República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0900411-4 A2**

BRPI0900411A2

(22) Data de Depósito: 19/01/2009
(43) Data da Publicação: 07/12/2010
(RPI 2083)

(51) Int.Cl.:
A23L 1/054

(54) Título: **ADITIVO ALIMENTAR EMPREGADO NA FORMULAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO PROBIÓTICA, O SEU USO E O PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO MESMO**

(73) Titular(es): Ismael Maciel de Mancilha, Talita de Paula e Mancilha, Tamara de Paula e Mancilha, Taíza de Paula e Mancilha, Taíza de Paula e Mancilha, Taíza de Paula e Mancilha, Taíza de Paula e Mancilha

(72) Inventor(es): Ismael Maciel de Mancilha, Talita de Paula e Mancilha, Tamara de Paula e Mancilha, Taíza de Paula e Mancilha, Taíza de Paula e Mancilha, Taíza de Paula e Mancilha, Taíza de Paula e Mancilha

(57) Resumo: ADITIVO ALIMENTAR EMPREGADO NA FORMULAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO PROBIOTICA, O SEU USO E O PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO MESMO. A presente invenção consiste no desenvolvimento de um aditivo alimentar empregado na formulação de uma preparação probiótica contendo bactérias lácticas do género Lactabaclilus, que encontra ampla aplicação nas áreas da zootecnia e veterinária (saúde e nutrição animal), que poderá ser administrada diretamente aos animais ou adicionada na formulação de rações. Para tanto, as referidas bactérias são previamente ativadas em meio líquido constituído de melaço (10%) e farelo de arroz (5 g/L) e posteriormente crescidas em meio de fermentação semi-sólido constituído por farelo de trigo e farelo de arroz (2:3). Após a inoculação este meio é embalado a vácuo em sacos plásticos e incubado por um período aproximado de 30 dias a temperatura ambiente (25-35°C) obtendo-se o referido aditivo alimentar. Este aditivo quando incluído na dieta diária dos animais, contribui para o balanço adequado da microbiota do TGI e confere aos animais bovinos resistência à infestação por carrapatos. Este efeito se deve às propriedades probióticas destas bactérias, notado principalmente sobre o sistema imunológico dos animais e se apresenta como uma alternativa ao uso de produtos químicos no controle destes ectoparasitos em bovinos.

PI0900411-4

ADITIVO ALIMENTAR EMPREGADO NA FORMULAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO PROBIÓTICA, O SEU USO E O PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO MESMO

O presente pedido de patente de invenção consiste de um aditivo alimentar empregado numa preparação probiótica constituída por espécies de bactérias lácticas do gênero *Lactabacillus,* que se desenvolvem em um processo de fermentação semi-sólida em meio constituído de farelo de trigo e farelo de arroz em condições anaeróbias a temperatura de 25 a 35°C por 30 dias.

Este aditivo alimentar empregado na formulação da preparação probiótica quando oferecido diariamente aos bovinos em doses de 80 – 100 gramas, contribui para a manutenção do equilíbrio da microbiota do trato gastro digestivo (TGI), promovendo aumento da resistência à infestação por carrapatos *(Boophilus microplus),* permitindo uma melhora no seu desempenho zootécnico.

O aditivo alimentar empregado na formulação da preparação probiótica, objeto da presente invenção, encontra ampla aplicação na área da zootecnia e veterinária, especificamente no campo da nutrição animal, que poderá ser administrada diretamente aos animais, bem como ser adicionada na formulação de rações.

A fundamentação teórica que sustenta a viabilidade do emprego do referido aditivo, objeto do pedido de patente, na nutrição e saúde animal está embasada nas propriedades das espécies de lactobacilos que são encontrados em sua formulação. Estas espécies de microrganismos pertencem ao grupo das bactérias lácticas (FERREIRA, 2003), são amplamente distribuídas na natureza e, algumas delas, quando consumidas em número elevado, apresentam a propriedade de sobreviver às condições do TGI, repondo a microbiota intestinal desbalanceada pela dieta, por tratamento com antibiótico/quimioterapia ou por estresse do hospedeiro (VANBELLE. et al, 1990).

Além disso, outras funções têm sido atribuídas a este grupo de microrganismos, conforme reportado por Vandelle et al (1990), Perdigon, et al (1991), Wood, (1992), Goktepe, et al (2006) e Salminen (1998) destacando-se: a) inibição da proliferação de bactérias patogênicas por meio da produção de ácidos orgânicos e substâncias antibióticas, ou pela redução do pH; b) produzem H_2O_2 e previnem a adesão de bactérias patogênicas; c) produzem metabólitos capazes

de neutralizar toxinas bacterianas "in situ" ou pela inibição de sua produção; d) por meio de suas enzimas, estes microrganismos melhoram a digestão e utilização dos alimentos, ou promovem a detoxificação resultante da presença de metabólitos produzidos pela microbiota intestinal; e) estimulam o sistema imunológico, produzem vitaminas e aumentam a atividade celular no tocante a síntese de lactase, sacarase e maltase; f) proliferam-se no trato digestivo do hospedeiro e competem com bactérias patogênicas; g) reduzem o catabolismo microbiano proporcionando um melhor equilíbrio da microbiota intestinal, tendo como conseqüência redução na produção e adsorção de substâncias tóxicas, assegurando melhor proteção pelos sais biliares e ácidos graxos contra a biotransformação em produtos tóxicos e nocivos à saúde do hospedeiro.

A busca nos bancos de patentes pertinentes tem revelado a existência de aditivos alimentares na formulação de preparações probióticas (PI3800271, PI0111275, PI0013110, PI9814936, PI0103326, PI0007481, PI0516540-7, PI0007166-8, PI0413008-1, PI0116178-4, PI9408295-2, PI0504245-3, EP1693445, EP1967196, EP1541673, EP1759597, EP1901612, USPTO4518696, USPTO6221350, USPTO7179460, RE40457, RU2322995, BG000928U, US2007178079) que são constituídos por diferentes espécies de microrganismos, para uso humano e em animais domésticos, que visam, principalmente, contribuir para o bem estar do hospedeiro.

Neste contexto, vale ressaltar que o aditivo alimentar, objeto do referido pedido de patente, é totalmente diferente no que se refere a sua composição, forma de preparação, maneira de administração aos animais e, sobretudo, o efeito observado nos animais bovinos que, além de contribuir para o balanço adequado da microbiota do TGI, confere também resistência a infestação por carrapatos.

É sabido que no Brasil o prejuízo causado pela infestação de bovinos por carrapatos atinge a cifra de R$ 1 bilhão. Por outro lado, vale destacar que os produtos químicos encontrados no mercado apresentam eficácia comprometida devido ao aumento da resistência dos ectoparasitos pelos princípios ativos que compõem estes produtos. Como decorrência deste processo observa-se a geração de produtos de elevado grau de toxicidade tanto para o homem como para o animal e o meio ambiente. No tocante aos critérios relativos à seleção de

microrganismos probióticos, a literatura é bastante ampla (Wood, 1992; Goktepe, et al. 2006, Fuller, 1992a, 1992b) e revela que para tanto deve-se considerar os seguintes aspectos: a) resistir à ação das enzimas líticas da saliva e do trato gastro digestivo; b) resistir ao pH baixo do estômago por algumas horas; c) resistir aos sais biliares; d) desempenhar o seu metabolismo no baixo pH do intestino para prevenir o desenvolvimento de patogênicos e para reduzir a produção de toxinas e substâncias que causam injúrias no hospedeiro; e) produzir "in vivo" antibióticos tais como bactericina, nisina, acidofilina, lactalina ou "killer toxin" produzidas por leveduras, resistir à ação de antibióticos presentes na alimentação; f) apresentar capacidade de adesão à parede celular do intestino ou colonizar a mucosa e "glicocalix"; g) devem se apresentar vivos (fácil proliferação "in vivo" e "in vitro") na concentração de 10^6 a 10^7 células/grama de alimento; h) apresentar propriedades imunológicas para fins de estimular as células responsáveis pela imunomodulação; i) apresentar características desejáveis relativas à tecnologia de propagação e preparo, e estabilidade à temperatura durante as operações de peletização e pulverização, dentre outras.

Conforme reportado na literatura pertinente, diversos fatores interferem na eficácia de aditivos alimentares constituídos por microrganismos que apresentam propriedades probióticas. Dentre estes se destacam a cepa microbiana que deve apresentar uma série de características visando atender aos critérios que a consideram microrganismo probiótico. Desta forma, a presente invenção tem por objetivo viabilizar a introdução de um aditivo alimentar empregado na formulação de uma preparação probiótica que contém células de lactobacilos, na dieta de bovinos com a finalidade de melhorar o desempenho zootécnico e a resistência dos mesmos a infestação por carrapatos.

Vale ressaltar que as cepas microbianas que compõem o aditivo alimentar, empregado na formulação da preparação probiótica em pauta, é inexistente nos produtos disponíveis no comércio, bem como a técnica de preparo, que caracteriza a atividade inventiva do presente pedido de patente. Quando ingerido pelos animais bovinos diariamente em doses de 80 a 100 g, estes microrganismos atuam principalmente sobre o sistema imunológico dos animais tornando-os resistentes à infestação por carrapato, bem como melhorando o seu bem estar e, por conseguinte, melhorando seu desempenho zootécnico.

Este aditivo alimentar, objeto deste pedido de patente, é preparado considerando as seguintes etapas:

1-Preparo do inóculo: a partir de uma cultura estoque das cepas específicas de *Lactobacillus* uma alíquota desta suspensão, correspondente a 1% (v/v) do volume de meio, é transferida para um frasco contendo meio líquido constituído de melaço (10%) enriquecido com farelo de arroz (5 g/L), tratado termicamente (100°C/30min), após o que o frasco é incubado a temperatura ambiente (25 – 35 °C) por 7 dias. Em seguida esta suspensão celular é diluída em água potável na proporção de 1:100 e inoculada no meio de fermentação semi sólido.

2-Preparo do meio e condições de fermentação: o meio de fermentação é composto por farelo de trigo e farelo de arroz na proporção de 2:3. Este meio é inoculado com a respectiva suspensão de células devidamente diluída, após o que é acondicionado a vácuo em sacos plásticos e incubados a temperatura ambiente (25 – 35 °C) por 30 dias e então oferecido aos bovinos.

REIVINDICAÇÕES

1- ADITIVO ALIMENTAR EMPREGADO NA FORMULAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO PROBIÓTICA, caracterizado por compreender um meio de fermentação semi-sólido constituído por farelo de trigo e farelo de arroz (2:3), que é inoculado com uma suspensão de células de *Lactobacillus*, embalado a vácuo e incubado por um período aproximado de 30 dias a temperatura ambiente (25 – 35 °C);

2-PROCESSO PARA PREPARAR O ADITIVO ALIMENTAR DEFINIDO NA REIVINDICAÇÃO 1, caracterizado pela ativação de uma cultura estoque de cepas específicas de *Lactobacillus* em meio líquido constituído de melaço (10%), enriquecido com farelo de arroz (5 g/L), tratado termicamente (100°C/30min), incubado a temperatura ambiente (25 – 35 °C) por 7 dias, sendo que a suspensão celular resultante é diluída em água potável na proporção de 1:100 e inoculada no meio de fermentação semi sólido constituído de farelo de trigo e farelo de arroz (2:3);

3- USO DO ADITIVO ALIMENTAR DEFINIDO NA REIVINDICAÇÃO 1, caracterizado por ser utilizado na formulação de uma preparação probiótica para combater carrapatos em bovinos.

PI 0900411-4

RESUMO

ADITIVO ALIMENTAR EMPREGADO NA FORMULAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO PROBIÓTICA, O SEU USO E O PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO MESMO.

A presente invenção consiste no desenvolvimento de um aditivo alimentar empregado na formulação de uma preparação probiótica contendo bactérias lácticas do gênero *Lactabacillus*, que encontra ampla aplicação nas áreas da zootecnia e veterinária (saúde e nutrição animal), que poderá ser administrada diretamente aos animais ou adicionada na formulação de rações. Para tanto, as referidas bactérias são previamente ativadas em meio líquido constituído de melaço (10%) e farelo de arroz (5 g/L) e posteriormente crescidas em meio de fermentação semi-sólido constituído por farelo de trigo e farelo de arroz (2:3). Após a inoculação este meio é embalado a vácuo em sacos plásticos e incubado por um período aproximado de 30 dias a temperatura ambiente (25-35 °C) obtendo-se o referido aditivo alimentar. Este aditivo quando incluído na dieta diária dos animais, contribui para o balanço adequado da microbiota do TGI e confere aos animais bovinos resistência à infestação por carrapatos. Este efeito se deve às propriedades probióticas destas bactérias, notado principalmente sobre o sistema imunológico dos animais e se apresenta como uma alternativa ao uso de produtos químicos no controle destes ectoparasitos em bovinos.