

19



Octrooi Centrum
Nederland

11 2000548

12 C OCTROOI⁶

21 Aanvraag om octrooi: 2000548

51 Int.Cl.:
A23K1/16 (2006.01) A61K35/74 (2006.01)
A61P3/06 (2006.01)

22 Ingediend: 19.03.2007

41 Ingeschreven:
22.09.2008 I.E. 2008/11

47 Dagtekening:
22.09.2008

45 Uitgegeven:
03.11.2008 I.E. 2008/11

73 Octrooihouder(s):
IPSTAR B.V. te Soest.

72 Uitvinder(s):
Robertus Christiaan Josephus Suters te
Rosmalen.
Jozef Johannes de Swart te Soest.

74 Gemachtigde:
Ir. H.Th. van den Heuvel c.s. te 5200 BN
's-Hertogenbosch.

54 Rhodospirillum en Phaeospirillum in diervoeder voor het verkrijgen van voedingsproducten met een verlaagd cholesterolgehalte.

57 De uitvinding betreft het gebruik van Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp als diervoeder voor productiedieren voor verlaging van het cholesterolgehalte van voedingsproducten verkregen van de productiedieren, waaronder zoogdieren, vissen en pluimvee. De uitvinding betreft tevens een werkwijze voor het verkrijgen van voedingsmiddelen zoals vlees, zuivel en eieren, met een verlaagd cholesterolgehalte en een diervoeder voor productiedieren.

NL C 2000548

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Octrooi Centrum Nederland is een agentschap van het ministerie van Economische Zaken.

Rhodospirillum en Phaeospirillum in diervoeder voor het verkrijgen van voedingsproducten met een verlaagd cholesterolgehalte

- De uitvinding betreft het gebruik van *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp als diervoeder voor productiedieren voor verlaging van het cholesterolgehalte van voedingsproducten verkregen van de productiedieren. De uitvinding betreft tevens een werkwijze voor het verkrijgen van voedingsmiddelen met een verlaagd cholesterolgehalte. De uitvinding betreft tevens een voedingsmiddel met een verlaagd cholesterolgehalte. De uitvinding betreft voorts een diervoeder voor productiedieren.
- Een hoge cholesterolspiegel in het bloed wordt gezien als een factor die de kans op hart- en vaatziekten bij mensen verhoogt. Een belangrijke factor voor het krijgen van een hoge cholesterolspiegel is de opname van cholesterol uit voeding. Het is wenselijk om voedsel te nuttigen met een laag cholesterolgehalte. Voor natuurlijke producten afkomstig van productiedieren (waaronder koeien, varkens en kippen) zoals vlees en melk, is het echter moeilijk om een laag cholesterolgehalte te bewerkstelligen. Dit geldt tevens voor afgeleide producten, zoals boter.
- Het is een doel van de uitvinding een eenvoudige methode te verschaffen het cholesterolgehalte van producten van dierlijke afkomst te verlagen.
- De uitvinding verschaft hiertoe het gebruik van *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp als diervoeder voor productiedieren voor verlaging van het cholesterolgehalte van voedingsproducten verkregen van de productiedieren.
- Rhodospirillum* spp. en *Phaeospirillum* spp zijn bacteriestammen, die bij voortdurend gebruik als voeder voor dieren het cholesterolgehalte van producten verkregen van die dieren blijkt te verlagen ten opzichte van dieren die hetzelfde dieet gebruiken zonder *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp. *Rhodospirillum* spp. en *Phaeospirillum* spp kunnen worden gebruikt als voedsel in levende vorm of als preparaat verkregen uit de bacteriën, zoals een gevriesdroogd preparaat of een extract. Er kan één soort bacterie gebruikt worden, maar het is tevens denkbaar verschillende geslachten van bacteriën te vermengen en als mengsel aan de productiedieren te voederen. Productiedieren omvatten bijvoorbeeld; zoogdieren, in het bijzonder herkauwers zoals koeien en schapen; pluimvee, in het bijzonder kippen en kalkoenen; en gekweekte vis, in het

bijzonder zalm, forel en baarzen. De bacteriën zijn eenvoudig te kweken en te verwerken volgens bekende methoden, en blijken tevens eenvoudig in verschillende soorten diervoeder verwerkt te kunnen worden.

- 5 Rhodospirillum is een geslacht van de familie Rhodospirillaceae, een familie van purperen niet-zwavel bacteriën. Binnen het genus Rhodospirillum, worden drie soorten onderscheiden: Rhodospirillum rubrum (Imhoff and Truper, 1992), Rhodospirillumcentenum and Rhodospirillumphotometricum. Verder zijn vier officieel niet erkende ondersoorten bekend: Rhodospirillumsalexigens, Rhodospirillum
- 10 salinarum, Rhodospirillum sodomense, en Rhodospirillum tenue. Binnen het geslacht Phaeospirillum, dat eveneens onderdeel is van de familie Rhodospirillaceae, zijn twee soorten inbegrepen: Phaeospirillum fulvum en Phaeospirillum molischianum. Voor de nomenclatuur wordt verwezen naar Imhoff JF, Petri R, Suling J, Int. J. System . Bacteriol. 1998, 48, 793-798 en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und
- 15 Zellkulturen GmbH. Bacterial nomenclature: www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm.

- Uit WO 2004/052380 is bekend dat geslachten van Rhodospirillum en Phaeospirillum het cholesterolgehalte in bloed en plasma van speciale muizenmodellen kan verlagen. Verrassenderwijs blijkt het ook mogelijk met behulp van dezelfde bacteriën het
- 20 cholesterolgehalte in het vet en vlees van productiedieren te verlagen, alsmede in melk en eieren verkregen van die productiedieren. Onder productiedieren worden dieren verstaan (waaronder koeien, varkens, kippen en kalkoenen) die producten (vlees, vet, eieren, melk) voortbrengen die geschikt zijn voor menselijke consumptie; proefdieren zoals de speciale muizenstam beschreven in WO 2004/052380 vallen hier niet onder.

- 25 De in de internationale aanvraag WO 2004/052380 (uitvinders Emeis en Lasseur) beschreven geslachten van Rhodospirillum en Phaeospirillum blijken in het bijzonder geschikt te zijn als voedsel voor productiedieren voor verlaging van het cholesterolgehalte in producten van deze productiedieren.

- 30 In een voorkeursuitvoering is het productiedier een zoogdier, waarbij het voedingsproduct vleesproducten en/of zuivelproducten omvat. De zuivelproducten omvatten melk, en daar van afgeleide producten zoals boter, yoghurt en kaas. In het bijzonder geschikte zoogdieren zijn runderen, varkens, schapen en geiten.

In een andere voorkeursuitvoering is het productiedier pluimvee is, waarbij het voedingsproduct vleesproducten en/of eieren omvat. In het bijzonder geschikte soorten pluimvee zijn kippen, kalkoenen, struisvogels en eenden.

5

Bij voorkeur bevat *Rhodospirillum* spp. gebruikt volgens de uitvinding ten minste één stam geselecteerd uit de groep bestaande uit *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodospirillum centenum*, *Rhodospirillum photometricum*, *Rhodospirillum salexigens*, *Rhodospirillum salinarum*, *Rhodospirillum sodomense*, en

10 *Rhodospirillum tenue*.

Bij voorkeur bevat *Phaeospirillum* spp. ten minste één stam geselecteerd uit *Phaeospirillum fulvum* of *Phaeospirillum molischianum*.

- 15 De uitvinding verschaft tevens een werkwijze voor het verkrijgen van voedingsmiddelen met een verlaagd cholesterolgehalte, omvattende de bewerkingsstappen: - het voederen van een productiedier met een diervoeder omvattende *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp, in een dusdanige hoeveelheid en gedurende een dusdanige tijd dat het cholesterolgehalte van een beoogd
- 20 voedingsproduct verkrijgbaar van het productiedier verlaagd is in vergelijking met het cholesterolgehalte van een productiedier dat gevoed is met een diervoeder zonder *Rhodospirillum* spp., en het verkrijgen van het voedingsproduct met verlaagd cholesterolgehalte van het productiedier. Deze methode maakt het mogelijk op eenvoudige wijze voedselproducten te verkrijgen met een verlaagd cholesterolgehalte
- 25 ten opzichte van producten van dieren die een dieet zonder *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp. Een gehalte van 0,5 gewichtsprocent *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp in het toegediende voer, toegediend over een periode van ten minste twee weken, is doorgaans voldoende om een significante afname van cholesterol in de verkregen producten waar te nemen. Bij voorkeur wordt echter toegediend over een
- 30 aaneengesloten periode van ten minste vier weken. Bij voorkeur is het gehalte *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp ten minste 1 gew.%, waardoor een lager cholesterolgehalte in de producten wordt bewerkstelligd, en het gewenste gehalte sneller wordt bereikt. Gehalten hoger dan 15 gewichtsprocent *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp geven in de praktijk slechts een minimale verdere verlaging van de

in de producten gemeten cholesterol gehalten ten opzichte van 15 gewichtsprocent. Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp kunnen zowel in levende vorm of als preparaat worden toegediend. De opgegeven gehalten zijn voor levende bacteriën; een equivalente hoeveelheid preparaat kan eveneens gebruikt worden.

5

De uitvinding verschaft verder een voedingsproduct met een verlaagd cholesterolgehalte, verkrijgbaar middels de werkwijze volgens de uitvinding. Hieronder vallen in het bijzonder vleesproducten en vetproducten verkregen door het slachten van dieren die gevoed zijn met de methode volgens de uitvinding. Ook producten als eieren, melk en daar van afgeleide producten vallen hier onder.

10

De uitvinding verschaft voorts een diervoeder voor productiedieren, omvattende Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp. Een dergelijk diervoeder maakt het mogelijk eenvoudig het cholesterol gehalte te verlagen van producten afkomstig van productiedieren gevoed met het diervoeder volgens de uitvinding.

15

Bij voorkeur omvat het diervoeder ten minste 0,5 gewichtsprocent Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp. Bij voeren met een dergelijk diervoeder wordt binnen enkele weken een significante afname van het cholesterolgehalte in de verkregen producten waargenomen.

20

In een voorkeursuitvoering omvat het diervoeder tussen 0,5 – 15 gewichtsprocent Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp. Boven 15 gewichtsprocent is het extra cholesterolverlagende effect in producten ten opzichte van 15 gewichtsprocent minimaal, en daarmee een weinig efficiënt gebruik van de relatief dure Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp.

25

Meer bij voorkeur omvat het diervoeder tussen 0,5 en 5 gewichtsprocent Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp. Bij een dergelijk percentage wordt eenvoudig en zonder bijwerkingen binnen een tijd van enkele weken een verlaagd cholesterolgehalte in de producten bereikt. Tussen 5 en 15 gewichtsprocent is het extra cholesterolverlagende effect ten opzichte van 5 gewichtsprocent relatief klein, en daarmee minder efficiënt.

30

In een voorkeursuitvoering is het diervoeder geschikt voor zoogdieren, omvattende tussen 0,5 en 15 gewichtsprocent Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp aangevuld met zoogdiervoeder. Zoogdiervoeder kan zowel ruwvoeder als krachtvoer omvatten, waarbij ruwvoeder doorgaans in hoofdzaak bestaat uit vers gras, ingekuild gras en/of ingekUILde maïs, en het krachtvoer bestaat uit extra toegevoegde nutriënten, met name eiwitten, vitaminen en mineralen. In principe kan elk geschikt in de handel verkrijgbaar voeder gebruikt worden. Bij voorkeur zijn Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp gemengd met het krachtvoer, omdat dit het meest eenvoudige te doseren is. De precieze samenstelling hangt onder meer samen met het type zoogdier en het beoogde resultaat, bijvoorbeeld vleesproductie of melkproductie.

In een andere voorkeursuitvoering is het diervoeder geschikt voor pluimvee, omvattende tussen 0,5 en 15 gewichtsprocent Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp aangevuld met pluimveevoeder. Pluimveevoeder is een mengsel van ruwvoeder en krachtvoer, waarbij ruwvoeder bestaat uit met name zaden zoals maïs, graan en/of lijnzaad, en het krachtvoer bestaat uit extra toegevoegde stoffen, met name eiwitten, vitaminen en mineralen. In principe kan elk geschikt in de handel verkrijgbaar voeder gebruikt worden. Bij voorkeur zijn Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp gemengd met het krachtvoer, omdat dit het meest eenvoudige te doseren is. De precieze samenstelling hangt onder meer samen met het type zoogdier en het beoogde resultaat, bijvoorbeeld een verbeterde vleesproductie of eierproductie.

In nog een andere voorkeursuitvoering is het diervoeder geschikt voor vissen, omvattende tussen 0,5 en 15 gewichtsprocent Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp aangevuld met visvoeder. Visvoeder omvat doorgaans in het bijzonder eiwitten en vetten van dierlijke oorsprong, eventueel aangevuld met krachtvoer omvattende extra eiwitten, vitaminen en mineralen. In principe kan elk geschikt in de handel verkrijgbaar voeder gebruikt worden. De precieze samenstelling hangt onder meer samen met het type zoogdier en het beoogde resultaat.

De uitvinding zal nu worden toegelicht aan de hand van de volgende voorbeelden.

Voorbeeld 1.

Productie van cholesterolarme zuivelproducten. Herkauwers voor melkproductie (koeien, schapen en geiten) worden gevoed met een mengvoer omvattende ruwvoer en krachtvoer, dat alle essentiële nutriënten bevat. Aan dit krachtvoer wordt bovendien 0,5 – 5% (gew/gew) *R. Rubrum* toegevoegd. Vanaf 6 tot 12 weken na begin van deze voeding (afhankelijk van de dosering, ras van het dier en samenstelling van de overige voeding) wordt in het melkvet een significante reductie van het cholesterolgehalte vastgesteld. Bij verwerking van de melk tot zuivelproducten komt dit verlaagde cholesterolgehalte eveneens tot uitdrukking.; de reductie in cholesterolgehalte wordt ook vastgesteld in de melk, boter, kaas en andere zuivelproducten, die met deze melk zijn bereid. In dit voorbeeld is *Rhodospirillum rubrum* gebruikt, dat de beste resultaten gaf en een goede verwerkbaarheid heeft; echter met de andere bacteriën volgens de uitvinding zijn eveneens goede resultaten bereikbaar. De dieren kregen naast het gebruikelijke ruwvoer (vers gras en/of ingekuild gras/maïs) krachtvoer omvattende mineralen, vitaminen en extra eiwitten, vermengd met *Rhodospirillum rubrum* volgens tabel I. Mengsel 2, met een hogere dosering, liet tevens een grotere afname in het cholesterolgehalte van de geproduceerde melk zien dan mengsel 1. Mengsel 3 gaf resultaten die niet veel verschilden van mengsel 2.

20 Tabel I: Samenstelling voer (gewichtspcent)

	Mengsel 1	Mengsel 2	Mengsel 3
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	4	8	20
krachtvoer	96	92	80

Voorbeeld 2.

Productie van cholesterolarm vlees en vleesproducten.

25 Landbouwhuisdieren, die gehouden worden voor de vleesproductie (varken, vleesrunderen, vis en pluimvee) worden gevoed met een voer, dat alle essentiële nutriënten bevat voor de betreffende diersoort. Aan dit voer wordt bovendien toegevoegd 0,5- 5% (gew/gew) *R. Rubrum*. 4- 12 weken na begin van deze voeding wordt met behulp van bekende meetmethoden een significante reductie in de eetbare delen (vlees, organen en vet) van het slachtdier vastgesteld; deze reductie wordt ook

- 5 vastgesteld in vleesproducten die met deze delen zijn geproduceerd. Mengsel 4 bevatte alleen *Rhodospirillum rubrum*, Mengsel 5 zowel *Rhodospirillum rubrum* als *Phaeospirillum fulvum*, en mengsel 6 alleen *Phaeospirillum fulvum*. Alle drie de mengsels gaven vergelijkbare resultaten in cholesterolverlaging van het geproduceerde vlees.

Tabel II. Samenstelling voer (gewichtsprocent)

	Mengsel 4	Mengsel 5	Mengsel 6
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	3	1,5	-
<i>Phaeospirillum fulvum</i>	-	1,5	3
voer	97	97	97

Voorbeeld 3.

- 10 Productie van cholesterolarme eieren.
- Leghennen worden gevoed met een voer, dat alle essentiële nutriënten bevat. Aan dit voer wordt bovendien toegevoegd 0,5- 5% (gew/gew) *R. Rubrum*. 8- 18 weken na begin van deze voeding wordt een significante reductie in de dooier van het ei vastgesteld; deze reductie wordt ook vastgesteld in eiproducten die met deze eieren zijn
- 15 geproduceerd. Mengsel 8 gebruikte een relatief hoge dosering *Rhodospirillum rubrum*, en liet een significante verlaging van het cholesterolgehalte zien ten opzichte van mengsel 7.

Samenstelling voer (gewichtsprocent):

	Mengsel 7	Mengsel 8
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	1	5
kippevoer	99	95

Claims

1. Gebruik van *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp als diervoeder voor productiedieren voor verlaging van het cholesterolgehalte van voedingsproducten verkregen van de productiedieren.
5
2. Gebruik volgens conclusie 1, waarin het productiedier een zoogdier is, waarbij het voedingsproduct vleesproducten en/of zuivelproducten omvat.
3. Gebruik volgens conclusie 2, met het kenmerk dat het zoogdier is geselecteerd
10 uit de groep bestaande uit runderen, varkens, schapen en geiten.
4. Gebruik volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat het productiedier pluimvee is, waarbij het voedingsproduct vleesproducten en/of eieren omvat.
15
5. Gebruik volgens conclusie 4, met het kenmerk, dat het pluimvee is geselecteerd uit de groep bestaande uit kippen, kalkoenen, struisvogels en eenden.
6. Gebruik volgens één der voorgaande conclusies, met het kenmerk, dat
20 *Rhodospirillum* spp. ten minste één stam bevat geselecteerd uit de groep bestaande uit *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodospirillum centenum*, *Rhodospirillum photometricum*, *Rhodospirillum salexigens*, *Rhodospirillum salinarum*, *Rhodospirillum sodomense*, en *Rhodospirillum tenue*.
7. Gebruik volgens één der voorgaande conclusies, met het kenmerk, dat
25 *Phaeospirillum* spp. ten minste één stam bevat geselecteerd uit *Phaeospirillum fulvum* of *Phaeospirillum molischianum*.
8. Werkwijze voor het verkrijgen van voedingsmiddelen met een verlaagd
30 cholesterolgehalte, omvattende de bewerkingsstappen:
- het voederen van een productiedier met een diervoeder omvattende *Rhodospirillum* spp. en/of *Phaeospirillum* spp, in een dusdanige hoeveelheid en gedurende een dusdanige tijd dat het cholesterolgehalte van een beoogd voedingsproduct verkrijgbaar

van het productiedier verlaagd is in vergelijking met het cholesterolgehalte van een productiedier dat gevoed is met een diervoeder zonder Rhodospirillum spp., en - het verkrijgen van het voedingsproduct met verlaagd cholesterolgehalte van het productiedier.

5

9. Voedingsproduct met een verlaagd cholesterolgehalte, verkrijgbaar middels de werkwijze volgens conclusie 8.

10. Diervoeder voor productiedieren, omvattende Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp.

11. Diervoeder volgens conclusie 8, met het kenmerk dat het diervoeder ten minste 0,5 gewichtsprocent Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp. omvat.

15

12. Diervoeder volgens conclusie 10 of 11, met het kenmerk dat het diervoeder tussen 0,5 – 15 gewichtsprocent Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp omvat.

20 13. Diervoeder volgens conclusie 12, met het kenmerk dat het diervoeder tussen 0,5 en 5 gewichtsprocent Rhodospirillum spp. en/of Phaeospirillum spp omvat.

25 14. Diervoeder volgens één der conclusies 10-13 voor zoogdieren, omvattende tussen 0,5 en 15 gewichtsprocent Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp aangevuld met zoogdiervoeder.

30 15. Diervoeder volgens één der conclusies 10-13 voor pluimvee, omvattende tussen 0,5 en 15 gewichtsprocent Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp aangevuld met pluimveevoeder.

16. Diervoeder volgens één der conclusies 10-13 voor vis, omvattende tussen 0,5 en 15 gewichtsprocent Rhodospirillum spp en/of Phaeospirillum spp aangevuld met visvoer.