

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
09 de enero de 2020 (09.01.2020)

WIPO | PCT

(10) Número de publicación internacional
WO 2020/008081 A1

(51) Clasificación internacional de patentes:
A23K 20/189 (2016.01) A23K 20/26 (2016.01)

SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2018/070475

Publicada:
— con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))

(22) Fecha de presentación internacional:
03 de julio de 2018 (03.07.2018)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(71) Solicitante: **FERTINAGRO BIOTECH, S.L.** [ES/ES];
Polígono Industrial La Paz parcelas 185, 44195 TERUEL (ES).

(72) Inventores: **ATARES REAL, Sergio**; Polígono Industrial La Paz parcelas 185-188, 44195 TERUEL (ES). **ROMERO LOPEZ, Joaquin**; Polígono Industrial La Paz parcelas 185-188, 44195 TERUEL (ES). **SALAET MADORRAN, Ignasi**; Polígono Industrial La Paz parcelas 185-188, 44195 TERUEL (ES). **FERRER GINES, María**; Polígono Industrial La Paz parcelas 185-188, 44195 TERUEL (ES). **NARANJO OLIVERO, Miguel Angel**; Polígono Industrial La Paz parcelas 185-188, 44195 TERUEL (ES). **YANCE CHAVEZ, Tula Del Carmen**; Polígono Industrial La Paz parcelas 185-188, 44195 TERUEL (ES). **ALIGUE ALEMAY, Rosa**; Polígono Industrial La Paz parcelas 185-188, 44195 TERUEL (ES).

(74) Mandatario: **GONZALEZ LÓPEZ-MENCHERO, Alvaro Luis**; Arte, 21 2º A, 28033 Madrid (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI,

(54) Title: FOOD ADDITIVE FOR FODDER AND USE OF SAME

(54) Título: ADITIVO ALIMENTARIO PARA PIENSOS Y UTILIZACIÓN DEL MISMO

(57) Abstract: The invention provides an additive for fodder for animal nutrition, for example feedlot cattle or poultry, which includes a phytase enzyme and a calcium phosphate source in a single additive.

(57) Resumen: La invención proporciona un aditivo de piensos destinados a la nutrición animal, por ejemplo ganado estabulado o aves de corral, que incluye una enzima fitasa y una fuente de fosfato cálcico en un único aditivo.

WO 2020/008081 A1

ADITIVO ALIMENTARIO PARA PIENSOS Y UTILIZACIÓN DEL MISMO

La presente invención se refiere a un aditivo alimentario para piensos destinados a la nutrición animal, así como a la utilización del mismo.

- 5 Más concretamente, la invención proporciona un aditivo de piensos destinados a la nutrición animal, por ejemplo ganado estabulado o aves de corral, que incluye en una enzima fitasa y una fuente de fosfato cálcico en un único aditivo.

Los alimentos para animales y aves de corral, generalmente conocidos como piensos compuestos, son piensos que se mezclan a partir de diversas materias primas y aditivos. Los piensos compuestos se pueden preparar como alimentos
10 completos, que proporcionan todos los nutrientes requeridos diariamente, como concentrados que proporcionan una parte de la ración (proteína, energía) o como suplementos, que proporcionan micronutrientes adicionales, por ejemplo minerales y vitaminas.

- 15 Un ingrediente principal utilizado en los preparados comerciales son granos de cereales o leguminosas, por ejemplo maíz, soja, sorgo, avena, cebada y mezclas de los mismos.

Dentro de la industria de los alimentos para animales, también es de relevancia la venta y fabricación de premezclas. Las premezclas pueden estar compuestas por
20 microingredientes que se mezclan en raciones comerciales o que se producen individualmente para obtener alimentos para animales. Los microingredientes pueden incluir nutrientes, vitaminas, minerales, conservantes químicos, antibióticos, productos de fermentación, enzimas y otros ingredientes esenciales.

Así, las mezclas de piensos normalmente se formulan de acuerdo con los
25 requisitos específicos del animal de destino. Los fabricantes de alimentos preparan las mezclas comprando los productos, es decir, los ingredientes principales, por ejemplo cereales como maíz, soja, sorgo, avena y cebada, y los microingredientes deseados y mezclándolos o combinándolos en un molino de

piensos según las especificaciones proporcionadas por un nutricionista. Estas mezclas pueden obtenerse en forma de harinas, pellets o pastas.

Habitualmente, a los piensos se les añade una fuente de fósforo y calcio, tal como fosfato monocálcico con una riqueza en fósforo superior al 22% o fosfato dicálcico
5 con una riqueza en fósforo del 18%.

Aunque los microingredientes proporcionan una fuente altamente biodisponible de fósforo inorgánico, el fósforo orgánico también está presente en la alimentación animal en el tejido vegetal que constituye el ingrediente principal. Sin embargo, este fósforo orgánico está presente como ácido fítico, inositol hexafosfato (fitato),
10 que no puede ser digerido por animales no rumiantes.

Entre los macronutrientes minerales presentes en los piensos, uno de los más importantes es el fósforo. Aunque éste suele encontrarse presente en altas cantidades en las dietas, no es asimilado correctamente en la mayoría de los casos. De la cantidad total consumida de este mineral, solamente 33% es
15 retenido, mientras que 67% restante es desechado en las heces (Helander et al., Effects of supplementary *Aspergillus niger* phytase on the availability of plant phosphorus, other minerals and nutrients in growing pigs fed on high-pea diets, Journal Animal Physiology and Nutrition, 76: 66-79, 1996).

La problemática en la asimilación del fósforo y otras sustancias esenciales, se
20 debe a la presencia de factores antinutricionales en los alimentos, que actúan uniéndose a los nutrientes, ocasionando una disminución en la disponibilidad de éstos (Adeola et al., Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc supplemented diets for pigs, Journal Animal Science, 73: 3384-339, 1995; Huyghebaert, G., The response of broiler chicks to phase feeding for P, Ca and
25 phytase, Archiv fur Gefluegelkunde, 60: 132-14, 1996).

Entre los factores antinutricionales relacionados con el metabolismo del fósforo está el ácido fítico, abundante en cereales y leguminosas, cuya presencia puede variar desde el 2% en cereales como la soja, hasta el 4% en maíz y trigo (Frontela

et al., Empleo de fitasas como ingrediente funcional en alimentos, Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 58(3): 215-220, 2008).

El ácido fítico es un ácido carboxílico con un pKa inferior a 3,5, el cual posee en su estructura seis protones fuertemente acoplados con un pKa de entre 4,6 a 10, lo que confiere a la estructura un fuerte potencial de quelación sobre minerales esenciales como el calcio, así como la capacidad de unirse a proteínas, aminoácidos y azúcares e inhibir algunas enzimas digestivas, como tripsina y quimotripsina, alfa-amilasas, tirosinasas y pepsinas. Al establecerse las uniones iónicas entre el ácido fítico y los nutrientes, se forman quelatos insolubles llamados fitatos, los cuales son un grupo amplio de compuestos altamente complejos que no pueden ser asimilados por organismos no rumiantes (Romero et al., Efecto de una fitasa en la digestibilidad y actividad de la tripsina y quimotripsina en cerdos destetados, Archivos de Zootecnia, 58(223): 363-369, 2008). Por consiguiente, todo lo que esté unido a este compuesto no será aprovechado en su totalidad. Por otra parte, dado que entonces el fósforo orgánico no está disponible para el animal, se excreta al ambiente circundante, lo cual constituye un peligro potencial para el entorno inmediato en caso de aportarse al medio ambiente en grandes cantidades.

Para evitar este problema, se conoce la técnica de añadir una enzima fitasa al pienso como ingrediente separado.

Las fitasas forman parte de un subgrupo de enzimas de la familia de las fosfatasas ácidas, las cuales son del tipo hidrolasas. Éstas actúan rompiendo los enlaces fosfomonoéster degradando los fitatos a mioinositol hexafosfato y fósforo inorgánico, los cuales tienen menor o nulo efecto quelante (Kim et al., 2006). De esta forma, el fósforo orgánico se convierte en una fuente adicional de fósforo. La actividad Fitasa se mide por unidades FTU, siendo una unidad FTU la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de ortofosfato inorgánico por minuto en una solución que contiene 0,0051 mol/l de fitato de sodio a pH 5,5 y a una temperatura de 37°C.

Por ejemplo en la EP1465655 se describe una fitasa termo-resistente y su uso en un producto alimenticio para el ganado.

Igualmente, los fosfatos son fuentes importantes de Ca, cuya riqueza es inversa al contenido en P, la suplementación de minerales, en particular de calcio, se realiza
5 en forma de harinas de huesos, actualmente muy cuestionadas, fosfatos tricálcicos, bicálcicos y monocálcicos.

Sin embargo, el inconveniente surge a la hora de mezclar algunas fitasas con las diferentes fuentes de fosfatos cálcicos, en particular fosfato monocálcico, fosfato bicálcico o una mezcla de ambos.

10 Así, se ha descrito que el Ca^{2+} tiene un efecto inhibitor de la actividad fitasa a concentraciones superiores a 1,5 mM (R. P. Igamnazarov et al., Effect of metal ions on the activity of extracellular phytase of Bacterium sp, Chem Nat Compd (1999) 35: 661, <https://doi.org/10.1007/BF02236298>). Igualmente, Alberto A. Neira-Vielma et al., en Biotechnology Reports (2018), volumen 17, páginas 49 –
15 54, indican que, en un estudio de la posible aplicación industrial de una fitasa, la actividad fitasa se veía inhibida en un 50% por la presencia del ion calcio a concentraciones de 10 y 20 mM.

Lei, X.G. et al. (Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn-soybean meal diets of weanling pigs, J. Anim. Sci., 72, 139-143,
20 1994) también indican que la respuesta a un nivel dado de fitasa exógena puede verse afectada por la cantidad de calcio y/o la relación Ca/P, el nivel de P y el nivel de fitato de la dieta. Así, una alta relación molar Ca/fitato presente en la dieta puede dar lugar a la formación de complejos Ca-fitatos muy insolubles en el medio intestinal. Se cree también que un exceso de Ca puede reducir la actividad
25 enzimática al competir con las fitasas por su lugar preferente de acción (Kornegay, E.T. y Qian, H. (1996) Replacement of inorganic phosphorus by microbial phytase for young pigs fed on a maize-soybean-meal diet. Br. J. Nutr., 76, 563-578, 1999). En estudios con cerdos, se obtiene una mayor respuesta a las fitasas -mejor utilización del P- cuando la relación Ca total/P total se mantiene
30 entre 1:1 y 1,1:1; niveles más altos de Ca reducen la absorción de P y la

utilización de los fitatos (Jongbloed et al., (1996) en Coelho. M. B. and Kornegay, E. T. (ed), Phytase in Animal Nutrition and Waste Management: 393-400. BASF Corp., NJ). También se ha señalado que un aumento en el nivel de vitamina D de la dieta (6600 UI/kg) disminuye parcialmente el efecto negativo que un nivel normal de Ca ejerce sobre la actividad fitásica, pero no produce mejora cuando el nivel de Ca es bajo (Lei et al., supra). Sin embargo, no observa ningún aumento en la utilización del P mediante la adición de 2.000 UI de vitamina de D/kg a una dieta con o sin fitasas (Li et al. (1998), Effect of microbial phytase, vitamin D3, and citric acid on growth performance and phosphorus, nitrogen and calcium digestibility in growing swine. Anim. Feed Sci. Technol., 73, 173-186).

También se ha descrito en la literatura la sensibilidad de las fitasas a la presencia de fósforo soluble en forma de fosfato (Tao Wang et al. (2015), International Conference on Chemical, Material and Food Engineering (CMFE-2015). Enzymatic Properties of Phytase from Escherichia coli DH5 α 4,5; Kim, Dong-Hyun et al. (1999), Biotechnology Letters, 925-927, Enzymatic evaluation of Bacillus amyloliquefaciens phytase as a feed additive).

Por ello, habitualmente, en los piensos se incorporan fuentes de calcio en forma de fosfatos cálcicos y fitasas como aditivos independientes, dado que, como se ha mencionado anteriormente, la mezcla directa de estos dos aditivos no es viable por la inhibición que los fosfatos provocan sobre la actividad fitasa.

Por ejemplo en la EP2368440B1 se describe un aditivo para piensos que puede incluir una fitasa y macrominerales como calcio o fósforo que se adicionan al pienso por separado.

La presente invención soluciona las desventajas de los aditivos conocidos actualmente en el estado de la técnica, proporcionando un aditivo que incluye tanto una fuente de fósforo como una fitasa, en particular un aditivo que incluye fosfatos monocálcicos y bicálcicos que contienen una enzima fitasa, sin que la fitasa pierda su actividad.

Para ello, en general, la invención se basa en la inclusión de la enzima fitasa en una matriz de fibra orgánica a la que se incorpora un agente quelante natural de calcio.

5 Como se ha mencionado, la invención proporciona un aditivo alimentario para piensos que incluye en una enzima fitasa y una fuente de fosfato cálcico en un único aditivo.

Así, en una forma de realización, el aditivo de la invención comprende:

- Una mezcla líquida de un polialcohol junto con
 - 10 i) una fitasa en una cantidad adecuada para proporcionar una actividad final de fitasa de entre 10.000 y 100.000 FTU/ml, siendo FTU la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de ortofosfato inorgánico por minuto en una solución que contiene 0,0051 mol/l de fitato de sodio a pH 5,5 y una temperatura de 37°C;
 - 15 ii) fibra vegetal molida con un diámetro máximo de partícula de 250 μm ,
 - iii) ácido cítrico en una concentración entre un 1 - 5% en peso con respecto al peso total de la mezcla líquida como agente quelante, estabilizándose el pH a pH 5 y
- Una fuente de fósforo como fosfato monocálcico, fosfato monobicálcico o una combinación de ambos en forma de barros desfluorinados o granulados.

20

Preferentemente el polialcohol incluido como fase líquida en el aditivo de la invención se selecciona de entre glicoles tales como etilenglicol, propilenglicol, butilenglicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, polibutilenglicol o combinaciones de los mismos.

25

Preferentemente, la cantidad de polialcohol presente en el aditivo se selecciona de entre el 2 y el 80% en peso con respecto al peso total de la mezcla líquida, adaptándose la cantidad de polialcohol a la cantidad de fibra vegetal molida.

Preferentemente, la cantidad de fibra vegetal molida presente en el aditivo de la invención oscila entre el 3-5% en peso con respecto al peso total de la mezcla líquida.

5 En otra forma de realización, el aditivo de la invención comprende:

– Una mezcla sólida de

10 i) una fitasa en una cantidad adecuada para proporcionar una actividad final de fitasa de entre 10.000 y 100.000 FTU/g, siendo FTU la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de ortofosfato inorgánico por minuto en una solución que contiene 0,0051 mol/l de fitato de sodio a pH 5,5 y una temperatura de 37°C;

ii) fibra vegetal molida con un diámetro máximo de partícula de 250 μm ,

iii) ácido cítrico en una concentración entre un 5% - 35% en peso con respecto al peso total de la mezcla sólida como agente quelante, y

15 – Una fuente de fósforo como fosfato monocálcico, fosfato monobicálcico o una combinación de ambos en forma de polvo desfluorinado.

20 En esta segunda realización, la cantidad de fibra vegetal molida presente en el aditivo de la invención oscila entre un 2 y un 25% con respecto al peso total de la mezcla sólida.

25 En ambas realizaciones, como fibra vegetal para el aditivo descrito se puede utilizar cualquier fibra vegetal adecuada conteniendo fitato, por ejemplo cebada, maíz, trigo, salvado de trigo, salvado de arroz o harina de soja. Preferentemente se utiliza salvado de cereal, por ejemplo salvado de trigo o de arroz.

30 Para las realizaciones descritas, la cantidad de la mezcla líquida o sólida a aplicar a la fuente de fosfato se selecciona de forma el aditivo de la invención contenga entre 100 y 5.000 FTU por gramo.

30

Aunque la fitasa empleada en la invención no está particularmente limitada, ésta debería mantener su actividad en el rango de pH del tracto gastrointestinal del

animal. Por ello, en una realización de la invención se emplea una fitasa termoestable de alta actividad específica, de al menos 1120 ± 150 U/mg, derivada de *Serratia odorifera*, por ejemplo la descrita en la solicitud de patente WO 2011/141613. La selección de esta fitasa en particular asegura que se mantenga su actividad en un rango amplio de pH de aproximadamente el 3,5 en el estómago a aproximadamente 7 en el intestino.

Es también objeto de la invención el uso del aditivo antes descrito en un pienso para animales convencional, incorporándose dicho aditivo según la invención en una proporción de entre 100 g y 10 kg por cada tonelada de pienso. El uso del aditivo de la invención permite recuperar el 95% de la actividad fitasa en el pienso final.

A este respecto, el aditivo de la invención es de fácil aplicación en la formulación de los piensos, aplicándose por ejemplo por mezcla directa con los otros con los otros componentes de la ración alimentaria directamente o como parte de una premezcla o bien para ser mezclado directamente con piensos ya formulados en forma de harina y que deben ser corregidos en cuanto a sus características nutricionales.

El aditivo de la invención también es adecuado para ser aplicado en mezclas de alimentos (por ejemplo maíz, trigo, cebada, soja, guisante, entre otros) que posteriormente serán molidas para hacer piensos en forma de harina, molidos y peletizadas para hacer piensos en forma de pellet, o molidos y humedecidos para formar papillas.

Igualmente, el aditivo de la invención es adecuado también para ser aplicado en un momento posterior a la molienda y previo a la peletización o en su caso a la generación de la papilla.

30

Ejemplos

La invención se ilustra a continuación en base a ejemplos de realización de la misma. Estos ejemplos son ilustrativos de la invención y no deben considerarse como limitativos de la misma.

5 Ejemplo 1:

Se prepara una solución A conteniendo 71.325 ± 1.227 FTU/ml aportadas por la fitasa de *Serratia odorifera* descrita en la WO 2011/141613, un 2% en peso de salvado de trigo molido y un 2,5% en peso de ácido cítrico, así como un 30% en peso de polietilenglicol.

- 10 Con fines comparativos, se prepara una solución control (B) que solo contiene dicha fitasa en una proporción similar (70.326 ± 1.319 FTU/ml).

Ambas soluciones se añaden a tres fuentes de fosfato granulado en concentraciones del 0,5, 1 y 1,5%: 1. fosfato monocálcico (con un tamaño medio de partícula de $2,5 \pm 1$ mm), 2. fosfato bicálcico (con un tamaño medio de partícula

- 15 de $2,5 \pm 1$ mm) y 3. fosfato monocálcico (con un tamaño medio de partícula de $1,0 \pm 0,2$ mm).

Finalmente se mide la actividad real de cada combinación, obteniéndose los resultados mostrados en la siguiente tabla 1:

20

Tabla 1

	Solución A (%)			Solución B (%)		
	0,5	1,0	1,50	0,5	1,0	1,50
1	337 ± 12	729 ± 18	1011 ± 39	0	8 ± 7	5 ± 7
2	328 ± 14	687 ± 17	987 ± 57	3 ± 3	21 ± 7	17 ± 16
3	331 ± 10	674 ± 25	956 ± 62	0	19 ± 7	26 ± 10

25

Como se observa de los resultados obtenidos, el aditivo de la invención incluyendo de fitasa, salvado de trigo molido, ácido cítrico y polietilenglicol, así como una fuente de fósforo, retiene la actividad fitasa en mucha mayor medida que la fitasa sola.

Ejemplo 2:

Se prepara una solución A conteniendo 42.524±2.587 FTU/ml aportadas por la fitasa de *Escherichia coli*, un 2% en peso de salvado de trigo molido y un 2,5% en peso de ácido cítrico, así como un 30% en peso de polietilenglicol.

Con fines comparativos, se prepara una solución control (B) que solo contiene dicha fitasa en una proporción similar (45.364±1725 FTU/ml).

Ambas soluciones se añaden a tres fuentes de fosfato granulado en concentraciones del 1, 1,5 y 2%: 1. fosfato monocálcico (con un tamaño medio de partícula de 2,5±1 mm), 2. fosfato bicálcico (con un tamaño medio de partícula de 2,5±1 mm) y 3. fosfato monocálcico (con un tamaño medio de partícula de 1,0±0,2 mm).

Finalmente se mide la actividad real de cada combinación, obteniéndose los resultados mostrados en la siguiente tabla 2:

Tabla 2

	Solución A (%)			Solución B (%)		
	1	1,5	2	1	1,5	2
1	397±21	658±12	801±45	84±28	110±28	185±21
2	412±16	684±35	824±23	71±29	123±37	130±58
3	376±32	625±27	792±39	32±10	89±38	197±19

15

Ejemplo 3:

Se prepara una solución A conteniendo 10.420±351 FTU/ml aportadas por una fitasa de *Serratia odorifera*, un 2% en peso de salvado de trigo molido y un 5,0% en peso de ácido cítrico.

Con fines comparativos, se prepara una solución control B que solo contiene dicha fitasa en la misma proporción. Las soluciones A y B se secan por métodos de spray-drying.

Se cuantifica la actividad de los productos secos:

25 Secado de A (SA): 53.785±2.168 FTU/gramo

 Secado de B (SB): 67.524±3.128 FTU/gramo

Ambos productos secos se añaden a dos fuentes de fosfato en polvo en concentraciones del 2, 5 y 10%: 1. fosfato monocálcico y 2. fosfato bicálcico

Finalmente se mide la actividad real de cada producto, obteniéndose los resultados mostrados en la siguiente tabla 3:

5

Tabla 3

	Secado A (%)			Secado B (%)		
	2,0	5,0	10,0	2,0	5,0	10,0
1	1002±87	2541±181	5039±197	457±52	938±93	2368±168
2	1068±54	2631±163	5127±101	596±61	973±187	2589±189

Como se observa de los resultados obtenidos, el aditivo de la invención incluyendo fitasa, salvado de trigo molido y ácido cítrico, en su caso un polialcohol, así como una fuente de fósforo retiene la actividad fitasa en mucha mayor medida que en caso de la fitasa sola.

10

REIVINDICACIONES

1. Aditivo alimentario para piensos de nutrición animal, comprendiendo el aditivo
una mezcla líquida de un polialcohol junto con
 - 5 i) una fitasa en una cantidad adecuada para proporcionar una actividad final de fitasa de entre 10.000 y 100.000 FTU/ml, siendo FTU la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μ mol de ortofosfato inorgánico por minuto en una solución que contiene 0,0051 mol/l de fitato de sodio a pH 5,5 y una temperatura de 37°C;
 - 10 ii) fibra vegetal molida con un diámetro máximo de partícula de 250 μ m,
iii) ácido cítrico en una concentración entre un 1-5% en peso con respecto al peso total de la mezcla líquida como agente quelante, estabilizándose el pH a pH 5 y
una fuente de fósforo como fosfato monocálcico, fosfato monobicálcico o una
15 combinación de ambos en forma de barros desfluorinados o granulados.
2. Aditivo alimentario para piensos según la reivindicación 1, caracterizado porque el polialcohol es un glicol.
3. Aditivo alimentario para piensos según la reivindicación 2, caracterizado porque el glicol se selecciona de entre etilenglicol, propilenglicol,
20 butilenglicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, polibutilenglicol o combinaciones de los mismos.
4. Aditivo alimentario para piensos según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la cantidad de polialcohol presente en el aditivo se selecciona de entre el 2 y el 80% en peso, con respecto al peso
25 total de la mezcla líquida.

5. Aditivo alimentario para piensos de nutrición animal, comprendiendo el aditivo
- una mezcla sólida de
- 5 i) una fitasa en una cantidad adecuada para proporcionar una actividad final de fitasa de entre 10.000 y 100.000 FTU/ml, siendo FTU la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de ortofosfato inorgánico por minuto en una solución que contiene 0,0051 mol/l de fitato de sodio a pH 5,5 y una temperatura de 37°C;
- 10 ii) fibra vegetal molida con un diámetro máximo de partícula de 250 μm ,
- iii) ácido cítrico en una concentración entre un 5% - 35% en peso con respecto al peso total de la mezcla sólida como agente quelante, y
- una fuente de fósforo como fosfato monocálcico, fosfato monobicálcico o una combinación de ambos en forma de polvo desfluorinado.
6. Aditivo alimentario para piensos según la reivindicación 1, caracterizado porque la cantidad de fibra vegetal molida presente en el aditivo oscila entre el 3-5% en peso con respecto al peso total de la mezcla líquida.
- 15
7. Aditivo alimentario para piensos según la reivindicación 5, caracterizado porque la cantidad de fibra vegetal molida presente en el aditivo de la invención oscila entre un 2 y un 25% con respecto al peso total de la mezcla
- 20 sólida.
8. Aditivo alimentario para piensos según las reivindicaciones 1 o 5, caracterizado porque como fibra vegetal se utiliza cebada, maíz, trigo, salvado de trigo, salvado de arroz o harina de soja.
9. Aditivo alimentario para piensos según la reivindicación 8, caracterizado
- 25 porque la fibra vegetal es salvado de cereal, preferentemente trigo o arroz.

10. Aditivo alimentario para piensos según las reivindicaciones 1 o 5, caracterizado porque la cantidad de mezcla líquida o sólida a aplicar a la fuente de fosfato respectivamente se selecciona para que el aditivo contenga entre 100 y 5.000 FTU por gramo.
- 5 11. Aditivo alimentario para piensos según las reivindicaciones 1 o 5, caracterizado porque la fitasa es una fitasa termoestable de alta actividad específica, de al menos 1120 ± 150 U/mg, derivada de *Serratia odorifera*.
- 10 12. Utilización del aditivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para la producción de un pienso para animales aditivado, donde el aditivo se aplica al pienso en una proporción de entre 100 g y 10 kg por cada tonelada de pienso.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2018/070475

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23K20/189 (2016.01)

A23K20/26 (2016.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, TXTE, BIOSIS, EMBASE, INTERNET

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014159185 A1 (VERENIUM CORP BASF ENZYMES LLC) 02/10/2014, the whole document; in particular, claims 1 and 7; example 1, formulation 1; example 2, formulations 3 and 4; page 13, last paragraph; page 14, first paragraph.	5-12
A	CN 102239966 A (UNIV HEBEI AGRICULTURE) 16/11/2011,	1-12
A	US 2014037582 A1 (ROMERO LUIS ET AL.) 06/02/2014, the whole document; in particular, paragraph [0300] and claims.	1-12
A	WO 03057247 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG ET AL.) 17/07/2003, the whole document; in particular, page 31, last paragraph, page 32, first paragraph and claims.	1-12

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search
19/12/2018

Date of mailing of the international search report
(10/01/2019)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer
A. Maquedano Herrero

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3495474

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2018/070475

C (continuation).			DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages		Relevant to claim No.		
A	WO 0047060 A1 (DSM NV ET AL.) 17/08/2000, the whole document; in particular, page 8, lines 15 to 22; page 14, lines 12 to 16; claims.		1-12		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2018/070475

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CN102239966 A	16.11.2011	NONE	
-----	-----	-----	-----
WO2014159185 A1	02.10.2014	MX2015012682 A EP3363895 A2 EP3363895 A3 AR095174 A1 JP2016513967 A US2016007633 A1 KR20150129746 A CN105102615 A CA2902752 A1 TW201446149 A EP2970924 A1 EP2970924 A4	06.11.2017 22.08.2018 10.10.2018 30.09.2015 19.05.2016 14.01.2016 20.11.2015 25.11.2015 02.10.2014 16.12.2014 20.01.2016 14.12.2016
-----	-----	-----	-----
US2014037582 A1	06.02.2014	BR112015002191A2 AU2017203253 A1 US2016213755 A1 US10149891 B2 JP2015530876 A MX2015001259 A CN104684408 A KR20150039816 A CA2880419 A1 AU2013298499 A1 US9179693 B2 EP2879520 A2 WO2014020138 A2 WO2014020138 A3	07.11.2017 08.06.2017 28.07.2016 11.12.2018 29.10.2015 08.05.2015 03.06.2015 13.04.2015 06.02.2014 29.01.2015 10.11.2015 10.06.2015 06.02.2014 27.03.2014
-----	-----	-----	-----
WO03057247 A1	17.07.2003	MY139056 A AR037987 A1 ZA200405092 B US2008131560 A1 US7632668 B2 US2007087410 A1 US7252983 B2 US2006183213 A1 US7138260 B2 US2003157646 A1 US7135323 B2 TW200306203 A TWI262083B B NZ533882 A MXPA04006388 A MX249283 B EP1465655 A1 EP1465655 A4 EG24067 A CN1622824 A CN100406561C C	28.08.2009 22.12.2004 31.08.2005 05.06.2008 15.12.2009 19.04.2007 07.08.2007 17.08.2006 21.11.2006 21.08.2003 14.11.2006 16.11.2003 21.09.2006 28.04.2006 13.07.2005 21.09.2007 13.10.2004 08.06.2005 08.05.2008 01.06.2005 30.07.2008

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2018/070475

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		CA2471857 A1	17.07.2003
		CA2471857 C	18.02.2014
		BR0215400 A	29.03.2005
		AU2002364266 A1	24.07.2003
		AU2002364266B B2	24.04.2008
-----	-----	-----	-----
WO0047060 A1	17.08.2000	KR20010042579 A	25.05.2001
		US2003054511 A1	20.03.2003
		US7186533 B2	06.03.2007
		PT1069832E E	31.08.2004
		PL343506 A1	27.08.2001
		NO20005088 A	07.12.2000
		JP2002536005 A	29.10.2002
		ES2220437T T3	16.12.2004
		EP1069832 A1	24.01.2001
		EP1069832 B1	06.05.2004
		DK1069832T T3	01.06.2004
		DE60010381T T2	09.09.2004
		CN1294495 A	09.05.2001
		CN1303895C C	14.03.2007
		CA2327692 A1	17.08.2000
		CA2327692 C	02.06.2009
		BR0004713 A	19.12.2000
		AU3656100 A	29.08.2000
		AU774457B B2	24.06.2004
		AT265807T T	15.05.2004
-----	-----	-----	-----

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2018/070475

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A23K20/189 (2016.01)

A23K20/26 (2016.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

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

A23K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

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

EPODOC, INVENES, WPI, TXTE, BIOSIS, EMBASE, INTERNET

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	WO 2014159185 A1 (VERENIUM CORP BASF ENZYMES LLC) 02/10/2014, todo el documento; en particular, reivindicaciones 1 y 7; ejemplo 1, formulación 1; ejemplo 2, formulaciones 3 y 4; pág. 13, último párrafo; pág. 14, primer párrafo.	5-12
A	CN 102239966 A (UNIV HEBEI AGRICULTURE) 16/11/2011,	1-12
A	US 2014037582 A1 (ROMERO LUIS ET AL.) 06/02/2014, todo el documento; en particular, párrafo [0300] y reivindicaciones.	1-12
A	WO 03057247 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG ET AL.) 17/07/2003, todo el documento; en particular, pág. 31, último párrafo, pág. 32, primer párrafo y reivindicaciones.	1-12

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>
--	--

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
19/12/2018

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
10 de enero de 2019 (10/01/2019)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
A. Maquedano Herrero

Nº de teléfono 91 3495474

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2018/070475

C (Continuación).		DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	WO 0047060 A1 (DSM NV ET AL.) 17/08/2000, todo el documento; en particular, pag. 8, líneas 15 a 22; pág. 14, líneas 12 a 16; reivindicaciones.	1-12

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

PCT/ES2018/070475

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
CN102239966 A	16.11.2011	NINGUNO	
-----	-----	-----	-----
WO2014159185 A1	02.10.2014	MX2015012682 A EP3363895 A2 EP3363895 A3 AR095174 A1 JP2016513967 A US2016007633 A1 KR20150129746 A CN105102615 A CA2902752 A1 TW201446149 A EP2970924 A1 EP2970924 A4	06.11.2017 22.08.2018 10.10.2018 30.09.2015 19.05.2016 14.01.2016 20.11.2015 25.11.2015 02.10.2014 16.12.2014 20.01.2016 14.12.2016
-----	-----	-----	-----
US2014037582 A1	06.02.2014	BR112015002191A2 AU2017203253 A1 US2016213755 A1 US10149891 B2 JP2015530876 A MX2015001259 A CN104684408 A KR20150039816 A CA2880419 A1 AU2013298499 A1 US9179693 B2 EP2879520 A2 WO2014020138 A2 WO2014020138 A3	07.11.2017 08.06.2017 28.07.2016 11.12.2018 29.10.2015 08.05.2015 03.06.2015 13.04.2015 06.02.2014 29.01.2015 10.11.2015 10.06.2015 06.02.2014 27.03.2014
-----	-----	-----	-----
WO03057247 A1	17.07.2003	MY139056 A AR037987 A1 ZA200405092 B US2008131560 A1 US7632668 B2 US2007087410 A1 US7252983 B2 US2006183213 A1 US7138260 B2 US2003157646 A1 US7135323 B2 TW200306203 A TWI262083B B NZ533882 A MXPA04006388 A MX249283 B EP1465655 A1 EP1465655 A4 EG24067 A CN1622824 A CN100406561C C	28.08.2009 22.12.2004 31.08.2005 05.06.2008 15.12.2009 19.04.2007 07.08.2007 17.08.2006 21.11.2006 21.08.2003 14.11.2006 16.11.2003 21.09.2006 28.04.2006 13.07.2005 21.09.2007 13.10.2004 08.06.2005 08.05.2008 01.06.2005 30.07.2008

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

PCT/ES2018/070475

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
		CA2471857 A1	17.07.2003
		CA2471857 C	18.02.2014
		BR0215400 A	29.03.2005
		AU2002364266 A1	24.07.2003
		AU2002364266B B2	24.04.2008
-----	-----	-----	-----
WO0047060 A1	17.08.2000	KR20010042579 A	25.05.2001
		US2003054511 A1	20.03.2003
		US7186533 B2	06.03.2007
		PT1069832E E	31.08.2004
		PL343506 A1	27.08.2001
		NO20005088 A	07.12.2000
		JP2002536005 A	29.10.2002
		ES2220437T T3	16.12.2004
		EP1069832 A1	24.01.2001
		EP1069832 B1	06.05.2004
		DK1069832T T3	01.06.2004
		DE60010381T T2	09.09.2004
		CN1294495 A	09.05.2001
		CN1303895C C	14.03.2007
		CA2327692 A1	17.08.2000
		CA2327692 C	02.06.2009
		BR0004713 A	19.12.2000
		AU3656100 A	29.08.2000
		AU774457B B2	24.06.2004
		AT265807T T	15.05.2004
-----	-----	-----	-----