



Efectos sinérgicos de los ácidos orgánicos y sus sales sobre la mejora de la ingesta de alimento, la respuesta inmunitaria y el crecimiento de camarones y peces

Resumen

Se ha demostrado que los ácidos orgánicos tienen efectos positivos sobre el desempeño de crecimiento, la resistencia a infecciones bacterianas y la respuesta inmunitaria en peces y camarones.

El producto del presente informe, PAQ-Tivate™, contiene ácido fumárico (como sal de magnesio) y ácido fórmico y ácido propiónico y sus sales de calcio. Estos ácidos orgánicos actúan como agentes antibacterianos y antifúngicos (propionato y formiato), promueven la digestión y el crecimiento (fumarato) y actúan como atrayentes alimenticios (propionato).

Al disminuir el pH del estómago y el intestino anterior, los ácidos orgánicos no solo reducen la carga de patógenos en estas secciones del tracto gastrointestinal, sino que también estimulan la secreción y la activación de las enzimas digestivas.

El potente efecto antibacteriano del ácido fórmico y ácido propiónico contra diferentes patógenos está bien descrito, y el propionato puede inducir la expresión de genes relacionados con la inmunidad. El ácido propiónico y sus sales pueden reducir eficazmente el desarrollo de mohos, y los propionatos pueden prevenir la formación de aflatoxinas (micotoxinas) en los alimentos y las materias primas almacenados.

Además de estos efectos sinérgicos, PAQ-Tivate™ tiene una solubilidad más baja y más lenta en el agua, lo que lo hace altamente estable en comparación con otros productos comerciales.

PAQ-Tivate: una composición de ácidos única para la acuicultura

Los ácidos orgánicos favorecen el bienestar y el desempeño de los animales

Para lograr un óptimo desempeño en la producción animal, se requiere una función intestinal saludable. Es muy importante establecer y mantener una flora intestinal saludable para contribuir a la función de barrera del intestino.

En el pasado, se han usado antibióticos promotores de crecimiento (APC) para ayudar a prevenir las enteropatías y controlar el equilibrio de la flora intestinal. Los trabajos de investigación científica describen una menor carga bacteriana en el intestino delgado y una menor competencia por los nutrientes con el animal hospedador como mecanismo de acción de los APC para mejorar el desempeño de los animales de producción (Dibner y Richards, 2005). Debido a que un efecto similar ha sido atribuido a los ácidos orgánicos (Canibe et al., 2001), son una de las opciones preferidas cuando se eligen estrategias para reemplazar a los APC en el alimento de los animales terrestres.

En acuicultura, se han estudiado los ácidos orgánicos exhaustivamente, y se han informado efectos positivos respecto de desempeño de crecimiento, resistencia a infecciones bacterianas y respuesta inmunitaria (Chuchird et al., 2015, da Silva et al., 2015, Ng et al., 2017, Pourmozaffar et al., 2017).

CÓMO ELEGIR EL ACIDIFICANTE CORRECTO

PAQ-Tivate es una mezcla acidificante de alimentos eficaz e innovadora, que combina estratégicamente ácidos orgánicos seleccionados y sus sales para las especies acuáticas.

PAQ-Tivate fue desarrollado con los siguientes beneficios en mente:

- Aportar un efecto antimicrobiano contra las infecciones por *Vibrio*;
- Mejorar la eficiencia alimentaria al mejorar la digestión de proteínas;
- Mejorar la rentabilidad al incrementar el desempeño de crecimiento, la TCA y la supervivencia;
- Mejorar la higiene de los alimentos al prevenir el desperdicio y la contaminación.

Para garantizar que esta mezcla fuera adecuada para los alimentos de acuicultura, se consideró que los siguientes aspectos tecnológicos eran importantes:

- Baja lixiviación;
- Estabilidad térmica;
- Tamaño de partícula promedio pequeño con una distribución homogénea;
- Fácil manipulación (menos corrosivo).

PAQ-Tivate contiene ácido fumárico en la forma de su sal de magnesio, y ácido propiónico y ácido fórmico y sus sales de calcio. Estos ácidos orgánicos actúan como atrayentes alimenticios (propionato), agentes antibacterianos (propionato y formiato) y promotores de crecimiento (fumarato).

Efecto antibacteriano de los ácidos orgánicos

Mecanismo de acción

Los animales que tienen infecciones bacterianas no tienen un desempeño óptimo, lo que genera un costo de recursos y dinero. Los ácidos orgánicos reducen la carga de patógenos en el tracto gastrointestinal proximal (Khan y Iqbal, 2016). Por consiguiente, menos patógenos llegan al intestino desde el estómago, lo que favorece la higiene de los alimentos y minimiza el riesgo de infecciones. Por lo tanto, se reconoce la eficacia del agregado de acidificantes como PAQ-Tivate al alimento para peces con el fin de prevenir enfermedades, estabilizar el tracto gastrointestinal y mejorar los parámetros de desempeño.

Los ácidos orgánicos no eliminan a los microorganismos, pero inhiben su crecimiento, lo que causa fases de retraso muy prolongadas. La inhibición de los microorganismos ocurre por difusión rápida de la molécula no disociada hacia el interior de la célula. La disociación (liberación del ion H⁺) de estas moléculas dentro de la célula bacteriana genera la acidificación del citoplasma y de esta manera evita su crecimiento (Lambert y Stratford, 1999). La mayoría de los ácidos orgánicos son eficaces en un entorno fuerte o moderadamente ácido. Debido a que cada ácido tiene un pH óptimo dependiendo de su valor de pKa, las mezclas de acidificantes como PAQ-Tivate tienen una mayor eficacia general contra los microorganismos (Figura 1).

La combinación de ácidos cubre un espectro más amplio de entornos de pH para cumplir con las diferentes aplicaciones (anti-mohos, anti-levaduras, antibacteriano). Además, la combinación de ácidos orgánicos crea efectos sinérgicos a nivel molecular (p. ej., la mezcla de fórmico + propiónico es más fuerte que cada ácido por separado).

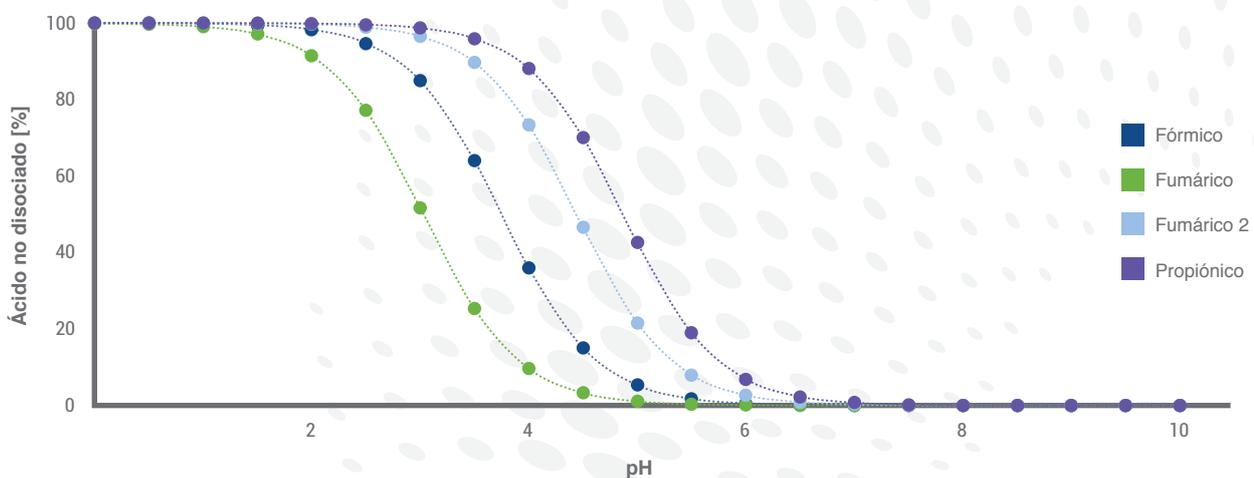


Figura 1: Curvas de disociación de los ácidos de PAQ-Tivate



La Figura 1 muestra el patrón de disociación de los ingredientes de PAQ-Tivate, lo que confirma la naturaleza sinérgica del producto.

El espectro de valores de pKa de PAQ-Tivate es muy amplio: este es un objetivo de la fórmula. El valor de pKa del ácido propiónico (el más alto de PAQ-Tivate) es incluso cercano al de los ácidos grasos de cadena media (C5, C6, C7, C8, C9). Solo C10 y los ácidos grasos de cadena más larga tienen valores de pKa más altos.

Acción específica contra los patógenos relevantes en acuicultura

Al seleccionar los ingredientes activos para PAQ-Tivate, se evaluó la eficacia antibacteriana de los ácidos. Hay un amplio sustento científico sobre el efecto antibacteriano de los ácidos orgánicos. El potente efecto antibacteriano del ácido fórmico y el ácido propiónico (ambos presentes en PAQ-Tivate) contra diferentes bacterias patógenas ha sido documentado.

En la Tabla 1, se presenta la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los ácidos fórmico, láctico y propiónico.

Tabla 1: Concentración inhibitoria mínima (CIM, %) de ácidos orgánicos contra diferentes bacterias patógenas (adaptado de Mroz, 2005)

Tipo de microorganismo	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	CIM promedio
Ácido fórmico	0.1	0.1	0.15	0.1	0.1	0.1	0.15	0.1	0.125
Ácido Propiónico	0.15	0.2	0.2	0.25	0.2	0.2	0.25	0.25	0.2
Ácido Láctico	0.3	0.3	0.4	0.4	0.25	0.3	0.3	0.3	0.325

En acuicultura, algunas de las enfermedades bacterianas más importantes son causadas por *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Aeromonas* spp. El uso de los ácidos orgánicos para controlar las infecciones resulta alentador. El pH óptimo para el crecimiento de *Vibrio* spp. es 7,8 a 8,6. (Mine et al., 2011). En una prueba in vitro, se observó que en un entorno levemente ácido (< 6), el ácido fórmico tuvo la CIM más baja contra *Vibrio harveyi*, seguido de los ácidos propiónico, acético y butírico (0,035%, 0,060%, 0,070% y 0,100% respectivamente).

Al evaluar distintas sales de ácidos, los datos de la bibliografía señalan que el formiato y el propionato por separado tienen valores de CIM más bajos contra *Vibrio* spp. que el lactato y el citrato (Tabla 2). **Nuestras propias investigaciones mostraron que la combinación de formiato, propionato y fumarato de PAQ-Tivate es más eficaz, incluso cuando se comparó con productos comerciales existentes** (Tabla 2). Estas CIM fueron evaluadas a un pH 7,1 para reflejar el pH del tracto digestivo de los camarones.

Tabla 2: Concentraciones inhibitorias mínimas (CIM, %) a pH 7,1 (datos de la bibliografía e investigaciones internas)

	<i>Vibrio</i> spp.	Referencia
Lactato	10.00	Da Silva, 2013
Citrato	4.17 – 5.00	Da Silva, 2013
Formiato	1.25 – 2.50	Da Silva, 2013
Propionato	0.42 – 0.63	Da Silva, 2013
Bactinil Agua	0.30	Nuez-Ortin et al., 2020
PAQ-Tivate	0.10	Investigación interna, 2018

En una prueba in vivo realizada por Da Silva et al. (2016), la inclusión de propionato en la dieta de camarones disminuyó el recuento de *Vibrio* spp. en el intestino. La administración dietaria de ácido fórmico podría disminuir el recuento intestinal bacteriano total de *Vibrio* spp. y mejorar la tasa de supervivencia de los camarones infectados con *Vibrio parahaemolyticus* en condiciones de laboratorio (Churchid et al., 2015)

En un ensayo con Bagre Africano expuesto a *Aeromonas sobria*, la suplementación de ácido fumárico en dosis de 0,5 – 2,0% mejoró la tasa de supervivencia (Omosowone et al., 2015). Mientras que la tasa de supervivencia en el grupo control fue del 0%, los grupos tratados presentaron una tasa de supervivencia del 60 al 100% (Figura 2).

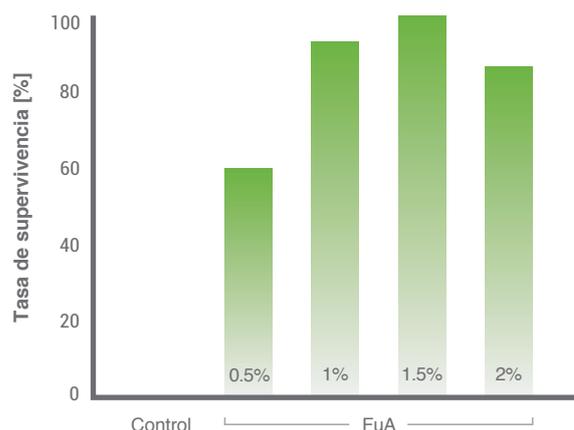


Figura 2: Efecto del ácido fumárico (FuA) sobre la supervivencia del Bagre Africano después de la exposición a *Aeromonas sobria* (Fuente: Omosowone et al., 2015)

Respuesta inmunitaria

Además de su acción antibacteriana y la modulación de la flora intestinal, también se documentó que los ácidos orgánicos pueden mejorar la respuesta inmunitaria de los peces y los camarones. Esta respuesta inmunitaria incluye las respuestas celular, humoral y molecular (Hoseinifar et al., 2017).

A nivel molecular, Pourmozaffar et al. (2017) demostraron que el agregado de propionato aumentó la expresión de genes relacionados con la inmunidad como Pen-3a en el camarón patiblanco.

Digestibilidad de nutrientes

Efecto de la acidificación

Para optimizar el desempeño de crecimiento e incrementar el valor productivo en acuicultura, es fundamental el uso óptimo de nutrientes. El costo del alimento representa el 40 – 60% del costo general de producción en acuicultura, y la proteína es uno de los macronutrientes más caros (Loum, 2013).

A partir de observaciones en las especies terrestres, se sabe que la digestión de la proteína — ya sea de origen vegetal o animal — se beneficia con el uso de acidificantes debido al estímulo de las enzimas gástricas y pancreáticas. El pH óptimo para la actividad de la pepsina es 2,0, pero el pH en el intestino de tilapia es mucho más alto durante el proceso digestivo y dependiendo del segmento intestinal (Figura 3).

Por consiguiente, disminuir el pH del bolo alimenticio en el estómago e intestino anterior de muchas especies de peces por medio del uso de acidificantes puede mejorar la digestión gracias a que se estimula la secreción y la activación de las enzimas digestivas. Yufera et al. (2012) describieron el efecto de los cambios de pH en el estómago y el tracto digestivo de los peces marinos sobre la actividad de la pepsina; la mayor actividad se registró con el pH gástrico más bajo.

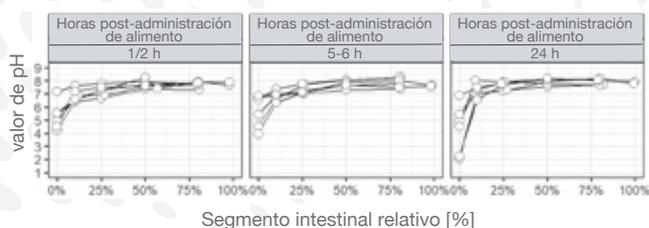


Figura 3: Segmento intestinal y el efecto de la administración de alimento sobre el pH intestinal de tilapia del Nilo (Fuente: Schumacher, 2019)



En un estudio comparativo, da Silva et al. (2015) estudiaron el efecto de diferentes sales de ácidos sobre la actividad enzimática de los camarones. Demostraron que la actividad de la tripsina y la quimiotripsina aumentó en presencia de propionato y disminuyó en presencia de lactato y citrato. También demostraron que el fumarato produjo la

digestibilidad de proteínas más alta comparado con otras sales de ácidos. También se informó que los ácidos orgánicos y sus sales aumentan la disponibilidad y la digestibilidad de los minerales. Da Silva et al. (2013) señalaron un aumento del fósforo y la digestibilidad de energía de crecimiento en los camarones gracias a la suplementación de propionato (Tabla 3).

Tabla 3: Efecto de sales de ácidos orgánicos sobre la ingesta de alimento y coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) en camarones marinos (adaptado de Da Silva et al., 2013). Las diferentes letras entre las líneas indican diferencias significativas.

	Ingesta de alimento (%)	CDA de materia seca (%)	CDA de energía bruta (%)	CDA de fósforo (%)
Control	2.80b	57.13	73.55b	12.36b
Propionato	4.30a	61.03	79.50a	20.91a
Acetato	3.80ab	57.62	73.93b	9.93b
Butirato	4.00a	58.93	73.82b	12.49b

Actividad enzimática

PAQ-Tivate también mostró un aumento de la actividad enzimática en los camarones patiblanco.

En este ensayo, se estudiaron tres fórmulas: 1) altamente digestible (9% harina de pescado, HP); 2) base de harina de soja (HS); y 3) base de HS + 0,5% PAQ-Tivate. La actividad enzimática del hepatopáncreas mostró una tendencia similar en los tratamientos (T) 1 y 3, significativamente más alta que en T2 (dieta de control negativo) (Tabla 4). Además, el ácido trinitrobenzenosulfónico (TNBS – reactivo usado

para la cuantificación de los grupos aminos primarios) fue significativamente más alto en los camarones suplementados con PAQ-Tivate (T3), lo que indica una mayor digestibilidad (Tabla 4).

Este estudio documentó que la fórmula de base de HS suplementada con PAQ-Tivate podría aumentar significativamente la utilización del alimento, la actividad de enzimas proteolíticas y la digestibilidad de proteínas in vitro en el camarón patiblanco. Estos resultados fueron respaldados con mejores resultados de crecimiento.

Tabla 4: Efectos de la suplementación de PAQ-Tivate sobre la actividad de las enzimas digestivas y la digestibilidad de proteínas in vitro en el camarón patiblanco. Los valores son medias \pm DE. Las diferentes letras entre las líneas indican diferencias significativas.

	T1 Control (9% inclusión de HP)	T2 Control negativo (base de HS)	T3 Base de HS + PAQ-Tivate 0,5%
<i>Actividad enzimática (Unidad/mg proteína)</i>			
Proteasa de hepatopáncreas	1.62 \pm 0.03a	1.27 \pm 0.01d	1.65 \pm 0.03a
Tripsina de hepatopáncreas	119.32 \pm 5.51a	74.06 \pm 3.28d	102.57 \pm 0.36b
Quimiotripsina de hepatopáncreas	83.52 \pm 1.65b	73.22 \pm 0.69b	111.60 \pm 0.48a
Cociente de Prueba/Control	1.43 \pm 0.09a	1.01 \pm 0.04b	0.92 \pm 0.01b
<i>digestibilidad de proteínas in vitro</i>			
TNBS	62.39 \pm 0.7b	62.88 \pm 8.4b	77.12 \pm 0.62a

Capacidad de fijación de ácidos (de amortiguación)

El éxito de la acidificación depende mayormente de la capacidad de fijación de ácidos de una dieta. La capacidad de fijación de ácidos se define como la cantidad de ácido necesaria para alcanzar un determinado pH en la dieta, por ejemplo, pH 3 o 4 (Lawlor et al., 2005), y la capacidad de amortiguación se define como el volumen (mL) secretado de ácido clorhídrico (HCL) necesario para disminuir el pH en el estómago para una mejor digestión. Esto significa que a menor capacidad de amortiguación de una materia (alimento o aditivo alimenticio), se requiere menos HCL secretado para la digestión. Se sabe que para los animales terrestres una baja capacidad de fijación de ácidos en el alimento tiene efectos positivos sobre la digestión de proteínas, la salud intestinal y el desempeño. Por ejemplo, una baja capacidad de fijación de ácidos en el alimento promueve el crecimiento de las vellosidades y reduce la incidencia de diarrea en los lechones (Niemeyer y Schmidt, 1992). La capacidad de fijación de ácidos también es un indicio de la digestibilidad de un alimento o ración en particular. Los minerales y las fuentes proteicas son componentes de la dieta con alta capacidad de amortiguación (Tabla 5).

Tabla 5: Capacidad de fijación de ácidos (CFA) de algunos ingredientes alimenticios (Lawlor et al., 2005; Levic et al., 2005; * investigación interna del Dr. Eckel)

Alimento	CFA pH 3 (mEq/kg)	CFA pH 4 (mEq/kg)
Harina de trigo	194	108
Harina de colza	945	498
Harina de soja	1 068	642
Harina de carne y de hueso	920	595
Harina de pescado	1 457	738
Fosfato dicálcico	5 666	3 098
Bicarbonato de sodio	12 870	12 566
Ácido propiónico	-5	-1 358
Ácido fumárico	-4 093	-10 862
Ácido fórmico	-3 473	-13 550
Fumarato de magnesio	-3 000	-

Como los alimentos de acuicultura, por lo general, tienen un alto contenido de proteínas y la principal fuente proteica es HP, su capacidad de fijación de ácidos puede ser alta. PAQ-Tivate aporta una fuente de alta disponibilidad de calcio y magnesio con una baja capacidad de amortiguación, a diferencia de otros minerales comunes del mercado. Por lo tanto, al reemplazar las fuentes de calcio y magnesio de alta capacidad de amortiguación con **PAQ-Tivate se puede reducir la capacidad de fijación de ácidos del alimento**. PAQ-Tivate puede tener un impacto positivo sobre la digestibilidad, con un efecto positivo sobre el desempeño y la eficiencia alimentaria.

Desempeño

Una mejor utilización de nutrientes, una mejor ingesta de alimento y el efecto antibacteriano de los ácidos orgánicos respaldan el mejor desempeño de crecimiento observado y documentado en diferentes estudios. En un estudio comparativo de diferentes sales de ácidos, se demostró que el fumarato tiene el mejor efecto en términos de mejorar el desempeño de crecimiento en los camarones, con un resultado superior del formiato y el propionato versus el lactato y el citrato (Figura 4) (Da Silva et al., 2015).

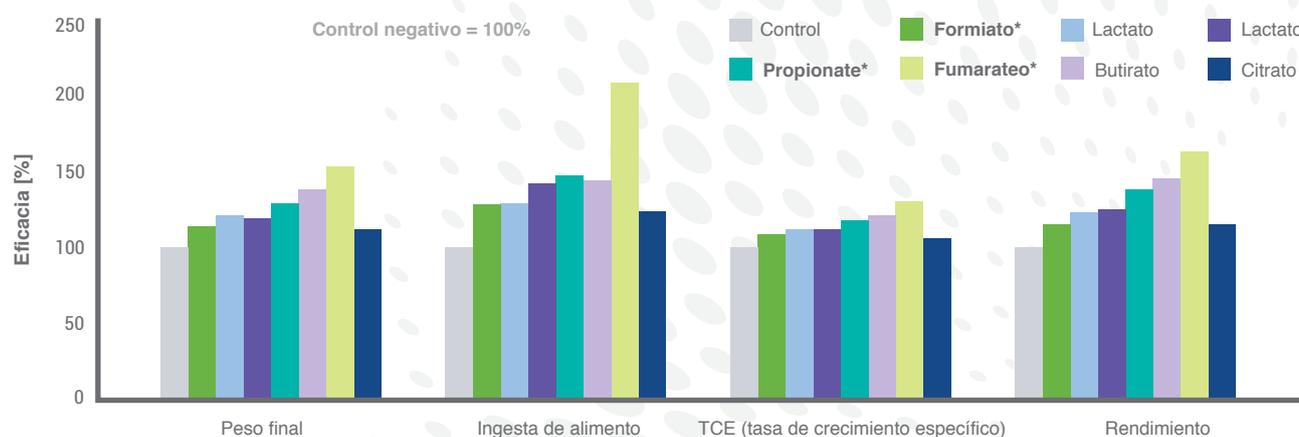


Figura 4: Eficacia de diferentes sales de ácidos orgánicos en los camarones (Fuente: Da Silva et al., 2015).
*Ingredientes de PAQ-Tivate

El efecto promotor de crecimiento del propionato también fue observado por Wassef et al. (2019) en un ensayo alimentario de 90 días de duración con lubinas (Figura 5). Hubo un efecto dependiente de la dosis; la dosis más alta produjo los mejores resultados.

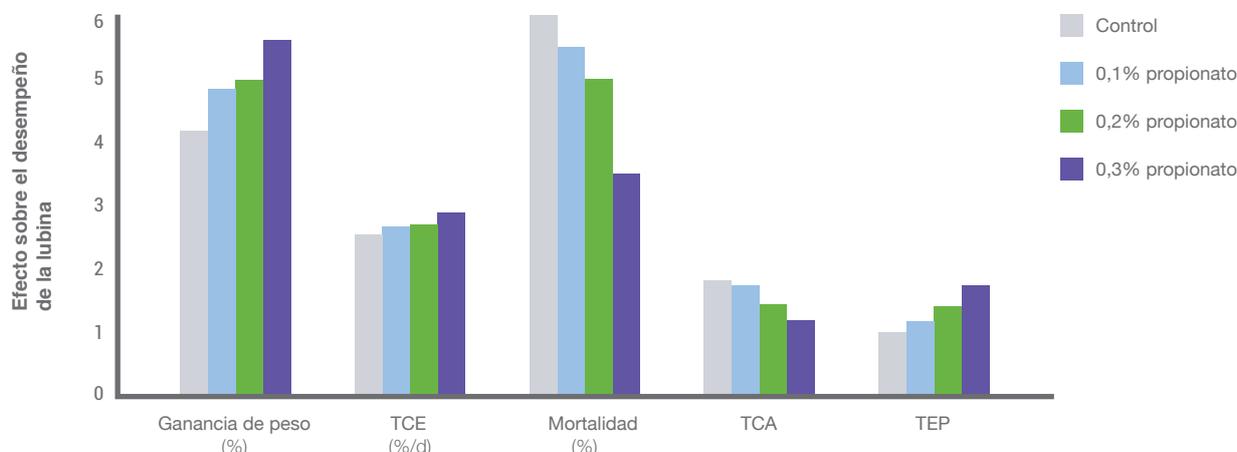


Figura 5: El propionato mejora el desempeño de la lubina (adaptado de Wassef et al., 2019). TCE, tasa de crecimiento específico; TCA, tasa de conversión alimenticia, TEP, tasa de eficiencia proteica.

En una granja comercial en Tailandia, después de 42 días de cultivo, hubo una ganancia de peso significativa en los camarones tratados con PAQ-Tivate en comparación con dos productos comerciales (Figura 6).

Esta mejora del crecimiento respalda el argumento de mayor digestión presentado en la sección anterior.

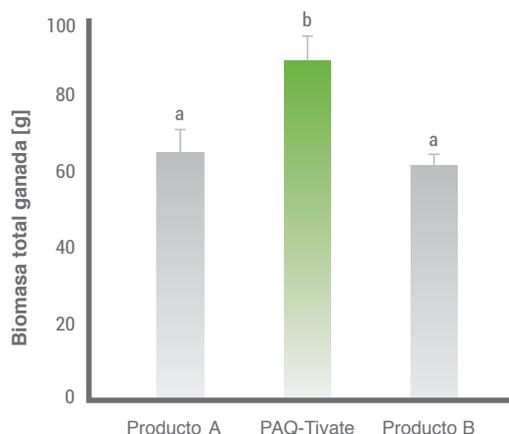


Figura 6: Crecimiento después de 42 días de cultivo. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos*

Calidad del alimento

Protección contra mohos

La presencia de mohos en el alimento es un problema económico serio dado que afecta la disponibilidad y la palatabilidad de los nutrientes (Richardson, 1999). Debido a su carácter lipofílico, el ácido propiónico y sus sales son especialmente eficaces contra el desarrollo de mohos (Higgins y Brinkhaus, 1999). Su valor pKa de 4,8 significa que también es activo en un pH menos ácido, más cercano al pH nativo de los granos y los alimentos.

La eficacia de PAQ-Tivate como agente de protección contra las bacterias y los hongos en el alimento formulado para tilapia fue estudiada con dos dosis (2 y 5 g de PAQ-Tivate/kg de alimento). Las muestras de alimento fueron humedecidas con un 15% de agua destilada.

Una muestra sin agua y sin aditivos se usó como control negativo; una muestra con un 15% de agua destilada (v/w), pero sin aditivos se usó como control positivo. Todas las muestras se incubaron a 28 °C y el nivel de humedad se mantuvo en 75-85%. Las muestras fueron examinadas en los días 1, 3, 7 y 14 después de haber sido humedecidas.

Los resultados mostraron una diferencia significativa en el recuento de bacterias y hongos/mohos entre los tratamientos de PAQ-Tivate y el control positivo. Al día 14, había 2000 veces más bacterias (UFC/g) en el control positivo que en el tratamiento de PAQ-Tivate 5 g/kg (67.500.000 y 32.500 respectivamente).

Además, al día 14 había casi 300 veces más mohos (UFC/g) en el control positivo que en los tratamientos de PAQ-Tivate. El alimento con 5g/kg PAQ-Tivate tuvo el mejor efecto protector, como se observa en las siguientes figuras (Figuras 7 y 8).



Figura 7: Muestras de alimento en el día 7 de incubación. No hay presencia visual de mohos u hongos en ninguna de las muestras de prueba. Todos los replicados de todos los tratamientos del experimento fueron similares a las imágenes de arriba.



Figura 8: Muestras de alimento en el día 14 de incubación. No hay presencia visual de mohos u hongos en la muestra de PAQ-Tivate 5g/kg, pero hay un claro crecimiento de hongos en el grupo de control positivo y de PAQ-Tivate 2 g/kg

Tecnología

Propiedades químicas

Las formas líquidas de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) pueden ser inestables (hasta un 20%) durante la aspersión, lo que ocasiona la posibilidad de corrosión y olor repugnante (irritación de fosas nasales y ojos). A diferencia de los AGCC líquidos, sus sales sólidas se pueden incorporar de manera relativamente fácil en las dietas compuestas con menos o nulo impacto

negativo en la corrosión de los equipos (Mroz, 2005). El uso de sólidos para garantizar una alta concentración de ingredientes activos sin la necesidad de un material vehículo inerte asegurará una alta eficacia del producto. Comparado con el ácido fórmico, el formiato de calcio es menos corrosivo y tiene un sabor y olor neutros.

Lo mismo ocurre con el propionato de calcio versus el ácido propiónico (Tabla 6). Estas propiedades de los ingredientes seleccionados de PAQ-Tivate también tienen la ventaja de ser más palatables para los peces/camarones. Da Silva et al. (2013) mostraron una mejor atracción para los camarones cuando se agregó propionato a la fórmula alimentaria.

Table 6: Chemical properties of different organic acids (Louise et al., 2020)

Nombre ¹	Número de registro/CE	Forma física	Mol.wt/GE (MJ/Kg)	Constante de disociación (pKa)	TC ²	Olor
Fórmico	E 236	Líquido	46.03/5.7	3.75	+++	Acre
Acético	E 260	Líquido	60.05/14.6	4.76	+++	Acre
Propiónico	1a297	Líquido oleoso	74.08/20.6	4.88	++	Acre
Butírico	-	Líquido oleoso	88.12/24.8	4.82	+	Rancio
Láctico	E 260	Líquido	90.08/15.1	3.86	(+)	Leche agria
Sórbico	E 200	Sólido	112.1/27.85	4.78	(+)	Levemente acre
Fumárico	2b08025	Sólido	116.1/11.5	3.02/4.38	0 to (+)	Inodoro
Málico	E 296	Sólido/Líquido	134.1/10.0	3.46/5.10	(+)	Manzana
Cítrico	E 330	Sólido	192.1/10.2	3.1/4.8/6.4	0 to ++	Inodoro
Formiato de Ca	E 238	Sólido	13.1/11.0	-	0	Neutro
Lactato de Ca	E 327	Sólido	308.3/30.0	-	0	Neutro
Propionato de Ca	E 282	Sólido	184.1/40.0	-	0	Neutro
Diformiato de K	1a237a	Sólido	130.0/11.4	-	0	Neutro
Butirato de Ca	-	Sólido	214.0/48.0	-	0	Rancio
Citrato de Mg	-	Sólido	214.4/10.0	-	0	Neutro

¹Monocarboxílico (1-6); dicarboxi (7-8); tricarboxílico (9); sales orgánicas (10-16); ²TC = tasa de corrosión: alta (+++), media (++) , baja (+), insignificante (0)

Reactividad

Una ventaja importante del uso de ingredientes menos corrosivos en el acidificador es la menor reactividad de los alimentos y premezclas. Por ejemplo, el ácido fórmico líquido es muy corrosivo y puede reaccionar con ingredientes valiosos como vitaminas y minerales del alimento. Además, puede dañar los equipos de la planta de alimentos (Figura 9).

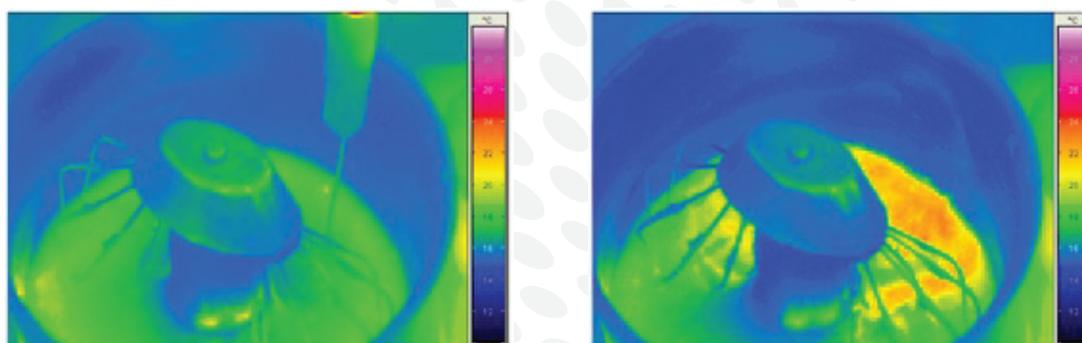


Figura 9: Imagen de la reacción química en el alimento con una mezcla de sales de ácidos o ácido fórmico tomada con una cámara termográfica. (Foto: Dr. Eckel)

Estabilidad térmica

En el proceso de fabricación de alimentos, la temperatura puede llegar hasta 120 °C durante la extrusión. Estas altas temperaturas pueden tener un efecto perjudicial sobre los ingredientes activos del alimento. La Figura 10 muestra los resultados de las pruebas de estabilidad de peletizado realizadas con el proceso de registro de la UE de los ingredientes activos usados en PAQ-Tivate.

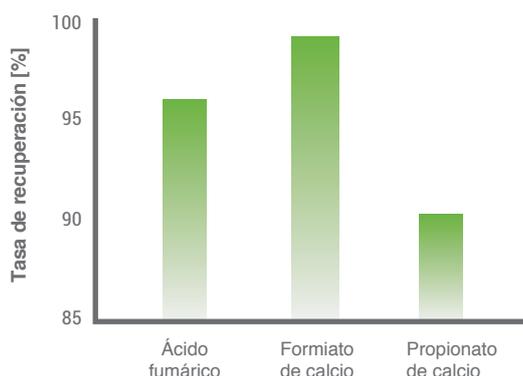


Figura 10: Tasa de recuperación (%) de ácidos orgánicos 3 meses después de la extrusión (Fuente: expedientes de registro de EFSA)

En condiciones normales de fabricación y almacenamiento de alimentos, todos los ingredientes se mantuvieron estables. Se realizó esta misma prueba internamente para examinar la tasa de recuperación de PAQ-Tivate después de exponerlo a temperaturas que variaban de 90 a 120 °C durante 15 minutos. **Los resultados mostraron que no hay riesgo de pérdida de actividad de los ingredientes de PAQ-Tivate debido al tratamiento térmico** (Figura 11)

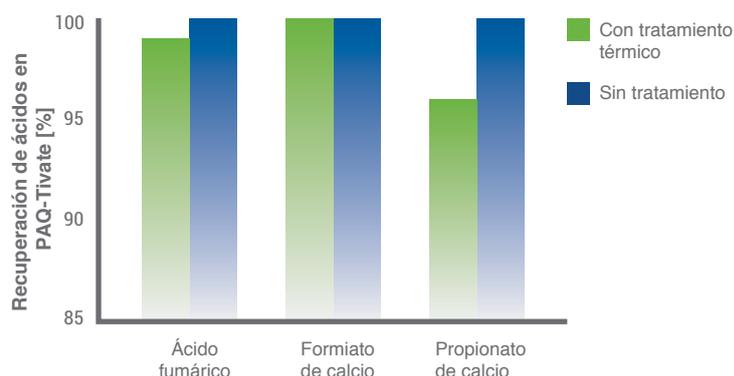


Figura 11: Recuperación de ácidos en PAQ-Tivate después del tratamiento térmico (Fuente: investigación interna del Dr. Eckel)

Lixiviación

En los alimentos para acuicultura, la solubilidad es un aspecto importante en tanto los productos de alta solubilidad se disolverán rápidamente en el agua y los camarones/peces no se beneficiarán con su agregado. Por lo tanto, la solubilidad del acidificante en el alimento debe ser leve. Dado que se sabe que el ácido fumárico tiene baja solubilidad, la hipótesis fue que incluir este ingrediente en PAQ-Tivate le brindaría una combinación de ingredientes de acción rápida y lenta. La prueba de solubilidad mostró que incluso bajo condiciones de lixiviación los ingredientes activos de PAQ-Tivate llegarán al tracto digestivo del animal (Figura 12).

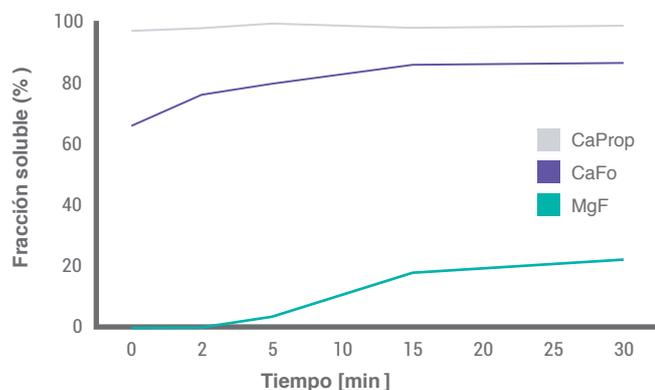


Figura 12: Patrón de solubilidad de los ingredientes de PAQ-Tivate en agua (Fuente: investigación interna del Dr. Eckel)

El diagrama de la fracción soluble a lo largo del tiempo (Figura 12) muestra que las sales de calcio del ácido fórmico y el ácido propiónico (CaFo y CaProp, respectivamente) se disuelven rápidamente, y el propionato de calcio es el más soluble. No obstante, el fumarato de magnesio (MgF) tiene una cinética de disolución incompleta y más lenta en un entorno acuoso.

Otro estudio confirmó la solubilidad más baja y más lenta de los ácidos orgánicos de PAQ-Tivate en agua, en comparación con cuatro productos comerciales (A a D), donde ninguno de estos contenía fumarato de magnesio.

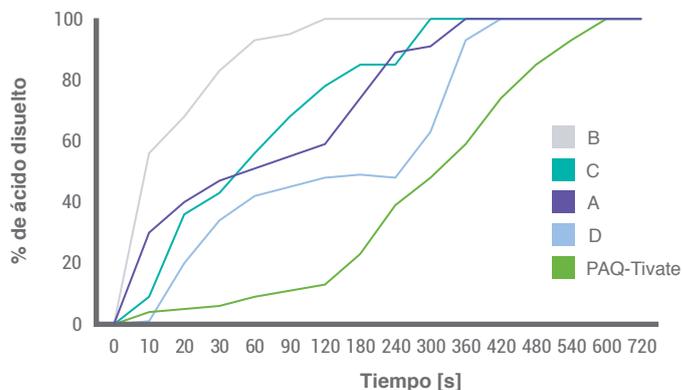


Figura 13: Solubilidad de PAQ-Tivate y otros cuatro acidificantes comerciales en agua (Fuente: investigación interna del Dr. Eckel)

Un ensayo adicional con PAQ-Tivate y dos productos comerciales estudió la tasa de recuperación posterior a la extrusión en cinco intervalos de tiempo diferentes (2 min, 10 min, 30 min, 60 min y 90 min). Después de la extrusión, PAQ-Tivate tuvo la recuperación más alta (85,0%) seguido por el Producto B (70,0%) y el Producto A (42,5%). Después de 90 min en el agua, PAQ-Tivate tuvo un 42,7% de ácidos orgánicos, seguido por el Producto B con

31,3% y el Producto A con solo 17%. Este ensayo de lixiviación confirmó que la mezcla única de PAQ-Tivate tiene una tasa de lixiviación baja y es superior en esta propiedad versus los productos de la competencia (Figura 14).

En general, PAQ-Tivate presentó una solubilidad equilibrada y estabilidad de lixiviación en comparación con los productos comerciales.

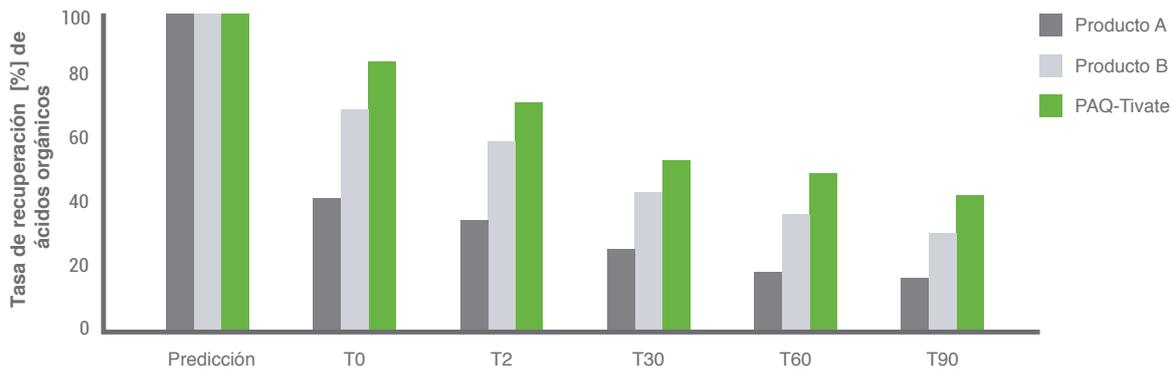


Figura 14: Tasa de recuperación de ácidos orgánicos de PAQ-Tivate y dos productos comerciales

Análisis granulométrico

El acidificante debe ser biodisponible para los peces. El tamaño de partícula se debe mezclar bien con los ingredientes crudos del alimento. PAQ-Tivate presenta un tamaño de partícula promedio bajo, lo que significa que es apto para el micro-peletizado. Tiene un espectro pequeño de tamaños de grano, lo que contribuye a un producto homogéneo (Figura 15).

Debido a que PAQ-Tivate está compuesto de ácidos orgánicos que tienen beneficios demostrados para el desempeño y la inmunidad en acuicultura, y a que es homogéneo en términos de tamaño de partícula, se lo puede agregar a los alimentos antes de la extrusión y el peletizado o se lo puede incluir en micro-pellets.

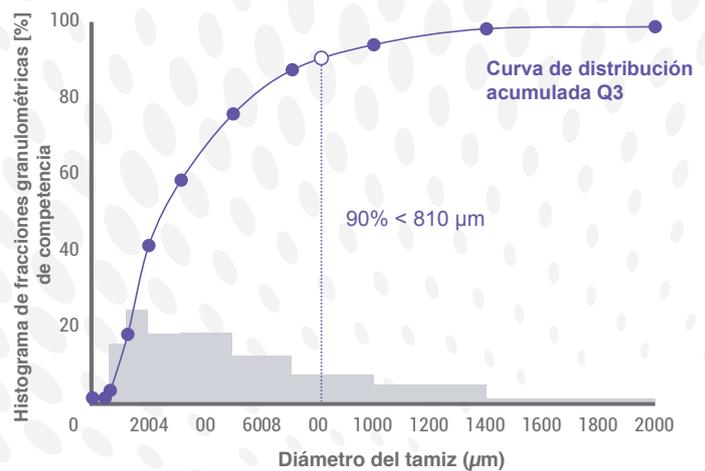
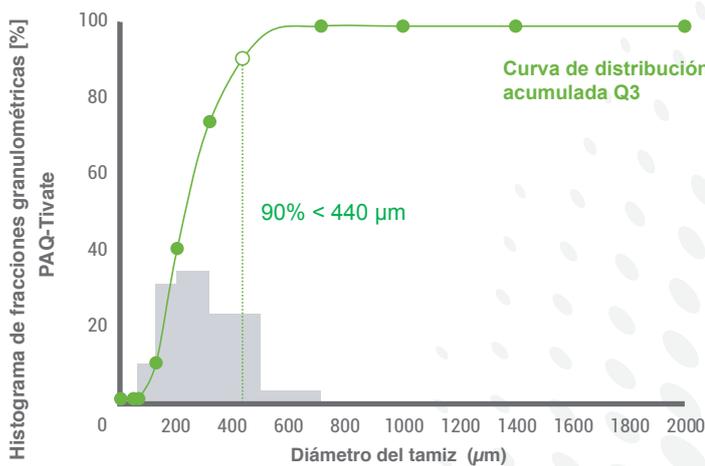


Figura 15: Distribución de tamaño de partícula de PAQ-Tivate en comparación con un producto de la competencia (Fuente: investigación interna del Dr. Eckel)

Conclusión

El presente documento reúne todos los atributos de PAQ-Tivate para que los lectores puedan comprender cabalmente el mecanismo de acción de esta mezcla única de ácidos orgánicos. El efecto antibacteriano, la mayor digestibilidad, el mejor desempeño de crecimiento, la calidad del alimento y las características técnicas aquí descritas muestran el panorama completo de por qué se seleccionó cada acidificante como un ingrediente de PAQ-Tivate.

Referencias

- Chuchird N., P. Rorkwiree, T. Rairat (2015): Effect of dietary formic acid and astaxanthin on the survival and growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. SpringerPlus 4, 440, DOI 10.1186/s40064-015-1234-x
- Canibe, N., S. H. Steien, M. Overland, B. B. Jensen (2001): Effect of K-formate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, and on gastric alterations. Journal of animal Science, 79, 2123 – 2133
- Da Silva B. C., F. do Nascimento Viera, J. L. Pedreira Mourino, G. Soltes Ferreira, W. Quadros Seiffert (2013): Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp. Aquaculture 384 – 387, 104 – 110
- Da Silva B. C., H. Nolasco-Soria, F Magallon-Barajas, R. Civera-Cerecedo, R. Casillas-Hernandez, W. Seiffert (2015): Improved digestion and initial performance of whiteleg shrimp, using organic salt supplements. Aquaculture Nutrition. doi: 10.1111/anu.12315
- Dibner J. J. and J. D. Richards (2005): Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. Poultry Science, 84, 634-643
- EFSA Journal (2011): Scientific Opinion on the safety and efficacy of propionic acid, sodium propionate, calcium propionate and ammonium propionate for all animal species, 9 (12) 2446
- EFSA Journal (2013): Scientific Opinion on the safety and efficacy of fumaric acid as a feed additive for all animal species. 11 (2) 3102
- EFSA Journal (2015) Scientific Opinion on the safety and efficacy of ammonium formate, calcium formate and sodium formate when used as a technological additive for all animal species, 13 (5), 4056
- Higgins C., F. Brinkhaus (1999): Efficacy of several organic acids against molds. Applied Poultry Science, 8 (4), 480 - 487
- Khan S. H. and J. Iqbal (2016): Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. Journal of Applied Animal Research, 44 (1), 359-369
- Lambert R. J., M. Stratford (1999): Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. Journal of Applied Microbiology, 86, 157 – 164
- Lawlor, P. G., P. B. Lynch, P. J Caffrey, J. J. O'Reilly, M. K. O'Connell (2005): Measurements of acid binding capacity of ingredients used in pig diets. Irish Veterinary Journal, 58 (8), pp 447-452
- Levic. J., O. Prodanovic, S. Sredanovic (2005): Understanding buffering capacity in feedstuffs. Biotechnology in Animal Husbandry, 21 (5-6), pp 309 – 313
- Louise D., F. Correa, P. Bosi, P. Trevisi (2020): A review of the effects of formic acid and its salts on the gastrointestinal microbiota and performance of pigs. Animals, 10, 887
- Loum A. (2013): Effects of dietary protein levels on growth performance, carcass composition and survival rate of fry monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, reared under re-circulating system. Journal of Biology and Life Science, Vol. 4, No 2, 13 – 22
- Mine S. and R. Boopathy (2011): Effect of organic acids on shrimp pathogen, *Vibrio harveyi*. Current Microbiology, 63, 1 – 7
- Mroz Z. (2005): Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. Advances in pork production, 16, 169 – 182
- Ng W.-K., C.-B. Koh, C.-Y. Teoh, R. Romano (2015): farm-raised tiger shrimp, *Penaeus monodon*, fed commercial feeds with added organic acids showed enhanced nutrient utilization, immune response and resistance to *Vibrio harveyi* challenge. Aquaculture, 449, 69 – 77
- Nuez-Ortin W. G., M. M. Isern-Subich, M. Guerin (2020): Organic acids – Synergy at work to prevent vibriosis and promote growth in shrimp. Aqua Culture Asia Pacific May/June
- Omosowone O., A. Dada, E. Adeparusi (2018): Effects of dietary supplementation of fumaric acid on growth performance of African catfish *Clarias gariepinus* and *Aeromonas sobria* challenge. Croatian Journal of Fisheries, 73, 13 – 19
- Pourmozaffar S., A. Hajimoradloo, H. Kolangi Miandare (2017): Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish & Shellfish Immunology 60, 65 – 71



Richards K. (1999): Moulds: Their effect on nutrition and prevention. in Jin, Z.; Liang, Q.; Liang, Y.; Tan, X.; Guan, L. (Eds.), Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection, 14-19 October 1998, Beijing, China. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, China, 1999. (ISBN 7536440987), 255 – 260

Schumacher V. (2019): Spatio-temporal pattern of pH values along the Gastrointestinal tract of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Master's Thesis Animal Science, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Landwirtschaftliche Fakultät

Shekhar, M., S. Singh, A. A. A. Khan, S. Kumar (2009): Efficacy of inorganic salts and organic acids against colony growth of *Aspergillus flavus* and their use to control Aflatoxin level in post-harvest maize. Internet Journal of Food Safety, 11, pp. 4-10

Tong, C. H., F. A. Draughton (1985): Inhibition by antimicrobial food additives of Ochratoxin A production by *Aspergillus sulphureus* and *Penicillium viridicatum*. Applied Environmental Microbiology 49, pp. 1407-1411.

Wassef E. A., N. E. Saleh, N. E. Abdel-Meguid, K. M. Barakat, H. H. Abdel-Mohsen, N. M. El-bermawy (2019): Sodium propionate as a dietary acidifier for European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fry: immune competence, gut microbiome, and intestinal histology benefits. Aquaculture international, doi.org/10.1007/s10499-019-00446-7

Yufera M., F. J. Moyano, A. Astola, P. Pousao-Ferreira, G. Martinez-Rodriguez (2012): Acidic digestion in a teleost: postprandial and circadian pattern of gastric pH, pepsin activity and pepsinogen and proton pump mRNAs expression, PLoS ONE 7(3): e33687. doi:10.1371/journal.pone.0033687

Para obtener más información, www.phibrosaludanimal.com