



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 296 296**

51 Int. Cl.:

**A23K 1/00** (2006.01)

**A23K 1/18** (2006.01)

**A23L 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **96921364 .4**

86 Fecha de presentación : **05.06.1996**

87 Número de publicación de la solicitud: **0840554**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **13.05.1998**

54

Título: **Aceite inerte de rumen.**

30

Prioridad: **09.06.1995 US 489111**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.04.2008**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.04.2008**

73

Titular/es: **The Board of Regents of the University  
of Nebraska  
Varner Hall, 3835 Holdrege Street  
Lincoln, Nebraska 68583, US**

72

Inventor/es: **Klopfenstein, Terry, James;  
Winowski, Thomas, Stephen y  
Britton, Robert, Allen**

74

Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 296 296 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

Aceite inerte de rumen.

5 **Antecedentes de la invención**

Esta invención se relaciona con un alimento para ganado, con la preparación de un alimento para ganado y con la alimentación para el ganado para incrementar la utilización de lípidos y proteína por parte de los rumiantes.

10 Se sabe: (1) suministrar lípidos a los rumiantes como fuente de energía; (2) proteger los lípidos insaturados en el rumen del ganado lechero a fin de pasar los lípidos insaturados a la leche, (3) suministrar lípidos que sean inertes en el rumen y que no interactúen con o afecten las bacterias del rumen; (4) suministrar lípidos tratados por extrusión de una combinación de almidón y lípido; y (5) tratar al lípido encapsulado en proteína para volverlo no degradable por parte de las bacterias del rumen, volviendo por lo tanto inerte al lípido en el rumen. En algunos casos los lípidos han sido  
15 suministrados junto con proteína no degradable en el rumen y se sabe que la aplicación de calor o de calor y azúcares reductores ayuda en la reducción de la degradabilidad de la proteína con el calor.

En algunas técnicas del estado del arte para suministro de lípidos, no existe la intención de volver a dichos lípidos ruminalmente inertes, tal como por ejemplo, por tostado o extrusión de semillas de soja con toda su grasa. El tostado de las semillas de soja tiene la desventaja de que la severidad del calentamiento requerido para lograr el nivel deseado de proteína no degradable de rumen es tal que cantidades significativas de los nutrientes pueden volverse indigeribles. La extrusión de las semillas de soja tiene la desventaja de que rompe los organelos que contienen al lípido. Los organelos consisten de aceite contenido en membranas de proteína que, cuando se las deja intactas y se vuelven no degradables, proveen la envoltura protectora alrededor del lípido. Si se rompen, permiten la liberación más rápida del  
20 lípido no protegido dentro el rumen, resultando en disfunción microbiana y la consiguiente disminución de la grasa de la leche.

En la alimentación intencional de lípidos del estado del arte que son inertes en el rumen y en la preparación de lípidos para que no interactúen con o afecten las bacterias del rumen, algunos de los tratamientos han sido para: (1) alterar químicamente grasas y aceites de tal manera que ellos se hagan insolubles, ya sea por la formación de una sal de calcio o por hidrogenación; y (2) extraer una combinación de almidón y grasa/aceite de tal manera que el almidón se gelatinice y forme una matriz protectora que encierre al lípido. La extrusión de una combinación de almidón y lípido es divulgada en la Patente Estadounidense No. 5.120.585.

35 La hidrogenación tiene la desventaja de que: (1) la hidrogenación de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) para formar grasas sólidas genera ácidos grasos tipo trans que han mostrado que reducen el grado de síntesis de grasa en la leche en el ganado lechero; (2) los ácidos grasos tipo trans que pueden ser transportados por la leche y los ácidos grasos tipo trans de la dieta han sido asociados con problemas cardiovasculares en humanos; y (3) las grasas hidrogenadas tienen pobre digestibilidad comparadas con los PUFA. Las sales de calcio de los lípidos tienen la desventaja de una pobre palatabilidad al menos para algunos rumiantes.

La extrusión de una combinación de almidón y lípido tiene la desventaja de: (1) requerir de materiales de partida refinados lo que resulta en costos de producción más altos; y (2) no proveer ninguna proteína protegida de modo que se requiere aún de alimentos suplementados. Se recomienda que el nivel de proteína en la dieta se incremente en un  
45 0,5% por cada 1% de incremento en lípido.

Los métodos del estado del arte de recubrimiento de lípidos para volverlos inertes en el rumen incluyen (1) secado por aspersión de una emulsión de aceite/caseína con tratamiento posterior de formaldehído, y (2) tratamiento directo de semillas oleaginosas con formaldehído de acuerdo con la Patente Canadiense No. 1.206.368. Este tipo de tratamiento puede formar un recubrimiento inerte en el rumen alrededor de los lípidos bajo ciertas condiciones. El formaldehído, sin embargo, no está aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos para este tipo de aplicación en alimentos para animales.

Las Patentes Estadounidenses Nos. 4.957.748, 5.023.091 y 5.064.665 enseñan que los carbohidratos reductores, estos es, xilosa, y los lignosulfonatos que contienen a tales carbohidratos reductores, aplicados bajo condiciones apropiadas de calor y humedad, pueden proteger a las proteínas vegetales de la degradación por parte de las bacterias del rumen. La aplicación de azúcares reductores a las semillas de soja antes del asado debe resultar en pardeamiento no enzimático y por lo tanto encierran al lípido en una matriz protectora. Sin embargo, se ha descubierto que tal proceso conduce únicamente a una protección superficial; la solución de azúcar no penetra dentro de la semilla, por lo cual se cuece el interior pero no se tuesta. La rotura de la superficie de la semilla tostada/de la semilla pardeada en forma no enzimática provoca la pérdida de protección. La rotura de la superficie puede ser provocada por molienda, peletizado o masticación.

Cada uno de los elementos del estado de la técnica y de los métodos descritos anteriormente traen consigo uno o más de los rasgos indeseables, que pueden incluir la pérdida de la disponibilidad de nutrientes, alto costo, pobre palatabilidad, o generación de ácidos grasos trans. Ninguno de ellos provee una combinación de proteína protegida del rumen y de grasa inerte al rumen que sea palatable, digerible, y rentable.

## ES 2 296 296 T3

La Patente de Estadounidense No. 5.143.737 divulga un método para la producción de un aditivo para alimentos que contiene grasa o aceite vegetal, que comprende las etapas de selección de un componente alimenticio y un agente de encapsulación que contiene una proteína y un azúcar reductor; la preparación de una emulsión del agente de encapsulación; la mezcla del alimento y del agente de encapsulación, y la formación de una emulsión, el secado y entrelazamiento de la mezcla.

D.J. Murphy, Prog. Lipid Res. Vol. 29, N°4, páginas 299-324 (1990) divulga la estructura y la composición de cuerpos lipídicos/aceitosos de la planta.

### 10 Resumen de la invención

Por lo tanto, un objetivo de la invención es el de proveer un nuevo alimento que incremente la eficiencia de la utilización de lípidos para animales.

15 Un objetivo adicional de la invención es proveer un nuevo método para alimentar ganado.

Aún otro objetivo adicional de la invención es proveer un nuevo alimento para rumiantes que provea una protección por baipás tanto de proteínas como de lípidos.

20 Aún otro objetivo adicional de la invención es proveer un nuevo alimento que exhiba una degradación reducida de lípidos en el rumen y sea utilizado en el tracto digestivo inferior.

Aún otro objetivo adicional de la invención es proveer un nuevo alimento que exhiba una degradación reducida de lípidos en el rumen y, cuando sea suministrado a ciertos animales tales como ganado lechero, resulte en un producto lácteo que tenga un contenido de lípido afectado por la naturaleza del lípido que está protegido por baipás en el alimento.

Aún otro objetivo adicional de la invención es proveer un nuevo método de alimentación de animales productores de leche con lípidos insaturados protegidos por baipás a fin de proveer un rango seleccionado de lípidos vegetales insaturados en la leche.

Aún otro objetivo adicional de la invención es proveer una semilla al menos parcialmente compuesta de cuerpos lipídicos que están en el rango de tamaño entre 0,1 y 10 micrómetros con una membrana que los rodea formada a partir de productos de reacción de la proteína de la membrana y un carbohidrato reductor.

35 De acuerdo con los anteriores y con objetivos adicionales de la invención, un alimento para rumiantes comprende una mezcla de material orgánico que incluye cuerpos lipídicos oleaginosos, dichos cuerpos lipídicos oleaginosos teniendo un rango de tamaño entre 0,1 y 10 micrómetros y estando al menos parcialmente metidos dentro de una membrana delgada que incluye un producto de reacción de un azúcar reductor y un material proteínico, en donde dichos cuerpos lipídicos oleaginosos incluyen lípido oleaginoso en su forma natural *in situ*. Preferiblemente, el lípido es un aceite vegetal. De esta forma, el aceite vegetal no es hidrogenado por bacterias del rumen ni inhibe la digestión de la fibra no obstante que el aceite vegetal es digerible en el intestino delgado, y bajo algunas circunstancias, algo de él puede ser transferido a la leche del animal. Si algo o todos los lípidos son aceites vegetales, ellos pueden incrementar la proporción de lípidos en aquella leche que está en forma monoinsaturada o poliinsaturada.

50 La protección se logra por medio de pardeamiento no enzimático del material orgánico proteínico que rodea al aceite en las sustancias de las semillas oleaginosas. Preferiblemente, el pardeamiento no enzimático es una reacción temprana o intermedia de Maillard principalmente reversible. El pardeamiento no enzimático vuelve al material proteínico resistente a la degradación bacteriana y por lo tanto encapsula al aceite en una matriz protectora. El proceso comprende la aplicación de azúcares reductores a las sustancias de las semillas oleaginosas y calor para inducir pardeamiento no enzimático. Se controla el proceso para garantizar la penetración de los azúcares reductores al interior de la sustancia de las semillas oleaginosas antes de que se inicie la reacción de tostado.

55 Un alimento para animales comprende una mezcla de materiales orgánicos que incluye al menos un producto de reacción de una sustancia de semilla oleaginosa y un carbohidrato reductor. El porcentaje de carbohidrato reductor sobre la sustancia de la semilla oleaginosa puede estar en el rango de 0,1% hasta 40% en peso dependiendo de la semilla y del carbohidrato empleado. El porcentaje actual de carbohidrato reductor sobre la sustancia de la semilla oleaginosa depende del carbohidrato y de la proteína. La sustancia de la semilla oleaginosa se selecciona entre semillas de soja, semilla de canola, semilla de algodón, semilla de girasol, semilla de linaza, semilla de colza, semilla de cártamo y semilla de sésamo.

60 El carbohidrato reductor comprende un azúcar reductor seleccionado entre xilosa, glucosa, fructuosa, manosa, lactosa, ribosa, extractos de hemicelulosa y sus hidrolizados, azúcares contenidos en licor agotado de sulfito, melaza y su hidrolizado y productos de maíz y sus hidrolizados y mezclas de los mismos. Si se trata de xilosa, el porcentaje de xilosa sobre la sustancia de semilla oleaginosa es de 1% a 6%, mientras que si el carbohidrato reductor es glucosa, el porcentaje de glucosa sobre la sustancia de semilla oleaginosa es de 2% hasta 20%.

## ES 2 296 296 T3

Preferiblemente, el carbohidrato reductor es un componente del licor agotado de sulfito o del licor agotado de sulfito seco. El sulfito agotado típicamente incluye del 10% al 40% de carbohidratos reductores como componente del mismo. Cuando se emplea en la presente invención, el porcentaje de sólidos del licor agotado de sulfito sobre la sustancia de semilla oleaginosa es de 2% a 40%. El licor agotado de sulfito empleado en la presente invención se obtiene típicamente a partir de la pulpa de maderas duras y de maderas blandas.

Un método de elaboración de alimento para animales comprende las etapas de seleccionar una semilla oleaginosa deseada, romper la semilla, aplicar un azúcar reductor a las semillas rotas, permitiendo que el azúcar penetre al interior de la semilla, y después calentar la mezcla a una temperatura, pH y porcentaje de humedad durante un tiempo suficiente para provocar el pardeamiento no enzimático del material orgánico proteínico que rodea al aceite en la semilla oleaginosa para encapsular por lo tanto al aceite en una matriz protectora.

El porcentaje de carbohidrato reductor sobre la semilla oleaginosa es de 0,1% hasta 40% en peso dependiendo la proporción preferida de la semilla y del azúcar empleado. La semilla empleada se puede seleccionar entre semilla de soja, semilla de canola, semilla de algodón, semilla de girasol, semilla de linaza, semilla de colza, semilla de cártamo y semilla de sésamo. La ruptura puede lograrse en cualquier forma convencional tal como en forma mecánica por medio de un molino de rodillos.

La aplicación del azúcar se hace preferiblemente como una solución y puede ser hecha también en cualquier forma convencional tal como, por rociado, goteo, mezcla o similares. Convenientemente, se emplea vapor para provocar que el azúcar reductor penetre la semilla. Sin embargo, también se pueden emplear otros métodos que resultan en penetración del azúcar tal como permitir que una mezcla de azúcar y la semilla se impregne, con o sin calor, para que el azúcar penetre al interior de la semilla y se coloque de tal manera que una cantidad suficiente de azúcar reductor rodee a una porción sustancial de los cuerpos de aceite para provocar una reacción temprana o intermedia de Maillard sobre más de la mitad de los cuerpos de aceite que tienen un diámetro entre 0,01 y 10 micrómetros.

Finalmente, se calienta la mezcla, preferiblemente por medio de vapor, para que de cómo resultado un pardeamiento no enzimático a un pH entre 2 y 10,5, un porcentaje de humedad entre 6% y 40%, una temperatura entre 20°C y 150°C y durante un tiempo entre 20 minutos y 72 horas. Preferiblemente, el vapor no solamente provoca que los azúcares penetren la semilla sino que después de eso el vapor resulta en el mantenimiento de una cantidad apropiada de calor para provocar un pardeamiento no enzimático. Se debe entender también que las semillas se podrían secar ya sea antes o después del rompimiento con el propósito de mejorar la penetración del azúcar en el interior de la semilla.

La alimentación mejorada puede ser sustituida por parte o todo el concentrado usual que le está siendo suministrado al animal resultando en una eficiencia mejorada en la producción de leche y/o de sustancia. En particular, el aceite vegetal ruminalmente inerte no es hidrogenado por las bacterias del rumen de modo que el aceite vegetal sea digerible posteriormente en el rumen y pueda ser transferido a la leche en forma monoinsaturada o poliinsaturada. Se puede obtener un mayor rendimiento en la producción con los mismos niveles de alimentación, o se pueden obtener los mismos rendimientos en la producción con niveles reducidos de alimentación. En una modalidad, se seleccionan las semillas, y bajo algunas circunstancias, la proteína o la grasa añadidas para proveer la mezcla deseada de lípidos saturados o insaturados en la leche de un animal.

A partir del resumen anterior, se puede entender que el alimento de esta invención y el método para elaborarlo y utilizarlo tienen diferentes ventajas, tales como por ejemplo: (1) tanto la proteína como el aceite son utilizados mejor; (2) es económico en su elaboración; y (3) puede ser utilizado para mejorar la calidad de la leche.

### Breve descripción de los dibujos

Lo anteriormente anotado y otras características de la invención serán mejor entendidas a partir de la siguiente descripción detallada cuando se la considere en conexión con los dibujos acompañantes, en los cuales:

La Fig. 1 es una gráfica que muestra la relación entre el escape del aceite vegetal por pérdida en el rumen con el nivel de proteína de escape ruminal.

La Fig. 2 es una gráfica que muestra la relación entre el nivel de escape de grasa en semillas con toda su grasa y el nivel de escape de proteína en aquellas semillas para lípido *in situ*, lípido añadido antes de la digestión ruminal y lípido añadido después de la digestión;

La Fig. 3 es una gráfica que muestra la relación entre el tiempo de calentamiento del alimento preparado de acuerdo con la presente invención y la liberación *in vitro* de NH<sub>3</sub>-N;

La Fig. 4 es una gráfica que muestra la relación entre el tiempo de calentamiento del alimento preparado de acuerdo con la presente invención sobre el porcentaje de proteína de escape ruminal;

La Fig. 5 es una gráfica que muestra la relación entre la grasa de escape ruminal y la proteína de escape ruminal; y

La Fig. 6 es una gráfica que muestra la relación de la pérdida de nitrógeno *in vitro* con la cantidad de proteína de escape ruminal.

### Descripción detallada

La alimentación animal incluye una cantidad sustancial de pequeñas partículas que tienen un interior lipídico y un recubrimiento formado de productos de reacción de membranas proteínicas de semillas oleaginosas y carbohidratos reductores. En la modalidad preferida, las semillas oleaginosas utilizadas para formar este alimento son aquellas encontradas en alimentos de alta calidad tales como semillas de soja, semilla de canola, semilla de algodón, semilla de girasol, semilla de linaza, semilla de colza, semilla de cártamo y semilla de sésamo.

Ya que entre más reactivo el carbohidrato reductor es más fácil que se formen los producto de reacción anteriormente mencionados, las fuentes de azúcar se seleccionan entre azúcares reductores, tales como por ejemplo: xilosa, glucosa, fructosa, manosa, lactosa, ribosa, extractos de hemicelulosa y sus hidrolizados, azúcares contenidos en licor agotado de sulfito, melaza y su hidrolizado y productos de maíz y sus hidrolizados y mezclas de los mismos. Preferiblemente, los azúcares reductores utilizados son aquellos de fuentes económicas de azúcar tales como licor agotado de sulfito o licor agotado de sulfito seco que es un subproducto de algunas industrias de la madera y una fuente de xilosa. Sin embargo, las mezclas de azúcares son apropiadas y pueden ser utilizadas aquí. Por lo tanto, en esta descripción detallada, el término, azúcares reductores, incluye lo anterior a menos que se especifique otra cosa.

Por razones de economía, el alimento para animales divulgado aquí y el proceso para la elaboración de tal alimento está pensado principalmente como un suplemento proteínico para alimentos convencionales. Típicamente, los suplementos proteínicos son alimento para ganado que contienen un mínimo de 20% de proteína con al menos 25% de la proteína que es degradable por microorganismos. La proteína que es degradable por microorganismos es aquella que es escindida por proteasa microbiana. El término "alimento convencional" quiere decir los alimentos normalmente suministrados a los rumiantes. Tales alimentos son conocidos en el arte e incluyen alimentos con proteína de alta calidad así como otros alimentos de menor calidad de proteína. Tales alimentos incluyen harina de semilla de soja, harina de semilla de algodón, harina de plumas, harina de sangre, ensilaje, harina de hueso y de carne, harina de semilla de girasol, harina de canola, harina de cacahuete, harina de cártamo, harina de semilla de linaza, harina de sésamo, legumbres de floración temprana, productos de pesca, alimentos para ganado a partir de subproductos de proteína tal como grano para destilerías y cervecerías, productos lácteos, productos de avicultura, henos, maíz, trigo, alfalfa, cebada, mijo, sorgo y mezclas de los mismos.

Los productos de reacción de azúcares y proteínas, esto es, los llamados aquí de "pardeamiento no enzimático", significan productos de condensación obtenidos por reacción de una proteína útil en la alimentación de ganado y que comúnmente se encuentran en alimentos convencionales para ganado, y un carbohidrato reductor seleccionado por su eficiencia en la reacción de reducción con las proteínas. Esta reacción es bien conocida en el arte, y se cree que el grado de la reacción que forma al presente alimento corresponde a lo que ha sido descrito en la literatura como reacciones tempranas de Maillard.

Las reacciones tempranas de Maillard son bien conocidas por aquellos capacitados en el arte a fin de que el pH, la temperatura, la humedad y el tiempo requerido para llevar a cabo la reacción hasta su grado óptimo se pueda determinar fácilmente con poca experimentación por parte de aquellos entrenados en la técnica. El uso de la reacción temprana de Maillard para tratar proteínas para el uso en alimentos es descrito en las Patentes Estadounidenses Nos. 4.957.748, 5.023.091 y 5.064.665, cuyas divulgaciones se incorporan aquí como referencia. Convenientemente, el pH de la reacción está entre 2 y 10,5. La temperatura de la reacción está en el rango entre 20°C y 150°C (Centígrados), preferiblemente entre 80°C y 100°C. El tiempo de la reacción está en el rango entre 20 minutos y 72 horas, preferiblemente entre 1 hora y 4 horas. La cantidad de humedad afecta la reacción, y el porcentaje de humedad está en el rango entre 6% y 40%, preferiblemente entre 15% y 25%.

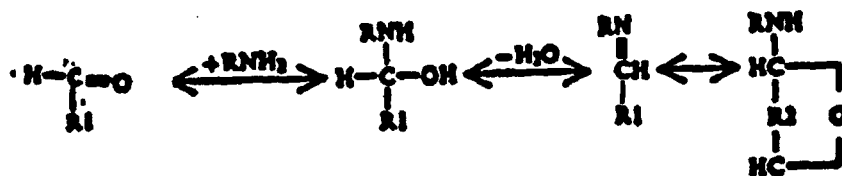
Se cree que la reacción es generalmente una reacción uno a uno entre las moles de los grupos de amina libre y el carbohidrato reductor y dando cierta importancia a otras reacciones en el alimento, las cantidades de azúcares más económicos que son utilizados con el alimento se pueden determinar aunque algunas materias primas adecuadas para piensos no son descritas aquí específicamente.

Se mezclan un azúcar reductor y proteína en cantidades suficientes para provocar que los grupos amino alfa y épsilon en la proteína reaccionen con los grupos carbonilo en el azúcar para formar un producto de reacción cuando se calienta la mezcla a una temperatura, tiempo y pH para provocar reacciones correspondientes a aquellas en la fórmula 1, donde R es una proteína que tiene el grupo amino alfa o amino épsilon mostrado, R1 es la porción restante del carbohidrato mostrado en la fórmula 1; y R2 es una porción de R1 que resulta de una reacción como la mostrada.

El alimento mejorado descrito aquí puede ser preparado en diferentes formas utilizando diferentes semillas oleaginosas proteínicas adecuadas y diferentes carbohidratos reductores como materias primas. En cada caso, ocurre una reacción entre el carbohidrato reductor y las proteínas en las semillas oleaginosas que encapsulan al aceite en una matriz protectora formando así un compartimiento de proteína protegida que contiene lípido de tal manera que el compartimiento entero y su contenido lipídico escapan de la degradación por parte de las bacterias del rumen

# ES 2 296 296 T3

Fórmula 1



que aún son digeribles en el intestino delgado o abomaso del animal.

Ya que el aceite vegetal inerte en el rumen es digerible después del rumen, algo de él se transfiere a la leche del rumiante en forma poliinsaturada. Volviendo al aceite vegetal “inerte en el rumen”, se puede incrementar la densidad energética del alimento y el nivel de grasa poliinsaturada en la leche mientras que al mismo tiempo se puede minimizar la formación ácidos grasos trans por hidrogenación bacteriana en el rumen. Por “ruminalmente inerte” se entiende que se evita que el lípido tenga una interacción nociva con las bacterias del rumen no obstante que esté disponible para digestión y absorción en el tracto gastrointestinal posterior al rumen.

El porcentaje de carbohidrato reductor sobre las semillas oleaginosas proteínicas está en el rango entre 0,1% y 40% en peso dependiendo de la semilla y del azúcar empleado. Preferiblemente, una cantidad de 1% a 5% es apropiada. La fuente preferida de azúcar reductor es el licor de sulfito. El licor agotado de sulfito es esa porción de la madera solubilizada en la pulpa al sulfito ácido de material de la planta de madera dura y/o de madera blanda. El material de la planta se cocina a elevada temperatura a un pH menor a 7 en una solución de  $\text{MHSO}_3$  donde M es el catión que puede incluir  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  y  $\text{K}^+$ . Este proceso bien conocido es comúnmente utilizado en la elaboración de pulpa de celulosa para la fabricación de productos de papel. Los licores agotados de sulfito se componen de 40% a 70% de M-lignosulfonatos, 5% a 30% de azúcares reductores, y 2% a 20% de oligosacáridos. Los azúcares reductores del licor agotado de sulfito son típicamente una mezcla que contiene glucosa, manosa, xilosa, galactosa y arabinosa. Las proporciones relativas entre los azúcares dependen en forma variable de las condiciones exactas de la pulpa y del material de la planta utilizado en el proceso.

Generalmente, el alimento se prepara seleccionando primero la semilla oleaginosa deseada o mezcla de semillas, y luego rompiendo la cutícula de la semilla por rompimiento mecánico, por ejemplo, por medio de la operación con un molino de rodillo. Cualquier método para quebrantamiento o rompimiento de la cutícula de la semilla puede ser empleado mientras no se muele la semilla o se libere su aceite durante el proceso.

Después del rompimiento, se trata la semilla con un carbohidrato reductor por medio de la aplicación del azúcar, preferiblemente en solución, en cualquier forma convencional al exterior de la semilla. Por ejemplo, se puede aplicar el carbohidrato reductor rociando la solución sobre ella, chorreando la solución sobre ella, mezclando, o por cualquier otro medio.

Después de eso, se induce la penetración de los azúcares en la mezcla al interior de la semilla. Esto se puede lograr con o sin calor. Si no se utiliza calor, típicamente se le permite a la mezcla impregnarse completamente aproximadamente entre un minuto y una hora para garantizar la penetración de los azúcares en el interior de la semilla. También se puede utilizar el calor para provocar que los azúcares penetren la semilla.

Si se emplea calor, se prefiere el vapor. El calentamiento con vapor provoca la migración neta de humedad desde la superficie de la semilla hasta su centro que transporta de este modo el azúcar junto con ella hacia el interior de la semilla. Esta penetración de calor y de azúcar al mismo tiempo contribuye a un pardeamiento no enzimático más uniforme por toda la partícula de la semilla. De este modo, cuando e muele después de eso la partícula de la semilla, no hay pérdida en la protección de la semilla y el aceite vegetal contenido allí permanece ruminalmente inerte. De esta forma, la masticación por parte el animal no puede destruir la protección.

Después de una penetración suficiente por los azúcares, se calientan la semilla y el carbohidrato reductor a una temperatura, pH, nivel de humedad y tiempo suficiente para provocar el pardeamiento no enzimático. Si se empleó impregnación, se puede tostar la mezcla con aire caliente o se la puede calentar con vapor. Igualmente, si se empleó vapor para provocar la penetración de los azúcares, se mantiene después de eso el calentamiento para dar como resultado un pardeamiento no enzimático. Nuevamente, se puede o bien tostar con aire caliente o calentar con vapor para provocar pardeamiento no enzimático, pero si se empleó vapor para provocar la penetración de los azúcares, es deseable continuar con el uso del vapor para dar como resultado el pardeamiento no enzimático. De esta forma, el término, penetración suficiente significa, en esta descripción, que se distribuye suficiente carbohidrato reductor dentro de la semilla oleaginosa a fin de que al menos treinta por ciento de los lípidos sean suficientemente encerrados después de calentamiento y tiempo apropiados para que tenga lugar la reacción temprana de Maillard y para que los cuerpos lipídicos dentro de la semilla oleaginosa sean inertes en el rumen.

Como etapa opcional, las semillas pueden ser secadas antes o después del rompimiento. Típicamente, esto se logra por medio de calentamiento con aire caliente. La ventaja de secar las semillas antes de la aplicación de la solución

## ES 2 296 296 T3

de azúcar es que las semillas secas absorben más fácilmente los azúcares en el interior de la semilla ya que el bajo contenido de humedad de éstas tiende a arrastrar la solución de azúcar en su interior. Sin embargo, el secado incrementa los costos de producción y por lo tanto no es esencial proteger el lípido de acuerdo con la presente invención.

5 El producto resultante incluye cuerpos de lípidos en un rango de tamaño desde medio micrómetro hasta 10 micrómetros pero estando concentrado en un rango de tamaño que depende del tipo de semilla oleaginosa. En el caso de semillas de soja el rango de tamaño está entre 0,5 y 2 micrómetros. Estos cuerpos incluyen lípido en su forma natural *in situ* rodado por un producto de reacción de una proteína y un azúcar reductor, estando la proporción de producto de reacción a lípido entre 1% como puede ser el caso con los cacahuets hasta 35% que puede ser el caso con algunas  
10 semillas de soja. La capa de proteína es más densa que la capa de lípido y relativamente delgada siendo menor al 10% del diámetro del cuerpo oleoso en espesor. Estos cuerpos que protegen al aceite dentro de un producto de reacción de una proteína y un azúcar reductor son denominados aquí como partículas de aceite protegidas por baipás.

Una vez que se han formado las partículas de aceite protegidas por baipás en la semilla oleaginosa procesada, se  
15 puede moler la semilla oleaginosa y ya que las partículas protegidas son muy pequeñas pueden permanecer intactas y proveer un alimento molido con aceite sustancialmente inerte en el rumen. El tipo de proteínas que forman la cubierta alrededor del lípido son oleosinas y el producto de reacción de la proteína y el carbohidrato reductor tienen una proporción de carbohidrato reductor sobre las oleosinas de 0,5% a 40% en peso de tal manera que se reduce la degradabilidad de la proteína alimenticia por parte de los microorganismos del rumen y existe una significativa  
20 digestibilidad de la proteína y del lípido en el tracto posterior del rumen.

La cantidad de lípido protegido por baipás en un alimento se puede confeccionar de acuerdo con la situación. De esta forma, se pueden determinar en un alimento dado la cantidad de proteína y la cantidad de lípido protegido. Además, con alguna experimentación se puede determinar sin alteración, la cantidad de lípido protegido que es transportado a la leche de los rumiantes productores de leche y se puede seleccionar una composición final del alimento que incluya al menos algo de lípidos protegidos por baipás para alterar las características de la leche en una forma deseada.  
25

Algunos de los cuerpos lipídicos protegidos pueden incluir una capa protegida de un producto de reacción de una reacción temprana de Maillard y algunas de las etapas irreversibles posteriores o la reacción irreversible más difícil de Maillard. Estableciendo la cantidad de calor y de azúcar reductor, se pueden controlar las proporciones de semilla oleaginosa que tienen diferentes grados de protección que corresponden a diferentes etapas de la reacción de Maillard para las semillas oleaginosas protegidas por baipás. De esta forma se puede utilizar la etapa de la reacción de Maillard usada con el tratamiento para afectar la cantidad de grasa vegetal que pasa a la leche de un rumiante productor de  
30 leche. La eficacia de la presente invención se ilustra por medio de los siguientes ejemplos nominativos, en donde las partes y los porcentajes se especifican con base en el peso.

### Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra que el pardeamiento no enzimático protege al aceite contenido *in situ* en las semillas oleaginosas. En este ejemplo, se rompieron las semillas oleaginosas, se las trató con una solución que contenía azúcares reductores, y se las calentó para producir pardeamiento. Algunas muestras fueron también calentadas sin tratamiento con azúcar.  
40

Las muestras fueron evaluadas por medio del método de la bolsa de dacrón. Se las incubó en el rumen de una vaca y durante ese tiempo se sometieron las semillas oleaginosas al ataque por parte de microbios del rumen. Se recuperaron las muestras del rumen y se las analizó por los niveles restantes de proteína y de lípido. Los resultados se muestran en la Tabla 1 y en la Figura 1, e indican el porcentaje de proteína y de grasa restantes de las semillas oleaginosas después de la digestión en el rumen en las semillas oleaginosas tratadas de acuerdo con la invención o no tratadas.  
45

En la Fig. 1, se muestra una gráfica que tiene en la abscisa el porcentaje de proteína de escape y en la ordenada el lípido de escape con una curva que acomoda 10 puntos de datos tanto para la soja como para la canola tratadas y no tratadas. La curva 10 indica una relación lineal entre la proteína de escape y el lípido tanto para la soja como se observa para los puntos de datos 12 y para la canola como se observa para los puntos de datos 14. Los datos cubren tanto a la soya como a la canola tratadas y no tratadas. La Tabla 1 indica más claramente la mejor protección suministrada por el tratamiento de Maillard. Los datos muestran:  
50

1. Una correlación lineal entre el porcentaje de proteína de escape y el aceite de escape; el aceite de escape se incrementa directamente con la proteína de escape.  
55
2. La protección fue similar tanto para las semillas de canola como para las semillas de soja.  
60
3. El tratamiento de las semillas oleaginosas con calor y con carbohidrato reductor, suministrado ya sea como xilosa o como lignosulfonato, mejoró tanto el escape de proteína como el escape de grasa. En un caso donde el LSO<sub>3</sub> falló en proteger la proteína en la canola, no hubo tampoco protección de la grasa.  
65

## ES 2 296 296 T3

TABLA 1

*Escape de Nutrientes (%) a partir de la Digestión en el Rumén*

5

Tratamiento	Proteína Restante	Grasa Restante
Soja Fina	10,8	14,6
Soja Fina + Calor	20,1	29,2
Soja Fina + Calor + 2% de Xilosa	63,5	69,7
Soja Fina + Calor + 5% de LSO <sub>3</sub>	47,0	47,1
Soja Gruesa	29,9	39,2
Soja Gruesa + Calor + 5% de LSO <sub>3</sub>	58,0	61,1
Canola	30,9	40,6
Canola + Calor	25,5	34,0
Canola + Calor + 2% de Xilosa	58,1	68,8
Canola + Calor + 5% de LSO <sub>3</sub>	31,4	34,6

10

15

20

25

30

Esto está de acuerdo con la teoría de que la grasa puede ser protegida por medio de la protección de la membrana proteínica que la encierra.

### Ejemplo 2

35

Este ejemplo muestra los resultados mejorados cuando el aceite que va a ser protegido está en condición *in situ* como la mostrada por el ejemplo 1 comparado con la harina como se muestra en este ejemplo 2.

40

*Procedimiento:* Se tamizó la harina de semilla de soja (44%) sobre un tamiz de malla 50 para remover los finos. Se molieron toscamente las semillas enteras de soja y se tamizaron; se recolectó la fracción que pasó a través de un tamiz de malla 8, pero que se retuvo sobre un tamiz de malla 50, para el tratamiento. Se volvieron ásperas las semillas molidas para remover parcialmente las cáscaras.

45

*Tratamiento de Harina de Semilla de Soja:* Se añadió aceite de semilla de soja a la harina de semilla de soja y se trató la combinación con azúcar y se pardeó. Alternativamente, se trató la harina de semilla de soja con azúcar y se pardeó, y se añadió luego aceite a la harina pardeada. Como control positivo, se trataron las semillas de soja molidas con toda su grasa con azúcar y se pardearon. Se repitió este procedimiento utilizando aceite hidrogenado de semilla de soja en lugar de aceite líquido.

Las muestras se prepararon de la siguiente manera:

50

1. Se disolvieron 2,0 g de xilosa en 20 g de agua y se mezclaron completamente con 100 g de harina de semilla de soja. Se precalentó la muestra en un horno microondas, se la colocó en una jarra cubierta, y se mantuvo a 105°C durante 90 minutos en un horno de aire forzado. Se esparció luego la muestra sobre papel durante la noche hasta sequedad.

55

2. Como en (1) pero después de secar 15 g de aceite caliente se lo mezcló dentro de la harina.

3. Como en (1) pero se utilizaron 5,0 g de Ultrazina CA (un lignosulfonato de madera blanda al cual se le ha eliminado el azúcar) en vez de 2,0 g de xilosa.

60

4. Como en (3) pero después de secar 15 g de aceite caliente se mezclaron en la harina.

5. Se mezclaron 15 g de aceite caliente en 100 g de harina de semilla de soja y se los trató como en (1), añadiendo 2,0 g de xilosa disuelta sobre 115 g de harina de semilla de soja/aceite y calentando.

65

6. Se mezclaron 15 g de aceite caliente en 100 g de harina de semilla de soja y se los trató como en (3), añadiendo 5,0 g de Ultrazina disuelta sobre 115 g de harina de semilla de soja/aceite y calentando.

## ES 2 296 296 T3

Se repitió este procedimiento sobre un segundo juego de muestras (7-12) pero se reemplazó el aceite (utilizado en 2, 4, 5, 6) con grasa sólida (aceite hidrogenado). Se calentó la grasa lo suficiente para permitir una buena mezcla con la harina de semilla de soja.

- 5 13. Se mezcló agua (20 g) en 115 g de semillas molidas y se calentó en un horno de aire forzado a 105°C durante 90 minutos.
14. Se disolvieron 2,0 g de xilosa en 20 g de agua, se mezclaron con 115 g de semillas molidas, y se calentó en horno a 105°C durante 90 minutos.
- 10 15. Se disolvieron 5,0 g de Ultrazina CA en 20 g de agua, se mezclaron con 115 g de semillas molidas, y se calentó en horno a 105°C durante 90 minutos.
- 16, 17 & 18. Se repiten 13, 14 y 15.

15 Se prepararon las muestras 13-18 y se calentaron como un grupo. Después de 90 minutos, se esparcieron sobre papel para secarlas durante la noche.

20 Las muestras tratadas fueron enviadas a la Universidad de Nebraska donde fueron evaluadas por la proteína que escapa del rumen y la grasa que escapa el rumen utilizando la técnica de la bolsa de dacrón. Los resultados se reportan en la Tabla 2 y en la Fig. 2. En la Fig. 2, la abscisa está en porcentaje de proteína de escape, la ordenada está en porcentaje de grasa de escape, la curva 16 representa muestras únicamente con el aceite de las semillas molidas, la curva 18 representa el aceite añadido antes del pardeamiento no enzimático indicado por los puntos de datos 20 y la grasa añadida antes del pardeamiento no enzimático indicado por 22, y la curva 24 representa al lípido añadido después del pardeamiento no enzimático como se indica por los puntos de datos 26 para el aceite añadido después del pardeamiento no enzimático y los puntos de datos 28 para la grasa añadida después del pardeamiento no enzimático. Resultados:

- 30 1. El tratamiento de la proteína con xilosa incrementó el nivel de proteína de escape; esta respuesta no se afectó por la grasa. El tratamiento de las semillas con toda su grasa con xilosa incrementó significativamente el nivel de grasa de escape ( $P < .01$ ).
- 35 2. El nivel de la grasa de escape en semillas con toda su grasa era directamente proporcional al nivel de proteína de escape en aquellas semillas. No hubo correlación entre la proteína de escape y la grasa de escape cuando se añadió la grasa sobre la harina de semillas de soja. La protección de la proteína afectó únicamente a la grasa *in situ*.
- 40 3. La grasa que fue añadida antes del calentamiento tenía un valor de escape significativamente superior que la grasa añadida después del pardeamiento ( $P > 0,1$ ). Los niveles de escape promediaron 28,2 y 14,9, respectivamente.
- 45 4. La Ultrazina CA, un lignosulfonato de madera blanda al cual se le ha eliminado el azúcar, no afectó a la proteína de escape o a la grasa de escape. Por lo tanto, el lignosulfonato al cual se le ha eliminado el azúcar no fue efectivo en proteger a la proteína, ni ofreció protección de la grasa.

(Tabla pasa a página siguiente)

50

55

60

65

# ES 2 296 296 T3

TABLA 2

muestra	Agente de Tratamiento, %			Escape del Rumen, %		
	Xilosa (g)	LSO <sub>3</sub> (g)	Aceite/Grasa Añadida	Grasa Restante (g)	Proteína	Grasa
1	2	0	Ninguna	3,0	64,8	55,0
2	2	0	Aceite añadido después del tratamiento	14,7	69,5	15,7
3	0	5	Ninguna	2,8	39,8	42,1
4	0	5	Aceite añadido después del tratamiento	14,0	34,7	11,4
5	2	0	Aceite añadido antes del tratamiento	15,7	67,6	26,8
6	0	5	Aceite añadido antes del tratamiento	15,2	38,2	20,4
7	2	0	Ninguna	3,2	72,8	54,8
8	2	0	Grasa añadida después del tratamiento	15,4	80,2	18,5
9	0	5	Ninguna	2,8	35,4	40,1
10	0	5	Grasa añadida después del tratamiento	15,2	39,6	14,2
11	2	0	Grasa añadida antes del tratamiento	15,6	70,7	40,5
12	0	5	Grasa añadida antes del tratamiento	14,6	34,1	24,9
13	0	0	Semillas de soja molidas, aceite <i>in situ</i>	14,6	42,8	56,1
14	2	0	Semillas de soja molidas, aceite <i>in situ</i>	15,0	74,3	89,9
15	0	5	Semillas de soja molidas, aceite <i>in situ</i>	14,9	48,5	57,6
16	0	0	Semillas de soja molidas, aceite <i>in situ</i>	15,6	49,6	59,3
17	2	0	Semillas de soja molidas, aceite <i>in situ</i>	16,4	69,1	78,1
18	0	5	Semillas de soja molidas, aceite <i>in situ</i>	16,0	45,5	48,5

5. La grasa hidrogenada tenía valores de escape superiores que el aceite, 24,5% versus 18,6% pero la diferencia no fue significativa.

*Discusión:* El aceite libre absorbido en una matriz protegida de proteína no fue protegida. Esto está indicado en tratamientos en los cuales se trató la harina se semillas de soja con xilosa y se la calentó, siendo el aceite añadido a la proteína ya sea ante o después del pardeamiento. No hubo indicación de que la proteína protegida proveyera una significativa protección al aceite. Esto indica que el tratamiento de las semillas oleaginosas extruidas no produciría grasa protegida cuando el aceite se libera de los cuerpos de aceite de su estado nativo.

Se añadió aceite hidrogenado de semilla de soja (Crisco) a la harina protegida de semilla de soja. Mostró una habilidad ligeramente superior para escapar del rumen, probablemente debido a su menor movilidad. Sin embargo, no mostró interacción con la matriz protegida de la proteína. El uso de una grasa sólida garantiza que permanecería en la matriz de la proteína pero no fue protegida por esa matriz. Esto confirma la necesidad de que el aceite esté en su condición nativa.

Este experimento confirma que la protección de la proteína de la semilla oleaginosa también protege a la grasa que está contenida en la matriz de la proteína. También parece a partir de estos resultados que la grasa debe estar en su estado natural para recibir protección. Cuando se añade grasa a la harina protegida de semilla de soja recibió poca o ninguna protección. Aparentemente la grasa que puede ser adsorbida por la harina puede también salirse de la harina. La grasa que está contenida en las membranas de proteína de las semillas oleaginosas no será liberada hasta que se rompa la membrana. La protección de la proteína de la degradación bacteriana ayuda a mantener intacta la membrana, protegiendo así al aceite.

La grasa hidrogenada tuvo una pérdida menor a partir de la bolsa de dacrón. La diferencia entre la pérdida de grasa y de aceite no fue significativa pero tiene sentido que la grasa hidrogenada, que es sólida a temperatura corporal, no escaparía de las bolsas de dacrón tan fácilmente como el aceite líquido.

La adición de grasa antes del calentamiento mostró una pérdida significativamente menor a partir de la bolsa de dacrón versus la adición después del calentamiento. Esto ocurre a pesar del nivel de la proteína de escape. Es probable que el proceso de calentamiento facilite la penetración más profunda del lípido dentro de la matriz de la proteína.

## ES 2 296 296 T3

Estos resultados ayudan a predecir el efecto de protección de la grasa en semillas sometidas a tostado y extrusión. El nivel de la grasa de escape en semillas sometidas a tostado se debe incrementar en proporción directa con el nivel de proteína de escape. Sin embargo, esto no se esperaría en semillas extruidas. La extrusión rompe tejidos hasta el punto en el que se libera el aceite de su matriz protectora. La grasa de escape depende del grado de ruptura de estas células.

### Ejemplo 3

Este ejemplo muestra las ventajas relativas y las desventajas del acondicionamiento con vapor versus el tostado en seco, y determina que la penetración del azúcar dentro de la semilla antes del pardeamiento mejora la protección del aceite en el rumen.

En este experimento, se añadió una solución de azúcar sobre las semillas rotas y se permitió la impregnación a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las semillas fueron calentadas entonces por medio de tres métodos:

1. Tostado con aire caliente, como es práctica comercial.
2. Calentamiento con vapor, impregnación en caliente, y tostado.
3. Calentamiento con vapor seguida por tostado con aire caliente.

Se evaluaron entonces las semillas. A continuación se hace un resumen más detallado de este ejemplo:

*Procedimiento:* Se rompieron las semillas de soja y se aspiró para remover las cascarras. El rompimiento fue de tal forma que cada semilla fue rota en 4 a 16 pedazos. Cuando todas se prepararon de esta manera, fueron divididas en cinco lotes de 100 libras cada uno. Se trató a los lotes de la siguiente manera:

Lote 1: Se apartaron treinta libras (muestra 4). Las 70 libras restantes fueron colocadas en un mezclador Littleford, se añadió agua, seguido por calentamiento a 100°C por medio de adición directa de vapor. Se llevaron las semillas a temperatura en 5-7 minutos. La mitad de las semillas calentadas con vapor fueron transferidas inmediatamente a un tostador (muestra 1) y la otra mitad se almacenó en un contenedor aislado durante 60 minutos (muestra 3).

El tiempo de permanencia en el tostador fue de 30 minutos. La temperatura varió entre 90 y 110°C, dependiendo de la cantidad de humedad que evaporaba de la harina en un momento dado.

Las 30 libras previamente separadas siguieron a las semillas calentadas al vapor dentro del tostador (muestra 2). Estas fueron seguidas luego por las semillas que habían sido calentadas con vapor e impregnadas durante 60 minutos (muestra 3). Una pequeña porción de la última muestra fue esparcida en una capa delgada para secado al aire (muestra 5) en vez de enviarla a través del tostador.

Lotes 2 y 3: Estos lotes para replicación se corrieron como el Lote 1 excepto ML-Z, un licor rico en xilosa, que fue añadido en lugar del agua cuando las semillas fueron colocadas primero en el mezclador Littleford. Las mezclas fueron recolectadas de la siguiente manera:

Muestra 6 & muestra 7: Mezcladas con ML-2 y tostadas.

Muestra 8 & muestra 9: Calentadas al vapor con ML-2 y tostadas.

Muestra 10 & muestra 11: Calentadas al vapor con ML-2, impregnadas, y enfriadas en un contenedor sellado.

Muestra 12 & muestra 13: Calentadas al vapor con ML-2, impregnadas, y esparcidas para enfriarlas y secarlas.

Muestra 14 & muestra 15: Calentadas al vapor con ML-2, impregnadas, y tostadas.

Los lotes adicionales fueron calentados al vapor con ML-2, impregnados, y esparcidos para secarlos al aire. No se recolectaron muestras. Estos tratamientos se hicieron para un ensayo de alimentación en progreso.

Las humedades de las muestras se determinaron por medio del secado de 2 g de cada una durante la noche en un horno a 105°C.

Las muestras (1-15) fueron enviadas a la Universidad de Nebraska para evaluación de la siguiente manera:

Tabla 4  
Resumen de Resultados

Muestra #	Vapor	ML-2 DM	Impregnación (Min)	Tostado (Min)	Método de Secado	Humedad (%)	Liberación de NH <sub>3</sub> -N	Escape in situ, Proteína	Grasa (%)
1	Sí	0	0	30	Tostado	8,2	56,1	38,2	40,9
2	No	0	0	30	Tostado	4,0	60,9	30,1	33,4
3	Sí	0	60	30	Tostado	8,8	52,7	39,1	41,1
4	No	0	0	0	Sin Secado	10,1	65,3	25,9	31,3
5	Sí	0	60	0	Capa Delgada	6,1	56,4	32,3	36,4
6	No	5	0	30	Tostado	5,2	52,0	56,3	58,0
7	No	5	0	30	Tostado	4,5	53,3	57,0	56,2
8	Sí	5	0	30	Tostado	7,4	25,6	60,6	54,3
9	Sí	5	0	30	Tostado	6,9	26,1	61,8	58,4
10	Sí	5	60	0	Sin Secado	18,8	19,4	54,1	48,8
11	Sí	5	60	0	Sin Secado	18,3	19,3	62,0	53,3
12	Sí	5	60	0	Capa Delgada	6,4	20,0	56,4	52,0
13	Sí	5	60	0	Capa Delgada	6,7	20,4	63,7	57,5
14	Sí	5	60	30	Tostado	7,1	13,0	63,2	58,3
15	Sí	5	60	30	Tostado	7,1	13,0	63,7	56,2
Varianza mancomunada:							0,211	11,66	7,48

1. Liberación de amoníaco en la fermentación in vitro
2. Proteína no degradable en bolsa de dacrón (UIP), y
3. Grasa de escape del rumen en bolsa de dacrón.

Los resultados se reportan en la Tabla 4 así como en las FIGURAS 3-6.

## ES 2 296 296 T3

### Resultados

1. El acondicionamiento con vapor provocó una mejora significativa sobre el tostado en seco cuando las muestras fueron evaluadas por medio de fermentación *in vitro*; la liberación promedio de NH<sub>3</sub>-N fue del 25,9% (muestra 8 y muestra 9) y del 52,6% (muestra 6 y muestra 7) con y sin vapor, respectivamente. El Acondicionamiento sin vapor de las semillas tostadas tratadas con xilosa produjo una respuesta relativamente pequeña *in vitro* versus el tostado sin xilosa; la liberación de NH<sub>3</sub>-N fue del 52,6% y del 60,9% con y sin xilosa, respectivamente.
2. La grasa promedio de escape del rumen (REF) fue superior para las muestras tostadas pero esta diferencia no fue significativa. En contraste con los resultados *in vitro*, el tostado en seco fue tan efectivo como el acondicionamiento con vapor.
3. La aplicación de azúcar seguida por calor provocó que se presentara un pardeamiento no enzimático en los tres métodos. Cuando se hizo el análisis colocando bolsas de dacrón en el rumen de las vacas, todos los tratamientos mostraron mayor proteína de escape y grasa de escape. Sin embargo, cuando se hizo el análisis *in vitro*, las muestras preparadas solamente por medio de tostación mostraron que no se mejoró la protección de la proteína por medio de tratamiento con el azúcar, por lo tanto no podría haber una mejora correspondiente de grasa de escape. Los análisis *in vitro* requieren que la muestra sea molida mientras que el análisis con bolsa de dacrón utiliza la muestra en forma gruesa. Este resultado indica que se perdería la protección en la medida en que se muele la muestra durante la masticación.
4. Un examen más de cerca de las semillas rotas tratadas por los tres métodos mostró que el pardeamiento únicamente ocurrió sobre la superficie de las semillas Únicamente Tostadas. Ya que estas son calentadas por aire caliente, el movimiento neto de humedad es desde adentro de la semilla hacia el exterior; bajo estas condiciones los azúcares solubles no pueden penetrar al interior de las partículas.
5. Las semillas que fueron calentadas primero por medio de adición directa de vapor mostraron una gradación en el pardeamiento desde la superficie hacia el centro. El calentamiento con vapor vivo provoca que la migración neta de humedad sea desde la superficie de la semilla hacia su centro, transportando el azúcar junto con ella. Esta penetración de calor y de azúcar al mismo tiempo conduce a un pardeamiento más uniforme a través de toda la partícula, de tal manera que cuando se muele la partícula no existe pérdida en la protección de la proteína. De esta forma la masticación no puede destruir la protección.

35 *Discusión:* El acondicionamiento con vapor afecta claramente el porcentaje de la liberación *in vitro* de NH<sub>3</sub>-N. Esta respuesta es causada por una penetración más profunda de la xilosa dentro de la semilla. Cuando se dividen las partículas de semilla y se las examina bajo el microscopio, se observa pardeamiento únicamente sobre la superficie de las semillas tostadas, pero el pardeamiento penetra cerca del centro de las partículas que son acondicionadas con vapor. La protección superficial es de poco beneficio para la fermentación *in vitro* ya que las muestras son molidas antes del análisis. La masticación podría tener un efecto similar.

45 La variación en los tratamientos fue baja cuando las muestras fueron analizadas *in vitro*, indicando que la replicación de los tratamientos era en realidad muy similar. Cuando las muestras fueron evaluadas por medio de la bolsa de dacrón, la variación fue alta. Esto sugiere un error en el método de la bolsa de dacrón o una superficie variable o una respuesta al tamaño de partícula que se pierde por la molienda.

50 En la Fig. 3, se muestran una curva 30 y una curva 32 que tienen en la ordenada la liberación de amoníaco y en la abscisa el período de calentamiento en minutos con la curva 30 representando un control no tratado y la curva 32 pardeamiento enzimático utilizando xilosa. Ambos fueron medidos *in vitro*. Los puntos de datos 34 representan mediciones hechas sin el uso de vapor.

55 En la Fig. 4, se muestran una curva 36 y una curva 38 que tienen en la ordenada el porcentaje de proteína de escape del rumen y en la abscisa el período de calentamiento en minutos para el tratamiento de pardeamiento no enzimático. La curva 36 es para el tratamiento con xilosa y la curva 38 es para el control. Los puntos de datos 40 son análisis realizados sin vapor. Los resultados fueron obtenidos a partir de un experimento en bolsa de dacrón en el rumen.

60 En la Fig. 5, se muestra una curva 50 que tienen en la ordenada el porcentaje de grasa de escape del rumen y en la abscisa la proteína de escape del rumen observándose una relación lineal entre el control, los puntos de datos que se muestran como 52, y soja tratada con xilosa para pardeamiento no enzimático, puntos de datos que se muestran como 54. Los puntos indicados como 56 representan soja tratada con xilosa sin la aplicación de vapor. Esta curva muestra la relación lineal entre la protección de la proteína y la protección de la grasa.

65 En la Fig. 6, se muestra una curva 58 que tiene en la ordenada la liberación de amoníaco y en la abscisa la proteína de escape del rumen, siendo los puntos 60 de la proteína de control, y los puntos 62 de la proteína tratada con xilosa, y los puntos 64 de la proteína tratada sin vapor. La relación lineal muestra la protección directamente correlacionada con el fenómeno de la reacción de Maillard y con la penetración.

## ES 2 296 296 T3

*In vitro*, incrementando los minutos bajo el calor se reduce el nivel de liberación de  $\text{NH}_3\text{-N}$ , con o sin xilosa. La velocidad de la disminución es superior en presencia de xilosa; las pendientes de las líneas de regresión fueron de -0,12 y de -0,21 con 0% y 4% de  $\text{ML-2}$ , respectivamente. Este cambio en la pendiente es consistente con una reacción de pardeamiento que es impulsada por el calor. Las muestras 6 y 7 no encajan con la línea de regresión de 4% de  $\text{ML-2}$  en la Fig. 3. Esto es debido a que ellas no fueron calentadas con vapor.

### Ejemplo 4

Este ejemplo muestra el efecto de la grasa de las semillas pardeadas en forma no enzimática (NEBB) y del aceite de las semillas de soja sobre los ácidos grasos de la leche, la digestión ruminal de la fibra, y de los niveles de ácidos grasos volátiles en la alimentación del ganado lechero con altos niveles de ingesta.

*Procedimientos:* Cuatro vacas lecheras Holstein ruminalmente fistuladas fueron asignadas a una de cuatro dietas en un diseño Latino cuadrado 4 x 4 con períodos de tres semanas. Las dietas fueron:

1. Control, sin adición de grasa,
2. 4% de grasa añadida a partir de NEBB,
3. 4% de grasa añadida a partir de aceite de semilla de soja - Soy Pass, y
4. 6% de grasa añadida a partir de NEBB.

Todas las dietas contenían 50% de forraje (en base seca) y fueron administradas dos veces al día como raciones totalmente mezcladas para promover la ingesta máxima de materia seca.

### *Mediciones incluidas*

1. Ingesta de materia seca
2. Rendimiento de leche y composición
  - a. De la grasa de la leche y los perfiles de ácido graso
  - b. De la proteína de la leche
  - c. De la lactosa de la leche
3. Cinéticas de digestión de la fibra detergente neutra ruminal *in situ*
4. pH ruminal y ácidos grasos volátiles (VFA)
5. Velocidad de paso del forraje
6. Digestibilidad total de NDF en el tracto
7. Grado aparente de digestión ruminal de NDF con velocidades de paso y niveles de ingesta característicos de vacas lecheras lactantes.

Los resultados se reportan en las Tablas 5-10.

Resultados: Se incrementó el nivel de ácido linoléico en dietas que contenían NEBB. La fuente de ácido linoléico es el aceite de semilla de soja contenido en la semilla. Sin embargo, cuando se añadió aceite a la dieta sin la protección de la proteína no hubo incremento en ácido linoléico; fue hidrogenado completamente por las bacterias del rumen.

No solamente la bacteria afecta al aceite y su composición de ácidos grasos, el aceite también afecta a la bacteria. La adición de aceite no protegido provoca una reducción significativa en la producción de ácido acético por las bacterias del rumen. Una reducción en ácido acético es una indicación de que se ha reducido la digestión de la fibra. La digestión de la fibra (NDF) cayó desde 60% en el control hasta 48,6% con la adición de aceite.

La Tabla 5 suministra el ingrediente y la composición de nutrientes de las dietas que son alimentadas durante la prueba del metabolismo de lácteos. Todas las dietas contenían 50% de forraje (25% de alfalfa: 75% de ensilajes de maíz, en base seca) y 5% de urea para garantizar que se reuniera el requerimiento de proteína cruda soluble (CP) para todas las dietas. Todas las dietas contenían aproximadamente 20,7% de CP y o bien 4% (dietas 2 y 3) ó 6% de grasa añadida (dieta 3) de aceite de semilla de soja o NEBB. Se utilizó Soy Pass, una harina de semilla de soja pardeada en forma no enzimática (<.1%), como fuente suplementaria de CP en todas las dietas (junto con urea) para minimizar cualquier efecto desconcertante de proteína sobre las respuestas medidas.

## ES 2 296 296 T3

La Tabla 6 suministra las respuestas del desempeño por la dieta. No hubo efectos importantes de la dieta sobre cualquiera de las medidas del desempeño. Debido a que la medida del desempeño no fue un objetivo de esta prueba, se utilizaron períodos de tres semanas. El potencial para transmitir los efectos de un período a otro para la producción de leche es grande, y por lo tanto no se pueden sacar conclusiones de la Tabla 6 diferentes a aquellas de que la dieta no causó una severa reducción para la ingesta o producción de leche.

La Tabla 7 muestra los perfiles de ácido graso de la leche en la medida en que son influenciados por una fuente de grasa añadida. Las respuestas clave se presentaron para C16:0 y C18:0-18:3. La adición de grasa ya sea de aceite de semilla de soja o de NEBB redujo la concentración de C16:0 en la grasa de la leche. Además, la adición de aceite de semilla de soja redujo las dietas de C18:2 con relación a las NEBB, mientras que C18:1 y C18:0 se incrementaron. Estos resultados indican que el aceite de las NEBB estaba protegido ruminalmente versus el aceite de semilla de soja. En realidad, el nivel de C18:2 fue esencialmente doblado por las dietas con NEBB comparado con la dieta de Control.

La Tabla 8 ilustra el efecto de la dieta sobre las cinéticas *in situ* de la digestión de NDF para alfalfa y cascarillas de soja. La respuesta fue similar para ambas fuentes de fibra. La velocidad de digestión más alta de NDF fue para la dieta de Control, como se esperaba.

TABLA 5

*Dietas Experimentales para el Ensayo de Metabolismo de Lácteos*

Dieta 1				
Producto				
Ingrediente	1	2	3	4
Ensilaje de alfalfa	12,3	12,3	12,3	12,3
Ensilaje de maíz	37,8	37,8	37,8	37,8
Maíz, molido	23,2	14,7	17,3	10,2
Soy Pass	23,3	11,7	24,4	6,0
Urea	0,5	0,5	0,5	0,5
Semilla de soja tratada	---	20,2	---	30,4
Aceite de semilla de soja	---	---	4,0	---
Premezcla de Min/Vit	2,9	2,8	3,7	2,8
Composición				
DM, %	52,4	52,5	52,2	52,5
CP, % de DM	20,8	20,7	20,8	20,7
UIP, 5 de CP	50,8	48,5	51,1	51,9
Lípido de semilla de soja,				
% de DM	---	4,0	4,0	6,0
NE <sub>i</sub> , harina/Kg	1,70	1,85	1,85	1,94
<sup>1</sup> Dieta <sub>1</sub> = Control, Dieta 2 = 4% de grasa de semilla de soja tratada, Dieta 3 = 4% de grasa de aceite de semilla de soja, y Dieta 4 = 6% de grasa de semilla de soja tratada				

## ES 2 296 296 T3

TABLA 6

*Respuestas de Desempeño Durante el Ensayo de Metabolismo de Lácteos*

Ítem	Dieta 1				SE
	1	2	3	4	
DMI, kg/d	24,75	23,68	26,63	25,93	2,45
DMI, % de BW	4,32	4,15	4,70	4,52	0,38
Rendimiento de leche, kg/d	31,50	32,80	35,90	32,50	1,90
Grasa de la leche, %	4,12	4,15	3,35	3,28	0,51
Grasa en la leche, kg/d	1,49	1,32	1,18	1,04	0,13
Proteína de la leche, %	3,12	3,01	3,16	3,13	0,38
Proteína de la leche, kg/d	1,12	1,05	1,14	0,95	0,06
Lactosa de la leche, %	4,80	4,78	4,86	5,06	0,47
Lactosa de la leche, kg/d	1,72	1,39	1,73	1,54	0,11
4% de FCM, kg/d	32,10	33,50	32,40	29,00	0,80
Eficiencia, PCM/DMI, kg/kg	1,30	1,30	1,20	1,20	<0,10

<sup>1</sup>Dieta<sub>1</sub> = Control, Dieta 2 = 4% de grasa de semilla de soja tratada, Dieta 3 = 4% de grasa de aceite de semilla de soja, y Dieta 4 = 6% de grasa de semilla de soja tratada.

<sup>a,b,c</sup> Promedio dentro de una fila con respecto a superíndices diferentes (P<0,10)

TABLA 7

*Perfiles de Ácido Graso de la Leche en la medida en que son Influenciados por una Fuente de Grasa Añadida*

Ácido Graso	Dieta 1				SE
	1	2	3	4	
	-----(% en peso)-----				
≤8:0	2,59 <sup>b</sup>	2,11 <sup>b</sup>	5,18 <sup>b</sup>	2,16 <sup>b</sup>	0,31
10:0	3,71	3,40	2,89	3,57	0,33
12:0	4,63	3,71	2,78	4,08	0,39
14:0	13,17	12,25	9,67 <sup>b</sup>	11,59	0,98
14:1	1,25 <sup>a</sup>	1,49 <sup>a</sup>	1,16 <sup>a</sup>	1,01 <sup>b</sup>	0,13
16:0	40,12 <sup>a</sup>	28,74 <sup>b</sup>	26,08 <sup>b</sup>	29,98 <sup>b</sup>	2,92
16:1	3,57 <sup>a</sup>	3,08 <sup>a</sup>	2,48 <sup>b</sup>	2,13 <sup>b</sup>	0,20
18:0	9,47 <sup>c</sup>	16,97	20,31 <sup>a</sup>	14,69 <sup>b</sup>	1,08
18:1	16,76 <sup>c</sup>	19,57 <sup>b</sup>	24,73 <sup>a</sup>	20,45 <sup>b</sup>	1,16
18:2	3,83 <sup>b</sup>	7,29 <sup>a</sup>	3,32 <sup>b</sup>	8,31 <sup>a</sup>	0,80
18:3	0,35 <sup>b</sup>	0,84 <sup>a</sup>	1,06 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>	0,07
20:0	0,55	0,53	0,49	1,00	0,14

<sup>1</sup>Dieta<sub>1</sub> = Control, Dieta 2 = 4% de grasa de semilla de soja tratada, Dieta 3 = 4% de grasa de aceite de semilla de soja, y Dieta 4 = 6% de grasa de semilla de soja tratada.

<sup>a,b,c</sup> Promedio dentro de una fila con respecto a superíndices diferentes (P<0,10)

## ES 2 296 296 T3

TABLA 8

*Cinéticas de Digestión de Fibra y de Transito desde el Rumén*

		Dieta 1				
Ítem		1	2	3	4	SE
<b>Alfalfa</b>						
Lag, h		4,07 <sup>a</sup>	-1,08 <sup>b</sup>	-4,96 <sup>c</sup>	1,76 <sup>a</sup>	1,24
K <sub>d</sub> , h <sup>-1</sup>		0,115 <sup>a</sup>	0,063 <sup>ab</sup>	0,050 <sup>b</sup>	0,070 <sup>a</sup>	0,019
Extensión, %		49,87	44,94	47,67	47,24	2,42
K <sub>p</sub> , h <sup>-1</sup>		0,041	0,039	0,045	0,041	0,004
<b>Cascarillas de Soja</b>						
Lag, h		7,76 <sup>a</sup>	7,79 <sup>a</sup>	4,45 <sup>b</sup>	7,17 <sup>a</sup>	0,879
K <sub>d</sub> , h <sup>-1</sup>		0,104 <sup>a</sup>	0,083 <sup>ab</sup>	0,062 <sup>b</sup>	0,096 <sup>a</sup>	0,012
Extensión, %		94,25 <sup>a</sup>	93,52 <sup>ab</sup>	93,05 <sup>ab</sup>	92,60 <sup>b</sup>	0,56

<sup>1</sup>Dieta<sub>1</sub> = Control, Dieta 2 = 4% de grasa de semilla de soja tratada, Dieta 3 = 4% de grasa de aceite de semilla de soja, y Dieta 4 = 6% de grasa de semilla de soja tratada.

<sup>a,b,c</sup> Promedio dentro de una fila con respecto a superíndices diferentes (P<0,10)

TABLA 9

*Grado Aparente de Digestión de la Fibra de Alfalfa por la Dieta*

		Dieta 1			
Ítem		1	2	3	4
Lag, h		4,57	-1,08	-4,90	1,70
K <sub>d</sub> , h <sup>-1</sup>		0,115	0,063	0,050	0,070
PED, %		49,8	44,9	47,6	47,2
K <sub>p</sub> , h <sup>-1</sup>		0,041	0,039	0,045	0,041
e <sup>-R<sub>p</sub>L</sup>		0,846	1,00	1,00	0,933
K <sub>d</sub> /(K <sub>d</sub> + K <sub>p</sub> )		0,737	0,618	0,526	0,631
e <sup>K<sub>p</sub>L</sup> x K <sub>d</sub> /(K <sub>d</sub> + K <sub>p</sub> )		0,624	0,618	0,526	0,589
AED <sup>1</sup> , %		31,1	27,7	25,0	27,8

<sup>1</sup>AED = PED x e<sup>-K<sub>p</sub>L</sup> x K<sub>d</sub>/(K<sub>d</sub> + K<sub>p</sub>)

## ES 2 296 296 T3

TABLA 10

*pH ruminal y Ácidos Grasos Volátiles, y Digestibilidad de la NDF por la Dieta*

Dieta 1					
Ítem	1	2	3	4	SE
pH	6,32 <sup>a</sup>	6,07 <sup>b</sup>	6,25 <sup>a</sup>	6,04 <sup>b</sup>	0,05
<b>VFA, mM/L</b>					
Acetato	68,8	73,9	63,2	76,6	7,2
Propionato	21,7	22,1	24,0	23,1	1,1
Isobutirato	0,9 <sup>a</sup>	0,9 <sup>a</sup>	1,0 <sup>a</sup>	0,8 <sup>b</sup>	<0,1
Butirato	13,3	14,3	13,7	13,7	0,7
Isovalerato	1,4 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1,3 <sup>b</sup>	0,1
Valerato	1,6 <sup>b</sup>	1,7 <sup>ab</sup>	1,8 <sup>a</sup>	1,5 <sup>b</sup>	<0,1
<b>VFA, mol/100 mol</b>					
Acetato	63,5 <sup>ab</sup>	63,9 <sup>a</sup>	60,5 <sup>b</sup>	64,7 <sup>a</sup>	<0,1
Propionato	20,4 <sup>ab</sup>	19,7 <sup>b</sup>	22,5 <sup>a</sup>	19,8 <sup>b</sup>	<0,1
Isobutirato	0,9	0,9	1,0	0,8	<0,1
Butirato	12,1	12,7	12,9	12,1	<0,1
Isovalerato	1,3	1,3	1,4	1,2	<0,1
Valerato	1,5 <sup>ab</sup>	1,5 <sup>ab</sup>	1,7 <sup>a</sup>	1,3 <sup>b</sup>	<0,1
Acetato:Propionato	3,14 <sup>a</sup>	3,27 <sup>a</sup>	2,76 <sup>b</sup>	3,36 <sup>a</sup>	0,16
Digestibilidad de la NDF, %	60,0	65,0	48,6	56,3	9,2
<sup>a,b</sup> Promedio dentro de una fila con respecto a superíndices diferentes (P<0,10)					

La velocidad de digestión más baja de la NDF fue observada para la dieta con 4% de aceite de semilla de soja. Las velocidades para las dietas que contienen 4% y 6% de grasa en las NEBB fueron intermedias. Esta respuesta indica que el aceite en las NEBB estaba ruminalmente protegido y soporta los datos del ácido graso de la leche.

La Tabla 9 incorpora la velocidad de paso en un modelo de digestión de fibra que predice el grado aparente de digestión ruminal de la NDF. Como se puede observar, la extensión total de la digestión de la NDF en el rumen es menor para la dieta de aceite de semilla de soja, mayor para la dieta de Control, e intermedia para las dietas de las NEBB. Nuevamente, esta es evidencia de la protección ruminal del aceite en las NEBB.

La Tabla 10 suministra el pH y los ácidos grasos volátiles según son afectados por la dieta. Todos los niveles de pH estuvieron por encima de 6,0, cuando se promedió durante 24 horas. Sin embargo, la proporción de acetato:propionato se redujo por la dieta de aceite de semilla de soja versus las dietas de NEBB. Este resultado es nuevamente una fuerte evidencia para la protección ruminal de la grasa en las NEBB comparado con el aceite de semilla de soja. Además, no hubo un efecto significativo de la dieta sobre la digestibilidad total de la NDF en el tracto, aunque el valor para la dieta de aceite de semilla de soja fue numéricamente menor que las otras tres dietas.

A partir de la descripción anterior se puede entender que el alimento de esta invención y su método de elaboración y de utilización tiene varias ventajas, tales como por ejemplo: (1) tanto el aceite como la proteína son utilizados mejor; (2) es económico en su producción; y (3) puede ser utilizado para mejorar la calidad de la leche.

### 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.

## ES 2 296 296 T3

### Documentos de patente citados en la descripción

- US 5120585 A [0004]
- CA 1206368 [0007]
- US 4957748 A [0008] [0036]
- US 5023091 A [0008] [0036]
- US 5064665 A [0008] [0036]
- US 5143737 A [0010]

### Literatura citada en la descripción que no es de patente

- D.J. MURPHY. *Prog. Lipid Res*, 1990, vol. 29 (4), 299-324 [0011]

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un alimento para rumiantes que comprende una mezcla de material orgánico que incluye cuerpos lipídicos de semillas oleaginosas; teniendo dichos cuerpos lipídicos de semillas oleaginosas un rango de tamaños entre 0,1 y 10 micrómetros y estando al menos parcialmente encerrados en una membrana delgada que incluye un producto de reacción de un azúcar reductor y un material proteínico, en donde dichos cuerpos lipídicos de semillas oleaginosas incluyen lípidos de semillas oleaginosas en su forma natural *in situ*.
- 10 2. Un alimento de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado** porque el lípido está en forma monoinsaturada o poliinsaturada.
- 15 3. Un alimento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 **caracterizado** porque el producto de reacción es principalmente al menos uno de los productos tempranos e intermedios de la reacción de Maillard.
- 15 4. Un alimento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 **caracterizado** porque el producto de reacción es un producto de reacción de una oleosina con un carbohidrato reductor.
- 20 5. Un alimento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 **caracterizado** porque el producto de reacción cae dentro de un rango de 1% a 35% en peso del lípido.
- 20 6. Un método de elaboración de un alimento para rumiantes que comprende las etapas de:
- 25 - proveer una semilla oleaginosa, dicha semilla oleaginosa conteniendo proteína y aceite vegetal digerible por un animal rumiante;
  - romper la semilla oleaginosa para exponer su interior;
  - aplicar un carbohidrato reductor a dicha semilla oleaginosa rota para formar una mezcla;
  - 30 - procesar el carbohidrato reductor y la mezcla de las semillas oleaginosas rotas para provocar la penetración del carbohidrato reductor en el interior de dicha semilla oleaginosa rota para envolver al menos un número sustancial de cuerpos lipídicos intactos de la semilla oleaginosa seleccionada mientras los cuerpos lipídicos intactos están en la cáscara de la semilla oleaginosa, y
  - 35 - calentar el carbohidrato reductor y la semilla oleaginosa rota a una temperatura y durante un tiempo suficiente para provocar el pardeamiento no enzimático de la proteína de la semilla oleaginosa a fin de que un número sustancial de cuerpos lipídicos sea encapsulado en una membrana inerte del rumen.
- 40 7. Un método de acuerdo a la reivindicación 6 **caracterizado** porque la membrana inerte del rumen es una oleosina y es inducida a convertirse en un producto de reacción de un azúcar reductor y un material proteínico, y los cuerpos encapsulados tienen diámetros en el rango de 0,1 y 10 micrómetros.
- 45 8. Un método de acuerdo a la reivindicación 6 ó 7 **caracterizado** porque la etapa de provocar la aplicación de un carbohidrato reductor y calor comprende la etapa de provocar una reacción de Maillard.
- 50 9. Un método de acuerdo a la reivindicación 8 **caracterizado** porque la reacción de Maillard es una reacción temprana de Maillard entre un azúcar reductor y una membrana proteínica para encapsular al menos algunos cuerpos lipídicos en donde una reacción reversible encapsula a los cuerpos lipídicos.
- 50 10. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9 **caracterizado** porque la degradabilidad del lípido en la semilla oleaginosa por parte de los microorganismos del rumen se reduce y existe una significativa digestibilidad del cuerpo lipídico en el tracto posterior del rumen.
- 55 11. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10 **caracterizado** porque la etapa de provocar la aplicación de un carbohidrato reductor y calor incluye la etapa de provocar una reacción mol a mol entre grupos amino libres sobre la superficie de cuerpos lipídicos y el carbohidrato reductor.
- 60 12. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11 **caracterizado** porque el calor y el carbohidrato son tales que provocan que suficientes grupos amino alfa y épsilon que rodean a los cuerpos lipídicos en la semilla oleaginosa reaccionen con grupos carbonilo en el carbohidrato reductor para formar un producto de reacción que reduzca la degradación del lípido en el rumen.
- 65 13. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12 **caracterizado** por las etapas de seleccionar un uso final para la leche del rumiante productor de leche; determinar la proporción deseada de grasa vegetal para la grasa saturada en la leche; seleccionar un tipo de semilla oleaginosa con el aceite vegetal deseado y tratar la semilla oleaginosa para proveer protección por baipás en el rumen y alimentación de semilla oleaginosa protegida por baipás del tipo seleccionado en una proporción con otro alimento que provea la proporción deseada de grasa saturada

## ES 2 296 296 T3

con respecto a la grasa insaturada en la leche de un rumiante productor de leche, en donde la leche producida es sustancialmente de la composición deseada.

5 14. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 13 **caracterizado** porque dicha semilla oleaginosa se selecciona entre semilla de soja, semilla de canola, semilla de algodón, semilla de girasol, semilla de linaza, semilla de colza, semilla de cártamo y semilla de sésamo.

10 15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 14 **caracterizado** porque la etapa de rompimiento de la semilla oleaginosa comprende romper mecánicamente la semilla oleaginosa.

16. El método de la reivindicación 15 **caracterizado** porque la etapa de rompimiento mecánico comprende pasar la semilla oleaginosa a través de un molino de rodillos.

15 17. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 16 **caracterizado** porque dicho carbohidrato reductor se selecciona entre xilosa, glucosa, fructuosa, lactosa, manosa, ribosa, extractos de hemicelulosa y sus hidrolizados, azúcares contenidos en licor agotado de sulfito, melaza y sus hidrolizados, productos de maíz y sus hidrolizados, y mezclas de los mismos.

20 18. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 17 **caracterizado** porque el porcentaje de carbohidrato reductor en la semilla oleaginosa está en un porcentaje entre 0,1 por ciento y 40 por ciento en peso.

19. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 18 **caracterizado** porque la etapa de aplicar calor ocurre a un pH entre 2 y 10,5.

25 20. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 19 **caracterizado** porque la etapa de aplicar calor ocurre con un porcentaje de humedad entre 6 por ciento y 40 por ciento.

30 21. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 7 a 20 **caracterizado** porque la etapa de aplicar calor ocurre a una temperatura entre 20°C y 150°C.

22. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 21 **caracterizado** porque la etapa de aplicar calor es durante un tiempo entre 20 minutos y 72 horas.

35 23. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 22 **caracterizado** porque el carbohidrato reductor está en solución cuando se aplica a dicha semilla oleaginosa rota.

40 24. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 23 **caracterizado** porque la etapa de aplicar el carbohidrato reductor a dicha semilla oleaginosa rota comprende esparcir dicha solución sobre dicha semilla oleaginosa rota.

25. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 24 **caracterizado** porque la etapa de calentar la mezcla se logra con vapor.

45 26. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 6 a 25 **caracterizado** porque la etapa de procesamiento del carbohidrato reductor y la mezcla de la semilla oleaginosa rota comprende la impregnación de la mezcla.

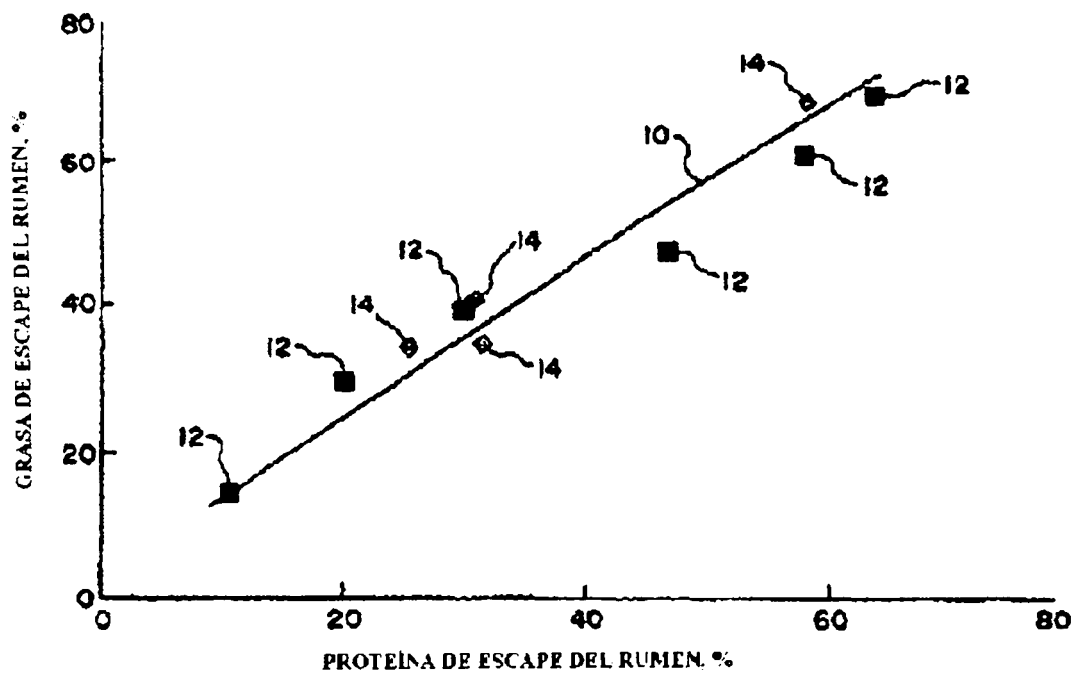
50

55

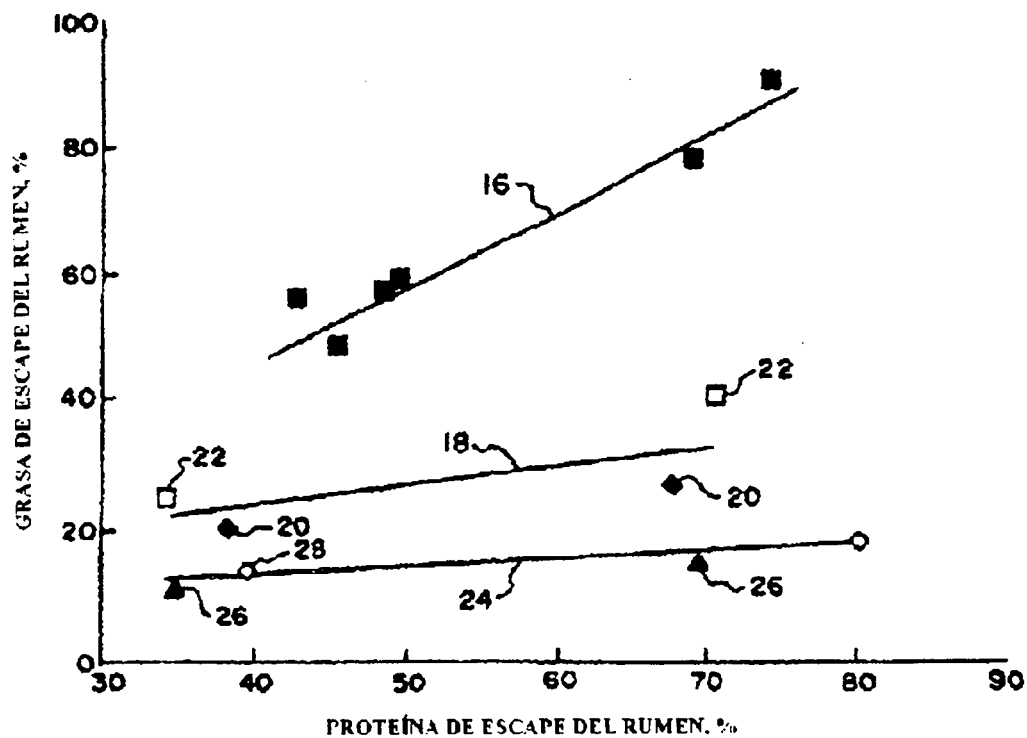
60

65

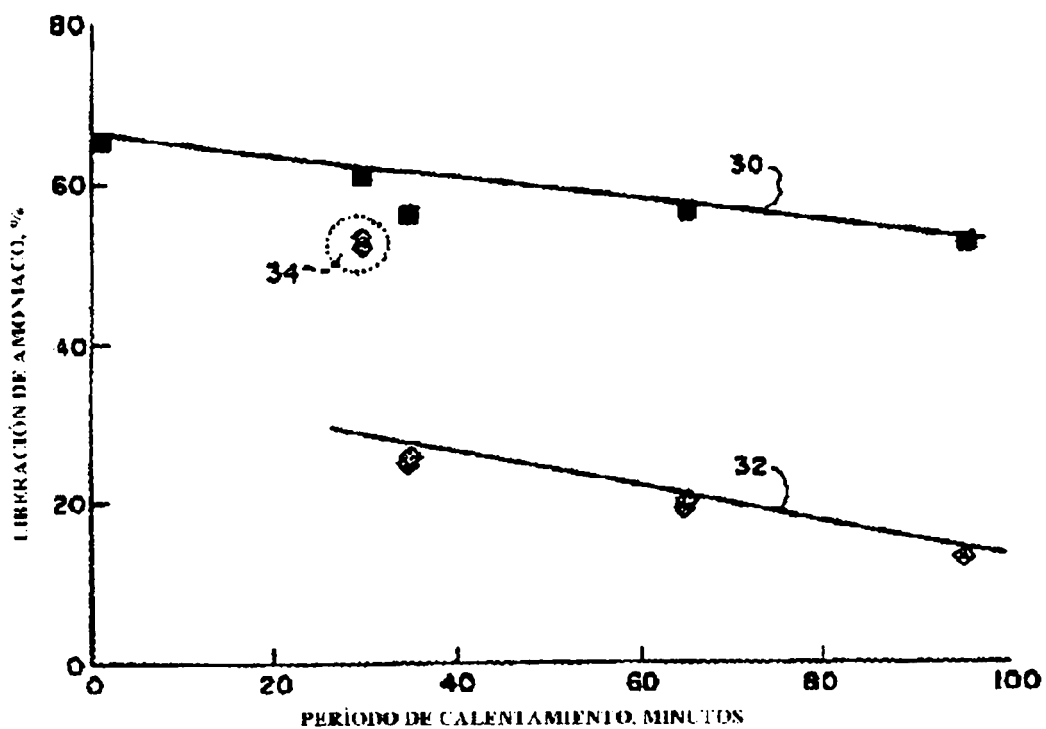
**FIG. 1**



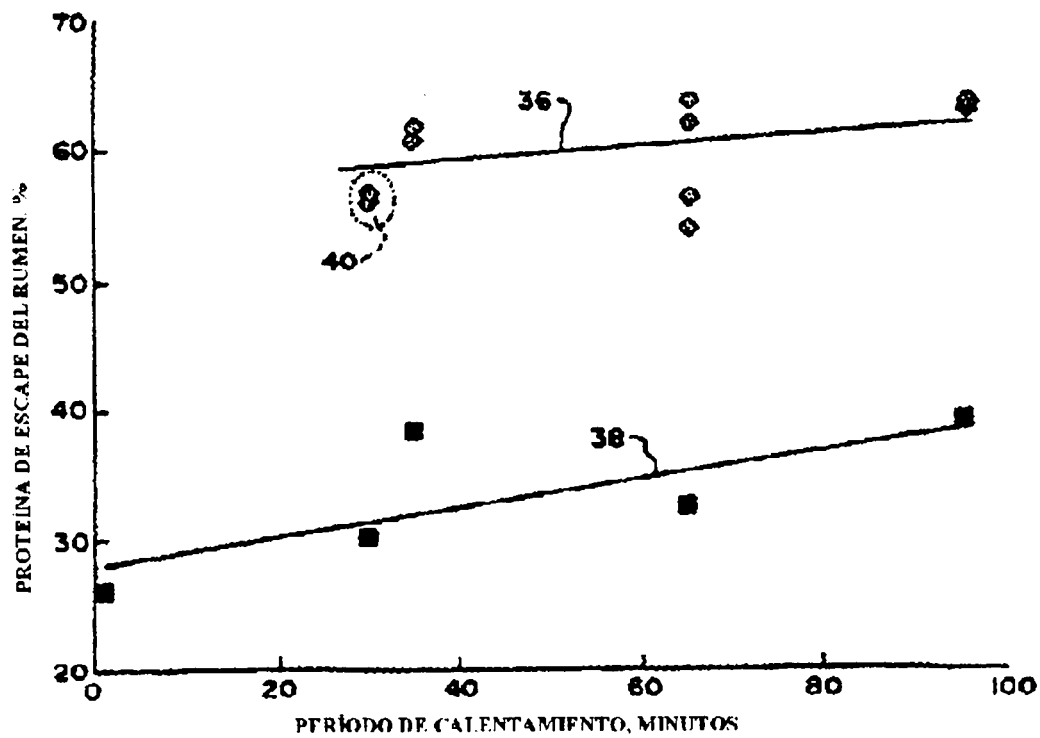
**FIG. 2**



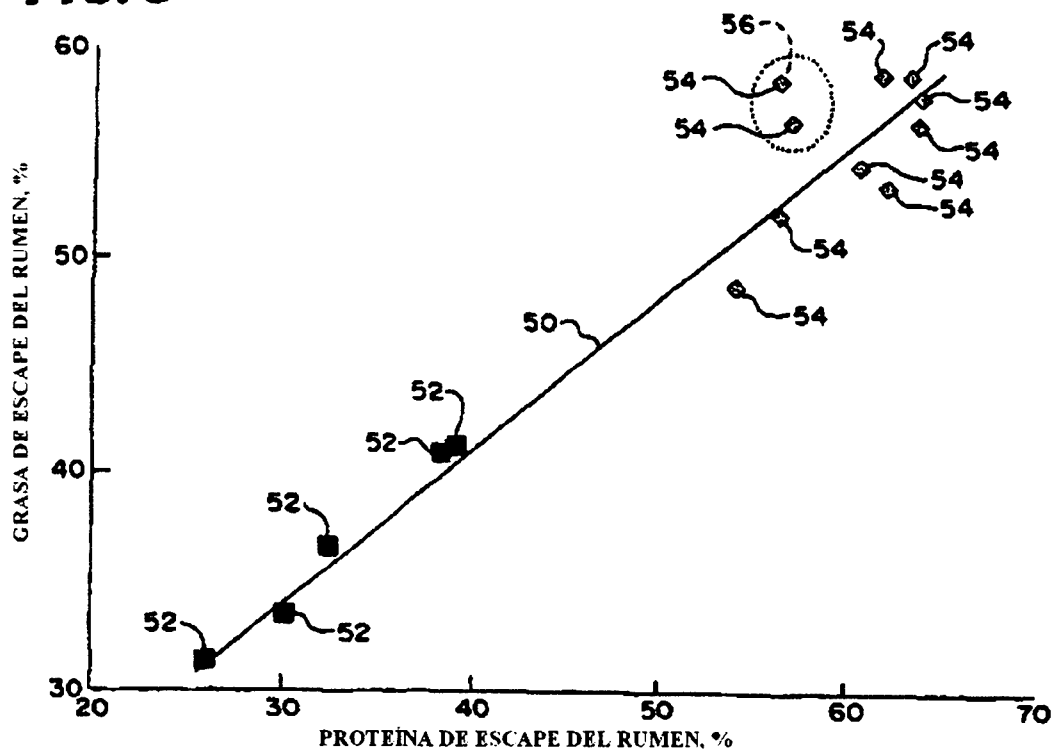
**FIG. 3**



**FIG. 4**



**FIG. 5**



**FIG. 6**

