



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 329 475**

(51) Int. Cl.:

A23K 1/16 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **04775041 .9**

(96) Fecha de presentación : **02.09.2004**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1670321**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **21.06.2006**

(54) Título: **Alimento para peces de agua dulce y el uso de tal alimento.**

(30) Prioridad: **15.09.2003 NO 20034107**

(73) Titular/es: **TROUW INTERNATIONAL B.V.**
Veerstraat 38
NL-5831 JN Boxmeer, NL

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.11.2009

(72) Inventor/es: **Obach, Alex;**
Koppe, Wolfgang, M.;
Martens, Laura, Gil y
Vikesa, Vibeke

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.11.2009

(74) Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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

Alimento para peces de agua dulce y el uso de tal alimento.

5 La invención se relaciona con un alimento para peces de agua dulce, más particularmente con un alimento que tiene un mayor contenido de minerales con relación a aquellos previamente descritos como necesarios para permitir que los peces tengan un buen crecimiento.

10 Algunos salmones son peces anádromos. Los peces sexualmente maduros migran desde el océano hacia los ríos para desovar, mientras que la descendencia migra hacia el océano para desarrollarse. Los huevos son incubados en el fondo del río, y los salmones jóvenes (alevinos) pasan sus primeros años de vida en el agua dulce de los ríos. En primavera, ocurren grandes cambios fisiológicos en los alevinos que los preparan para la transición de su vida en agua dulce a vivir en agua salada. El otoño anterior, cuando estaban sometidos a las condiciones naturales, los alevinos determinan si están lo suficientemente grandes para migrar como salmón pequeño la siguiente primavera.

15 En la naturaleza, el tiempo entre el nacimiento y la migración pueden variar desde más de un año hasta 5 años, dependiendo de la temperatura del agua y la disponibilidad de alimentos.

20 La cría de salmón y trucha de mar debe seguir el ritmo natural de vida de los peces. Despues de haber fertilizado los huevos, estos son incubados en agua dulce. Los peces pasan por la etapa de saco vitelino y por la etapa de alevinos en tanques en una incubadora. En una incubadora, es posible manipular tanto la temperatura del agua y como las condiciones de iluminación, a fin de controlar el momento de la esmolteficación de una manera diferente que en la naturaleza. De tal manera que los alevinos de salmón se denominan primales 0, primales 1 y primales 2. Los primales 0 se plantan como alevinos el primer otoño después de la eclosión en el invierno, mientras que los primales 1 pasan más de un año en la incubadora.

25 Despues de la esmolteficación, se colocan los peces criados en jaulas especiales en el mar para que se desarrollen hasta el sacrificio. El aumento diario de peso depende del peso corporal y puede ser comparado con el efecto del tamaño de capital en un cálculo de intereses. Dos crías de salmón de igual calidad en materia de salud y adaptación fisiológica, y plantados en el mar al mismo tiempo, pueden crecer igual de rápido en términos de porcentaje (tasa de crecimiento específico), pero la más grande va a alcanzar un tamaño de sacrificio antes que la otra.

30 En la cría intensiva de peces, la duración de la incubación hasta esmolteficación, y el tamaño de las crías en esmolteficación, es de gran importancia económica. El tamaño del capital inmovilizado, en forma de peces, es de gran importancia para la rentabilidad tanto de los productores de alevinos como para el productor de peces de consumo.

35 La cría de salmón se ha hecho más intensiva. La industria ha crecido rápidamente, y la necesidad de alevinos de salmón ha venido en aumento. Muchos productores de alevinos están restringidos en términos de la remoción de más agua dulce de sus fuentes de agua. Esto ha provocado que se incremente la densidad de peces en los tanques de cría de las incubadoras. Entre otras cosas, esto ha sido posible por medio de la adición de oxígeno (O_2) al agua. En consecuencia, se ha incrementado dramáticamente también la cantidad de dióxido de carbono (CO_2) en el agua, hasta niveles tan altos como 40 miligramos de CO_2 /litro (mg de CO_2/l) y superiores. La concentración de CO_2 en el agua depende de la calidad del agua. Un agua que tiene una baja conductividad, típica por ejemplo de la región costera de Noruega, tiene una baja calidad amortiguadora, y por lo tanto el contenido de CO_2 en esta agua se hace mayor que en aguas más ricas en hielo. De este modo, los cursos de agua al sur y al occidente de Noruega que reciben lluvia ácida poseen una calidad de agua que tiene conductividades por debajo de 10 microSiemens/centímetro ($\mu S/cm$). Lo más común en los cursos de agua noruegos es una calidad de agua entre 25 - 75 $\mu S/cm$. En comparación, las regiones del este de Noruega que tienen lecho de roca calcárea poseen una calidad de agua que tiene conductividades aproximadamente de 300 $\mu S/cm$. Con el propósito de que el agua posea una cierta capacidad amortiguadora, la conductividad debe estar por encima de 30 $\mu S/cm$.

40 50 Los peces que están expuestos a altos niveles de CO_2 (5 mg/l y superiores) durante un largo período de tiempo, alcanzarán un mayor nivel de CO_2 en su sangre (hipercapnia), y la cantidad se incrementa con la cantidad en el agua. Esto trae como resultado un mayor contenido de bicarbonato con el propósito de compensar el incremento de CO_2 , trayendo como resultado que el valor del pH de la sangre disminuye (*acidosis respiratoria*). Los peces que tienen acidosis tratarán de contrarrestar esta condición movilizando iones de la estructura ósea y secretar fosfato a través del riñón.

55 Un alto contenido de CO_2 en el agua influye negativamente sobre el crecimiento y la salud de los peces. Los peces expuestos a altos niveles de CO_2 pueden desarrollar *nephrocalcinosis*, que se caracteriza por la precipitación de calcio y la deposición en los riñones. Esto se observa ya con 5 - 10 mg/l y ha sido descrita a partir de niveles de 15 mg/l y superiores (Fivelstad, S. y colaboradores; "The effects of carbon dioxide on salmon smolt"; en "Norsk Fiskeoppdrett", páginas 40 - 41, no. 16, 1998).

60 65 En la cría intensiva de peces, se utilizan más comúnmente alimentos extruidos para peces. Estos están compuestos de proteínas, carbohidratos y grasas. La materia prima de las proteínas puede consistir de fuentes de proteína animal, tales como harina de pescado, harina de hueso, harina de sangre y harina de plumas, y de fuentes de proteína vegetal, tales como soja, gluten de maíz, gluten de trigo y altramujeres. Se añaden principalmente carbohidratos como agente aglomerante para darle al concentrado alimenticio una forma sustentable y resistencia mecánica. La fuente de

ES 2 329 475 T3

carbohidratos puede ser trigo, almidón de patata u otras fuentes de almidón enteras o molidas. Con el propósito de incrementar el contenido energético del alimento para peces, se añade generalmente aceite animal, tal como aceite de pescado aceite vegetal, incluido aceite de colza o aceite de soja, después de la formación en la etapa de extrusión y la posterior etapa de secado. Estas materias primas también contienen minerales. En consecuencia, se incluyen por ejemplo fosfato y otros minerales, en restos de espina de pescado de la harina de pescado. El fosfato también se presenta como lípidos de fosfato en las fuentes de proteína y en las fuentes de aceite.

El objetivo de la invención es mejorar el crecimiento en la cría de peces en agua dulce. En relación con la cría intensiva de peces, el objetivo es particularmente el crecimiento de alevinos de salmón (*Salmo salar*) y de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), y de otras especies anádromas de peces de salmón.

Se logra el objetivo por medio de las características descritas en la siguiente descripción y en las reivindicaciones posteriores.

Sorprendentemente, se logra el objetivo incrementando el contenido de minerales del alimento formulado para peces más allá de lo que describe la literatura como necesario para garantizar un buen crecimiento.

A continuación, se describen ejemplos no limitantes de modalidades preferidas, en los cuales se muestra el efecto a través de los resultados del análisis a que se hace referencia.

En los siguientes ejemplos, se describe el uso de alimento estándar y de mezclas alimenticias habituales. Común a estos tipos de alimento es que a ellos se les ha añadido inicialmente lo que se considera que son cantidades necesarias de minerales para mantener un buen crecimiento. Para los minerales específicos, se utilizan las siguientes cantidades para las recetas de alimento para peces de agua dulce:

fosfato (P) - 1,09%, potasio (K) - 0,72%,
calcio (Ca) - 1,34%, magnesio (Mg) - 0,17%
sodio (Na) - 0,64%.

Se pueden presentar desviaciones, tanto en términos de inexactitud en la dosificación durante la producción, como también en términos de inexactitud en el análisis.

La invención se relaciona con la adición de minerales más allá de estos niveles generalmente considerados como adecuados. La adición de cantidades extra de mineral es llamada adición de una premezcla. La persona capacitada en el arte sabrá que el término premezcla también es utilizado para la adición de minerales en trazas considerados necesarios para el crecimiento. Tales mezclas de minerales contendrán por ejemplo los elementos traza cobre (Cu), cinc (Zn), manganeso (Mn), ioduro (I), y también cantidades relativamente pequeñas de calcio (Ca), magnesio (Mg) y potasio (K). Esta descripción se basa en el hecho de que premezcla se refiere a la adición extra, y que minerales que ya se han añadido minerales en una forma común sin hacer referencia a ellos.

En los ejemplos, se utiliza un material inerte de relleno denominado "Diamol". Esto se ha hecho para que las recetas sean equivalentes con relación al nivel de proteína y al nivel de grasa. Entre otras cosas, Diamol contiene Ca (1,2%), P (0,7%), Mg (0,5%), K (0,72%), Na (0,47%) y Fe (2,4%). Contrario a las premezclas de mineral que contienen compuestos digeribles de mineral, Diamol contiene compuestos no digeribles de mineral. Se añade hasta un 4% de Diamol. De este modo, los minerales especificados contribuirán poco a la cantidad total de los mismos. Para el contenido total de ceniza, sin embargo, Diamol contribuirá considerablemente, en la medida en que casi toda la adición permanecerá en el análisis de la ceniza.

Ejemplo 1

El estudio se llevó a cabo sobre salmón (*Salmo salar*). El peso inicial promedio fue de 0,15 gramos (g), y se observó al pez durante 231 días hasta la esmolteficación. La temperatura del agua se mantuvo constante a $13,1 \pm 1,7$ grados Centígrados (°C). Se colocaron los peces a razón de aproximadamente 300 ejemplares por tanque en un total de 12 tanques. Cada tanque contenía 60 litros de agua.

Para el análisis, se elaboraron dos dietas. Uno era un alimento estándar que contenía 9,3% de minerales (ceniza; grupo con minerales normales = grupo con NM). Inicialmente, el otro alimento tenía la misma composición, pero se añadió un 4% adicional de harina de pescado previamente incinerada para constituir un contenido total de minerales del 12,3% (grupo alto en minerales = grupo con HM).

Cuando los peces eran de 0,15 hasta aproximadamente 2,5 g, se utilizó un alimento aglomerado. Este fue sometido a tamizado, formando composiciones nutricionalmente equivalentes de las fracciones utilizadas: 0,3 - 0,5 milímetros (mm); 0,5 - 0,8 mm; y 0,8 - 1,2 mm.

ES 2 329 475 T3

TABLA 1.1.

Análisis de la composición alimenticia. Los valores se suministran con base en una sustancia seca

| Análisis (%) | Alimento Estándar | | | Alimento Estándar + 4% de harina de pescado previamente incinerada | | |
|----------------------------|-------------------|------|---------------|--|------|------|
| | Extruido (mm) | | Extruido (mm) | Extruido (mm) | | |
| | Agglomerado | 2 | | Agglomerado | 2 | 3 |
| Proteína | 56,5 | 48,5 | 48,8 | 54,6 | 49,2 | 49,0 |
| Grasa | 21,5 | 21,8 | 23,2 | 22,1 | 22,8 | 22,7 |
| Agua | 6,9 | 7,0 | 6,3 | 6,2 | 5,7 | 7,2 |
| Minerales Totales (ceniza) | 8,1 | 9,2 | 8,9 | 9,7 | 12,7 | 12,0 |
| P | 1,24 | 1,44 | 1,48 | 1,08 | 2,08 | 1,87 |
| K | 0,75 | 0,79 | 0,80 | 0,71 | 1,05 | 0,95 |
| Ca | 1,57 | 2,06 | 2,08 | 1,32 | 3,02 | 2,67 |
| Mg | 0,18 | 0,13 | 0,13 | 0,16 | 0,19 | 0,17 |
| Na | 0,65 | 0,58 | 0,60 | 0,99 | 0,90 | 0,80 |

Además, se dividieron los grupos de peces en dos con respecto a la cantidad de CO₂ en el agua. En 6 tanques, no se añadió CO₂ adicional, correspondiendo por lo tanto el nivel de CO₂ a la secreción de CO₂ de los peces. En los otros 6 tanques, se añadieron cantidades crecientes de CO₂ en la medida en que los peces fueron creciendo. Hasta que los peces alcanzaron 10 g, no se añadió CO₂ adicional. Para los tamaños 10 - 15 g; 15 - 20 g; y desde 20 g hasta salmones pequeños, se añadió CO₂ hasta alcanzar una concentración en el agua de 10, 20 y 35 mg de CO₂/l, respectivamente. De este modo, el estudio comprendió 4 grupos, cada grupo distribuido aleatoriamente entre 3 tanques.

El agua de río a lo largo de la costa de Noruega es ácido y posee una baja capacidad amortiguadora. En la cría de alevinos de Noruega, es una práctica común por lo tanto añadir pequeñas cantidades de agua salada irradiada con UV para amortiguar el agua dulce deficiente en iones. En este estudio, se añadió por lo tanto un 0,5% de agua salada (5 l de agua salada por m³) al agua dulce siempre y cuando la cantidad deseada de CO₂ fuera hasta de 10 mg/l en algunos de los tanques. Se incrementó la mezcla de agua salada hasta 1,5% cuando se incrementó la cantidad de CO₂ hasta 20 mg/l, y hasta 2,5% cuando se incrementó la cantidad de CO₂ hasta 35 mg/l. En la medida en que la red de tuberías para el suministro de agua era la misma para todos los tanques, la mezcla de agua salada era idéntica para todos los tanques independientemente de la cantidad de CO₂ suministrada.

TABLA 1.2.

Nivel medido de CO₂ (el más alto y el más bajo; mg/l) y el valor del pH en el agua

| Cantidad deseada de CO ₂ (mg/l) en el agua | Peso del pez (g) | | | | | |
|---|------------------------|----|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| | < 10 | | 10 - 15 | | 15 - 20 | |
| | CO ₂ (mg/l) | pH | CO ₂ (mg/l) | pH | CO ₂ (mg/l) | pH |
| Sin adición | - | - | 2,7 - 5,1 | 6,50 - 6,82 | 4,7 - 6,0 | 6,63 - 6,77 |
| 10 | | | 8,7 - 11,3 | 6,17 - 6,27 | | |
| 20 | | | | | 17,1 - 20,0 | 6,11 - 6,17 |
| 35 | | | | | | 33,5 - 37,3 |
| | | | | | | 5,72 - 5,88 |

-: no se midió

ES 2 329 475 T3

TABLA 1.3.
Resultados del pesaje en gramos (g)

| | | Tiempo del análisis (días después del inicio) | | | | | |
|---------------------------|---------------------|---|----------|-----|----------|-----|--|
| | | 97 | | 190 | | 231 | |
| Grupo | Promedio | Sd | Promedio | Sd | Promedio | Sd | |
| NM, sin CO ₂ | 8,1 | 1,4 | 52,4 | 3,6 | 80,2 | 6,3 | |
| HM, sin CO ₂ | 9,2 | 0,8 | 55,9 | 2,3 | 82,3 | 7,3 | |
| NM, mayor CO ₂ | 8,1 ^(a) | 0,6 | 42,8 | 1,9 | 54,8 | 2,4 | |
| HM, mayor CO ₂ | 10,5 ^(a) | 0,3 | 51,8 | 0,7 | 65,1 | 2,2 | |

NM: nivel normal de minerales en el alimento
HM: nivel elevado de minerales en el alimento
Sd: Desviación estándar
^(a): sin adición de CO₂

El estudio muestra que un mayor contenido de minerales más allá de lo recomendado proporciona un efecto sorprendentemente positivo sobre el crecimiento. Para peces en crecimiento entre 0,15 g y 10 g, los peces que reciben una cantidad adicional de minerales tienen mejor crecimiento. En esta fase, no se añadió una cantidad adicional de CO₂ al agua. Cuando no se añadió una cantidad adicional de CO₂ los peces exhibieron en forma generalizada un mejor crecimiento durante todo el estudio, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa. También, el estudio mostró claramente que una mayor cantidad de CO₂ en el agua cohibió el crecimiento. Una mayor cantidad de minerales podría no compensar esto, pero el grupo que recibió una mayor cantidad de minerales tuvo un peso promedio 20% mejor que aquel del grupo que recibió un alimento estándar de buena calidad nutricional. Un mayor contenido de CO₂ cae dentro de los requerimientos ordinarios de producción. El grupo con NM, sin y con adición de CO₂ tuvo un crecimiento específico de 2,72 y 2,56%/día, respectivamente, mientras que el grupo con HM, sin y con adición de CO₂ tuvo un crecimiento específico de 2,74 y 2,64%/día, respectivamente. Este crecimiento se estima a partir de 6 g para esmolteficación. El crecimiento fue bueno para todos los grupos.

Ejemplo 2

El estudio fue llevado a cabo sobre salmón (*Salmo salar*). El peso inicial promedio fue de 49,1 g, y se observaron los peces durante 41 días hasta esmolteficación. La temperatura del agua se mantuvo constante a 14,0 ± 1,4°C. Se surtieron los peces a razón aproximadamente de 90 peces por tanque en un total de 20 tanques. Los tanques eran tanques cilíndricos con un diámetro de 1,0 metros.

El diámetro de las partículas de alimento era de 3 mm. Para el análisis, se elaboraron 10 dietas. Un alimento era un alimento de control que contenía 10,9% de minerales. Se añadió 4% de Diamol como relleno en este alimento. Inicialmente, el otro alimento tenía la misma composición, pero se le añadió un 4% adicional de harina de pescado previamente incinerada y un 0,5% adicional de Diamol. Este contenía 12,2% de minerales. Inicialmente, el resto de alimentos eran también iguales al alimento de control, pero se les añadió 4% de premezclas de minerales hechas a la medida para este estudio. Estos alimentos contenían 11,6% de minerales, y no se les añadió Diamol.

Se produjeron una serie de premezclas de minerales con el propósito de estudiar si la cantidad total de minerales es de importancia, o si los componentes individuales proporcionan el efecto ventajoso observado en el Ejemplo 1. Se analizó una premezcla completa junto con premezclas en las cuales uno de los elementos: P, Ca, K y Mg fue removido. Adicionalmente, se analizó una premezcla en la cual tanto P como Ca fueron removidos; una premezcla en la cual P, Ca y Mg fueron removidos, y una premezcla en la cual P, Ca, Na y Cl fueron removidos.

60

65

ES 2 329 475 T3

TABLA 2.1.

Composición de los alimentos del Ensayo. Los valores se suministran con base en una sustancia seca

| Análisis | Alimento estándar | Alimento + 4% de ceniza | Premezcla completa | Premezcla -P |
|---------------------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------|--------------|
| Proteína | 51,6 | 49,8 | 48,8 | 50,6 |
| Grasa | 22,5 | 23,7 | 24,5 | 23,9 |
| Agua | 4,5 | 5,0 | 5,5 | 4,5 |
| Minerales Totales (ceniza) (%) | 10,9 ^(a) | 12,2 ^(a) | 11,6 | 11,6 |
| P | 1,4 | 1,9 | 1,8 | 1,4 |
| K | 0,95 | 1,1 | 1,1 | 1,1 |
| Ca | 1,7 | 2,5 | 2,4 | 2,3 |
| Mg | 0,17 | 0,21 | 0,19 | 0,20 |
| ^(a) 4% de Diamol añadido | | | | |
| ^(b) 0,5% de Diamol añadido | | | | |

TABLA 2.2.

Resultados del pesaje en gramos (g) al inicio y después de 41 días

| Tipo de alimento | Peso inicial (g) | Peso final (g) | Crecimiento en % | Crecimiento relativo en relación con el control |
|--|------------------|----------------|------------------|---|
| Control | 48,3 | 83,7 | 73,3 | 100 |
| Control + harina de pescado previamente incinerada | 50,6 | 89,7 | 77,2 | 105,3 |
| Control + premezcla completa | 48,6 | 88,1 | 81,4 | 111,0 |
| Control + premezcla - P | 47,9 | 85,5 | 78,3 | 106,7 |
| Control + premezcla - Ca | 47,7 | 85,9 | 80,2 | 109,4 |
| Control + premezcla - K | 49,3 | 87,9 | 78,4 | 106,9 |
| Control + premezcla - Mg | 49,6 | 91,4 | 84,5 | 115,3 |
| Control + premezcla - (P + Ca) | 51,0 | 91,4 | 79,0 | 107,8 |
| Control + premezcla - (P + Ca + Mg) | 49,3 | 89,0 | 80,6 | 109,9 |
| Control + premezcla - (P + Ca + Na + Cl) | 48,6 | 87,8 | 80,9 | 110,3 |

En relación con los peces que reciben alimento de control, los peces que reciben harina de pescado previamente incinerada tenían un peso corporal 5,3% superior, y los grupos que reciben diferentes variantes de la premezcla todos tuvieron mejor crecimiento que los grupos que recibieron alimento de control o alimento con harina de pescado previamente incinerada. El crecimiento fue de 6,7% hasta 15,3% mejor, lo cual es muy sorprendente durante un tiempo tan corto como 41 días. Por lo tanto, el estudio mostró que las premezclas hachas a la medida reemplazaron a la harina de pescado previamente incinerada, y que el crecimiento se hizo incluso mejor. Sorprendentemente, el estudio también mostró que es la cantidad total de minerales adicionales la que es significativa. Se pueden retirar minerales individuales de la premezcla sin que se empeore el crecimiento con relación al alimento de control.

Ejemplo 3

El estudio fue llevado a cabo sobre salmón (*Salmo salar*). El peso inicial promedio fue de 2,5 g, y se observaron los peces durante 182 días hasta esmoltilfación. La temperatura del agua se mantuvo constante a $14,0 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$. Se surtieron los peces a razón aproximadamente de 300 peces por tanque en un total de 24 tanques. Cada tanque contenía

ES 2 329 475 T3

60 litros de agua. Para el análisis, se elaboraron 2 dietas. Un alimento era un alimento de control que contenía 9,0% de minerales ordinarios (grupo con NM), pero en donde se añadió un 4% adicional de Diamol. Inicialmente, el otro alimento tenía la misma composición, pero se le añadió un 4% adicional de la misma premezcla de minerales que aquella descrita en el Ejemplo 2 (grupo con HM). El contenido de minerales era del 12,0%.

5 Al comienzo del estudio, se restringió a dos tanques, en los cuales los peces recibieron un alimento de control que tiene una adición del 4% de Diamol, y a dos tanques, en los cuales los peces recibieron alimento con mayor contenido de minerales, la adición extra de CO₂ en el agua. En estos tanques, no se añadió CO₂ adicional durante el estudio. En
10 los otros tanques, se añadió CO₂ extra al inicio con el propósito de que la cantidad total de CO₂ fuera aproximadamente de 5 mg/l. después de 14 días, se incrementó la cantidad de CO₂ suministrada al agua con el propósito de que fuera aproximadamente de 10 mg/l. En este momento, se restringieron 4 tanques más (2 tanques para cada dieta) con el propósito de que estos continuaran aproximadamente con 10 mg/l de CO₂ en el agua durante el resto del estudio. Se repitió este procedimiento después de otros 14 días, incrementando por lo tanto la cantidad de CO₂ en el agua hasta 20 mg/l después de otros 14 días. Cada vez se restringieron 4 y 4 tanques para que continuaran durante el resto del estudio
15 con 15 y con 20 mg/l de CO₂ en el agua, respectivamente. En este momento, se pesaron los peces y se encontró que tenían aproximadamente 8 g. Después de otros 14 días, se incrementó el CO₂ en el agua hasta 35 mg/l en los últimos 4 tanques, y se mantuvo el régimen descrito de CO₂ durante el resto del estudio.

Como en el Ejemplo 1, se suministró agua salada irradiada con UV al agua dulce para amortiguarla. Se suministró
20 un 0,5% de agua salada al agua dulce a lo largo de todo el estudio.

TABLA 3.1.

25 *Nivel medido de CO₂ (el más alto y el más bajo; mg/l) y el valor del pH en el agua*

| Cantidad deseada de CO ₂ (mg/l) en el agua | Después de 30 días | | Después de 49 días | |
|---|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| | CO ₂ (mg/l) | pH | CO ₂ (mg/l) | pH |
| Sin adición | - | - | - | - |
| 5 | 4,0 - 8,1 | 6,34 - 6,49 | 6,2 - 6,6 | 6,38 - 6,42 |
| 10 | 9,5 - 9,9 | 6,24 - 6,25 | 8,1 - 9,5 | 6,20 - 6,28 |
| 15 | 12,1 - 13,2 | 6,10 - 6,12 | 21,7 - 22,8 | 5,98 - 6,03 |
| 20 | - | | 20,2 - 25,7 | 5,88 - 5,92 |
| -: no medido | | | | |

TABLA 3.2.

45 *Análisis de la composición del alimento. Los valores se suministran con base en una sustancia seca*

| | Alimento de control, extruido (mm) | | | Alimento extruido + 4% de mezcla mineral (mm) | | |
|-------------------------------------|------------------------------------|---------------------|---------------------|---|------|------|
| Análisis | 1,5 | 2 | 3 | 1,5 | 2 | 3 |
| Proteína | 49,4 | 50,9 | 50,9 | 49,4 | 50,5 | 50,6 |
| Grasa | 23,5 | 23,4 | 22,0 | 24,7 | 23,4 | 22,6 |
| Agua | 4,7 | 4,8 | 5,2 | 4,3 | 5,6 | 5,7 |
| Total de Minerales (ceniza) | 11,1 ^(a) | 11,1 ^(a) | 11,0 ^(a) | 13,8 | 10,6 | 10,6 |
| P (%) | 1,4 | 1,3 | 1,3 | 1,8 | 1,8 | 1,7 |
| K (%) | 0,78 | 1,1 | 1,1 | 0,98 | 1,3 | 1,3 |
| Ca (%) | 2,2 | 1,2 | 1,2 | 2,8 | 1,9 | 1,8 |
| Mg (%) | 0,16 | 0,16 | 0,17 | 0,19 | 0,19 | 0,19 |
| Na (%) | 0,68 | 0,56 | 0,56 | 0,98 | 0,81 | 0,80 |
| ^(a) 4% de Diamol añadido | | | | | | |

ES 2 329 475 T3

TABLA 3.3.

Resultados del pesaje en gramos (g)

| Nivel deseado para la cantidad total de CO ₂ (mg/l) en el agua | Tiempo del análisis (días después del inicio) | | | | | | | | | | | | |
|---|---|-----|-------|-----|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-----|
| | 56 | | | | 99 | | | | 182 | | | | |
| | NM | | HM | | NM | | HM | | NM | | HM | | |
| | Prom. | Sd. | Prom. | Sd. | Prom. | Sd. | Prom. | Sd. | Prom. | Sd. | Prom. | Sd. | |
| 0 | 6,6 | 0,2 | 8,6 | 0,8 | 18,1 | 4,6 | 23,9 | 1,6 | 50,7 | 3,6 | 64,8 | 9,5 | |
| 5 | 7,7 | 0,6 | 9,0 | 0,3 | 26,3 | 4,3 | 24,7 | 0,1 | 57,7 | 8,0 | 65,2 | 2,4 | |
| 10 | 7,9 | 0,3 | 9,0 | 1,2 | 25,4 | 5,6 | 28,1 | 3,7 | 61,0 | 1,9 | 67,0 | 4,4 | |
| 15 | 7,2 | 0,6 | 8,9 | 0,1 | 20,8 | 3,1 | 29,3 | 3,2 | 57,0 | 2,2 | 71,9 | 0,4 | |
| 20 | 7,7 | 0,1 | 8,9 | 0,0 | 23,9 | 4,6 | 28,2 | 4,2 | 57,9 | 2,9 | 71,3 | 4,3 | |
| 25 | 7,3 | 0,2 | 8,8 | 0,0 | 19,5 | 0,0 | 23,0 | 1,8 | 51,8 | 0,6 | 62,0 | 6,2 | |
| | Promedio | 7,4 | 0,5 | 8,9 | 0,5 | 22,3 | 4,4 | 26,2 | 3,3 | 56,0 | 4,8 | 67,0 | 5,4 |
| | NM: nivel normal de minerales en alimento | | | | | | | | | | | | |
| | HM: nivel alto de minerales en alimento | | | | | | | | | | | | |
| | Prom.: promedio | | | | | | | | | | | | |
| | Sd.: Desviación estándar | | | | | | | | | | | | |

Ya después de 56 días, existía una diferencia significativa de peso entre los grupos que recibieron alimento de control (NM) y los grupos que recibieron alimento con un mayor contenido de minerales (HM). Colectivamente para todos los grupos, los peces que recibieron un alimento con un mayor contenido de minerales pesaron 19,5% más que los peces que recibieron alimento de control. Después de 99 y 182 días, la diferencia correspondiente fue de 17,5% y 19,7%. En este estudio, no hubo un marcado efecto de la cantidad de CO₂ en el agua. Esto puede ser debido a que los peces no crecieron muy bien en este estudio. La tasa específica de crecimiento para el período completo estuvo entre 1,73 y 1,82%/día para los grupos con NM, y entre 1,84 y 1,93%/día para los grupos con HM.

40 Referencias citadas en la descripción

Este listado de referencias citado por el solicitante es únicamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento europeo de la patente. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación, no se pueden excluir los errores o las omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad en este sentido.

45 Literatura citada en la descripción que no es de patente

- Fivelstad, S. y colaboradores. The effects of carbon dioxide on salmon smolt. *Norsk Fiskeoppdrett*, 1998, (16), 40 - 41 [2008]

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un alimento para cría del tipo de alimentos extruidos, que contiene proteínas, grasas y carbohidratos, para peces de agua dulce, en donde los peces son mayores a 2 gramos, y en donde el agua dulce tiene un contenido de CO₂ que está por encima de 5 miligramos/litro, en donde el alimento tiene un mayor contenido de al menos uno de los minerales: fosfato (P), potasio (K), calcio (Ca), sodio (Na) y magnesio (Mg) más allá del que existe naturalmente en las materias primas utilizadas de proteína, las materias primas de grasa y las materias primas de carbohidratos, **caracterizado** porque la cantidad total de minerales en el alimento extruido es al menos del 10%, con base en la sustancia seca, del peso total del alimento, y en donde se añade(n) uno o más de los minerales de fosfato (P), potasio (K), calcio (Ca), sodio (Na) y magnesio (Mg) más allá del que existe en las materias primas utilizadas de proteína, las materias primas de grasa y las materias primas de carbohidratos.
- 10 2. El alimento para cría de acuerdo con la reivindicación 1,
- 15 3. El alimento para cría de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque la cantidad de fosfato (P) está dentro del rango de 1,1 - 2,1% con base en una sustancia seca, del peso total del alimento.
- 20 4. El alimento para cría de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque la cantidad de potasio (K) está dentro del rango de 0,7 - 1,1% con base en una sustancia seca, del peso total del alimento.
- 25 5. El alimento para cría de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque la cantidad de calcio (Ca) está dentro del rango de 1,3 - 3,0% con base en una sustancia seca, del peso total del alimento.
- 30 6. El alimento para cría de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque la cantidad de sodio (Na) está dentro del rango de 0,6 - 0,9% con base en una sustancia seca, del peso total del alimento.
- 35 7. El uso de un alimento extruido para cría de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes para alimentación de peces de agua dulce, en donde los peces pesan más de 2 gramos, y el agua tiene un contenido de CO₂ que está por encima de 5 miligramos/litro.

45

50

55

60

65