 14 horas y a las 17 horas (4,7 y 8,4 respiraciones/minuto menos), $P = 0,05$, $< 0,001$ y las temperaturas rectales también fueron más bajas (0,15 °C y 0,25 °C más bajas que CON, $P = 0,05$, $< 0,001$) en las vacas tratadas. La alimentación con esta composición redujo las respuestas fisiológicas al estrés térmico en vacas lecheras lactantes.

Ejemplo 9

Un total de 30 vacas de una explotación lechera comercial se equilibró con respecto a la IMS, al número de partos y a la producción de leche y se asignaron a 1 de 2 grupos de tratamiento alimentados con las dietas de composición (EX, 15 vacas) o de control (CON, 15 vacas) durante 90 días después del parto. A los 90 días de lactancia, se seleccionaron al azar vacas ($n = 12$) de ambos grupos (6 EX y 6 CON) y se instalaron en módulos con condiciones ambientales controladas durante 21 días. La composición se aderezó 2 veces al día con melaza como vehículo. Las vacas CON recibieron el vehículo de melaza 2 veces al día. Ambos se mezclaron en el tercio superior de la TMR. Durante la fase del estudio en una sala ambiental, las vacas alimentadas con la combinación (EX) tenían una mayor ingesta de alimento que las CON durante el estrés térmico (HS) (46,8 kg frente a 42,9 kg, $P < 0,0001$) y no hubo ninguna diferencia durante la termoneutralidad (TN). Se utilizó un umbral de índice de temperatura-humedad (THI) igual o superior a 68 para lograr el HS. La alimentación con la composición mantuvo una ventaja numérica de 1 kg en la producción de leche en comparación con CON (30,3 kg frente a 31,4 kg, $P = 0,26$) durante el HS pero no durante la TN. Las vacas alimentadas con la composición tenían menos grasa láctea (%) (4,2 % frente a 3,8 %, $P = 0,02$) y proteína láctea (%) ($P = 0,04$). No hubo diferencias en el 3,5 % de FCM entre tratamientos. El consumo de agua fue menor (12,4 litros/día en las vacas tratadas con la composición, $P < 0,01$) que el de las vacas de control. Las tasas de respiración fueron inferiores en las vacas tratadas a las 14 horas y a las 17 horas (4,7 y 8,4 respiraciones/minuto menos), $P = 0,05$, $< 0,001$ y las temperaturas rectales también fueron más bajas (0,15 °C y 0,25 °C más bajas que CON, $P = 0,05$, $< 0,001$) en las vacas tratadas. La alimentación con esta composición redujo las respuestas fisiológicas al estrés térmico en vacas lecheras lactantes.

Diseño experimental: El estudio consiste en dos fases; 1) la lechera comercial, y 2) las cámaras de ambiente controlado. Durante la fase lechera comercial, vacas Holstein multiparas lactantes ($n=30$) se equilibraron con respecto a la IMS, a la producción de leche y al número de partos (IMS $91 \pm 5,9$, $36,2 \pm 2,5$ kg/día, y $3,1 \pm 1,4$). Las vacas se dividieron en dos grupos. El grupo de control recibió la TMR básica sin complemento. El grupo de tratamiento fue alimentado con la dieta básica más 56 gramos/cabeza/día de la composición (EX) mezclada en la TMR. Se midió la producción láctea diaria. La fase láctea duró 45 días. La parte láctea se utilizó para cumplir los 45 días de alimentación recomendados por el fabricante para que EX funcione.

Una vez finalizada la parte de la leche, se instalaron 12 vacas (6 de control y 6 de tratamiento) en salas de ambiente controlado. Las vacas continuaron con la ración ARC en los mismos grupos de tratamiento de la ración en lactación.

La parte ARC duró 21 días. Las vacas se sometieron a 7 días de condiciones TN, 10 días de HS, y 4 días de recuperación (TN). La ingesta de alimento, y la producción y composición lácteas, se midieron diariamente. La temperatura rectal y la frecuencia respiratoria se registraron 3 veces al día (600, 1400 y 1800 horas). Se extrajeron muestras de sangre los días 7 (TN), 8 (HS), 10 (HS), 17 (HS) y 18 (TN) durante el segmento ARC.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el procedimiento PROC MIXED (versión 9.3, SAS Institute, Cary, NC). La vaca fue la unidad experimental (ración ARC). Los datos se presentan como media de medios mínimos cuadrados

con significación declarada con un valor de $P \leq 0,05$. (Véase la Tabla 17 a continuación).

La administración de la composición divulgada a vacas lecheras sometidas a estrés térmico, mantuvo la ingesta de alimento durante el estrés térmico. La producción de leche tenía una ventaja numérica (1 kg) con el tratamiento de la composición, pero no presentaba diferencias significativas. La frecuencia respiratoria y la temperatura rectal fueron inferiores en los animales tratados durante el estrés térmico. También se observó una reducción del SCC con el tratamiento. Los niveles séricos de cortisol fueron más bajos el día 8 (el primer día de estrés térmico) a las 2000 horas en las vacas que recibieron la composición con complementación ($P=0,03$).

Tabla 17.

Elemento	Control			componente 1 (EX)			EEM	Valor de p
	TN	HS	Recuperación	TN	HS	Recuperación		
Ingesta de alimento (kg)	46,1	42,9	47,5	47,1	46,8*	49,1	1,04	0,01
Producción láctea (kg)	33,1	30,3	30,4	33,9	31,4	31,3	1,02	0,23
Resp/ min								
600	26,9	31,9	28,3	26,6	30,4	27,9	1,40	0,40
1400	34,3	63,1*	35,3	30,1	58,3	35,5	2,99	0,20
1800	34,9*	60,8*	32,1	29,5	52,4	29,7	2,62	0,01
Temperatura rectal (°C)								
600	38,2	38,0	37,9	38,2	38,1	38,1	0,05	0,26
1400	38,0	38,7*	38,0	38,1	38,5	38,1	0,09	0,77
1800	38,2	39,1*	38,2	38,2	38,8	38,3	0,08	0,25
FCM (kg/d)	35,0	33,7	33,7	34,7	32,8	32,6	1,45	0,39
Proteína (%)	2,95	2,98*	2,86	2,95	2,86	2,79	0,07	0,15
Proteína (kg)	0,94	0,89	0,87	0,97	0,89	0,86	0,3	0,13
Lactosa (%)	4,87	4,85	4,99	4,89	4,78	4,96	0,08	0,61
SCC	20,3	23,9	59,4*	19,6	22,9	26,3	9,12	0,03

Ejemplo 10

Treinta y seis ratas CD macho (de aprox. 225 gramos) se asignaron al azar a seis grupos de tratamiento para un ensayo de alimentación. Los animales se alimentaron a libre demanda con una de las seis dietas siguientes durante 28 días:

A. Dieta de control (dieta en polvo Teklad 8604).

B. Dieta complementada con preparado de pared celular de levadura (incluye β -glucanos y glucomanano).

C. Dieta complementada con tierra de diatomeas y β -1,3(4)-endoglucanohidrolasa.

D. Dieta complementada con el preparado de pared celular de levadura de la composición B, tierra de diatomeas y β -1,3(4)-endoglucanohidrolasa.

E. Dieta complementada con el preparado de pared celular de levadura de la composición B, tierra de diatomeas, β -1,3(4)-endoglucanohidrolasa, y arcilla mineral.

F. Dieta complementada con 0,5 % p/p de un complemento disponible en el comercio, que comprende 9 % en peso de material de pared celular de levadura Safmannan® (fuente de β -glucanos y mananos), 25 % en peso de tierra de diatomeas, 0,02 % en peso de extracto de *Trichoderma* (fuente de β -1,3(4)-endoglucanohidrolasa), 65,98 % en peso de bentonita AB20™ y una mezcla de vitaminas B.

Las cantidades de extracto de pared celular de levadura, tierra de diatomeas, β -1,3(4)-endoglucanohidrolasa y arcilla mineral, utilizadas para complementar la dieta de las Composiciones B-E, se seleccionaron para reflejar las cantidades que se añadirían si la dieta se complementara con el complemento comercial indicado en la Composición F.

El día 28, se anestesió a las ratas con una mezcla de ketamina y xilacina y se extrajeron muestras de sangre (6-10 ml) mediante punción cardíaca. Los neutrófilos se aislaron de muestras de sangre mediante centrifugación en gradiente Percoll. Se aisló ARN de una parte de los neutrófilos de todos los animales mediante el método de TriZol®. A continuación se utilizó para cuantificar las concentraciones de los ARNm de L-selectina, receptor de interleucina-8 (IL-8R) y β -actina. Otra parte de los neutrófilos de todos los animales se usó en un ensayo de fagocitosis (ensayo de destrucción celular). En este ensayo, los neutrófilos aislados de las ratas se combinaron con *Staphylococcus aureus* en una proporción de 30:1 de bacterias *S. aureus* por neutrófilo. Se dejó que los neutrófilos "reaccionaran" con las bacterias durante 3 horas, tras lo cual se evaluó espectrofotométricamente la viabilidad de *S. aureus*.

El estudio reveló que la composición B (preparado de pared celular de levadura) y la composición C (tierra de diatomeas y β -1,3(4)-endoglucanohidrolasa) no tenían ningún efecto significativo sobre ninguno de los tres marcadores de inmunidad innata analizados, en comparación con la composición A (dieta de control) (figuras 25-27).

- 5 Mientras que ni la Composición B ni la Composición C produjeron un efecto significativo sobre la capacidad de los neutrófilos para fagocitar *S. aureus*, la composición D, que representa una combinación de las composiciones B y C, mejoró inesperadamente la fagocitosis en un 20 %, lo que es significativo (figura 25). Por otro lado, la adición de una arcilla mineral (Composición E) dio lugar a una mejora significativa del marcador IL-8R, en comparación con el control (composición A) (figura 26). La composición E también causó una reducción significativa adicional de la viabilidad de
- 10 *S. aureus* en comparación con la composición D (figura 25). Se observó que la composición F (complemento disponible en el comercio) tenía la capacidad de regular los tres marcadores medidos en la inmunidad innata e imitaba sustancialmente los resultados obtenidos con la composición E, lo que indica que las vitaminas B incluidas en el complemento disponible en el comercio no afectan significativamente a la regulación de estos marcadores de inmunidad innata (figuras 25-27).

15 Ejemplo 11

- Se realizó un estudio para identificar los genes expresados por las células inmunitarias circulantes que están regulados por una realización comercial de una composición que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos. Se
- 20 asignaron al azar ratas (n=6 por grupo) a los grupos de composición y de control. La composición se complementó en la dieta al 0,5 % en el grupo de composición. Se purificó ARN total de sangre entera y la expresión génica se analizó utilizando la matriz de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para realizar el perfil de las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas RT2 en ratas (SABiosciences, Qiagen). En la matriz había un total de 84 genes diana. Se analizó
- 25 la expresión génica de las células inmunitarias circulantes a los siete, catorce, veintiún y veintiocho días de complementación de la composición. La expresión de 67 genes cambió tras la complementación de la composición a lo largo de los puntos temporales. La Tabla 18 enumera los genes con expresión génica alterada tras la complementación de la composición e incluye información que indica la estimulación (+) o la represión (-) de la expresión génica.

30 **Tabla 18.** Lista de genes con expresión alterada

Gen	Reprimido	Gen	Inducido	Genes de referencia	
Crp	-	Ifnb1	+	Actb	
Mbl2	-	Cd80	+	Ldha	
Apes	-	Tlr1	+	Rplp1	
Il5	-	Tlr6	+		
Ifna1	-	Mapk8	+		
Cel12	-	Nod2	+		
Csf2	-	Ccr8	+		
Il13	-	Irak1	+		
Il10	-	Cd1d1	+		
Gata3	-	Stat4	+		
Stat3	-	Il1r1	+		
C3	-	Faslg	+		
Tlr3	-	Irf3	+		
Ccl5	-	Ifnar1	+		
Mx2	-	Slc11a1	+		
Nfkb1	-	Tlr4	+		
Nfkbia	-	Cd86	+		
Tlr9	-	Casp1	+		
Cxcl10	-	Ccr5	+		
Cd4	-	Icam1	+		
Il6	-	Camp	+		
Ccl3	-	Tlr7	+		
Ccr6	-	Irf7	+		

(continuación)

Gen	Reprimido	Gen	Inducido	Genes de referencia	
Cd40	-	Rorc	+		
Ddx58	-	Cd40lg	+		
Il18	-	Tbx21	+		
Jun	-	Casp8	+		
Tnf	-	Il23a	+		
Traf6	-	Cd14	+		
Stat1	-	Cd8a	+		
		Cxcr3	+		
		Foxp3	+		
		Lbp	+		
		Mapk1	+		
		Myd88	+		
		Stat6	+		
		Agrina	+		
		IL33	+		

Ejemplos 12-15

- 5 Los productos granulados se elaboraron mediante distintos procesos y se compararon entre sí y con la composición en polvo. Con respecto a los Ejemplos 12-15:

El método 1 produjo una composición en polvo, realizada proporcionando componentes en polvo y mezclándolos con una mezcladora de paleta para formar la composición;

- 10 El método 2 produjo una mezcla de ingredientes granulados, realizada proporcionando ingredientes granulados y mezclándolos con una mezcladora de paleta, sin compresión;

El método 3 era un proceso de compactación en seco utilizando un compactador de prensa de rodillo, y sin ningún aglutinante ni humedad, tal como agua, que se añade a la composición;

- 15 El método 4 era un proceso de compactación activado por humedad que comprendía la adición de un 1,5 % en peso de agua a la composición y la compactación mediante un compactador de rodillo.

El método 5 era un proceso de mezcla de bajo/alto cizallamiento utilizando mezcladores de alta intensidad;

El método 6 era un proceso de aglomeración activado por humedad, que comprende la adición de un 30 % en peso de agua a la composición para facilitar la unión;

- 20 El método 7 era un proceso de mezcla de bajo/alto cizallamiento que utilizaba mezcladores de alta intensidad e incluía la adición de un 15 % en peso de lignina; y

El método 8 era un proceso de compactación en seco sin añadir aglutinante ni agua, pero que comprende además el reciclado de las partículas infradimensionadas y sobredimensionadas en las etapas de mezclado y compactación, para minimizar los residuos.

Ejemplo 12

Las muestras se evaluaron utilizando un agitador tamizador RoTap®, para determinar su pulverulencia y su perfil granulométrico. Los resultados obtenidos después de que las muestras hayan estado en el Ro-Tap® durante 5 minutos se muestran en la tabla de la figura 28 y en los gráficos de las figuras 29 y 30.

- 30 En la figura 29 se muestran los perfiles granulométricos de las muestras obtenidas con estos métodos. El objetivo era minimizar las fracciones de malla +12 (mayor de 1,7 mm) y -100 (menor de 0,15 mm). Un perfil de tamiz aceptable era el que tenía una curva próxima a una distribución normal entre un máximo y un mínimo deseados, tal como el Método 3. Como se muestra en la figura 29, los métodos 6 y 7 dieron lugar a muestras que tenían demasiadas partículas gruesas, y los métodos 1, 2, 5 y 7 produjeron muestras que tenían demasiadas partículas finas.

- 35 La pulverulencia se definió como la cantidad de material de malla -100, es decir, el material que ha pasado por el tamiz de malla 100 (0,15 mm). Como se esperaba, las muestras en polvo comprendían grandes cantidades de material del tamaño del polvo (figura 30). Sorprendentemente, los Métodos 5 y 7, de los procesos de baja/alta cizalladura, también produjeron muestras con grandes cantidades de partículas de malla -100 (figura 30). Sin embargo, las muestras realizadas con los métodos 3, 4, 6 y 8 tenían niveles de pulverulencia aceptables.

Ejemplo 13

Las densidades de una muestra suelta envasada y de una muestra agitada para liberar parte del aire atrapado, tal como mediante golpeteo, agitando o removiendo, se determinaron y se calculó la diferencia de densidad aparente de las muestras obtenidas con los distintos métodos. El objetivo era obtener la mayor densidad aparente suelta y la menor diferencia de densidad aparente. La figura 31 muestra una tabla de densidades aparentes y una diferencia de densidad aparente de las distintas muestras. Las figuras 32 y 33 muestran gráficos que comparan las densidades suelta y compactada, respectivamente, y la figura 34 muestra un gráfico que indica las diferencias de densidad aparente. Como se esperaba, la muestra en polvo fabricada con el Método 1 tenía la mayor diferencia de densidad aparente. La muestra fabricada con los Métodos 3 y 6 tenía la menor diferencia de densidad aparente, pero las muestras fabricadas con los métodos 4 y 8 también eran aceptables.

Ejemplo 14

La figura 35 presenta una tabla de datos que ilustra las características de durabilidad y dispersión de las muestras fabricadas con los distintos métodos. La durabilidad se midió mediante una prueba de desgaste. Las muestras se pasaron primero por un tamiz de malla 40 (0,42 mm) y la fracción de malla +40 se usó para la prueba de desgaste. La fracción de malla +40 es la fracción que no ha pasado por el tamiz de malla 40. La fracción de malla +40 se colocó a continuación en un tamiz de malla 50 (0,3 mm) en un agitador Ro-tap® junto con 5 rodamientos de bolas de 15,9 mm (5/8 pulgadas). Después de girar durante 5 minutos, se evaluó la cantidad de composición que quedaba en el tamiz de malla 50. El objetivo era que quedara la mayor cantidad posible en el tamiz de malla 50. La figura 36 muestra los resultados.

Sin embargo, los resultados de la prueba de desgaste deben considerarse junto con los resultados de la prueba de dispersión. Para comprobar la dispersión, las muestras se colocaron en un tamiz de malla -500 y se pulverizaron con un chorro de agua durante 2, 5 y 10 minutos. La cantidad que no pasa por el tamiz se mide y se expresa como porcentaje del peso original. Un tamiz de malla 500 tiene aberturas de aproximadamente 0,025 mm (25 micras). Esta prueba evalúa la capacidad de cada composición para dispersarse en partículas muy pequeñas en contacto con la humedad, tal como cuando un animal la ingiere. El objetivo era tener columnas más pequeñas de los productos granulados, realizadas con los Métodos 2-8, que para una muestra en polvo, realizada con el método 1. Las figuras 37-39 muestran gráficos que ilustran los resultados de las pruebas de dispersión realizadas durante 2 minutos, 5 minutos y 10 minutos, respectivamente.

Tal como se puede observar en las figuras 36-39, aunque el método 5 produjo un producto muy duradero, no se dispersaba bien en contacto con el agua. Y las muestras fabricadas con los métodos 2, 4 y 6 no tenían características aceptables de durabilidad o dispersión. Sin embargo, las muestras fabricadas con los métodos 3 y 8 (métodos de compactación en seco) proporcionaron un equilibrio aceptable entre durabilidad (figura 36) y dispersión (figuras 37-39).

Ejemplo 15

La segregación se evaluó determinando el coeficiente de variación (C.V.) de las muestras realizadas con distintos métodos. El C.V. es una medida de la variación de las composiciones entre distintas partículas, tal como partículas de diferentes tamaños en cada muestra. Las figuras 40-42 proporcionan datos del C.V. mineral (figura 41) y del C.V. próximo (figura 42) de las muestras fabricadas con los métodos 1-8 que ilustran la variación en las cantidades de contenido mineral y de proteínas, respectivamente, entre las partículas de distinto tamaño de una muestra. El objetivo era tener un valor C.V. lo más bajo posible. Cuanto más bajo sea el número, más homogénea será la mezcla de ingredientes de la muestra. Como se muestra en la figura 40, una composición en polvo fabricada con método 1 tenía un C.V. mineral del 15 % y un C.V. próximo del 56 %. Una mezcla de ingredientes granulados fabricada con el método 2 tenía valores de C.V. de aproximadamente el doble que la composición en polvo, lo que ilustra que había un alto grado de segregación de los componentes en esta mezcla. En comparación, las muestras producidas por los procesos de compactación en seco de los métodos 3a, 3b y 8, tenían valores de C.V. mineral iguales o inferiores al 10 % (figura 41), y valores de C.V. próximo iguales o inferiores al 20 % (figura 42). Se puede observar que la muestra producida con el método 6 tenía valores de C.V. muy bajos. Sin embargo, como se ha indicado anteriormente en el ejemplo 14, las muestras producidas mediante este proceso no tenían características de durabilidad o dispersión (figuras 36-39) aceptables.

Tras revisar todos los datos comparativos, estaba claro que los procesos de compactación en seco de los métodos 3 y 8 producían gránulos que tenían una durabilidad aceptable sin dejar de tener una dispersión aceptable, y que tenían una diferencia de densidad aparente deseada, un nivel de pulverulencia, un perfil granulométrico y coeficientes de variación aceptables.

Ejemplo 16

Regulación del sistema inmunitario después de la inclusión de composiciones granuladas y en polvo en el pienso animal.

Objetivo: Evaluar la respuesta del sistema inmunitario en ovejas a las que se suministran dos complementos de pienso diferentes.

Introducción

El objetivo de este proyecto era investigar la respuesta del sistema inmunitario en una especie rumiante después de la inclusión de complementos de pienso que comprenden sílice, arcilla mineral, glucano y mananos en la dieta animal. Los animales se dividieron en tres grupos: 1. Control; 2. Composición en polvo; y 3. Composición granulada. Los complementos de pienso se añadieron directamente al pienso una vez al día para los grupos complementados y no se añadió ningún complemento al grupo de control. Se añadió la misma cantidad (6 onzas por animal) al pienso de cada animal cada día. Los animales se alimentaban con el sistema de compuerta de Calan, que les permitía comer sólo del comedero que se les había asignado. El sistema de alimentación por compuerta de Calan garantiza que los animales ingieran el complemento que se les ha asignado y que no se produzcan intercambios en la alimentación.

El proyecto se llevó a cabo durante 42 días. Los animales se pesaron semanalmente y se les extrajo sangre los días 0, 14, 28, 35 y 42. La ingesta de alimento de cada animal se registró diariamente. La sangre se utilizó como fuente de ARN total de células inmunitarias circulantes. Se realizó un análisis de la expresión génica utilizando el ARN total como molde para determinar si la complementación alteraba la expresión de genes que se sabe que regulan la función de las células inmunitarias circulantes. Se analizó la expresión de CXCR2 (también conocida como IL8RB) y de IL10RB para evaluar la función de las células inmunitarias. El gen constitutivo (o de mantenimiento) de beta-actina (BACTIN) se utilizó como gen de referencia para proporcionar un punto de referencia para determinar el cambio en la expresión de los genes CXCR2 e IL10RB asociados al sistema inmunitario. Se sabe que la expresión de CXCR2 aumenta en comparación con los controles cuando la composición en polvo se incluye como complemento en el pienso.

Métodos

I. Animales

Se obtuvieron dieciséis ovejas Poll Dorset de aproximadamente seis meses de vida. Las ovejas se asignaron al corrales al azar, con cuatro ovejas en cada corral y cuatro corrales en total. Se utilizaron compuertas de Calan para rumiantes de pequeño tamaño (American Calan, NH EE.UU.) como sistema de alimentación y se proporcionó a las ovejas un periodo de adaptación total de nueve días. Las ovejas se asignaron a tratamientos al azar dentro de los corrales y todos los tratamientos fueron incluidos en cada corral.

II. Dieta

Los tratamientos dietéticos incluían control negativo (Control, n=6), composición en polvo (T1) y composición granulada (T2). Todos los tratamientos dietéticos se administraron en el pienso diariamente y se ofreció a las ovejas el complemento asignado (C- 0 g complemento/cabeza/día, T1- 6 g complemento/cabeza/día, T2- 6 g complemento/cabeza/día al día). Se ofreció una dieta basal consistente en heno de hierba y alfalfa a libre demanda para permitir el análisis de la ingesta.

III. Extracción de muestras y purificación de ARN

La sangre se extrajo mediante punción yugular intravenosa con una aguja de calibre 21 en un tubo de sangre Tempus RNA (n.º de cat. 4342792, Thermo Fisher Scientific, Valencia, CA, Estados Unidos). Los tubos se agitaron enérgicamente durante 15 segundos y se conservaron a -20 °C hasta la purificación. El ARN se purificó según el kit Tempus Spin RNA (cat n.º 4380204, Thermo Fisher Scientific). Se determinó la concentración de las muestras y se evaluó la calidad del ARN mediante la absorbancia a 260 nm y la relación de absorbancia a 260 nm: 280 nm, respectivamente.

IV. qRT-PCR y tratamiento de datos

Las muestras que proporcionaron suficiente ARN se evaluaron con respecto al receptor de interleucina 8 (CXCR2; IL8R β), receptor β de interleucina 10 (IL10RB) y β -actina (BACTIN), utilizando conjuntos de cebadores/sondas TaqMan® (Thermo Fisher Scientific). Se realizó PCR cuantitativa con transcriptasa inversa en tiempo real (qRT-PCR) de cada muestra utilizando 100 ng de ARN total y por duplicado. Cada placa incorporaba un control negativo para cada conjunto de cebadores utilizado y un control positivo utilizado para la corrección entre placas. En todas las muestras se realizó la amplificación mediante qPCR de una sola etapa. Las muestras que no se amplificaron se eliminaron del análisis. Los factores de cambio se calcularon utilizando los genes de referencia BACTIN sin efecto en la dieta.

V. Análisis estadístico

Análisis de genes de referencia

Los valores Ct en bruto se analizaron en busca de valores atípicos mediante el procedimiento ROUT 0,2 % de GraphPad Prism 6.03 y a continuación se comprobó la normalidad mediante la prueba de normalidad omnibus de D'Agostino & Pearson. Los conjuntos de datos con distribución normal se analizaron con el procedimiento ANOVA ordinario de una vía de GraphPad Prism 6.03.

Análisis de valores atípicos

Los factores de cambio de los genes diana (IL10RB y CXCR2) se analizaron en busca de valores atípicos mediante el procedimiento ROUT 0,2 % de GraphPad Prism 6.03. Los valores atípicos se eliminaron del conjunto de datos final.

Resultados

Como puede observarse en la figura 43, la expresión de CXCR2 es similar en todos los grupos hasta el día 35, cuando la expresión es mayor en los animales alimentados con la composición en polvo y la composición granulada. La mayor expresión de CXCR2 en los animales alimentados con la composición en polvo y la composición granulada en comparación con los controles, continúa el día 42 de la complementación ($p < 0,01$). Como se indica en la introducción, se esperaba una mayor expresión de CXCR2 en las células inmunitarias circulantes de los animales alimentados con la composición en polvo. La mayor expresión de CXCR2 en las células inmunitarias circulantes en los animales alimentados con la composición granulada sigue un patrón similar al de la composición en polvo. CXCR2 forma parte del complejo receptor de IL8 dimerizado que es necesario para la activación de IL8 de la función de los neutrófilos.

Como puede observarse en la figura 44, la expresión de IL10RB es similar en todos los grupos el día 0 del proyecto. La expresión de IL10RB fue similar en todos los animales el día 14, sin embargo, el día 28, la expresión de IL10RB era mayor ($p < 0,07$) en las células inmunitarias circulantes de los animales alimentados con la composición granulada que en las muestras de los animales alimentados con el control y el complemento en polvo. La expresión de IL10RB es similar en los animales de todos los grupos los días 35 y 42. Esto significa que la composición granulada proporciona una regulación única de la respuesta celular del sistema inmunitario en comparación con la composición en polvo durante los primeros 28 días de complementación. IL10RB es una proteína que forma parte del complejo receptor que actúa como mediador en la señalización celular después de la unión de IL10 al complejo. La IL10 es una citocina antiinflamatoria y está asociada a otros mecanismos de inmunorregulación, tales como la mejora de la supervivencia de los linfocitos B y la producción de anticuerpos. Estos datos sugieren que la complementación con la composición granulada activa los mecanismos antiinflamatorios y la regulación de las células inmunitarias.

La ingesta de materia seca (IMD) se midió diariamente en todos los animales durante el proyecto. No hay diferencias en la IMS entre los grupos (figura 45). La IMS aumentó con el tiempo a medida que los animales crecían.

Conclusión

El objetivo de este proyecto era determinar si la inclusión de dos complementos de pienso, una composición en polvo y una composición granulada, regularía la expresión de genes en las células inmunitarias circulantes. Se evaluó la expresión de dos genes expresados por células inmunitarias circulantes, CXCR2 y IL10RB. La ingesta animal de la composición en polvo y de la composición granulada dio lugar a una mayor expresión de CXCR2 después de 35 y 42 días de complementación en comparación con el control. En cambio, la inclusión de la composición granulada en la dieta animal dio lugar a una mayor expresión de IL10RB en las células inmunitarias circulantes a los 28 días de complementación en comparación con la dieta de composición en polvo y la dieta de control. La ingesta de materia seca no fue diferente entre los grupos, lo que indica que el aumento de la ingesta no afectó a la función de las células inmunitarias.

Ejemplo 17

Se seleccionaron vacas de una lechería comercial en función de la IMS, del número de partos y de la producción de leche y se asignaron a 1 de 2 grupos de tratamiento de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 vacas por grupo. El número de vacas en cada grupo de tratamiento se equilibró en función de la IMS, del número de partos y de la producción de leche. Los grupos se alimentan con (1) una realización de la composición granulada que comprende entre 15 % y 40 % de sílice, entre 50 % y 81 % de arcilla mineral, entre 1,0 % y 5,0 % de β -glucanos, entre 0,05 % y 3,0 % de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa y entre 1 % y 8,0 % de mananos (EX), o (2) dietas de control (CON). Normalmente, el ensayo dura al menos 90 días. La administración de la composición granulada puede comenzar durante el periodo de secado y continuar durante al menos 90 días, midiendo la producción de leche durante al menos 30-45 días una vez iniciada la lactancia. La composición granulada se adereza 2 veces al día y se mezcla en el tercio superior de la TMR. Se espera que las vacas del grupo EX tengan un mayor rendimiento lechero que las vacas CON, durante el periodo de administración de la composición.

Ejemplo 18

Introducción

El objetivo de este proyecto era investigar la respuesta del sistema inmunitario de las vacas después de la inclusión de complementos alimenticios en la dieta animal. Los animales se dividieron en tres grupos: 1) Control; 2) Composición en polvo y; 3) Composición granulada. Los complementos de pienso se añadieron directamente al pienso una vez al día para los grupos complementados y no se añadió ningún complemento al grupo de control. Se añadió la misma cantidad (56 g por animal) al pienso de cada animal cada día. Los animales se alimentaban con el sistema de compuerta de Calan, que les permitía comer sólo del comedero que se les había asignado. El sistema de alimentación por compuerta de Calan garantiza que los animales ingieran el complemento que se les ha asignado y que no se produzcan intercambios en la alimentación.

El proyecto se llevó a cabo durante 63 días. Los animales se pesaron semanalmente y se extrajo sangre los días 0, 7, 14, 21, 28, 42 y 63. La ingesta de alimento de cada animal se registró diariamente. La sangre se utilizó como fuente de ARN total de células inmunitarias circulantes. Se realizó un análisis de la expresión génica utilizando el ARN total como molde para determinar si la complementación alteraba la expresión de genes que se sabe que regulan la función de las células inmunitarias circulantes. Se analizó la expresión de IL10RB para evaluar la función de las células inmunitarias.

Métodos

Animales

Se obtuvieron dieciséis novillas Holstein de aproximadamente seis meses de vida. Las novillas se asignaron aleatoriamente a corrales con ocho novillas en cada corral y dos corrales en total. Se utilizaron compuertas de Calan (American Calan, NH EE.UU.) como sistema de alimentación y se proporcionó a las novillas un periodo de adaptación total de catorce días. Las novillas se asignaron al azar a tratamientos dentro de los corrales y todos los tratamientos fueron incluidos en cada corral.

Dieta

Los tratamientos dietéticos incluían un control negativo (Control), composición en polvo (T1), y la composición granulada (T2) desvelada. Todos los tratamientos dietéticos se administraron en el pienso diariamente y se ofreció a las novillas el complemento asignado (C- 0 g complemento/cabeza/día, T1- 56 g complemento/cabeza/día, T2- 56 g complemento/cabeza/día al día). Se ofreció una dieta basal consistente en heno de hierba, alfalfa, copos de maíz, harina de soja y minerales a libre demanda para permitir el análisis de la ingesta.

Extracción de muestras y purificación de ARN

La sangre se extrajo mediante punción yugular intravenosa con una aguja de calibre 21 en un tubo de sangre Tempus RNA (n.º de cat. 4342792, Thermo Fisher Scientific, Valencia, CA, Estados Unidos). Los tubos se agitaron enérgicamente durante 15 segundos y se conservaron a -20 °C hasta la purificación. El ARN se purificó según el kit Tempus Spin RNA (cat n.º 4380204, Thermo Fisher Scientific). Se determinó la concentración de las muestras y se evaluó la calidad del ARN mediante la absorbancia a 260 nm y la relación de absorbancia a 260 nm: 280 nm, respectivamente.

qRT-PCR y tratamiento de datos

Las muestras que proporcionaron suficiente ARN se evaluaron con respecto al receptor β de interleucina 10 (IL10RB), utilizando conjuntos de cebadores/sondas TaqMan® (Thermo Fisher Scientific). Se realizó PCR cuantitativa con transcriptasa inversa en tiempo real (qRT-PCR) de cada muestra utilizando 100 ng de ARN total y por duplicado. Cada placa incorporaba un control negativo para cada conjunto de cebadores utilizado y un control positivo utilizado para la corrección entre placas. En todas las muestras se realizó la amplificación mediante qPCR de una sola etapa. Las muestras que no se amplificaron se eliminaron del análisis. Los ng totales de los amplímeros generados se basaron en el análisis de la curva patrón. La región del amplímero del IL10RB se escindió del vector pUC y se diluyó de tal manera que se utilizó una curva patrón de seis puntos de ng de ADN generada para cada placa de qPCR para determinar la cantidad de amplímero en cada muestra. Las muestras de control se usaron como referencia para comparar los grupos de tratamiento, T1 y T2 y los datos se presentaron después de la normalización a partir de los valores iniciales.

Análisis estadístico

Análisis de genes de referencia

Los valores Ct en bruto se analizaron en busca de valores atípicos mediante el procedimiento ROUT 0,2 % de GraphPad Prism 6.03 y a continuación se comprobó la normalidad mediante la prueba de normalidad omnibus de D'Agostino & Pearson. Los conjuntos de datos con distribución normal se analizaron con el procedimiento ANOVA ordinario de una vía de GraphPad Prism 6.03.

Análisis de valores atípicos

Los factores de cambio del gen diana para IL10RB se analizaron en busca de valores atípicos mediante el procedimiento ROUT 0,2 % de GraphPad Prism 6.03. Los valores atípicos se eliminaron del conjunto de datos final.

Resultados

Como puede observarse en la figura 46, la expresión de IL10RB es similar en todos los grupos el día 0 del proyecto. La expresión de IL10RB fue similar en todos los animales los días 7, 14, 21 y 28, sin embargo, el día 42, la expresión de IL10RB era mayor ($p < 0,1$) en las células inmunitarias circulantes de los animales alimentados con la composición granulada que en las muestras de los animales alimentados con el complemento en polvo. Esto indicaba que la composición granulada proporcionaba una regulación única de la respuesta celular del sistema inmunitario en comparación con la composición en polvo a los 42 días de complementación en novillas. IL10RB es una proteína que forma parte del complejo receptor que actúa como mediador en la señalización celular después de la unión de IL10 al complejo. La IL10 es una citocina antiinflamatoria y está asociada a otros mecanismos de inmunorregulación, tales como la mejora de la supervivencia de los linfocitos B y la producción de anticuerpos. Estos datos sugieren que la complementación con la composición granulada activa los mecanismos antiinflamatorios y la regulación de las células inmunitarias. Sin embargo, el día 63, la expresión de IL10RB en el grupo alimentado con la composición en polvo fue sustancialmente la misma que el nivel de expresión de IL10RB en el grupo alimentado con la composición granulada (figura 47). Estos resultados indicaron que la administración de la composición granulada proporcionada aumenta la expresión de IL10RB a los 42 días, en comparación con los niveles de expresión de IL20RB en las vacas alimentadas con la composición en polvo.

La ingesta de materia seca (IMD) se midió diariamente en todos los animales durante el proyecto. No hubo diferencias en la IMS entre los grupos.

Conclusión

El objetivo de este ejemplo era determinar si la inclusión de dos complementos de pienso, una composición en polvo y una composición granulada, regularía la expresión de genes en las células inmunitarias circulantes de las novillas. Se evaluó la expresión de IL10RB. La alimentación con la composición granulada en la dieta animal dio lugar a una mayor expresión de IL10RB en las células inmunitarias circulantes a los 42 días de alimentación en comparación con la dieta de composición en polvo. La ingesta de materia seca no fue diferente entre los grupos, lo que indica que el aumento de la ingesta no afectó a la función de las células inmunitarias.

REIVINDICACIONES

1. Una composición granulada, que comprende sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, teniendo la composición granulada un valor de dispersión igual o inferior al 20 % a los 2 minutos, en donde el valor de dispersión se calcula pulverizando con agua la composición granulada utilizando un cabezal pulverizador mecánico colocado sobre un tamiz de malla 500 (0,025 mm) y midiendo un porcentaje de material que permanece en el tamiz después de 2 minutos,
 - en donde al menos el 40 % en peso de las partículas de la composición granulada son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,15 mm (malla 100) a 4,8 mm (malla 4),
 - en donde además, el tamaño de partícula se mide de acuerdo con la norma ANSI/ASAE S319.4.
2. La composición granulada de la reivindicación 1, comprendiendo cada gránulo una mezcla sustancialmente homogénea de sílice, arcilla mineral, glucano y mananos.
3. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde al menos el 60 % en peso de las partículas de la composición granulada son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,15 mm (100 de malla) a 4,8 mm (4 de malla).
4. La composición granulada de la reivindicación 3, en donde al menos el 80 % en peso de las partículas de la composición granulada son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,15 mm (100 de malla) a 4,8 mm (4 de malla).
5. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde al menos el 40 % en peso de las partículas de la composición granulada son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,15 mm (100 de malla) a 2 mm (10 de malla).
6. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde al menos el 60 % en peso de las partículas de la composición granulada son gránulos que tienen un tamaño de partícula de más de 0,6 mm (30 de malla) a 1,7 mm (12 de malla).
7. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que comprende varios gránulos, comprendiendo cada gránulo sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, teniendo la composición a) un coeficiente de variación mineral de 0 % a 10 %, (b) un coeficiente de variación próximo de 0 % a 20 % o (c) un coeficiente de variación mineral de 0 % a 10 % y un coeficiente de variación próximo de 0 % a 20 %.
8. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el glucano y los mananos proceden de pared celular de levadura o de un extracto de la misma.
9. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende 1-40 % en peso de sílice, 0,5-25 % en peso de glucano y mananos, y 40-92 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí.
10. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende de 0,05 % en peso de endoglucanohidrolasa a 5 % en peso de endoglucanohidrolasa.
11. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende 0,1-3 % en peso de β -1,3 (4)-endoglucanohidrolasa, 1-40 % en peso de sílice, 1-30 % en peso de pared celular de levadura o un extracto de la misma y 40-92 % en peso de arcilla mineral, en cantidades relativas entre sí.
12. La composición granular de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde:
 - la composición tiene una diferencia de densidad aparente entre una densidad aparente de una muestra suelta envasada y una densidad aparente de una muestra golpeada o agitada de menos de 240,3 kg/m³ (15 lb/pie³); o
 - la composición tiene un valor de dispersión igual o inferior a 15 % a los 5 minutos; o
 - la composición tiene un valor de dispersión igual o inferior a 10 % a los 10 minutos; o
 - cada gránulo tiene una densidad específica de 800,9 kg/m³ a 2402,8 kg/m³ (50 lb/pie³ a 150 lb/pie³); o
 - una combinación de los mismos.
13. La composición granulada de la reivindicación 1, comprendiendo cada gránulo una mezcla sustancialmente homogénea de sílice, arcilla mineral, glucano y mananos, comprendiendo la composición de más de 0 % a 100 % de gránulos en peso y de 0 % a no más de 20 % de partículas en peso, teniendo los gránulos al menos una dimensión entre 0,15 mm y 2 mm y teniendo las partículas al menos una dimensión inferior a 0,15 mm, teniendo los gránulos un tamaño que cuando se administran a un animal aumenta la expresión del receptor β de interleucina 10 durante un periodo de tiempo posterior a la administración hasta 28 días después en relación con un animal que no recibe la composición, en donde la composición tiene un coeficiente de variación mineral de 0 % a 10 % y un coeficiente de variación próximo de 0 % a 20 %.

14. La composición granulada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la composición comprende además uno o más componentes adicionales seleccionados de un carbonato metálico, una especie de cobre que proporciona un ion de cobre, un oligoelemento, un agente de voluminosidad, levadura, un vehículo, un colorante, un potenciador del sabor, un conservante, un aceite, una vitamina, yuca, quillaja, un probiótico, alicina, aliina, alinasa, algas, un polifenol o material vegetal que comprenda polifenol, o un ácido sórbico o una sal del mismo.
- 5
15. Una composición granulada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, para su uso en la administración a un animal para tener un efecto beneficioso en el animal, en donde el efecto beneficioso comprende el aumento del sistema inmunitario innato del animal, aumentar la producción de leche del animal, tratar o impedir una enfermedad infecciosa, tratar o impedir una enfermedad no infecciosa, tratar o impedir el estrés, tratar o impedir una afección o enfermedad relacionada con el estrés, ayudar a aumentar la longevidad del animal y/o mejorar su índice de conversión de pienso (o alimenticia).
- 10
16. La composición para el uso de la reivindicación 15, en donde la administración al animal comprende:
- 15
- administrar una cantidad de la composición de más de cero a 500 gramos por animal al día; o
- administrar una cantidad de la composición de más de cero a 1000 mgs por kilogramo de peso corporal del animal al día; o
- administrar en una cantidad de más de cero a 0,165 kg por kg de pienso (150 kg por tonelada (2000 libras) de pienso).
- 20

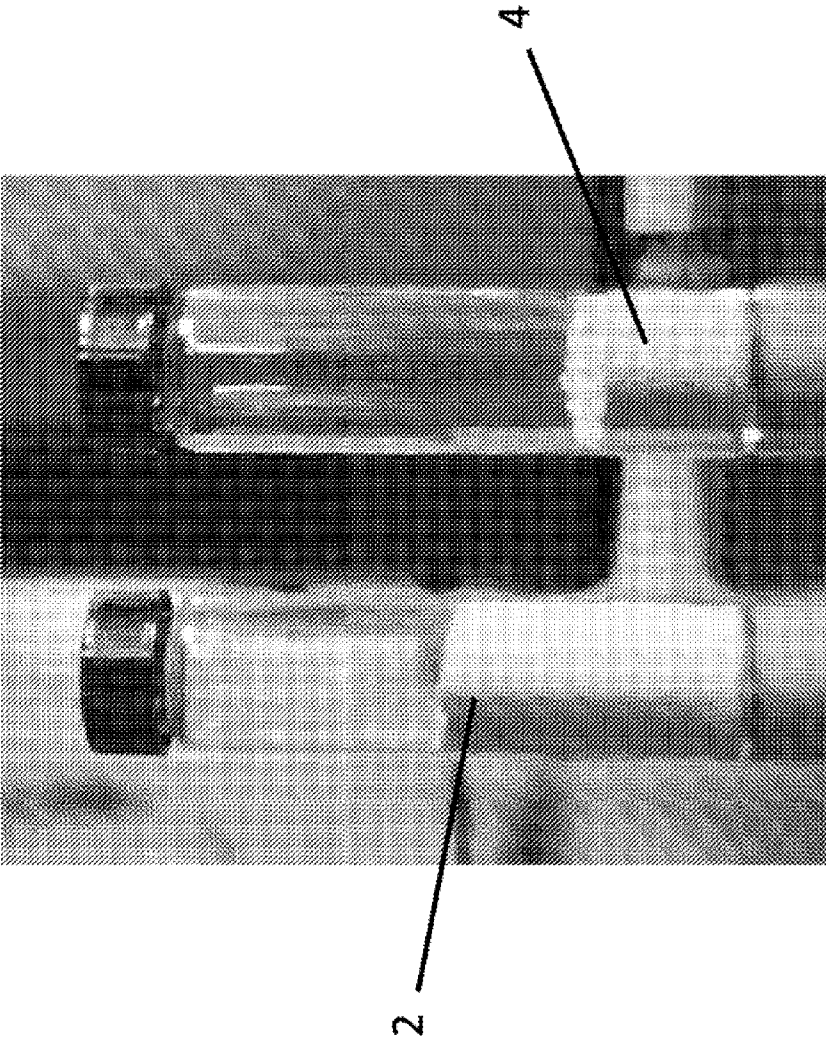


FIG. 1

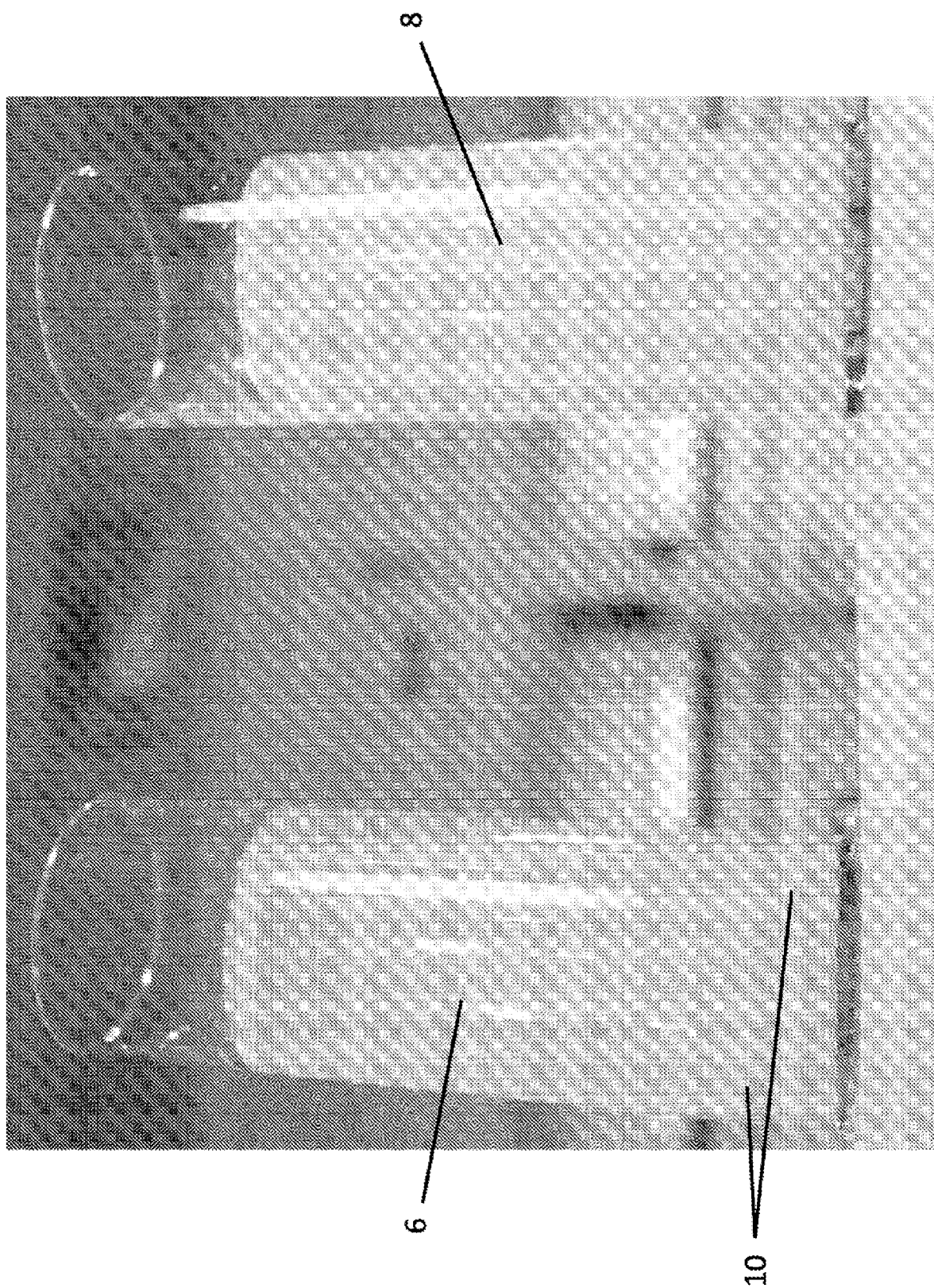


FIG. 2

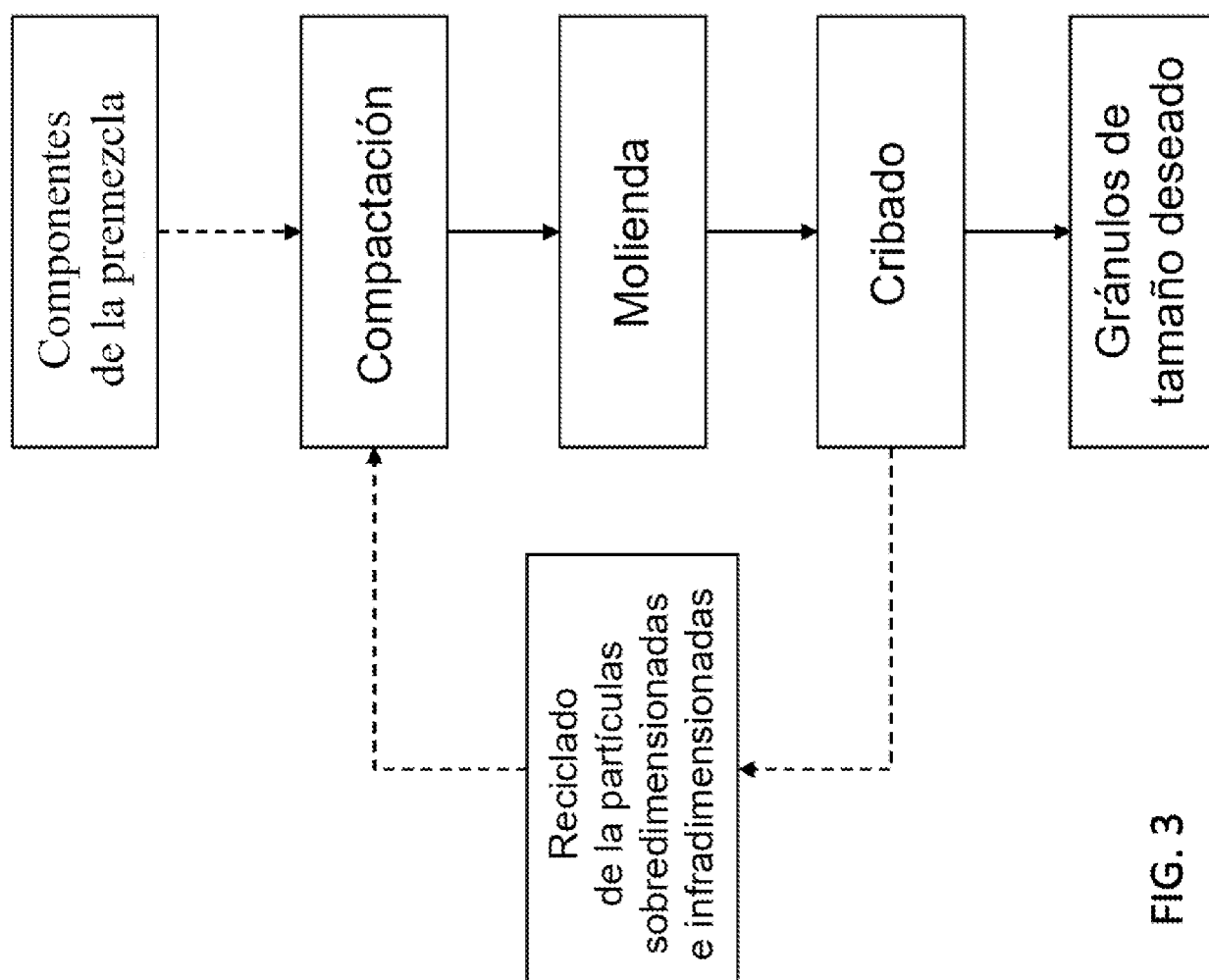


FIG. 3

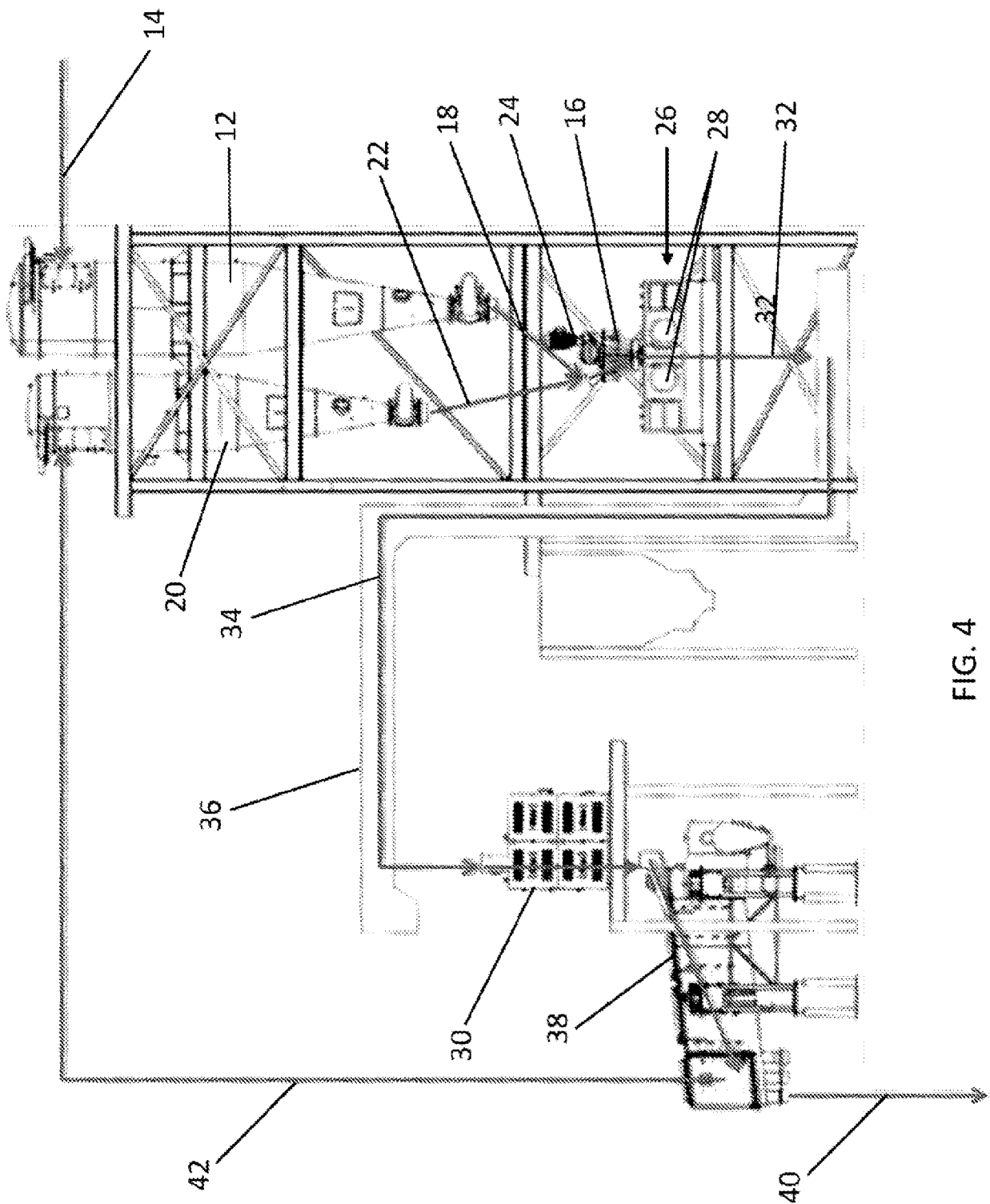


FIG. 4

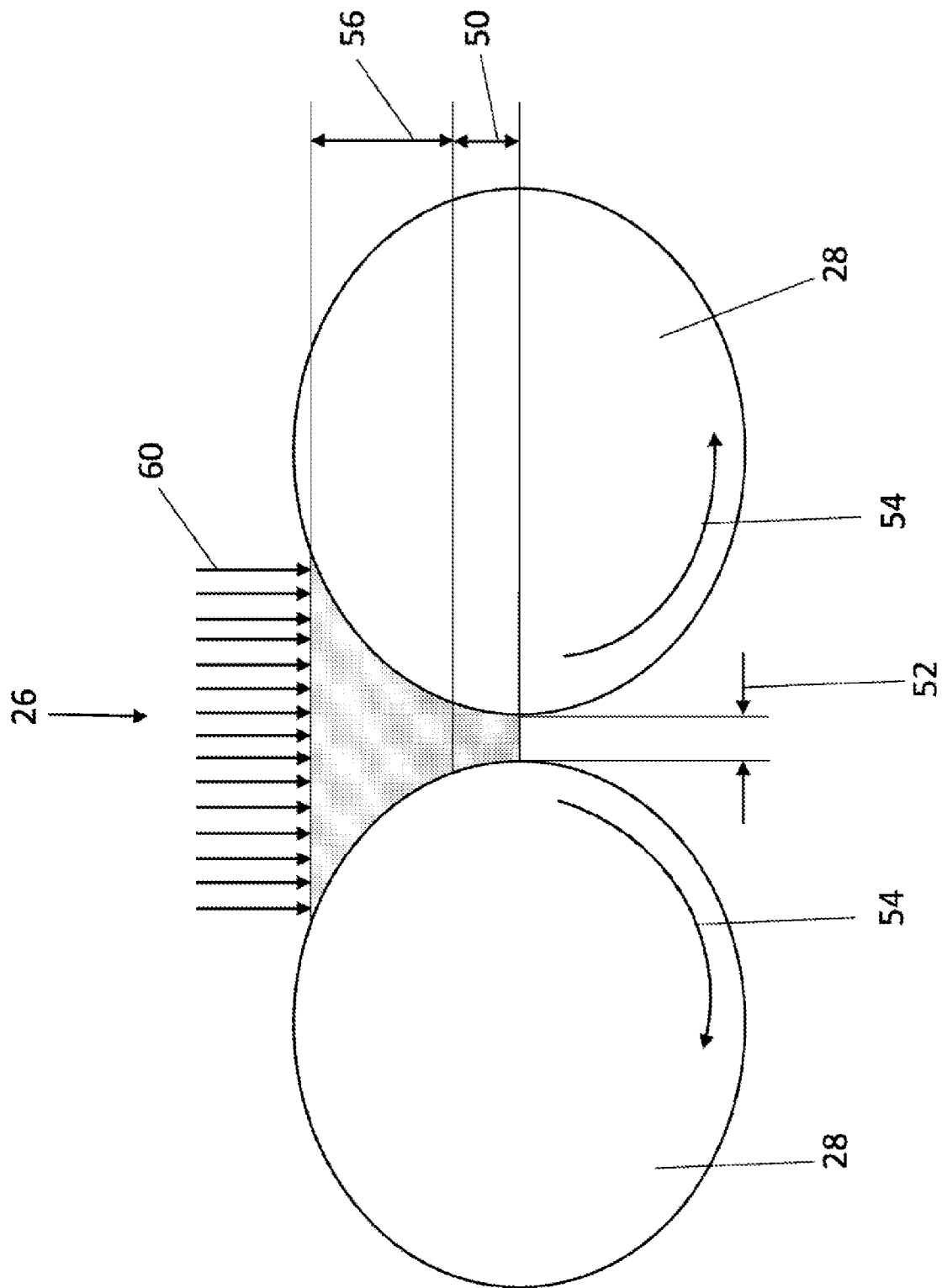


FIG. 5

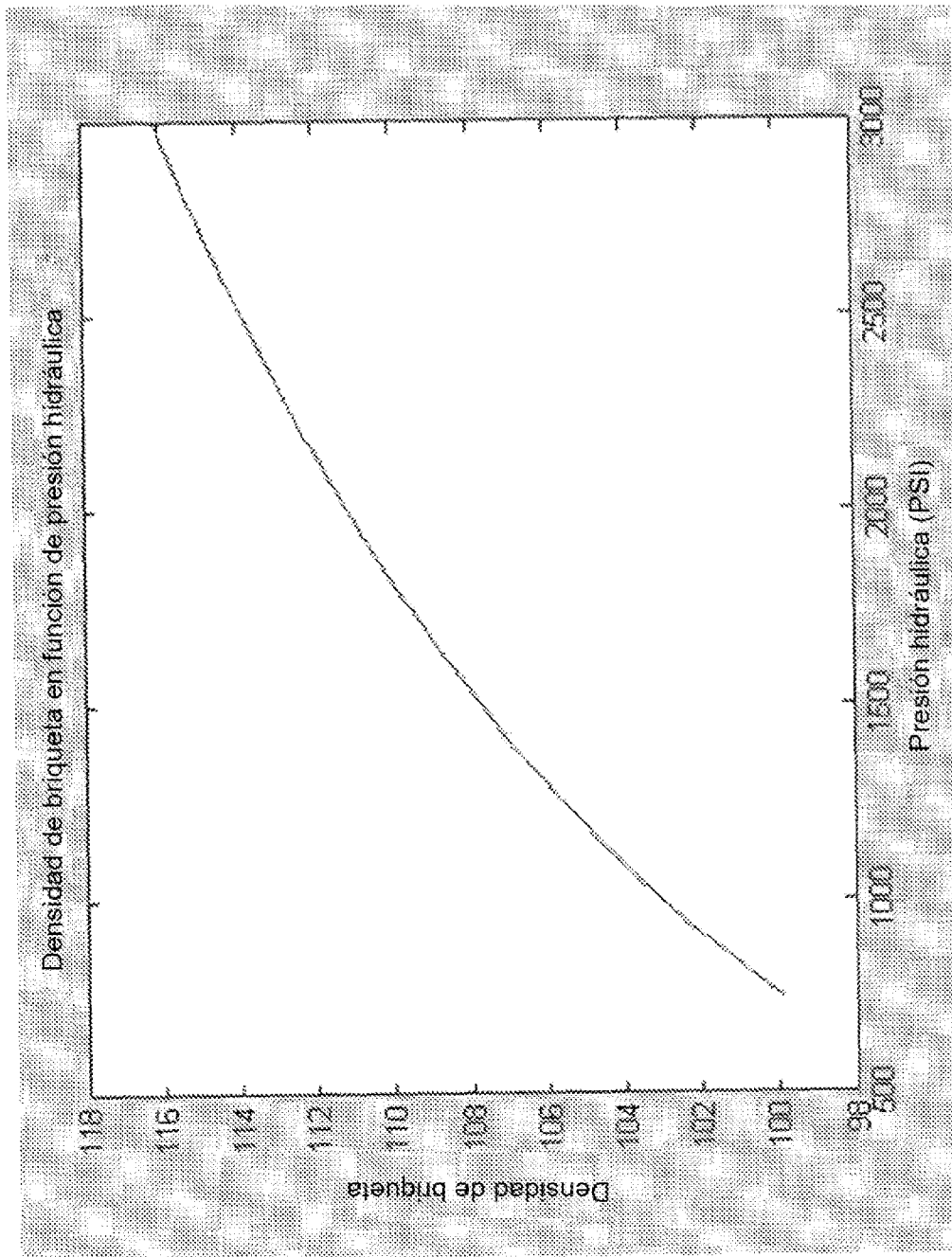


FIG. 6

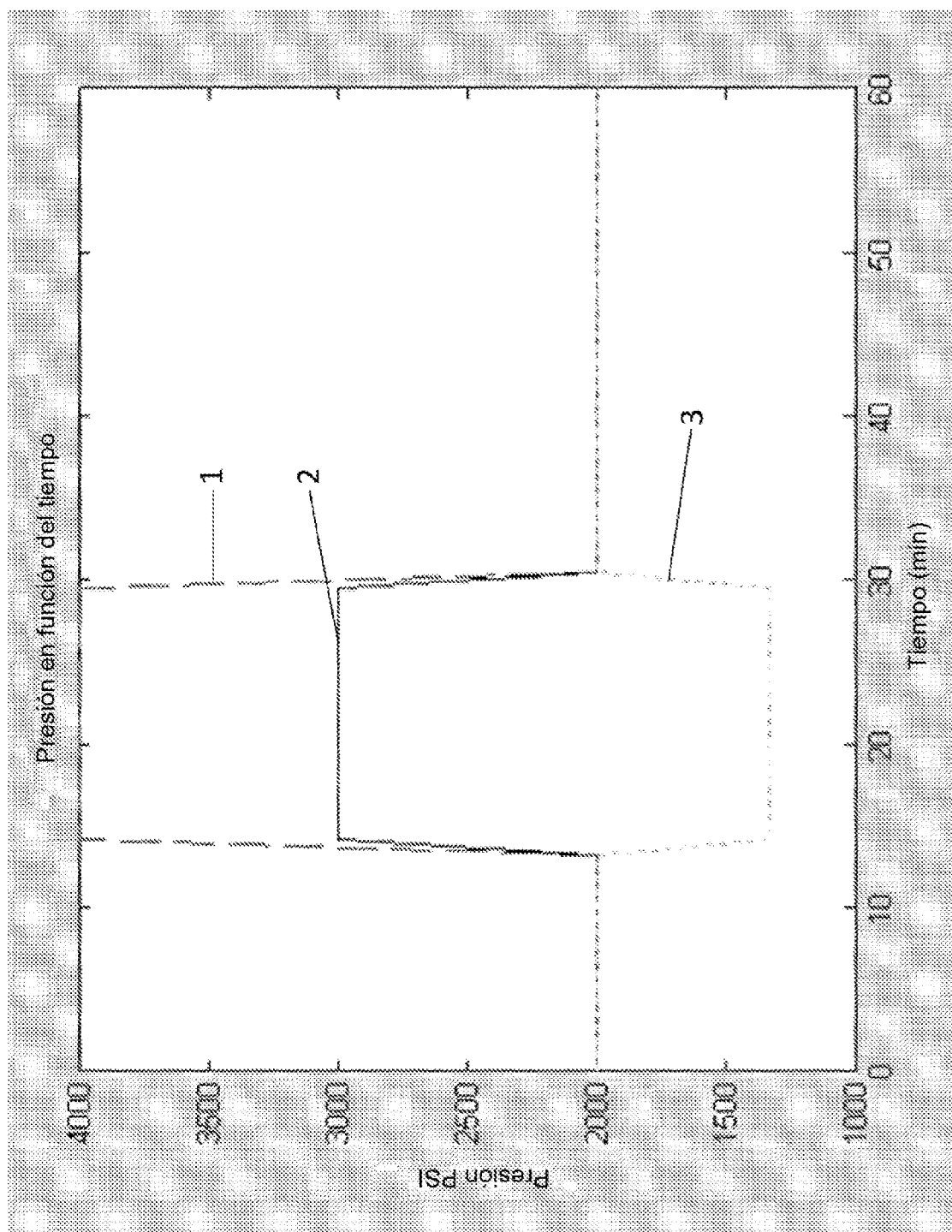


FIG. 7

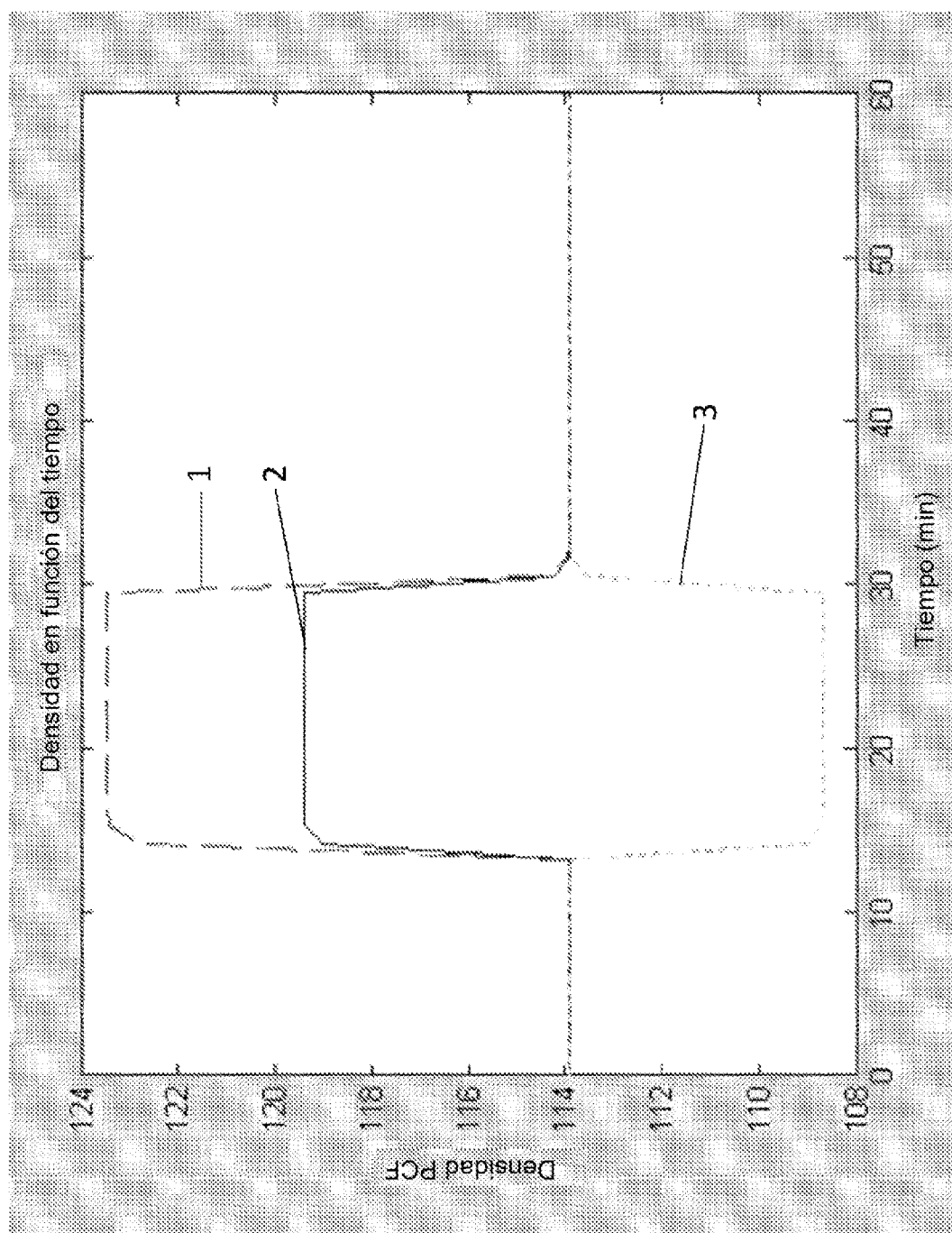


FIG. 8

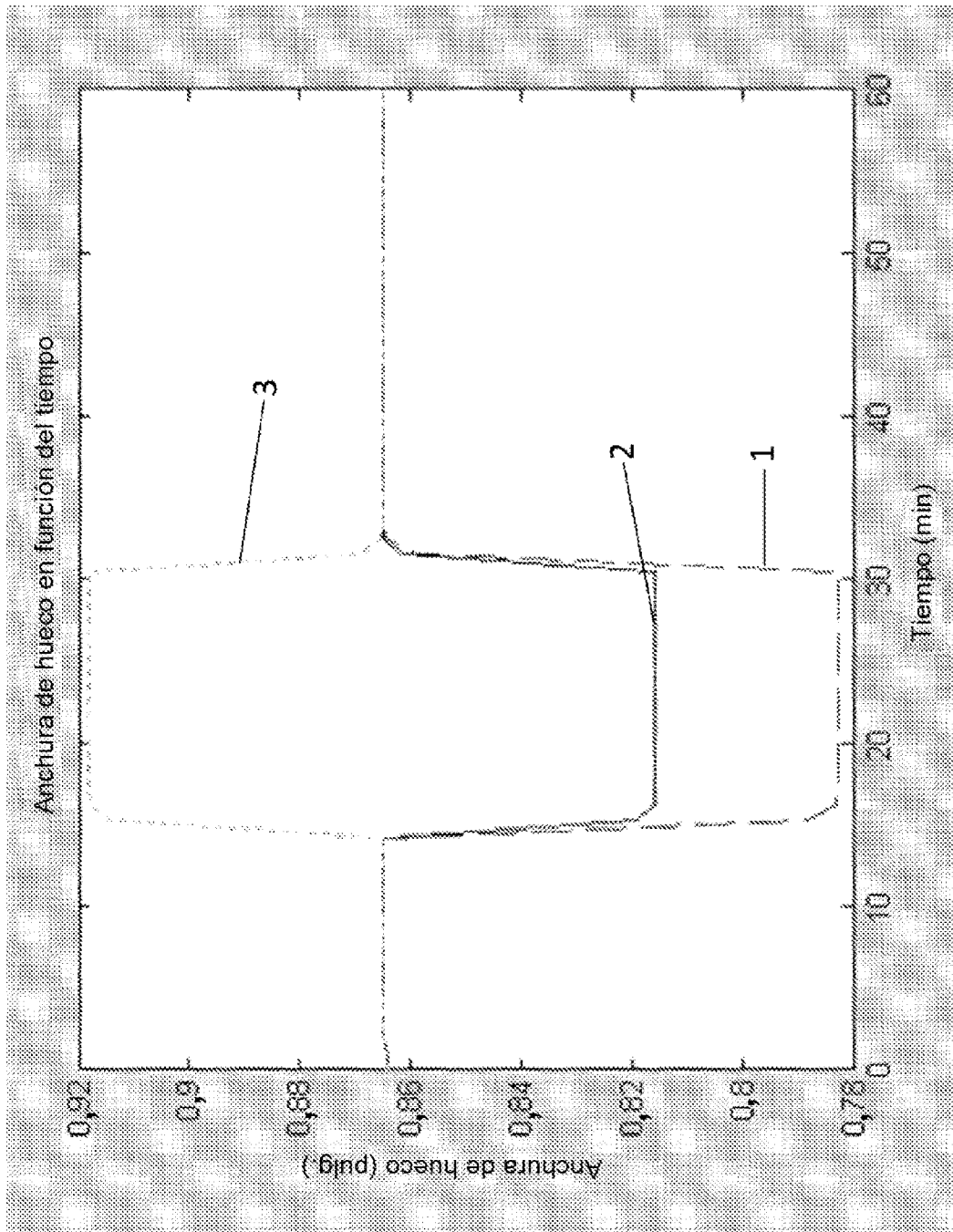


FIG. 9

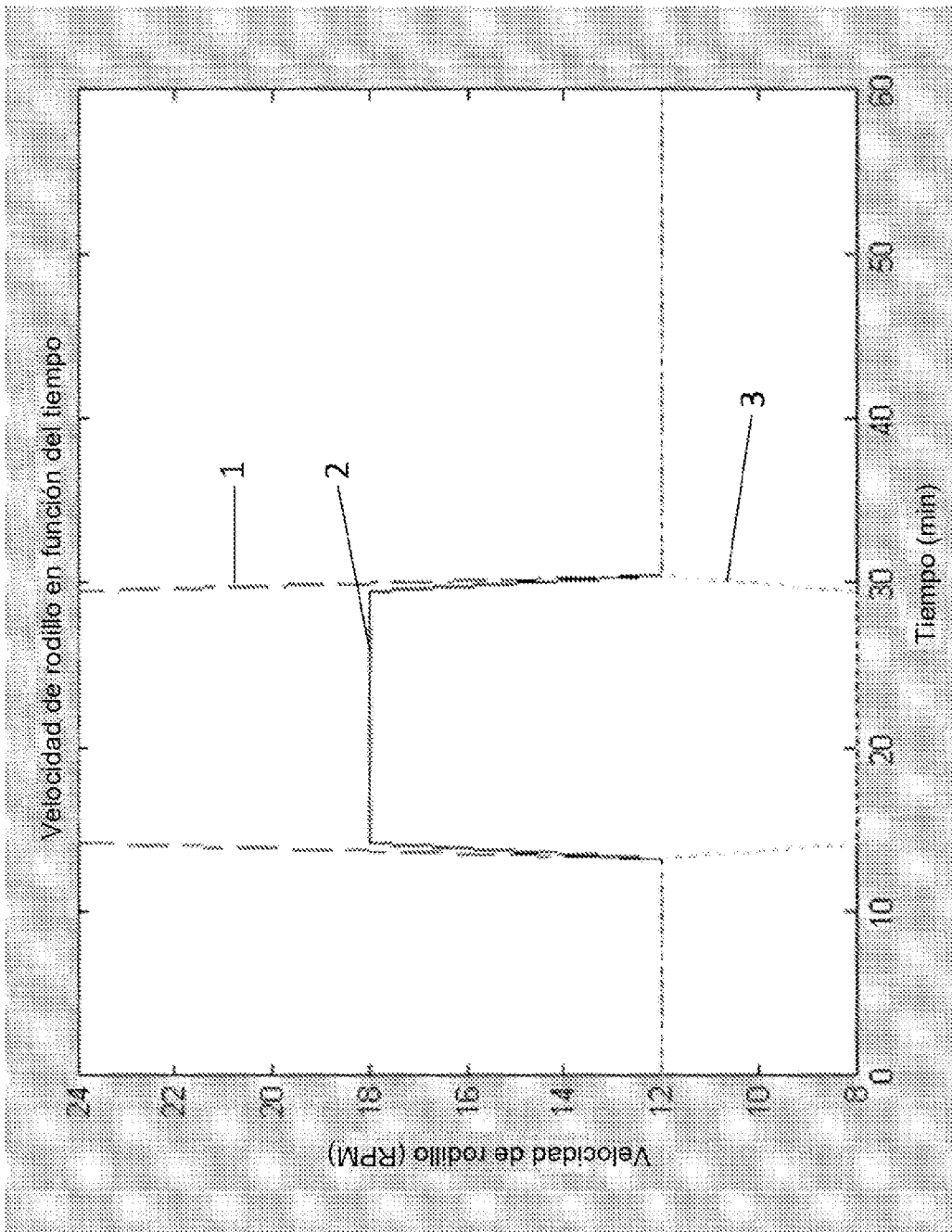


FIG. 10

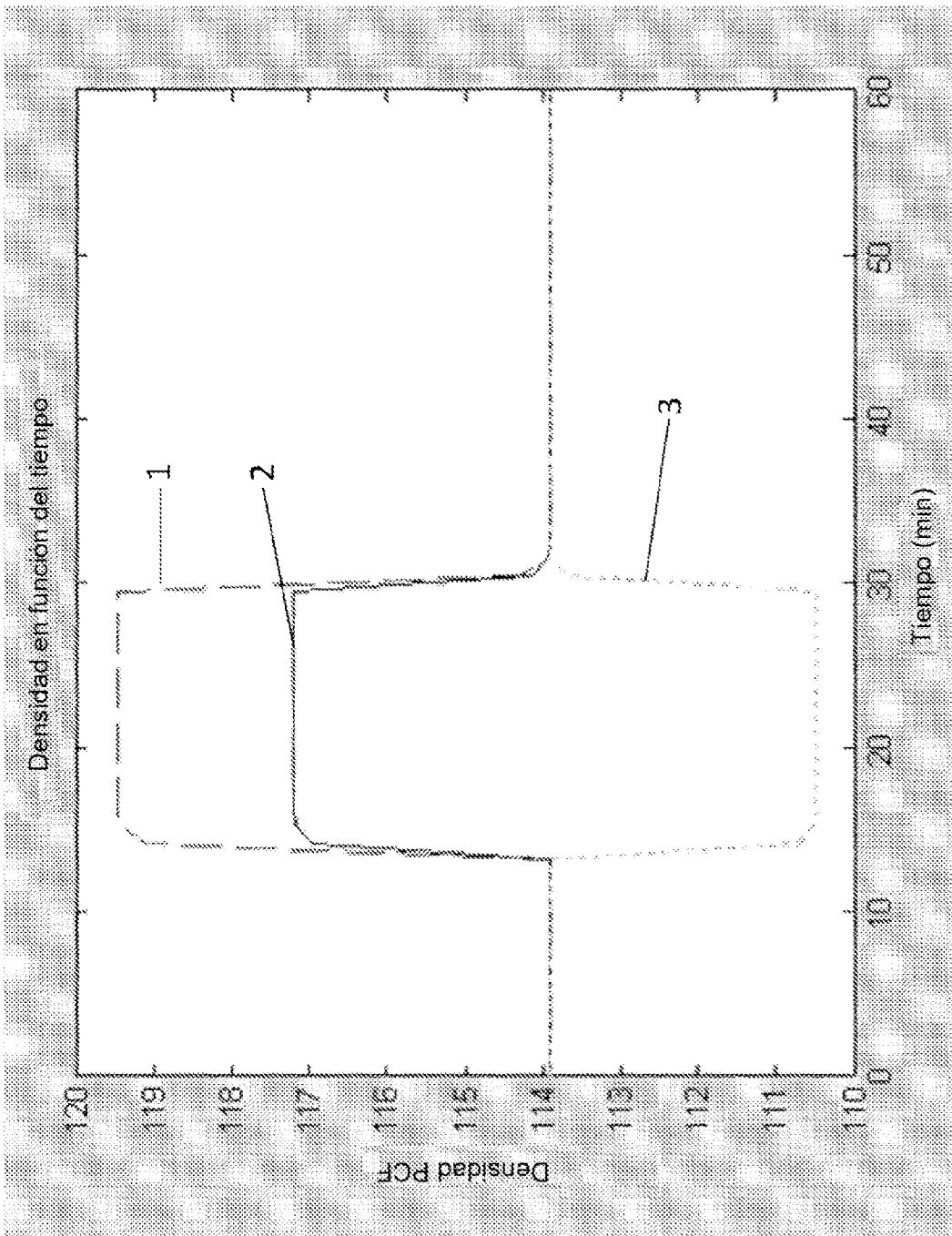


FIG. 11

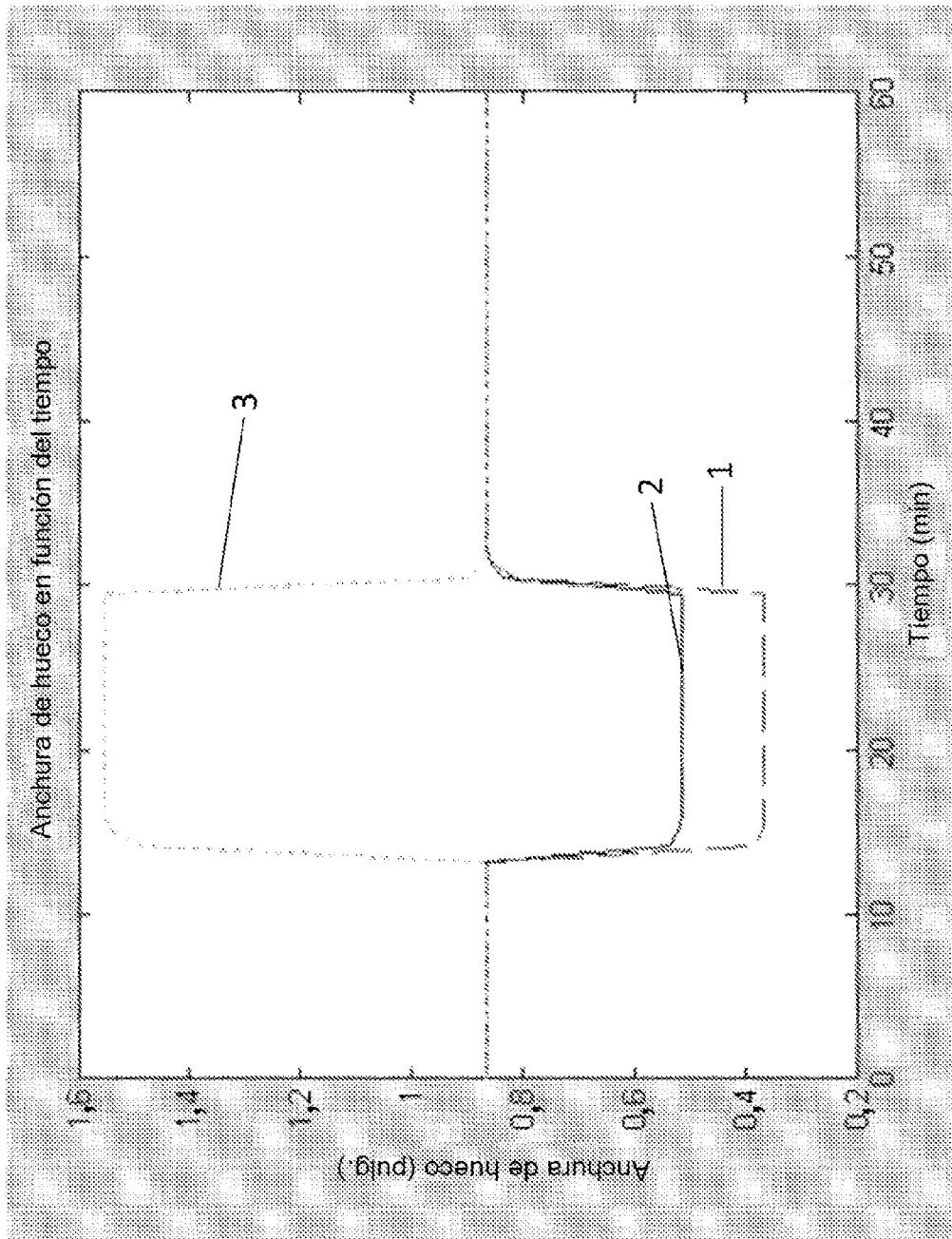


FIG. 12

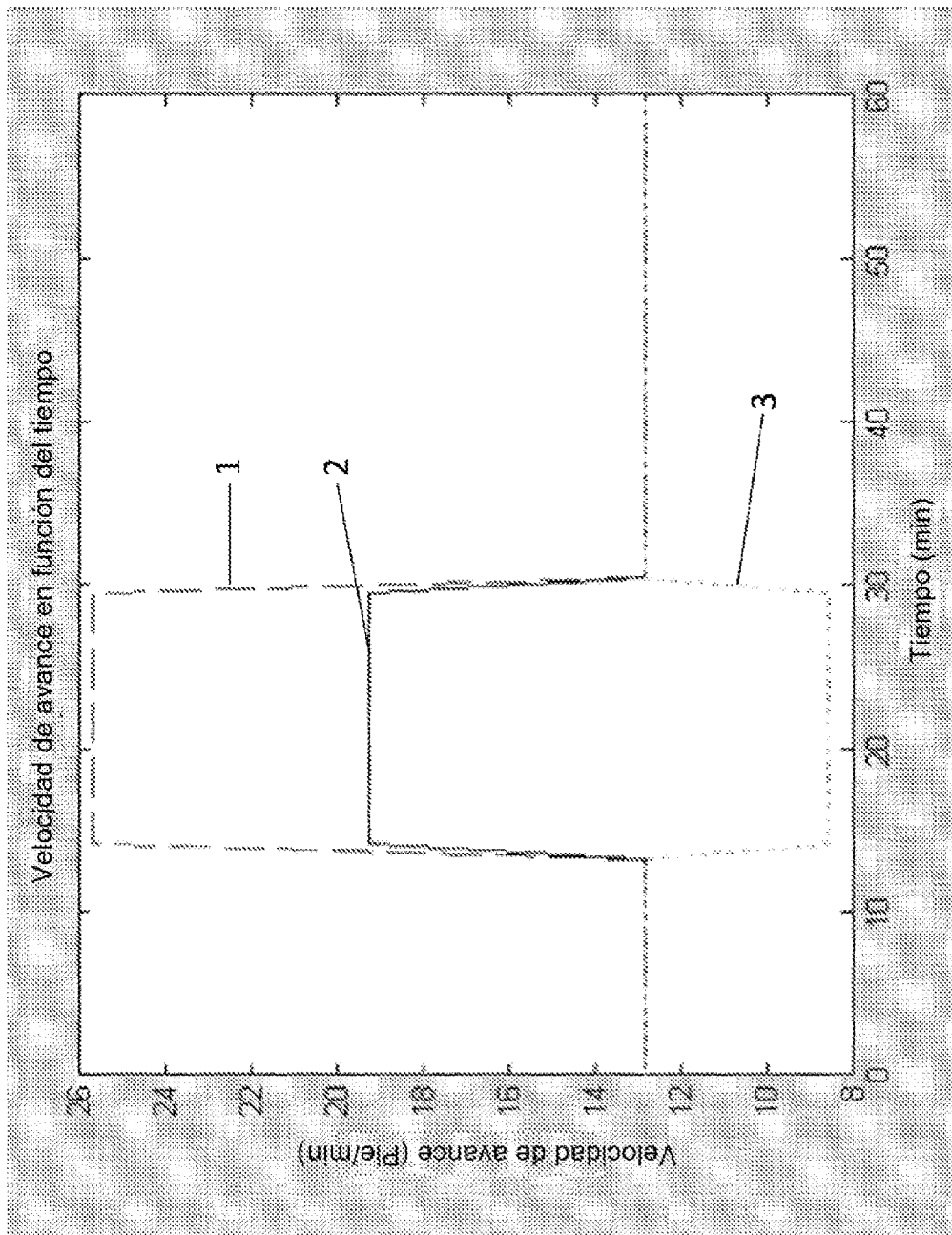


FIG. 13

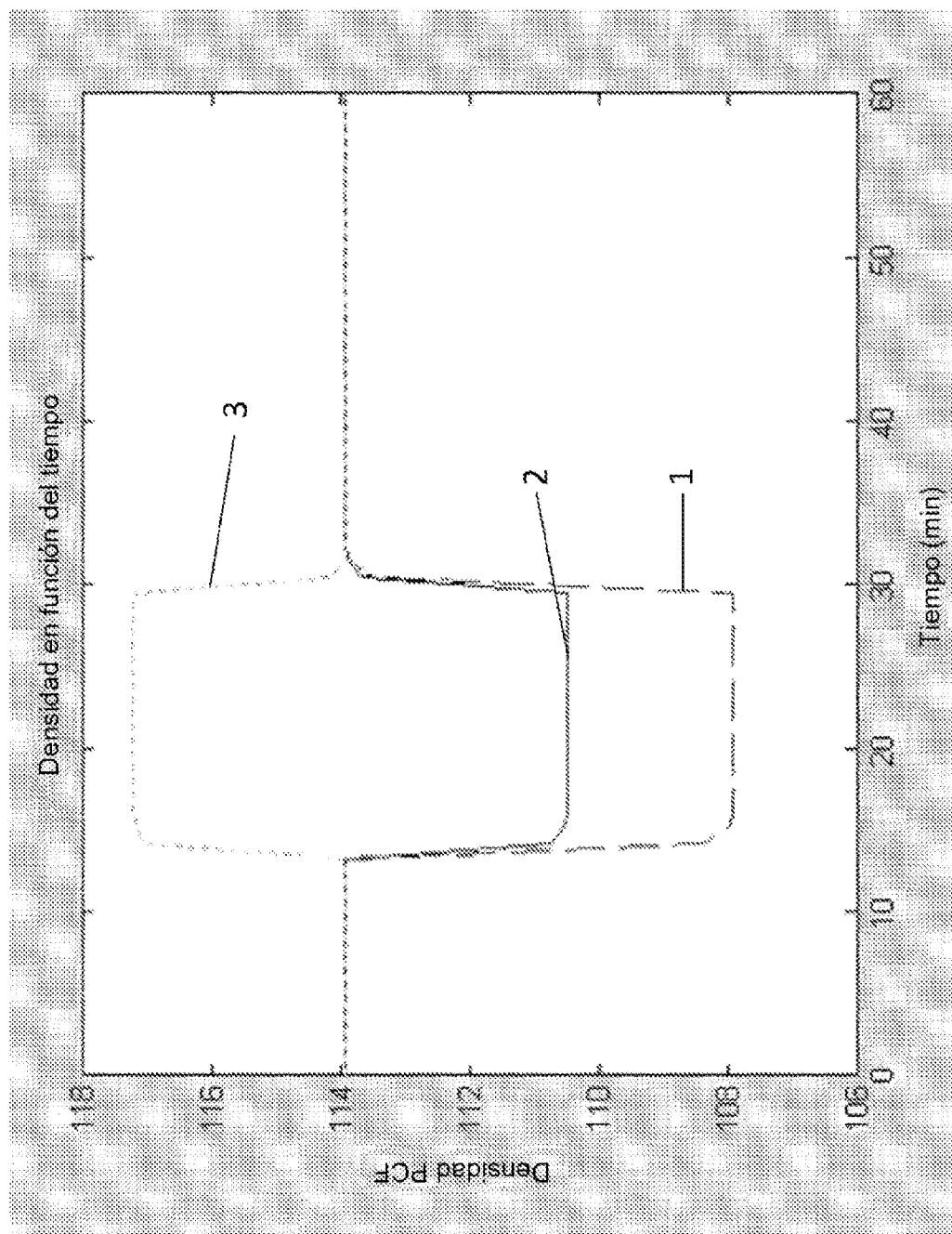


FIG. 14

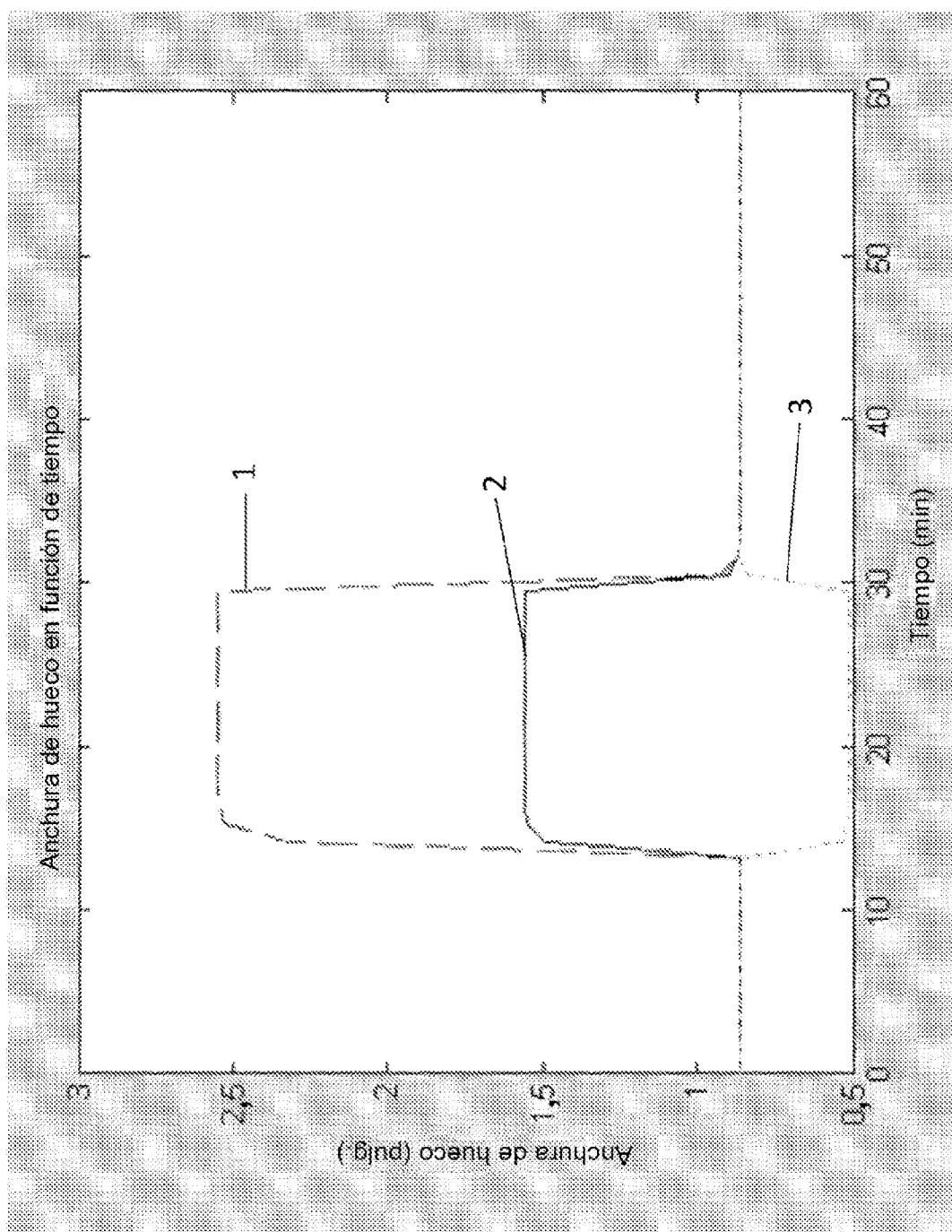


FIG. 15

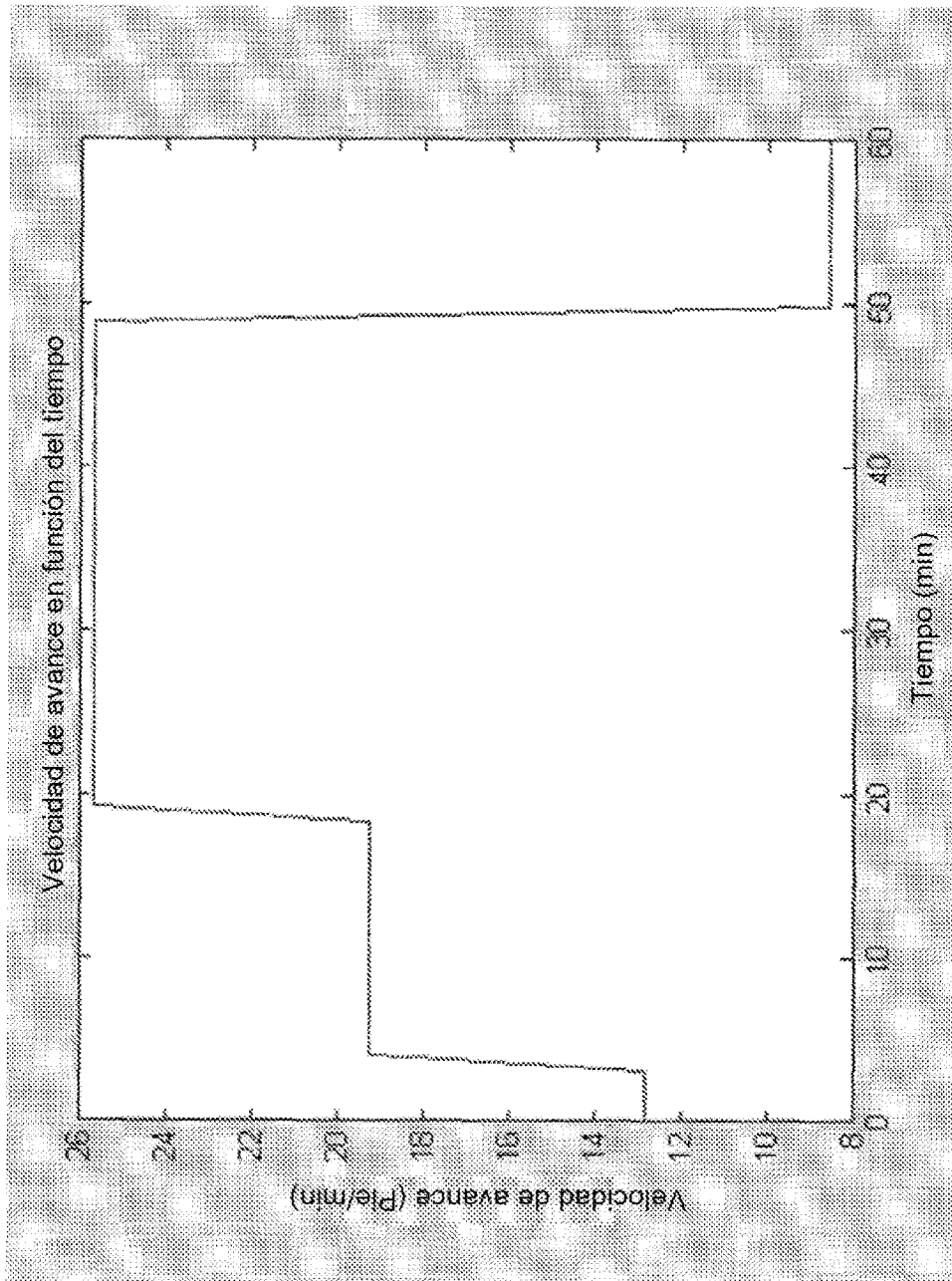


FIG. 16

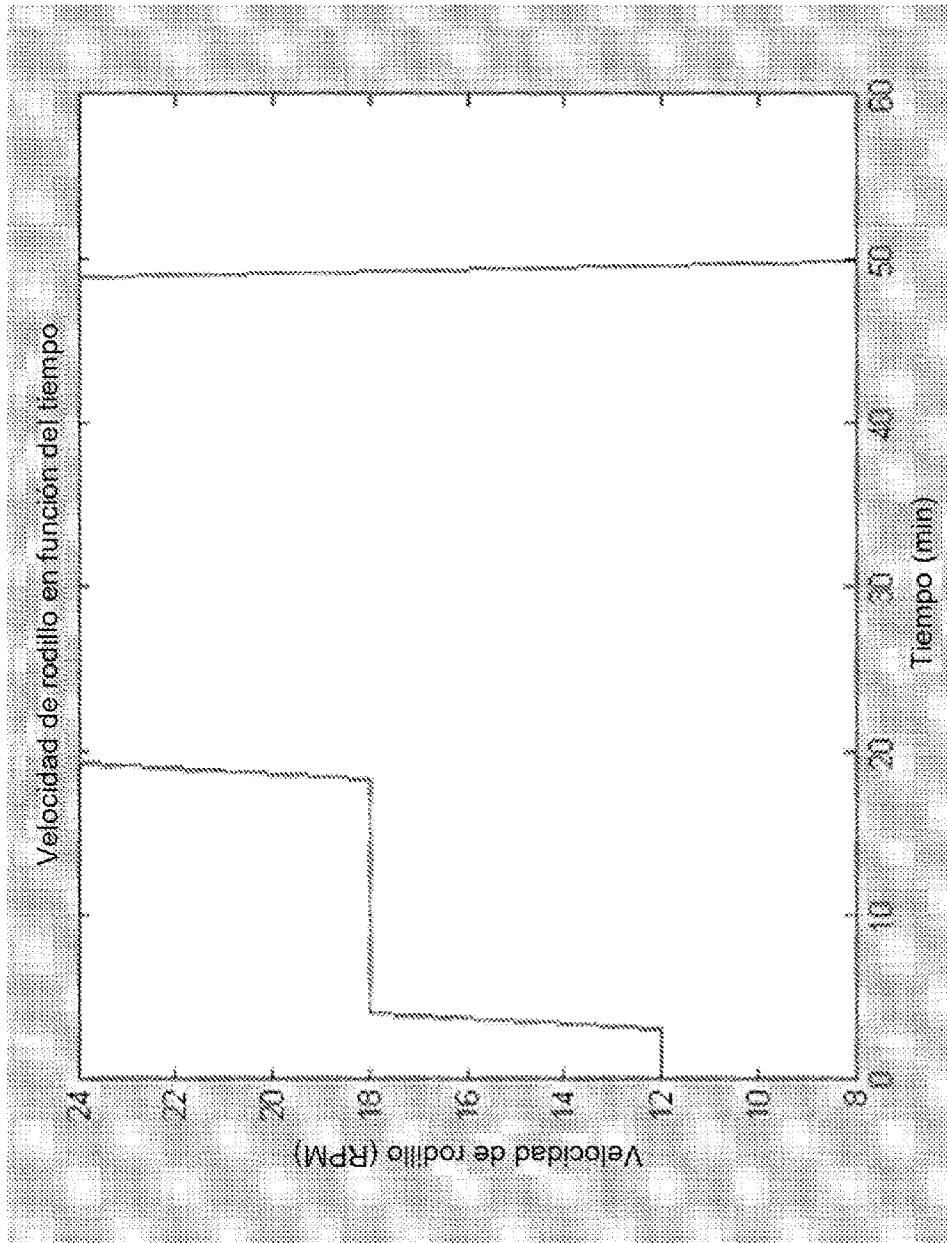


FIG. 17

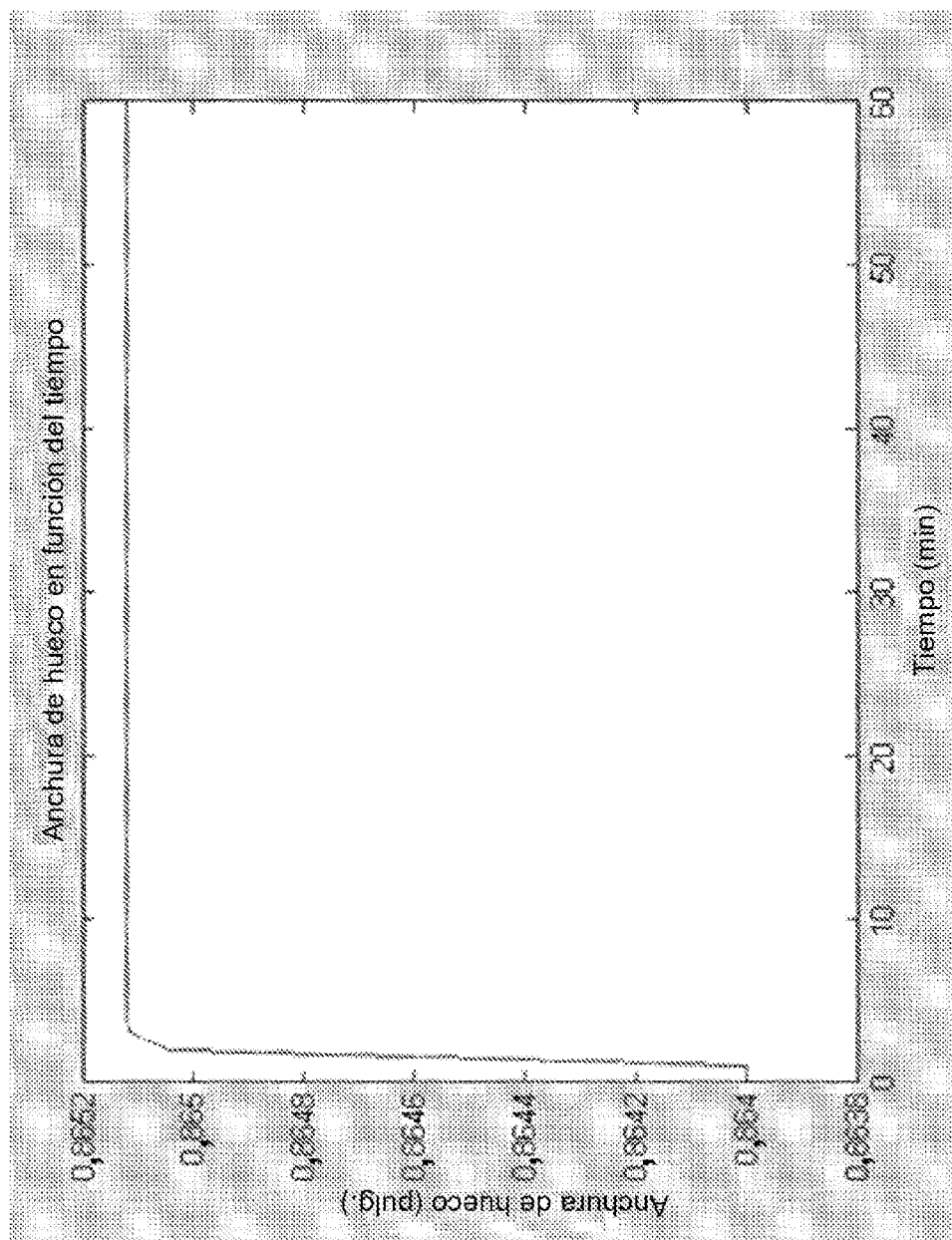


FIG. 18

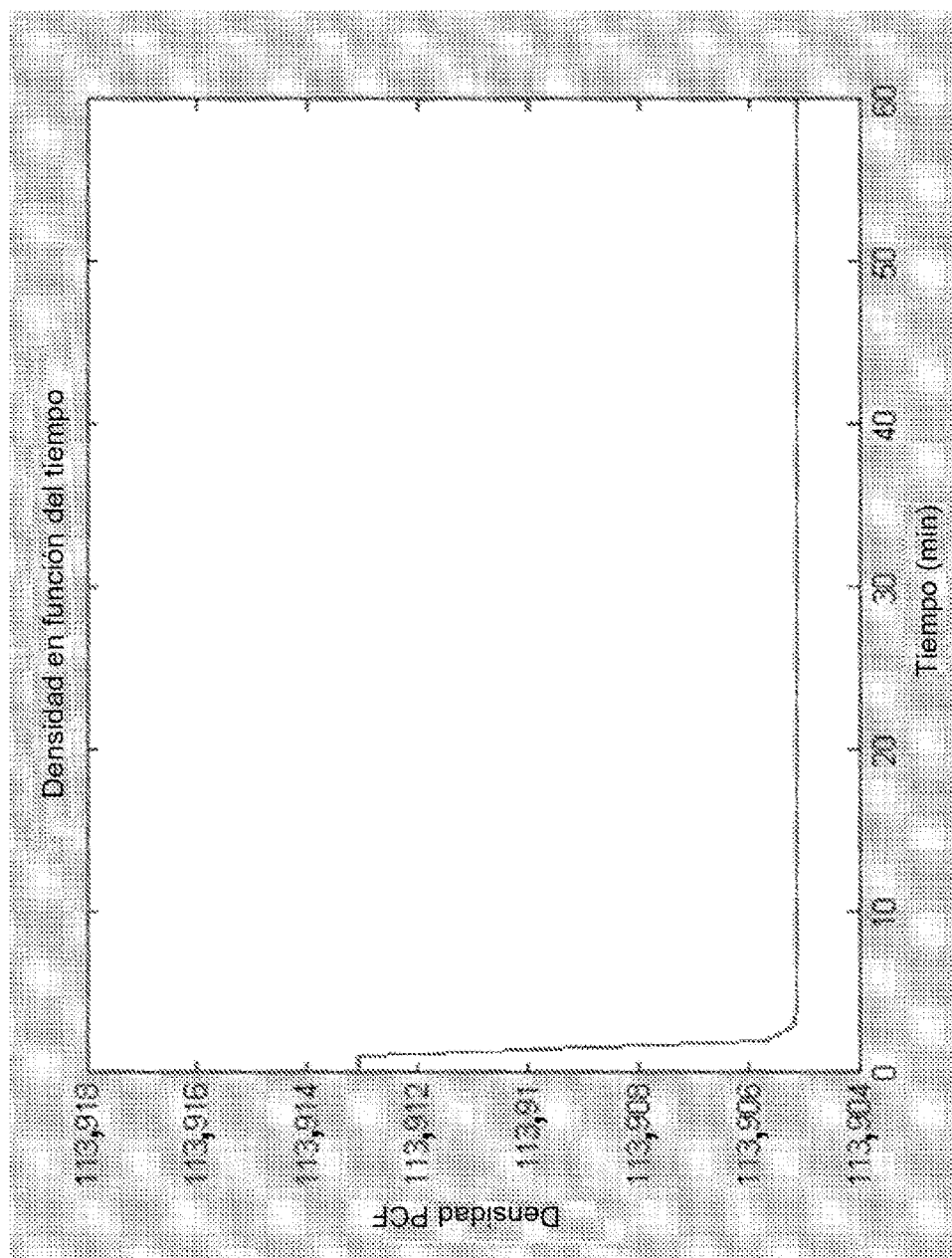


FIG. 19

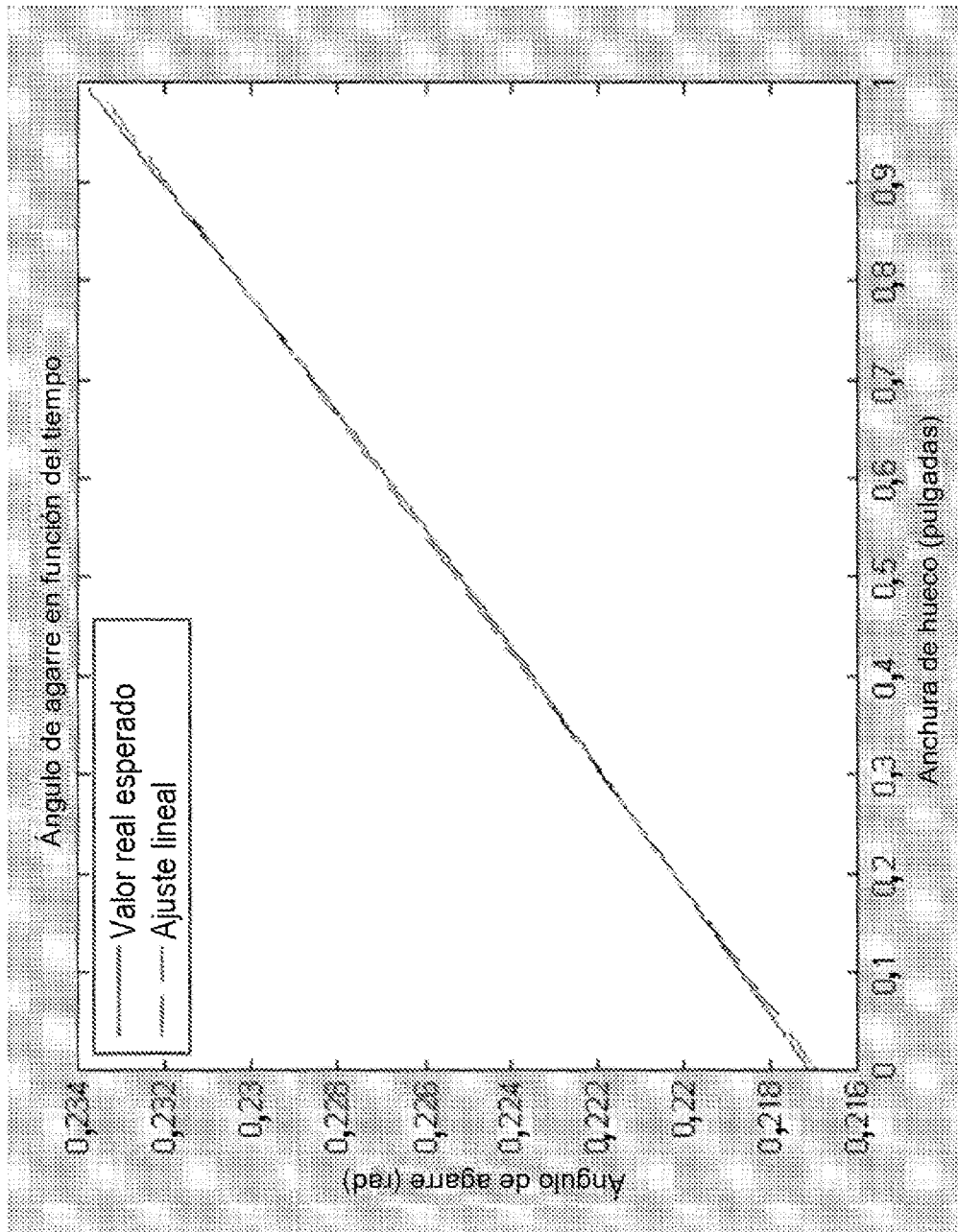


FIG. 20

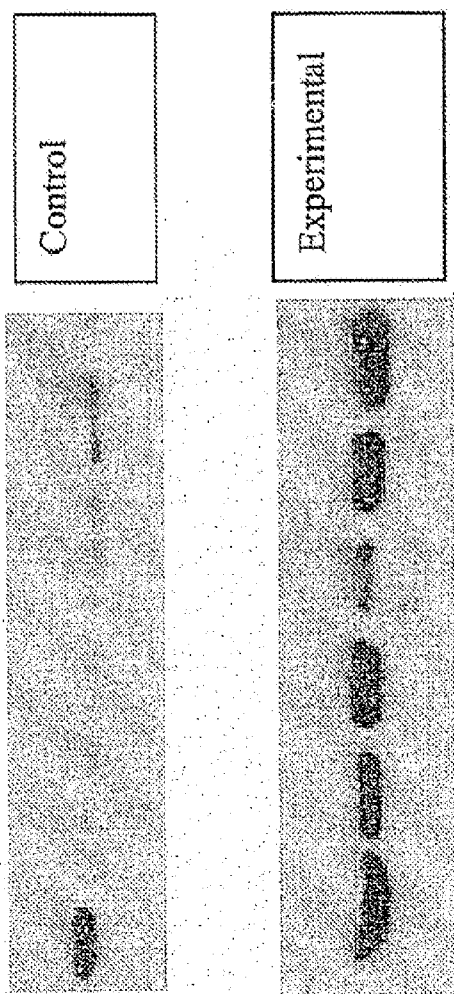


FIG. 21

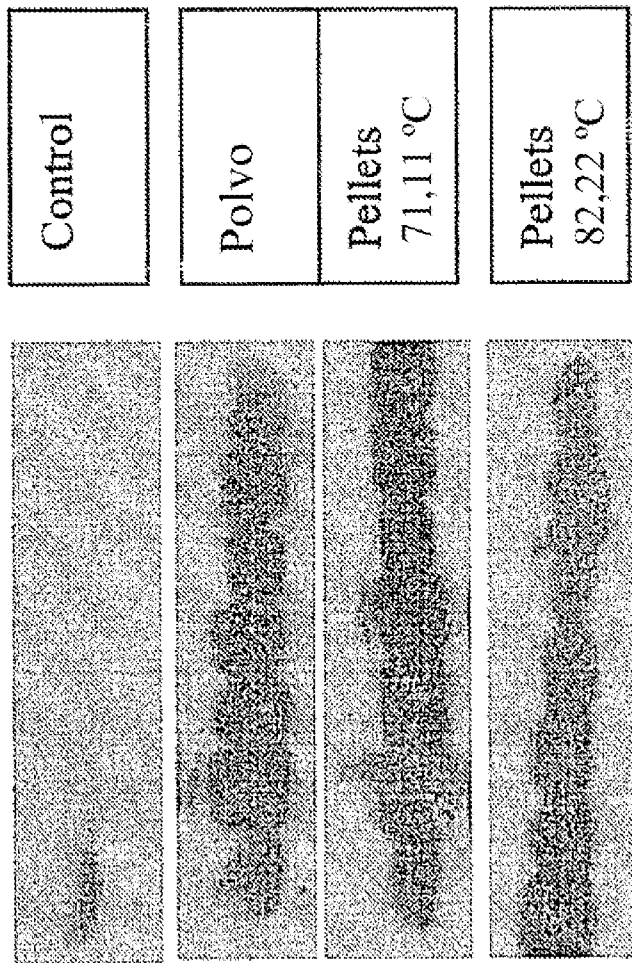


FIG. 22

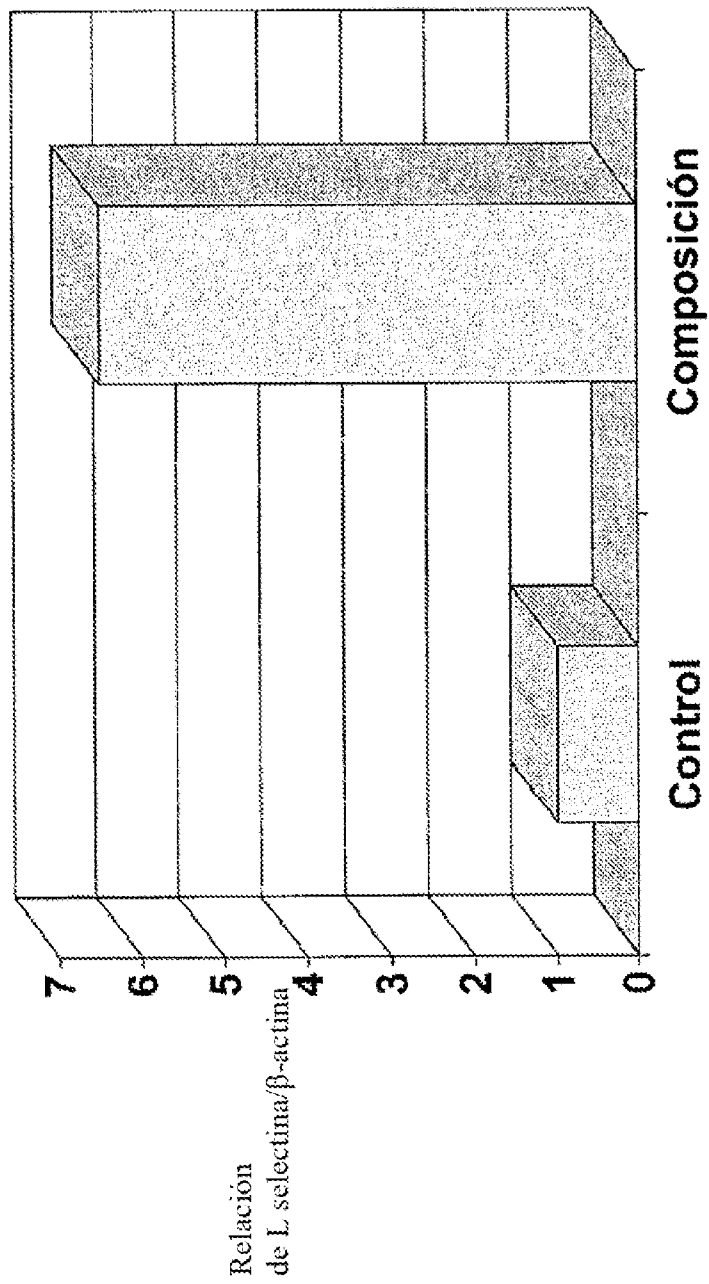


FIG. 23

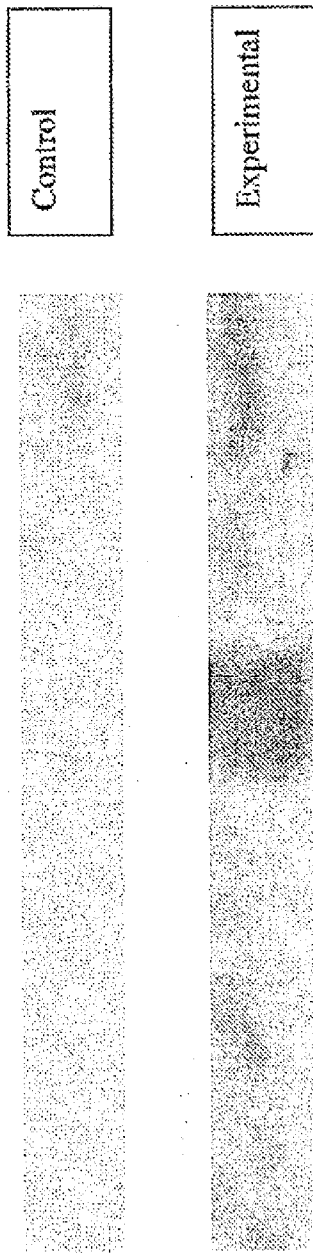


FIG. 24

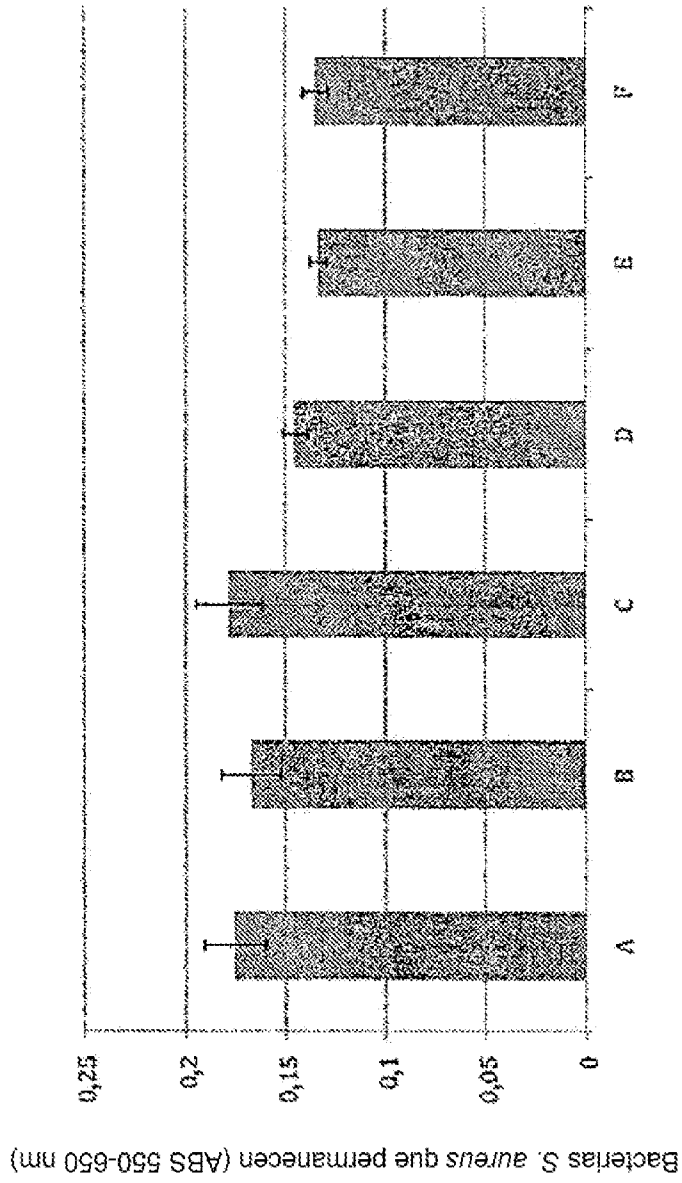


FIG. 25

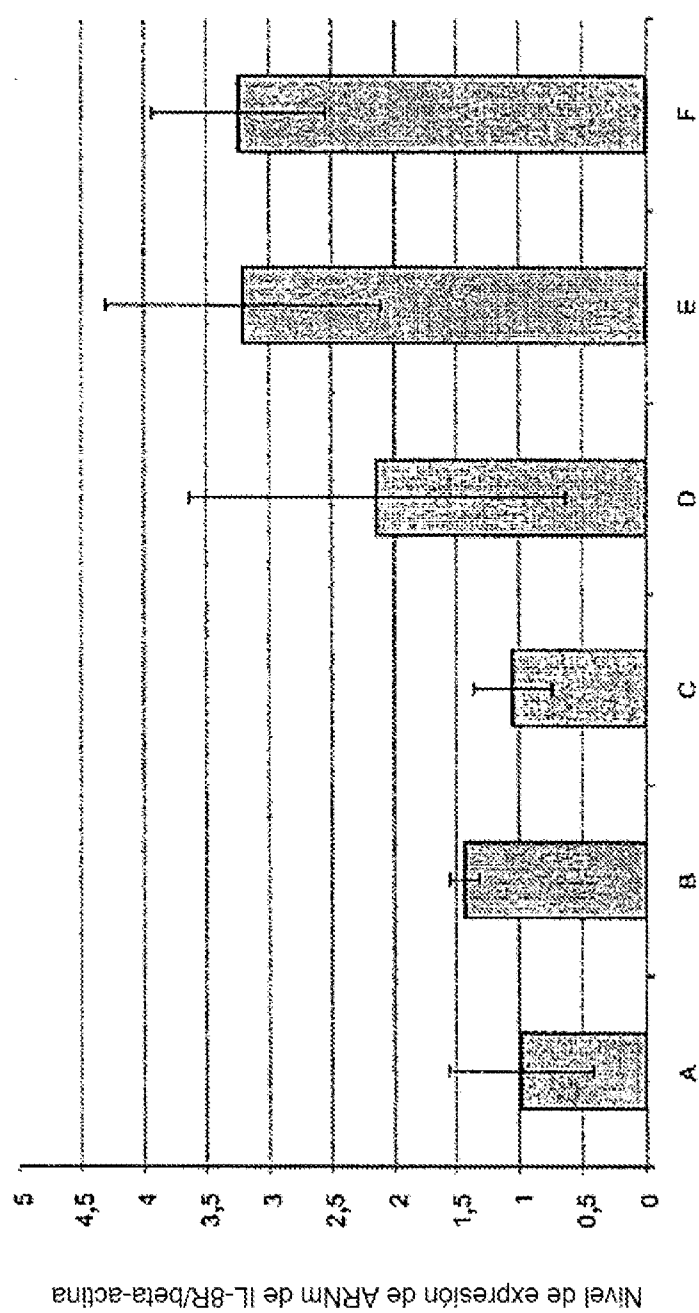


FIG. 26

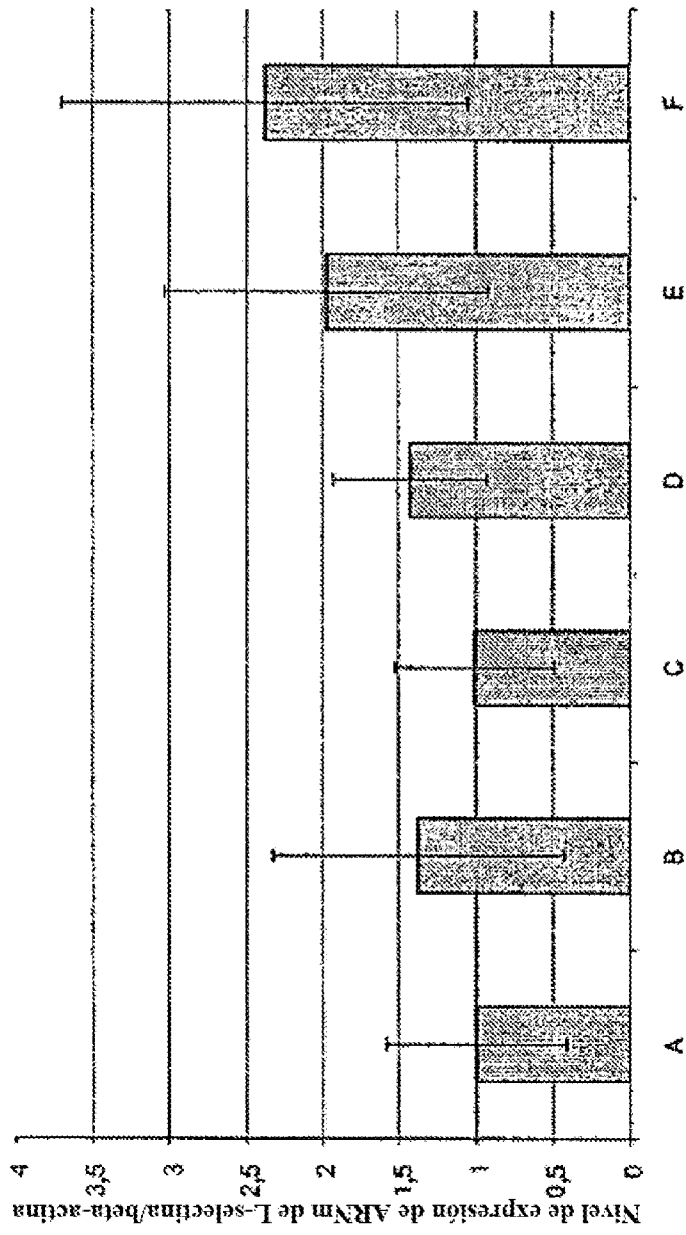


FIG. 27

	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5	Método 6	Método 7	Método 8
mallas + 12	0,0	6,7	0,0	0,0	0,0	40,2	11,8	0,0
mallas 12 x 16	0,0	19,1	28,1	37,6	0,0	14,4	9,1	23,6
mallas 16 x 20	0,1	15,6	36,2	23,5	0,5	13,9	10,1	26,9
mallas 20 x 40	0,5	17,6	32,9	20,9	40,3	21,8	8,4	27,3
mallas 40 x 60	1,0	6,8	0,5	11,7	28,8	6,4	3,5	14,0
mallas 60 x 100	14,2	23,2	0,4	5,1	11,4	1,1	5,8	6,5
mallas - 100	84,2	10,9	1,8	1,2	19,0	2,2	51,4	1,7

FIG. 28

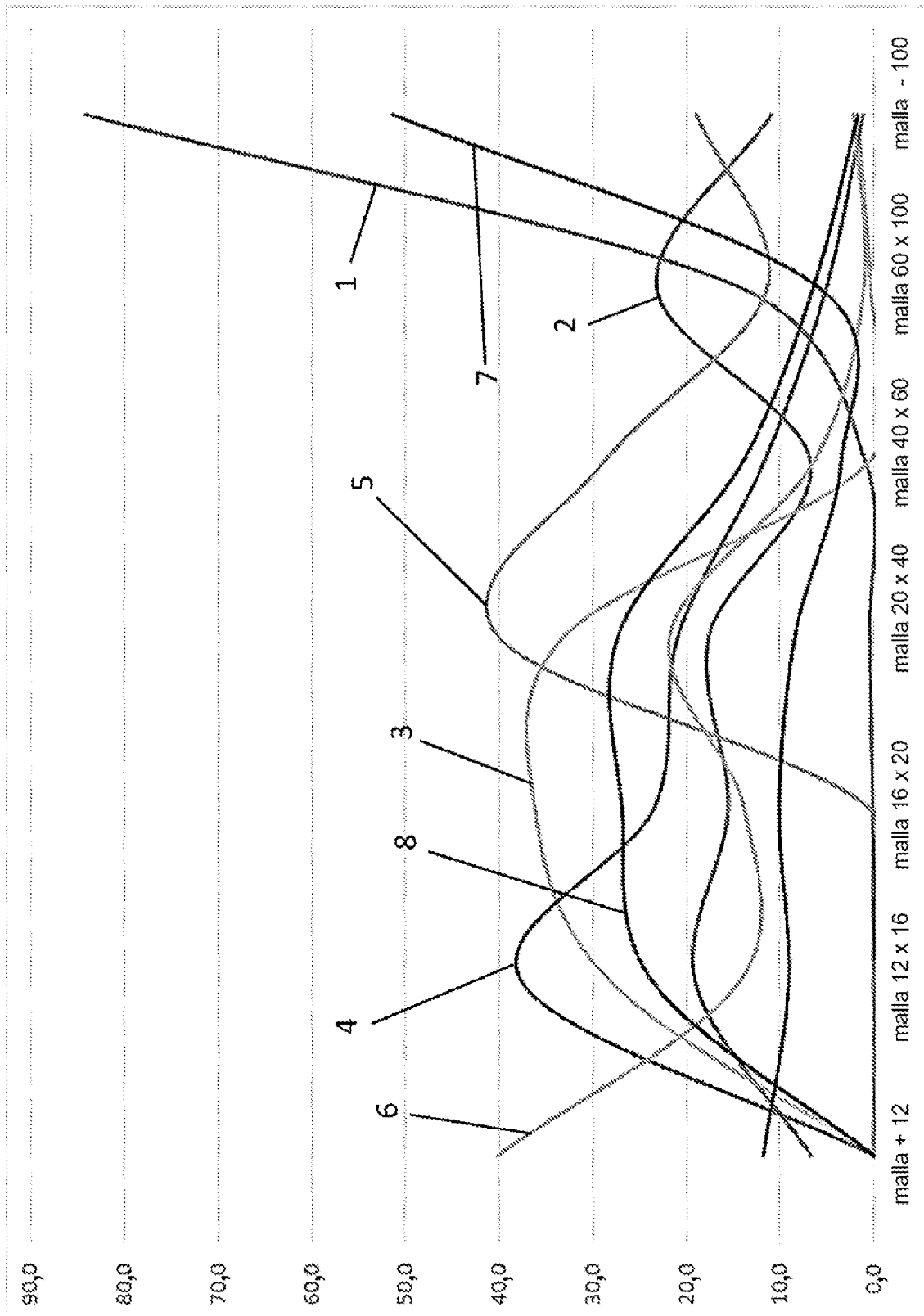


FIG. 29

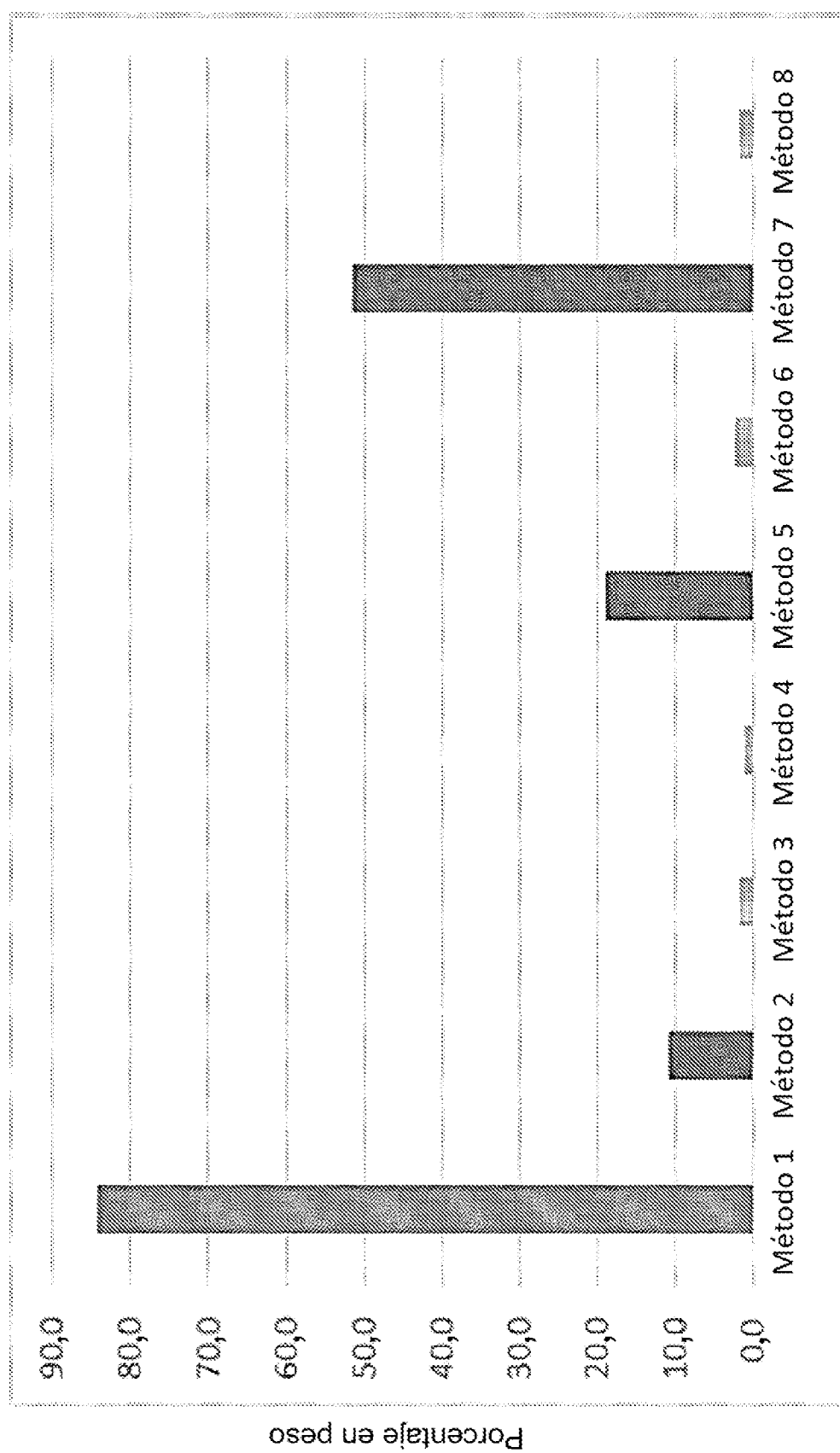


FIG. 30

	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5	Método 6	Método 7	Método 8
Densidad suelta (lb/pie ³)	26,3	44,7	54,3	60,1	48,4	52,7	39,7	59,9
Densidad compactada (lb/pie ³)	55,1	58,6	59,7	72,0	69,9	56,5	57,0	71,5
Diferencia de densidad (lb/pie ³)	28,8	13,9	5,4	11,9	21,5	3,8	17,3	11,6

FIG. 31

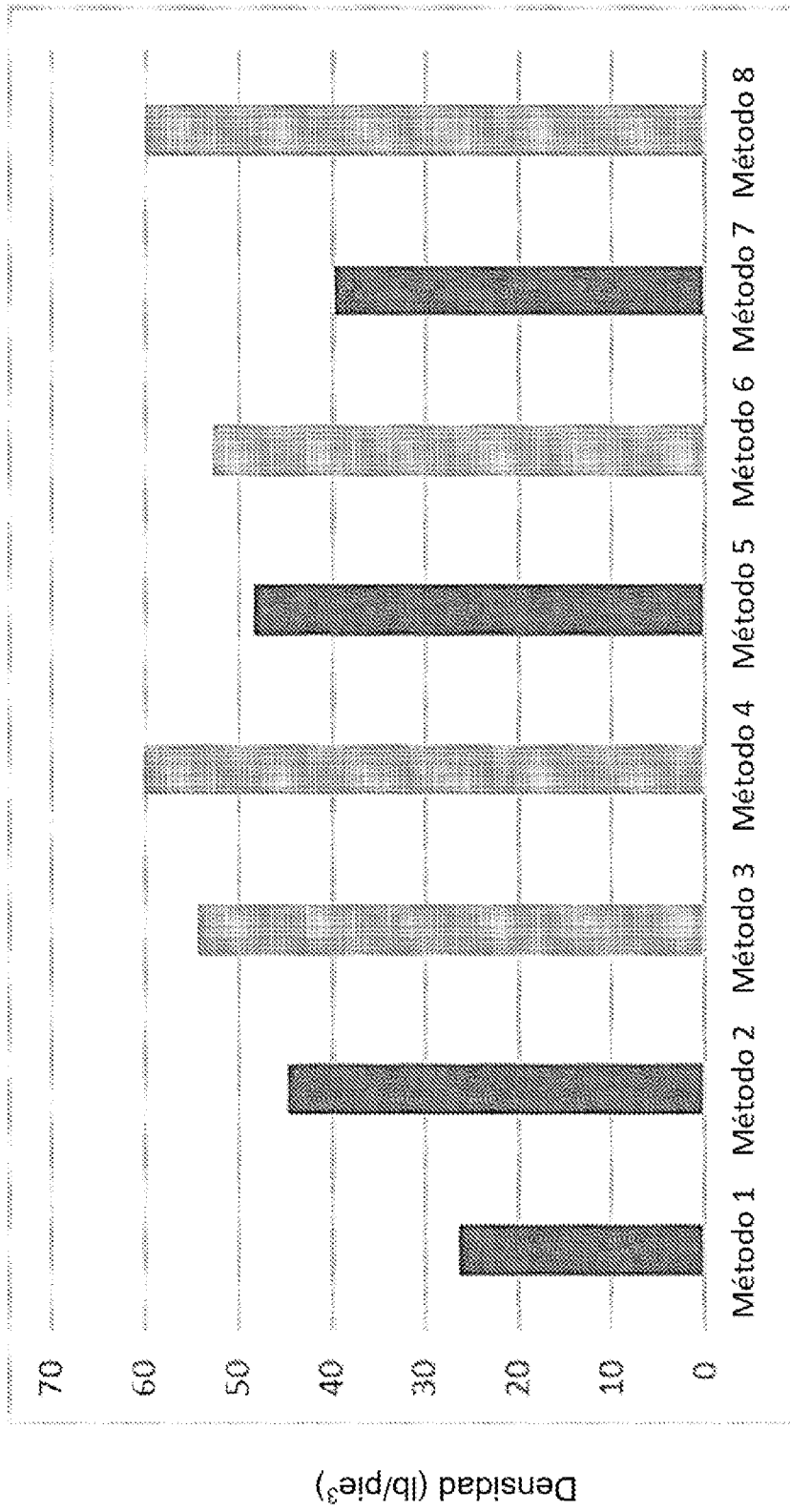


FIG. 32

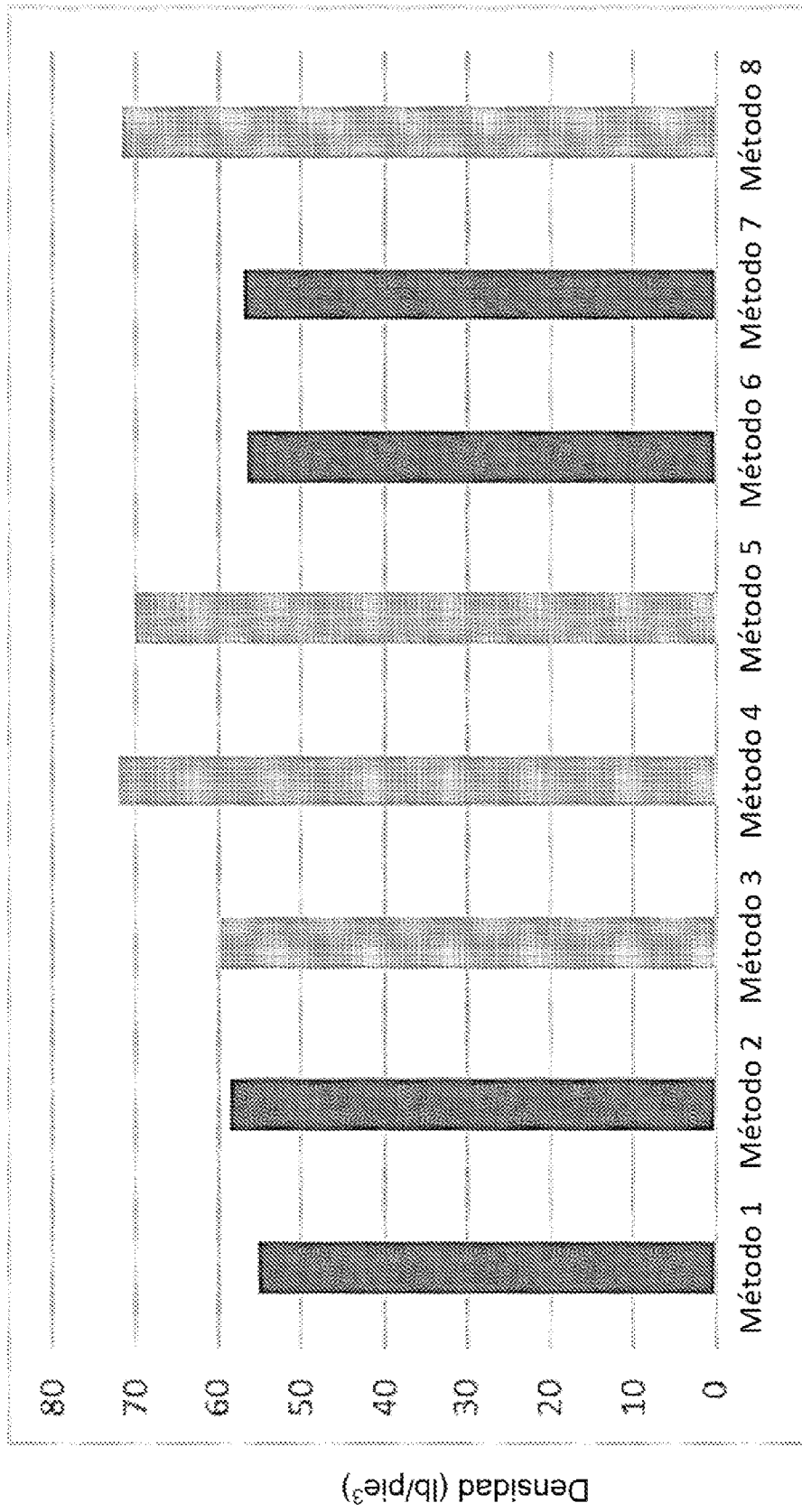


FIG. 33

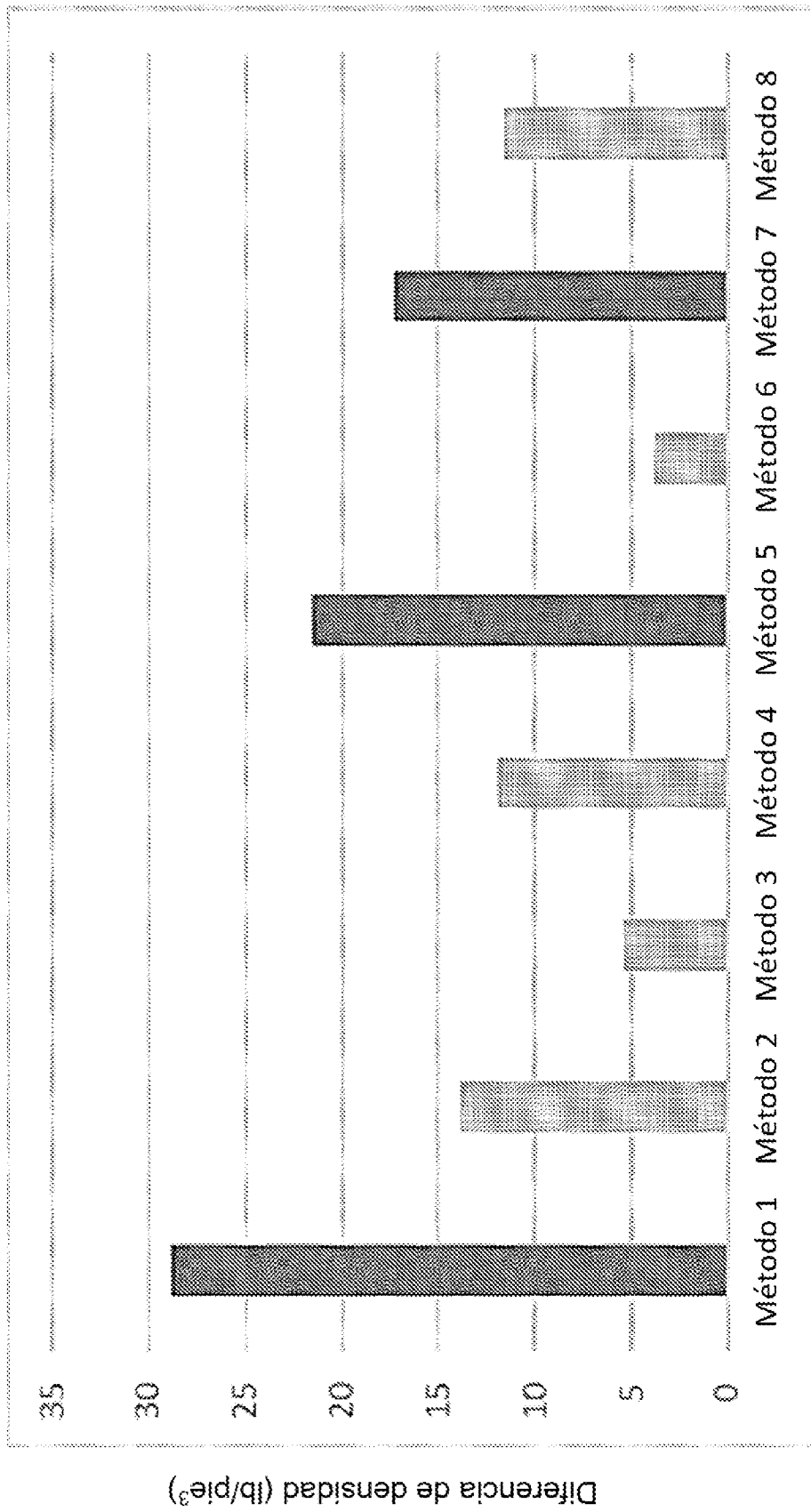


FIG. 34

	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5	Método 6	Método 7	Método 8
Desgaste (20 x 40) en malla de 50 (% que permanece)	0	5,9	15,2	7,6	75,7	1,9	20,2	12,4
Dispersión (2 min) (% no disperso)	16,1	31,1	12,6	16,1	21,9	64,6	51,5	13,4
Dispersión (5 min) (% no disperso)	16,6	24,7	7,8	10,7	13,2	44,7	29,1	9,2
Dispersión (10 min) (% no disperso)	8,4	24,3	6,2	6,3	15,7	33,0	31,9	6,2

FIG. 35

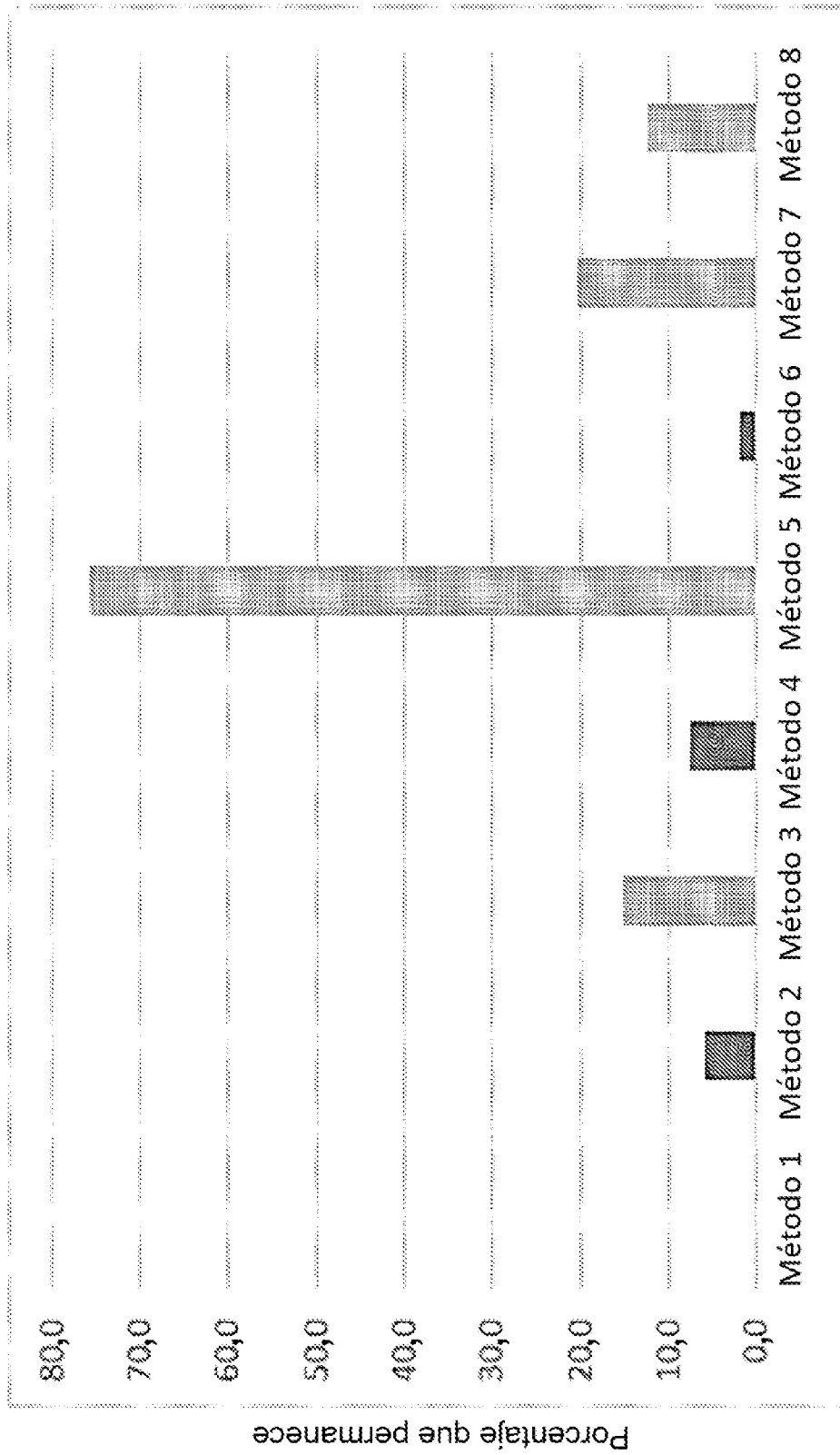


FIG. 36

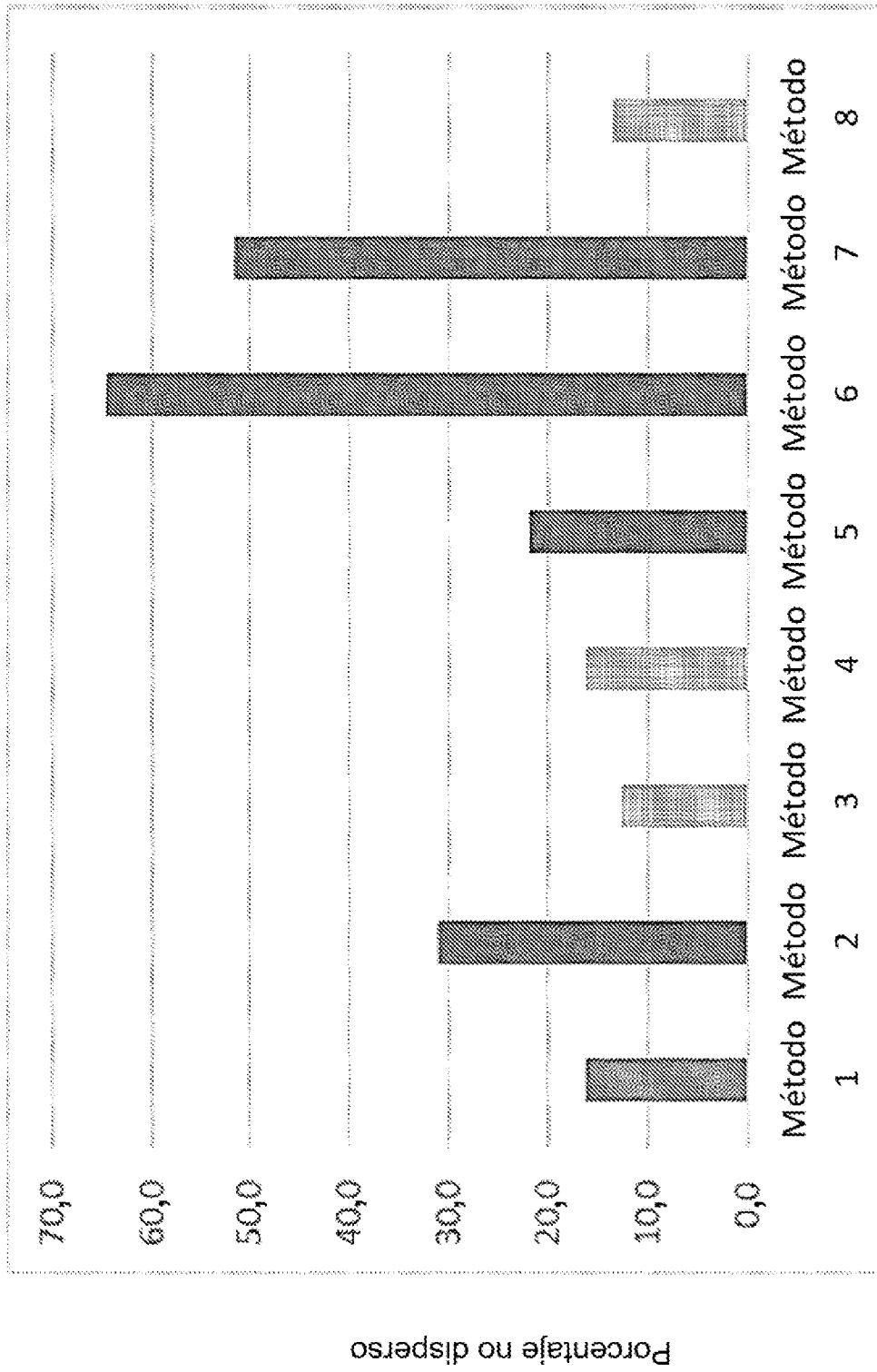


FIG. 37

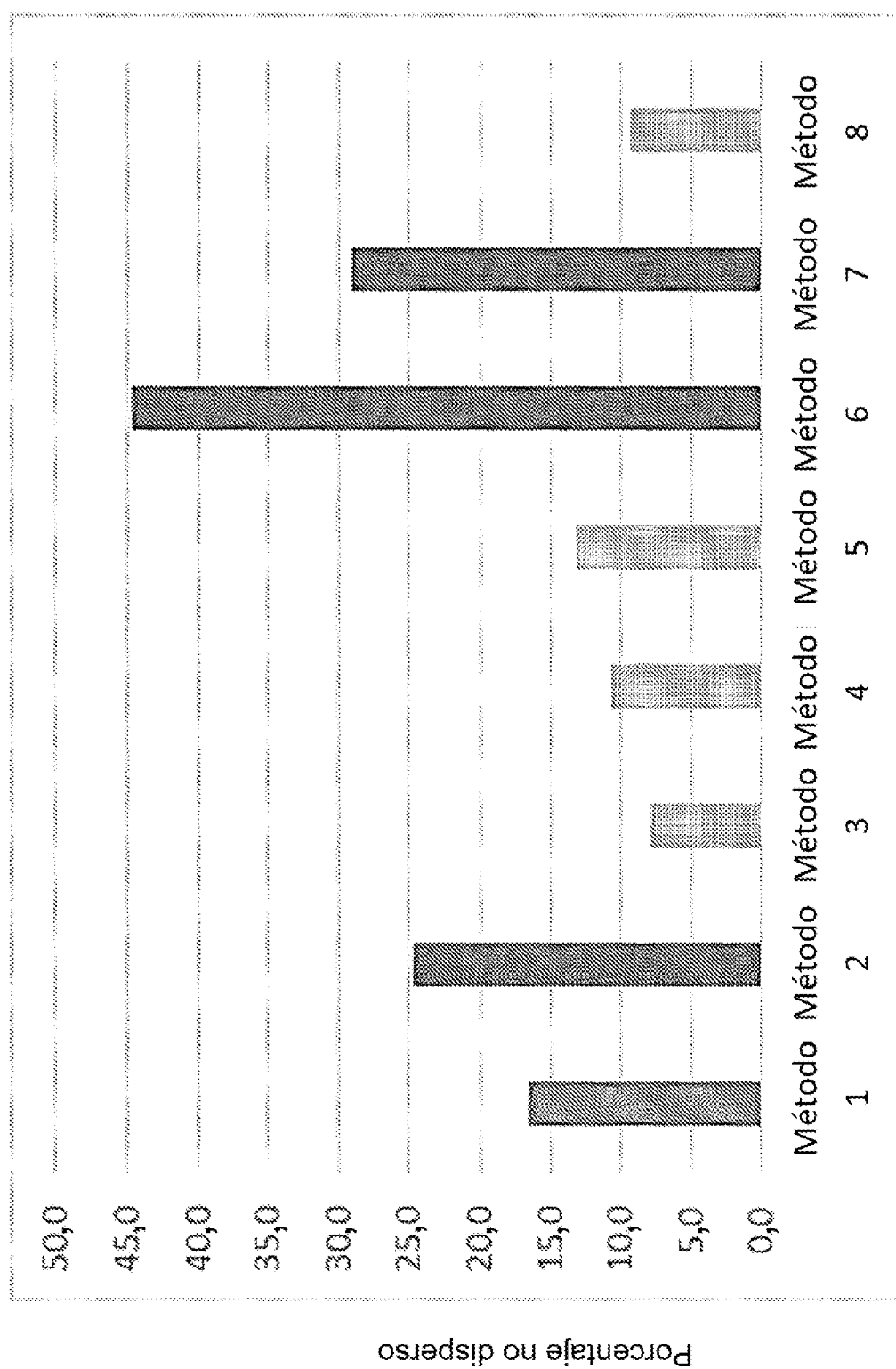


FIG. 38

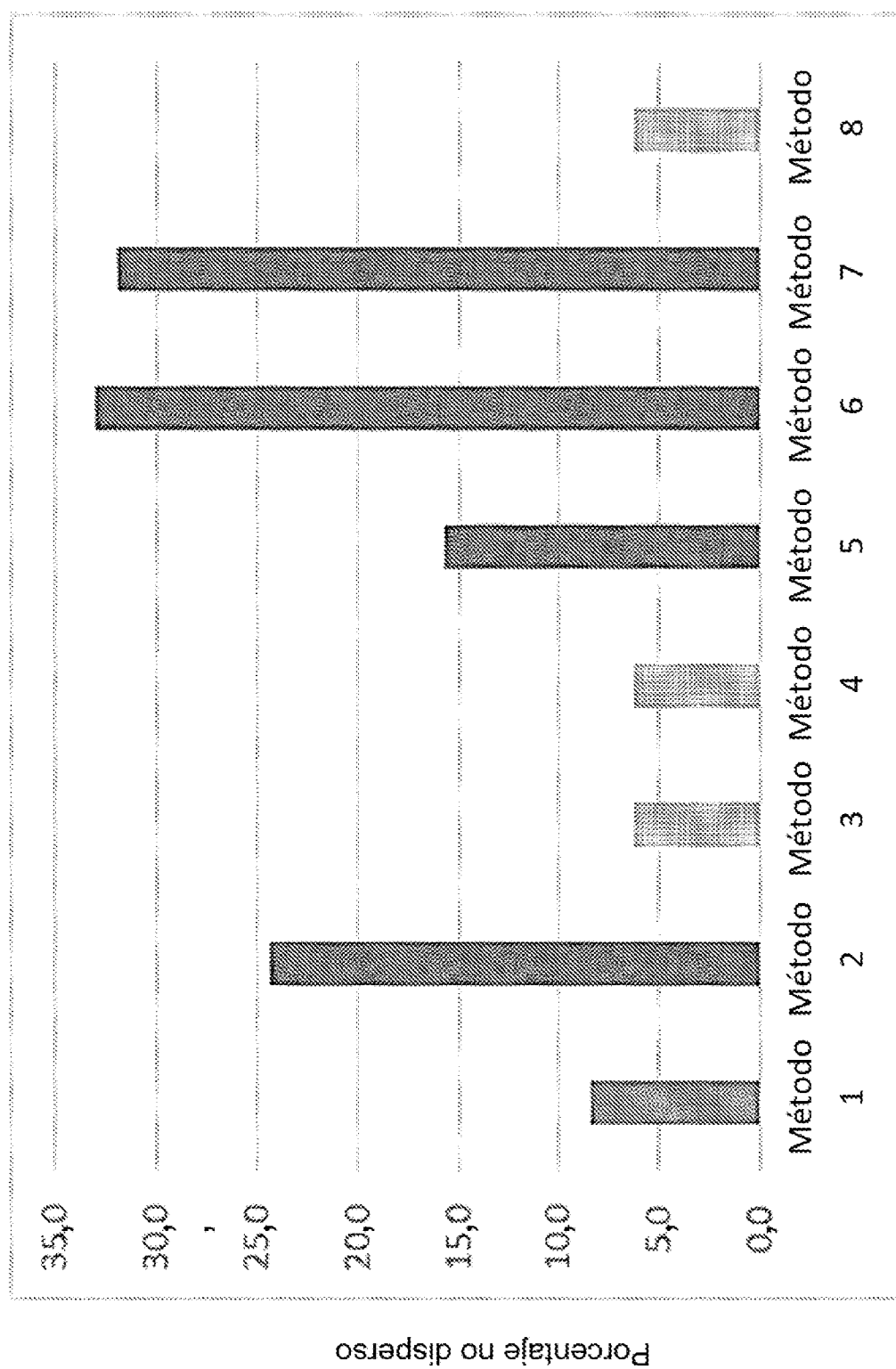


FIG. 39

	Método 1	Método 2	Método 3a	Método 3b	Método 4	Método 5	Método 6	Método 7	Método 8
Ca (malla + 12)	na	0,91	1,84	2,27	1,86	pa	10,6	3,12	0
Ca (malla 12 x 35)	na	0,76	1,84	2,36	1,90	1,83	11,4	3,15	1,91
Ca (malla 35 x 100)	1,72	0,53	1,82	2,69	2,14	1,93	10,9	4,43	2,05
Ca (malla - 100)	2,13	0,39	2,18	2,17	1,99	1,47	11,6	3,98	1,95
C.V. mineral	15%	36%	9%	10%	6%	14%	4%	18%	4%
Proteína (malla + 12)	na	0,524	4,82	4,04	4,75	na	3,89	9,962	0
Proteína (malla 12 x 35)	na	0,747	4,69	4,04	4,75	5,03	3,79	8,753	4,627
Proteína (malla 35 x 100)	6,36	5,42	5,84	3,62	4,08	4,21	4,26	6,086	4,205
Proteína (malla - 100)	2,74	12,6	3,87	4,80	5,96	6,84	3,98	5,923	5,854
C.V. próximo	56%	117%	17%	12%	16%	25%	5%	26%	17%

FIG. 40

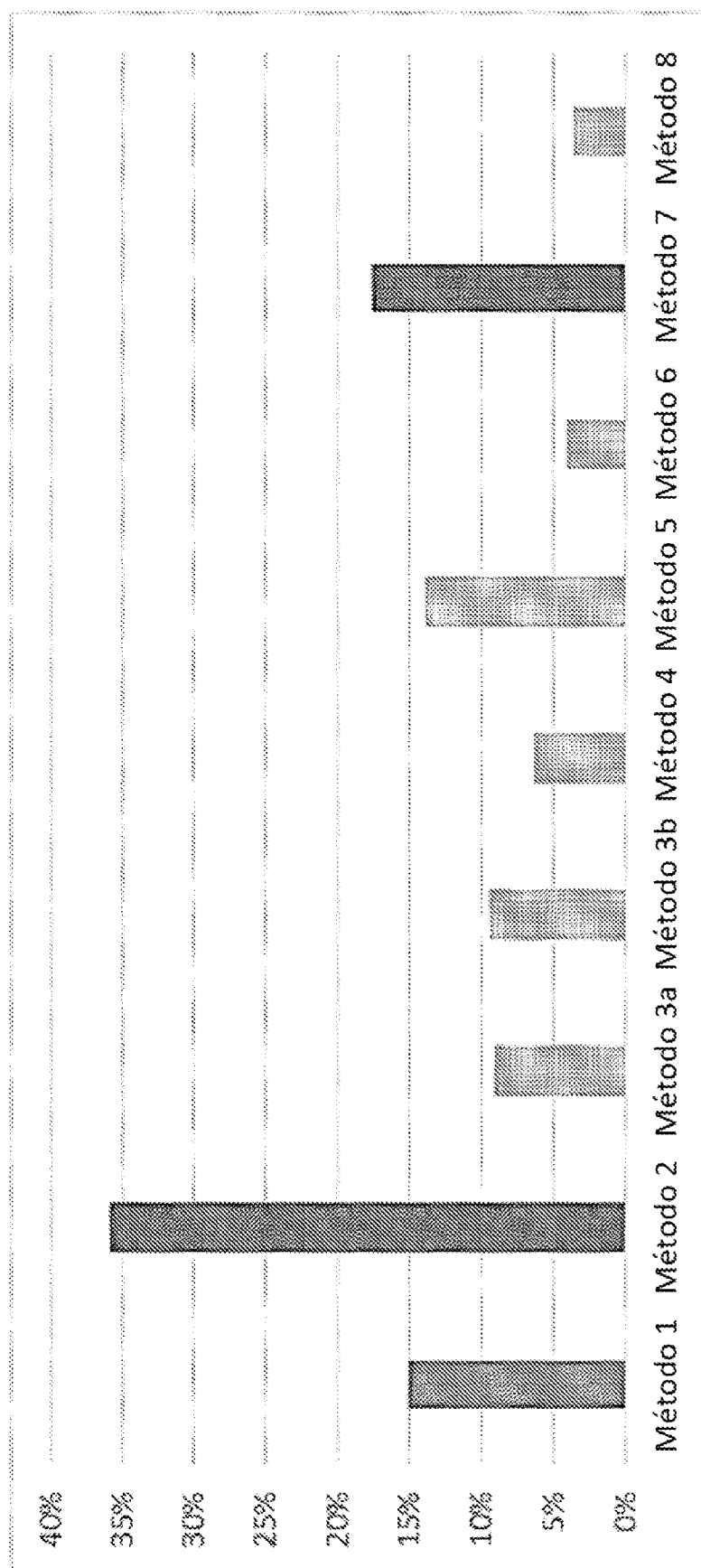


FIG. 41



FIG. 42

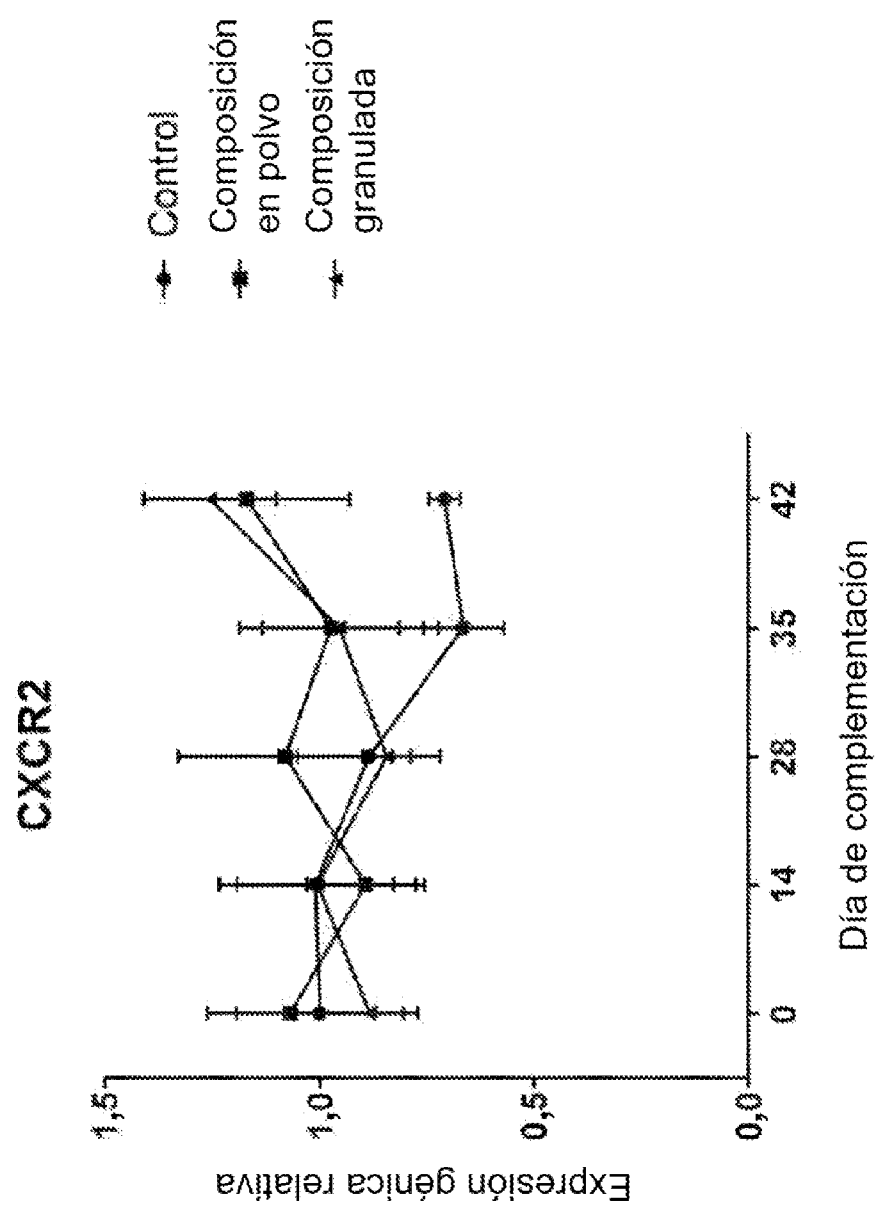


FIG. 43

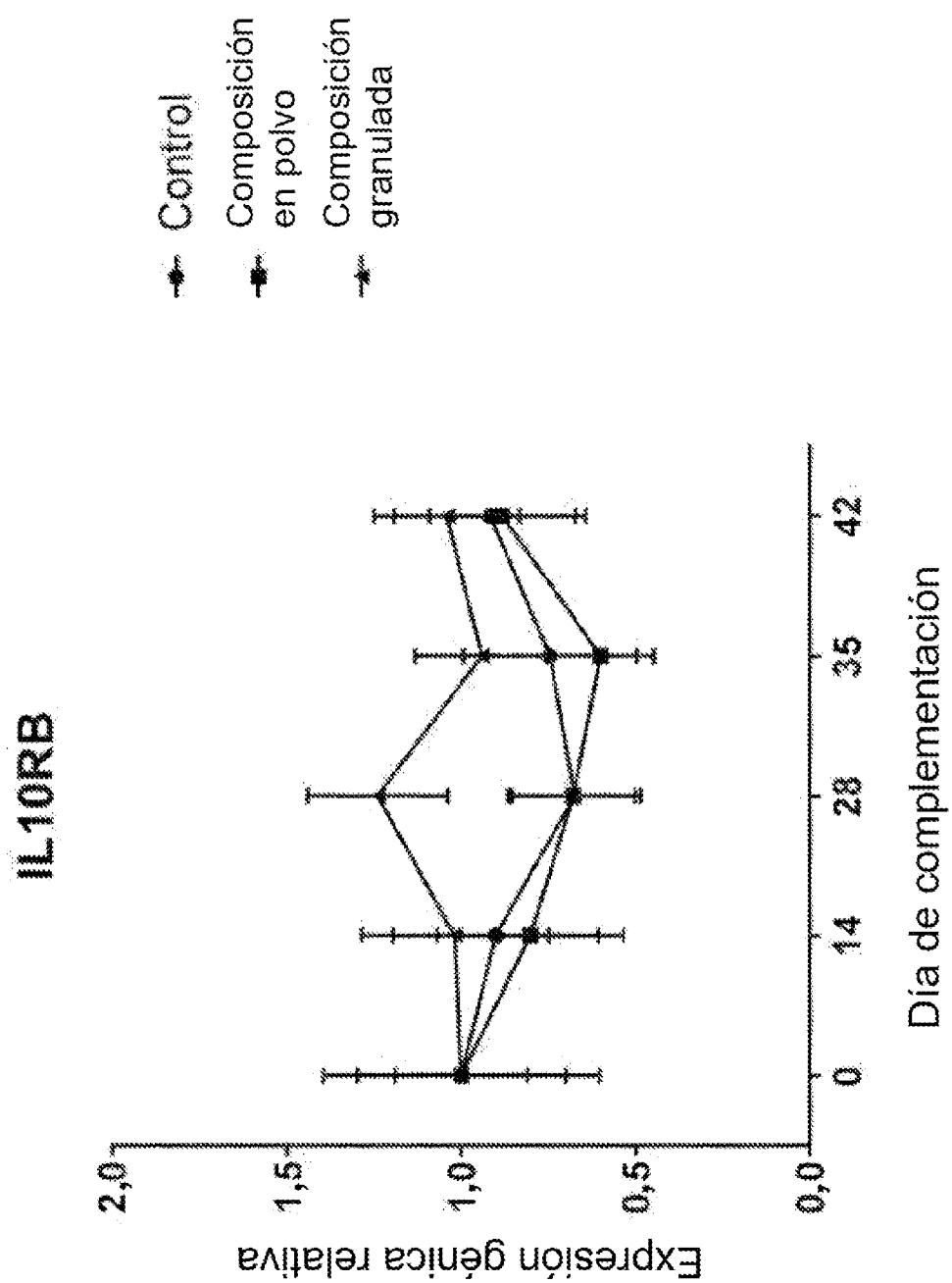


FIG. 44

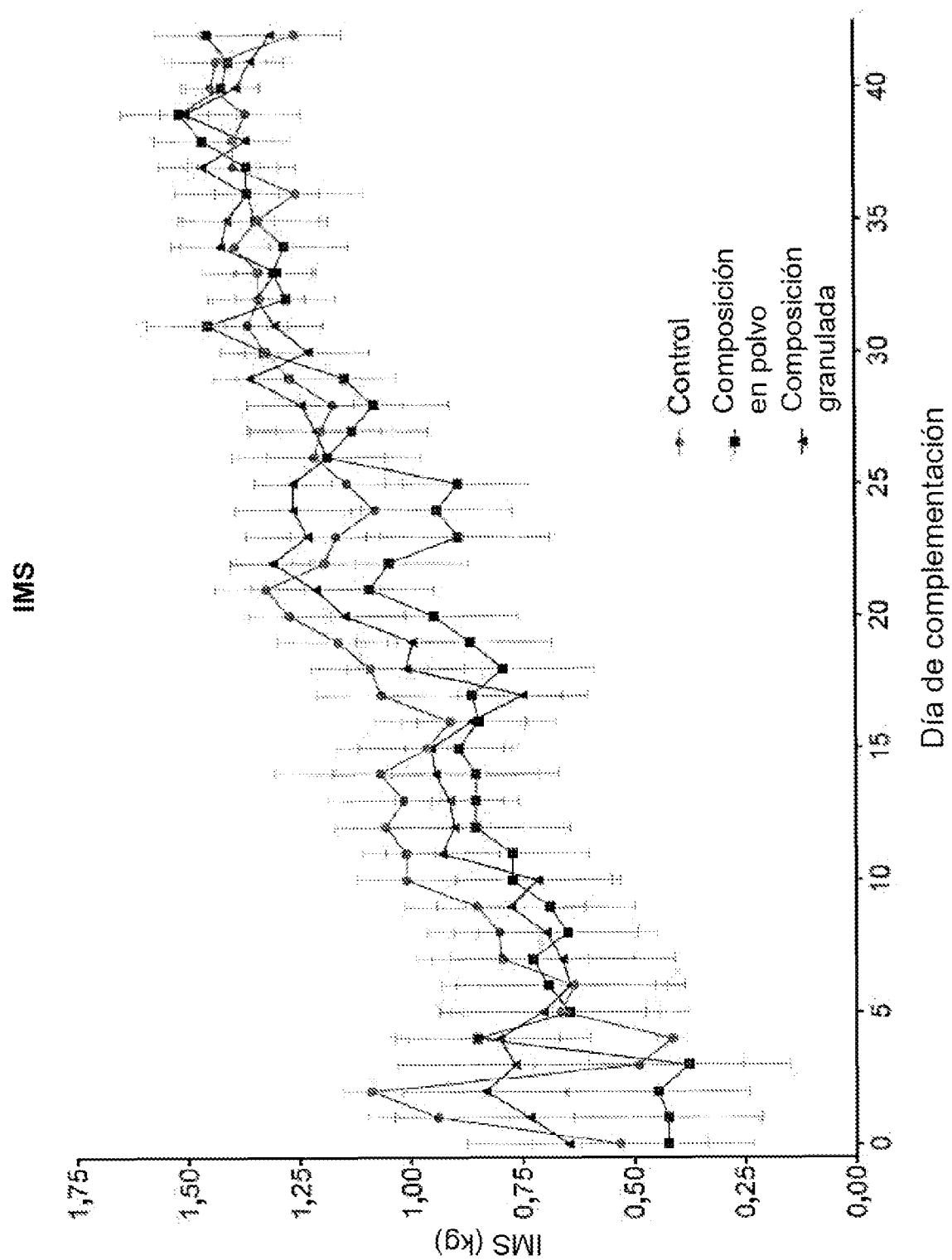


FIG. 45

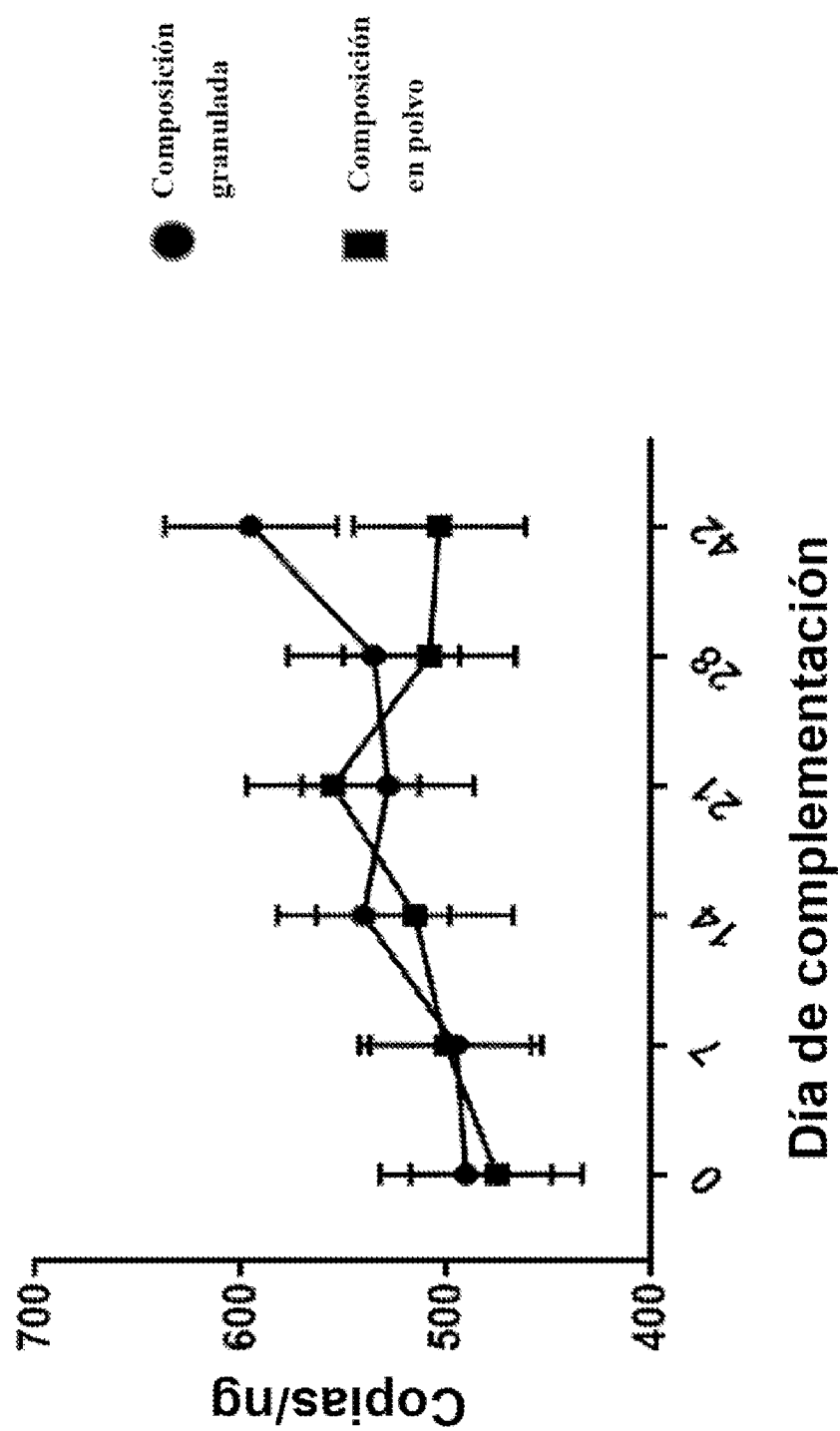


FIG. 46

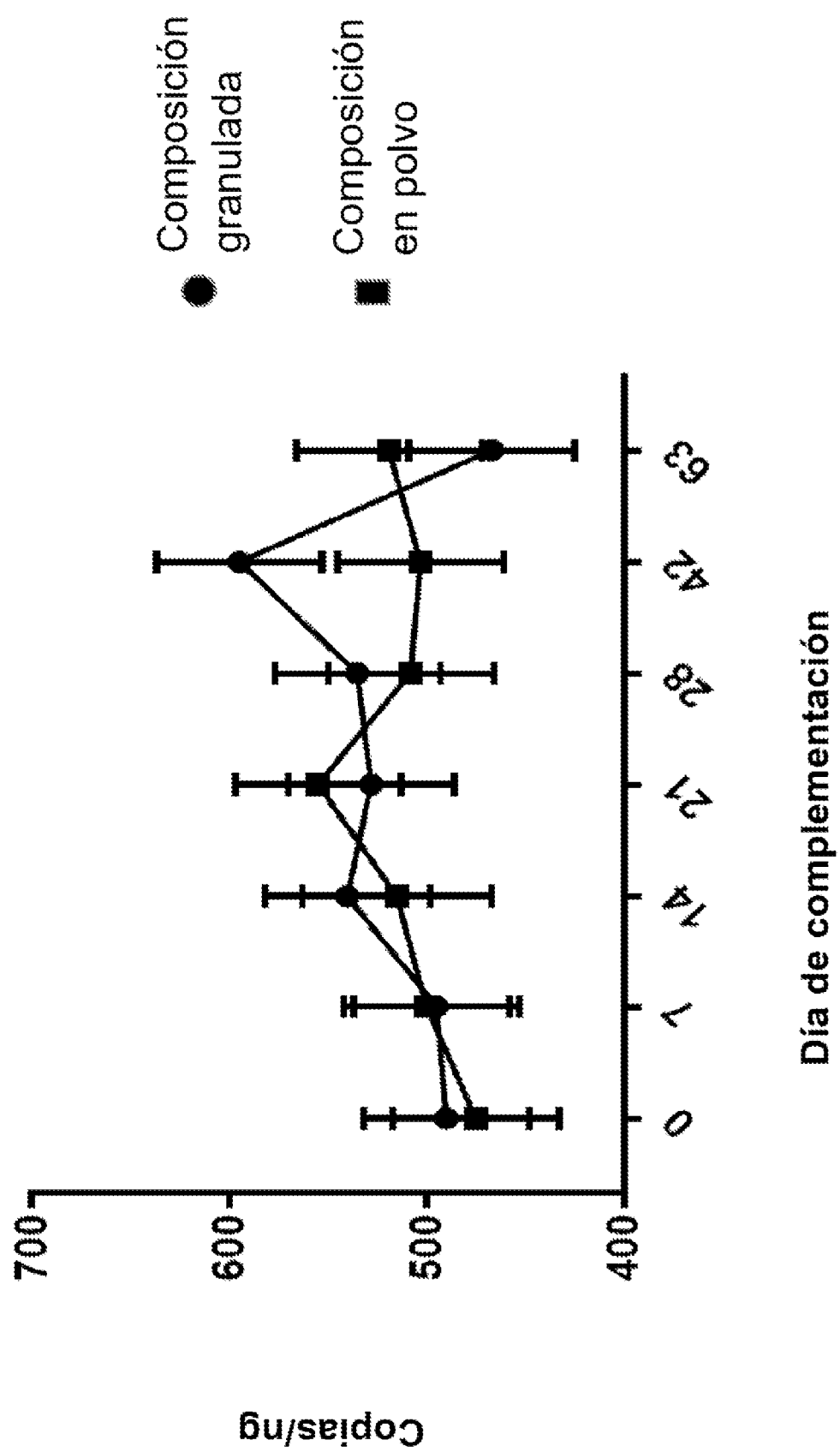


FIG. 47