

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102023000007371
Data Deposito	17/04/2023
Data Pubblicazione	17/10/2024

Classifiche IPC

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	F	13	511

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	F	13	512

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	F	13	84

Titolo

SUPPORTI SOLIDI RIVESTITI O INCORPORANTI PROBIOTICI E METABOLITI DI
MICRORGANISMI PROBIOTICI

SUPPORTI SOLIDI RIVESTITI O INCORPORANTI PROBIOTICI E METABOLITI DI MICRORGANISMI PROBIOTICI

5

CAMPO DELL'INVENZIONE

L'invenzione descrive materiali e processi per la loro fabbricazione, che possono essere incorporati in prodotti pensati per andare a contatto con il corpo umano come prodotti igienici assorbenti (pannolini per bambini, pannolini per l'incontinenza degli adulti e prodotti per l'igiene personale delle donne) comprendenti spore, metaboliti solubili e/o
10 lisati cellulari di microrganismi probiotici.

I materiali e i prodotti rivestiti o che incorporano tali spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismi probiotici produrranno effetti benefici per l'uomo una volta a contatto con il corpo.

15

SFONDO DELL'INVENZIONE

L'uso di assorbenti/proteggi mutandine convenzionali può aumentare la temperatura, l'umidità superficiale della pelle, il pH, modificando in tal modo in modo significativo il microclima della vulva che consente a microrganismi indesiderati di crescere eccessivamente e causare odori, prurito, disagi intimi. Complessivamente, durante le
20 mestruazioni, il livello di lattobacilli probiotici diminuisce e i cambiamenti nella normale flora vaginale provocano un cambiamento nel pH che consente a una varietà di anaerobi di crescere eccessivamente e produrre uno squilibrio vaginale che può provocare cattivo odore amminico, perdite, prurito, eruzioni cutanee vaginali, infezioni.

Ad esempio, le vaginosi batteriche, causate da *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*
25 e *Trichomonas spp*, rappresentano uno squilibrio ecologico del microbioma vaginale con diminuzione dell'acidità vaginale e della concentrazione di lattobacilli accompagnato da un aumento (100 volte in più) della concentrazione di altri microrganismi.

Inoltre, le infezioni del tratto urinario sono causate da una varietà di batteri tra cui *E. Coli* trovato nelle feci. Poiché l'intestino, la vagina e l'uretra sono molto vicini, è facile per i
30 batteri diffondersi all'uretra. Una flora vaginale sana aiuta a prevenire la formazione di batteri nocivi che entrino nel tratto urinario.

L'ambiente sfavorevole sotto il pannolino a causa della prolungata occlusione e l'esposizione ai fluidi organici (feci e urina) danneggia l'integrità della pelle, modifica il pH della pelle, provoca iperidratazione e cambiamenti nella flora microbica della pelle che portano alla produzione di dermatite da pannolino.

- 5 Un fattore riconosciuto nella dermatite da pannolino è il cambiamento del microbioma cutaneo con ceppi patogeni associati come *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*.

Probiotici

- 10 I probiotici sono batteri amici che conferiscono benefici per la salute agli esseri umani. L'applicazione sulla pelle dei probiotici può avere gli stessi benefici dei probiotici presi oralmente nel preservare/ripristinare l'equilibrio ecologico microbico che promuove la salute e la bellezza umana.

- 15 I probiotici non sono patogeni per l'uomo, allo stesso modo la loro presenza crea un ambiente ostile per la sopravvivenza di altri microrganismi patogeni. I probiotici possono essere utili nella difesa dell'ecosistema vulvare, promuovendo il microbioma vaginale sano, prevenendo così eruzioni vaginali, prurito, disagi intimi e cattivi odori, infezioni intime e nei pannolini per bambini e adulti per prevenire l'irritazione da pannolino.

- 20 I metaboliti solubili, i lisati cellulari e gli estratti di fermenti sono ottenuti dalla fermentazione di batteri probiotici. Sono una miscela di batteri morti, frammenti di parete cellulare e metaboliti solubili (acidi organici, acidi grassi liberi, perossido di idrogeno, batteriocine).

- 25 Il termine "metabolita solubile" si riferisce a un metabolita o metaboliti presenti nel supernatante di una coltura cellulare probiotica da cui sono state rimosse le cellule, tipicamente è composto da una miscela di acidi organici, acidi grassi liberi, perossido di idrogeno e batteriocine. In particolare le batteriocine (Lantibiotics, Non-Lantibiotics, Plantaricins, Lactacines, Lactococines, Lactococcin, Nisin, Leucocin) sono peptidi o proteine con attività antimicrobica.

Al giorno d'oggi, le batteriocine sono utilizzate per la conservazione degli alimenti, tra cui la nisina è la più popolare e ampiamente utilizzata, ad esempio, anche come conservante naturale per imballaggi alimentari.

- 30 Il termine "lisato cellulare" o "lisato" si riferisce a cellule probiotiche che sono state lisate con qualsiasi mezzo adatto. Ad esempio, le cellule possono essere lisate mediante sonicazione, omogeneizzazione, lisi chimica. Questi probiotici semi-attivi e non replicanti mantengono attività paragonabili alle forme vive, allo stesso modo dei probiotici viventi

sono in grado di interferire con la crescita di altri microrganismi indesiderati e possono suscitare determinate risposte immunitarie sulla pelle migliorando le funzioni della barriera cutanea e la salute vaginale.

- Le composizioni cosmetiche per applicazione locale contenenti probiotici e metaboliti probiotici forniscono benefici alla pelle (idratazione, proprietà antinfiammatorie e antimicrobiche, miglioramento dell'eczema atopico, dermatite atopica, guarigione di ustioni e cicatrici, proprietà ringiovanenti della pelle) e potrebbero anche prevenire i problemi legati alla sensibilità cutanea migliorando la resistenza della pelle agli stress esterni.
- 5
- 10 I probiotici e/o i loro metaboliti solubili e/o lisati cellulari sono utilizzati in composizioni per il trattamento topico della pelle sensibile, per prevenire e/o trattare sensazioni di disagio e disturbi associati alle funzioni della barriera cutanea (WO2012150269; ES2751994T3; WO2020165919A1). I probiotici sono anche incorporati in prodotti per l'igiene personale come assorbenti igienici salvaslip, tamponi, pannolini per bambini e
- 15 adulti. Ad esempio il brevetto WO2010/128906 si riferisce ad articoli sanitari contenenti una combinazione di batteri probiotici produttori di acido lattico con lipidi ossidati; in US 10 2004/0243076 è descritto l'uso di batteri probiotici in forma essiccata in combinazione con polvere adsorbente, in WO99/17813 e US2003/001281 è descritto l'uso di spore di probiotici in articoli assorbenti.
- 20 In queste invenzioni i probiotici vengono applicati all'interno della struttura del prodotto, dispersi nelle fibre del nucleo assorbente, in modo tale da non permettere ai microrganismi di entrare in diretto contatto con il corpo e la pelle, quindi non andando a diretto contatto con l'uomo microbiota.

- Di conseguenza, i benefici della presenza di probiotici vengono persi e rimangono limitati al solo controllo degli odori associati ai fluidi corporei assorbiti nella struttura del prodotto igienizzante.
- 25

- Un altro problema è assicurare la vitalità dei microrganismi durante il processo di realizzazione del prodotto, il suo stoccaggio e la conservazione poiché i batteri perdono rapidamente vitalità in condizioni umide, ed è quindi importante che i prodotti non siano esposti all'umidità. Un modo per superare in parte questo problema è stato quello di utilizzare batteri liofilizzati. Tuttavia, se i batteri nei prodotti non sono protetti dall'umidità dopo la fabbricazione dei prodotti, l'umidità dell'aria ucciderà successivamente i batteri e la durata di conservazione di tali prodotti sarà quindi ridotta.
- 30

Incorporare microrganismi vitali in materiali sintetici per poter integrare queste proprietà benefiche non è semplice. Infatti, materiali come fibre sintetiche, film plastici vengono preparati in condizioni di alta temperatura e/o alta pressione (es. estrusione, pellettizzazione, stampaggio, termoformatura, stampaggio a compressione, stampaggio a iniezione, formatura sottovuoto, schiumatura, fusione) e i microrganismi, per essere efficacemente incorporati in essa, devono rimanere vitali e resistere alle condizioni di alta pressione e/o alta temperatura applicate prima e durante il processo di produzione del materiale.

Le alte temperature, spesso combinate con processi ad alta pressione, sono dannose per la vitalità dei microrganismi. Ad esempio, la temperatura di lavorazione dei polimeri può essere superiore a 1000°C, che anche in normali condizioni di pressione è troppo elevata per l'incorporazione di materiale vivo.

L'impiego di microrganismi vivi e attivi a temperature di questo livello è impossibile senza conseguenze fatali per questi organismi. Pertanto, anche se gli organismi introdotti svolgessero un'attività utile a temperature ambiente normali, se l'incorporazione di organismi viventi o vitali durante la produzione del materiale non è realizzabile, non si può ottenere alcun beneficio.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce a materiali, in particolare film perforati termoplastici o materiali tessuti non tessuti, e metodi per produrli, comprendenti spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico. In particolare, dette spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico vengono incorporati nella matrice polimerica del film termoplastico forato o incorporati all'interno delle fibre del materiale tessuto non tessuto, oppure vengono applicati come rivestimento sulla superficie del film termoplastico forato o del materiale tessuto non tessuto, per creare una superficie con proprietà benefiche per la pelle, il corpo e/o le parti intime.

Le spore di specifici batteri probiotici dimostratisi sicuri, non patogeni, possono essere incorporate su un supporto solido da utilizzare come strato superiore in un prodotto finito. Tali composizioni e metodi consentiranno l'incorporazione di microrganismi vitali, in cui i microrganismi rimangono vitali durante le condizioni applicate per il processo di produzione, i materiali e lo stoccaggio del prodotto fino a quando il prodotto è in uso. Una volta che il prodotto è in uso, le spore diventeranno attive quando entrano a diretto contatto con il corpo e/o fluidi corporei e saranno in grado di interagire direttamente con il microbiota corporeo/cutaneo, potendo così fornire gli effetti benefici tipici dei probiotici

nel preservare/ripristinare l'equilibrio ecologico microbico da cui dipendono la salute e la bellezza della persona.

Metaboliti e/o lisati cellulari ed estratti di fermenti di batteri probiotici incorporati nel materiale vengono utilizzati sullo strato superiore in un prodotto finito per l'igiene
5 personale.

Tali composizioni sono pensate per garantire i migliori effetti benefici grazie all'ottimale contatto con il corpo mentre si indossa il prodotto.

Una volta che il prodotto è in uso, i metaboliti e/o i lisati cellulari dei batteri probiotici, a diretto contatto con il corpo e/o i fluidi corporei, saranno in grado di interagire
10 direttamente con il microbiota corporeo/cutaneo potendo così fornire i loro effetti benefici nella conservazione/o ripristinando l'equilibrio ecologico microbico su cui si basa la salute e la bellezza della persona.

I materiali contenenti microrganismi probiotici o i loro metaboliti possono dare benefici negli assorbenti femminili e nei salvaslip per difendere l'ecosistema vulvare e
15 promuovere un microbioma vaginale sano e nei pannolini per adulti e bambini per prevenire la dermatite da pannolino.

Oggetti della presente invenzione sono:

- un film perforato termoplastico comprendente spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico;
- 20 - un metodo per preparare un film termoplastico comprendente spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico nella matrice polimerica comprendente i seguenti passaggi:
 - i) miscelare di spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico con granuli di un polimero termoplastico per fornire una miscela con una concentrazione
25 totale di probiotici da 0,01% a 10% p/p;
 - ii) estrarre detta miscela ottenuta al punto i) ad una temperatura da 100°C a 350°C, una pressione da 0,1 MPa a 40,0 MPa, tempi medi di permanenza da 1 a 10 min; oppure pellettizzazione, termoformazione, stampaggio a compressione, stampaggio ad iniezione, impregnazione, formazione sottovuoto, schiumatura o fusione a caldo di detta
30 miscela ottenuta al punto i) per ottenere un film termoplastico;
- un metodo per preparare un film termoplastico rivestito con spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico, comprendente seguenti passaggi:

a) miscelare spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico per fornire una miscela con una concentrazione totale di probiotici da 0,01% a 10% p/p rispetto al peso del film termoplastico, opzionalmente anche con additivi;

5 b) spruzzare o rivestire un film termoplastico con detta miscela ottenuta nel passaggio a);

- un metodo per la preparazione di un film termoplastico perforato rivestito con spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico, comprendente le seguenti fasi:

10 a) introdurre un foglio di film termoplastico attraverso una fessura di perforazione (5) formata da un tamburo (4) recante perni perforanti e un rullo femmina (3), mentre i perni perforanti applicati sul tamburo passano attraverso un applicatore di materiali probiotici (6) prima di entrare in contatto con il foglio di pellicola termoplastica;

15 b) tenere a contatto il foglio di film termoplastico forato con i perni del rullo a tamburo fino ad una fase di distacco dai perni per azione di un rullo a depressione (7); detto rullo a depressione consente l'asportazione dell'eccesso di materiale applicato dai perni perforatori;

c) guidare il foglio di materiale forato (8) su un gruppo di raffreddamento (9) provvedendo così al fissaggio sulle pareti dei fori delle forature e alla stabilizzazione del disegno dei fori così ottenuti;

20 - un prodotto selezionato dal gruppo costituito da pannolini, assorbenti igienici, medicazioni per ferite, prodotti cosmetici, prodotti per la cura della persona e abbigliamento, comprendente la pellicola perforata termoplastica dell'invenzione o ottenibile da uno qualsiasi dei metodi dell'invenzione.

25 Ulteriori vantaggi e/o forme di realizzazione della presente invenzione risulteranno evidenti dalla seguente descrizione dettagliata. In ciascuna delle forme di realizzazione qui descritte, il termine "comprendente" può essere sostituito dal termine "costituito da".

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELLE FIGURE

30 **La Fig. 1.** riporta una rappresentazione schematica del metodo per la produzione del rivestimento dei materiali perforati dell'invenzione comprendenti le seguenti fasi:

- a) Introdurre un foglio di materiale attraverso una fessura di perforazione (5) formata da un tamburo (4) recante perni perforanti e un rullo femmina (3), mentre i perni perforanti applicati sul tamburo passano attraverso un applicatore di materiali probiotici (6) prima di entrare in contatto con il film di materiale.
- 5 b) Il foglio di materiale forato rimane a contatto con i perni del tamburo fino ad una fase di distacco dai perni per azione di un rullo a depressione (7); Inoltre detto rullo a depressione consente la rimozione della quantità in eccesso di materiale applicato dai perni perforanti.
- c) Il foglio di materiale perforato (8) viene quindi guidato su una unità di raffreddamento
- 10 (9) che provvede al fissaggio sulle pareti dei fori delle forature; anche detta unità di raffreddamento provvede alla stabilizzazione del disegno dei fori così ottenuto.

La Fig. 2. riporta un esempio di foro e schema di deposizione di materiale probiotico.

- In Fig. 3** due tessuti non tessuti: air-through-bonding (ATB) e spunlace sono stati rivestiti con due tipi di metaboliti probiotici (*Leuconostoc ferment filtrate* e *Lactobacillus ferment*).
- 15 L'attività antimicrobica dei tessuti rivestiti risultanti è stata esaminata contro *Escherichia coli* mediante il saggio di alone di inibizione: campioni di tessuti non tessuti rivestiti sono stati posti su una superficie di agar precedentemente inoculata con i microrganismi in esame. Dopo 24 ore di incubazione a 37- 40°C la capacità di entrambi i tessuti rivestiti di sopprimere/inibire la crescita di *Escherichia coli* è stata determinata dalle risultanti
- 20 aree di inibizione di crescita microbica.

- In Fig. 4** un film perforato in PE, un tessuto non tessuto air-through-bonding (ATB) e un tessuto non tessuto spunlace sono stati rivestiti con una batteriocina (nisina, nome commerciale Delvonis) e hanno acquisito attività antimicrobica contro il batterio indicatore *S. Aureus* dimostrata mediante il test di alone di inibizione in agar.
- 25 È stata valutata inoltre l'attività antimicrobica del film estruso. Campioni di materiali non trattati (controllo) e incorporanti nisina sono stati posti su una superficie di agar precedentemente inoculata con *S. aureus*. Dopo 24 ore di incubazione a 37-40 °C, la capacità di sopprimere/inibire la crescita di *S. aureus* è stata determinata dalle risultanti aree di inibizione della crescita rispetto al controllo.

- 30 **In Fig. 5** la vitalità delle spore rivestite su un film perforato di PE è determinata mediante saggio biologico di crescita/germinazione, il che significa che le spore che sopravvivono alle condizioni di lavorazione del rivestimento sviluppano colonie dopo l'inoculazione e vengono rilevate come vitali. I campioni rivestiti vengono tagliati in piccoli pezzi, quindi

sterilizzati immergendoli in etanolo (96%) per 10 minuti. Dopo la sterilizzazione, i campioni vengono immersi in 10 ml di soluzione salina fisiologica sterile e quindi inoculati su piastre di agar nutriente e incubati a 37°C per 24 ore.

5 **Nella Fig. 6** la vitalità delle spore estruse all'interno di un film perforato in PE è determinata mediante saggio biologico di crescita/germinazione, il che significa che le spore che sopravvivono alle condizioni di lavorazione dell'estrusione formano colonie dopo l'inoculazione e vengono rilevate come vitali. I campioni estrusi vengono tagliati in piccoli pezzi, quindi sterilizzati immergendoli in etanolo (96%) per 10 minuti. Dopo la sterilizzazione, i campioni vengono immersi in 10 ml di soluzione salina fisiologica sterile
10 e quindi inoculati su piastre di agar nutriente e incubati 25 a 37°C per 24 ore.

In Fig. 7 una batteriocina, la nisina, è stata incorporata in una plastica a base di polietilene ed è stata valutata l'attività mantenuta contro il batterio indicatore S. Aureus. 200 grammi di polietilene a bassa densità in polvere sono stati miscelati a secco con 8gr di nisina in polvere essiccata 30 con sali e proteine del latte con il nome commerciale
15 Delvonis. Il contenuto di nisina attiva della polvere era del 2,5% p/p. Il contenuto di nisina nel film era quindi dello 0,1% in peso. La temperatura di estrusione era di 120°C, il tempo di ritenzione nell'estrusore sottostante era di circa 7 min. L'attività antimicrobica del film estruso risultante è stata valutata mediante il saggio di diffusione in agar. Pezzi di pellicola sono stati posti su una superficie di agar precedentemente inoculata con S.
20 aureus. Dopo 24 ore di incubazione a 37-40 °C la capacità di soppressione/inibizione della crescita di S. aureus è stata determinata dalle risultanti aree di inibizione di crescita

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce a materiali e processi per la loro fabbricazione, che possono essere incorporati in prodotti pensati per essere a contatto con il corpo umano
25 come prodotti igienici assorbenti (pannolini per bambini, pannolini per incontinenza per adulti e prodotti per l'igiene personale delle donne) comprendenti spore, metaboliti solubili e /o lisati cellulari di microrganismi probiotici.

Materiali tessuti non tessuti

30 La presente invenzione riguarda materiali tessuti non tessuti comprendenti spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismi probiotici.

In una forma di realizzazione, detto microrganismo probiotico è incorporato all'interno delle fibre di detti tessuti non tessuti. Il termine "incorporato nelle fibre di detto materiale

tessuto non tessuto” significa che le spore, i metaboliti solubili e/o i lisati cellulari vengono aggiunti durante il processo di fabbricazione delle fibre di detto materiale tessuto non tessuto e sono in grado di rimanere vitali durante condizioni di alta pressione e/o alta temperatura applicate prima e durante il processo di produzione del materiale tessuto non tessuto.

In un'altra forma di realizzazione, detto materiale tessuto non tessuto è rivestito con detto microrganismo probiotico.

In una forma di realizzazione, detto materiale tessuto non tessuto è costituito da un substrato perforato di fibre. Il substrato perforato permette alle spore, metaboliti e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico, quando il materiale tessuto non tessuto è a diretto contatto con il corpo e/o fluidi corporei, di interagire direttamente con il microbiota corporeo/cutaneo, essendo così in grado di esplicare i loro effetti benefici nel preservare/ripristinare l'equilibrio ecologico microbico.

In una forma di realizzazione, le fibre sono fibre monocomponenti, bicomponenti o multicomponenti.

In una forma di realizzazione preferita, le fibre sono fibre di polipropilene, polietilene, poliestere, PLA, viscosa, lyocell, cotone, canapa, lino, cellulosa, kapok o una loro combinazione.

In una forma di realizzazione, dette fibre sono combinazioni di poliestere e viscosa, poliestere e cotone, viscosa e cotone, viscosa e canapa, viscosa e lino o PLA e viscosa.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, detto microrganismo probiotico è uno o più batteri sporigeni del genere *Bacillus* selezionato tra *Bacillus subtilis*, *Bacillus Licheniformis*, *Bacillus Polymyxa*, *Bacillus Circulans*, *Bacillus Coagulanti*, *Bacillus Amyloliquefacens*.

In una forma di realizzazione preferita, detto microrganismo probiotico è almeno uno scelto tra *Bifidobacterium*, *Brevibacterium*, *Propionibacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcusa*, un batterio dell'acido lattico o una loro combinazione.

In un'altra forma di realizzazione, detto microrganismo probiotico è almeno uno scelto tra *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Propionibacterium jensenii* o una loro combinazione.

In una forma di realizzazione più preferita, detto microrganismo probiotico è una miscela probiotica comprendente *B. Subtilis* preferibilmente dal 20% al 30%, *B. Licheniformis* preferibilmente dal 10 al 20%, *B. Coagulans* preferibilmente dal 10 al 20%, *B. Polymyxa* preferibilmente dal 20 al 30%, *B. Amyloliquefaciens* preferibilmente dal 10 al 20%.

- 5 In particolare, in una forma di realizzazione dell'invenzione, il microrganismo probiotico è presente in quantità da 10^3 a 10^9 CFU/g di materiale.

In un altro aspetto, la presente invenzione riguarda un metodo per preparare un materiale tessuto non tessuto comprendente nelle fibre di detto materiale spore, metaboliti solubili o lisati cellulari di microrganismi probiotici, comprendente i seguenti
10 passaggi:

- i) miscelare spore, solubili metaboliti e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico con granuli di un polimero termoplastico per fornire una miscela con una concentrazione totale di probiotici da 0,01% a 10% p/p;
- ii) estrarre detta miscela ottenuta al punto i) ad una temperatura da 100°C a 350°C,
15 una pressione da 0,1 MPa a 40,0 MPa, tempi medi di permanenza da 1 a 10 min; oppure pellettizzazione, termoformazione, stampaggio a compressione, stampaggio ad iniezione, termoformazione, impregnazione, formazione sottovuoto, schiumatura o fusione a caldo di detta miscela ottenuta al punto i) per ottenere una fibra termoplastica,
- iii) produrre un materiale tessuto non tessuto mediante tecnologie spunbond, meltblown,
20 combinazione meltblown/spunbond, cardatura a fibre corte o processo air-laid utilizzando le fibre termoplastiche ottenute dal passaggio ii). Oltre ai tessuti non tessuti spunbond e meltblow, si possono realizzare fibre in fiocco (es. fibre di polipropilene) da utilizzare nel processo di cardatura non tessuta (es. fibre con lunghezza intorno a 40 mm) o processo air-laid (es. fibre con lunghezza intorno a 2-6 mm).

- 25 In una forma di realizzazione, in detto passaggio i), la concentrazione totale di probiotici va dallo 0,1 al 10%, preferibilmente nell'intervallo dall'1,0 all'8%, più preferibilmente nell'intervallo dall'1,0 al 5,0% in peso /w.

In un'altra forma di realizzazione, in detto passaggio ii) la temperatura è da 120 a 300°C, preferibilmente da 130 a 300°C, più preferibilmente da 150 a 300°C, ancora più
30 preferibilmente la temperatura più alta è 220°C, 210°C, 200°C o ancor più preferibilmente da 150 a 200°C.

In un'ulteriore forma di realizzazione, in detto passaggio ii) la pressione è da 0,5 a 10,0 Mpa, preferibilmente da 0,5 a 5,0 Mpa.

Inoltre, in una forma di realizzazione, in detta fase ii) i tempi medi di permanenza sono da 1 a 6 min, preferibilmente da 1,5 a 4,5 min.

È noto all'esperto che la temperatura, la pressione e il tempo di permanenza utilizzati nei metodi della presente invenzione possono essere adattati il più possibile per garantire la massima vitalità dei microrganismi pur essendo in grado di manipolare il materiale della matrice come desiderato.

In una forma di realizzazione preferita, dette spore, metaboliti e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico sono in forma di polvere o polvere liofilizzata. I metodi per preparare una polvere o una polvere liofilizzata sono ben noti all'esperto del settore.

10 In un ulteriore aspetto, la presente invenzione riguarda un metodo per preparare un materiale tessuto non tessuto rivestito con spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico comprendente i seguenti passaggi:

a) miscelare spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico al fine di fornire una miscela con una concentrazione totale di probiotici dallo 0,01% al 10% p/p rispetto al peso del materiale tessuto non tessuto, opzionalmente con additivi;

b) spruzzare o rivestire un materiale tessuto non tessuto con detta miscela ottenuta nel passaggio a). La spruzzatura o il rivestimento di detto materiale tessuto non tessuto può subire modifiche, se necessario, in funzione della forma, dello spessore, della resistenza alla trazione, della resistenza alla rottura, della capacità di carico e di altre caratteristiche strutturali e meccaniche del materiale tessuto non tessuto. L'esperto del settore è in grado di determinare le migliori condizioni in funzione del particolare materiale tessuto non tessuto e dell'apparecchiatura utilizzata per la sua fabbricazione.

In una forma di realizzazione, in detto passaggio i), la concentrazione totale di probiotici va dallo 0,1 al 10%, preferibilmente nell'intervallo dall'1,0 all'8%, più preferibilmente nell'intervallo dall'1,0 al 5,0% in peso /w.

In una forma di realizzazione preferita, quando il microrganismo probiotico è miscelato con additivi, detti additivi sono scelti tra tensioattivi ionici, tensioattivi cationici, tensioattivi anfoteri o loro miscele. Esempi di detti additivi sono Cirrasol PP682 commercializzato da Uniqema, Stantex S 6327 commercializzato da Cognis, Silastol PST commercializzato da Schill & Seilacher, Silwet L-7608 commercializzato da Momentive Performance Materials.

Un ulteriore aspetto della presente invenzione riguarda un metodo per la preparazione di un tessuto non tessuto perforato rivestito comprendente i seguenti passaggi:

a) introdurre un tessuto non tessuto attraverso una linea di perforazione (5) formata da un tamburo (4) recante perni perforanti e un rullo femmina (3), mentre i perni perforanti applicati sul tamburo passano attraverso un applicatore di materiali probiotici (6) prima di entrare in contatto con il materiale tessuto non tessuto;

5 b) tenere in contatto il tessuto non tessuto perforato con i perni del tamburo fino ad una fase di distacco dai perni per azione di un rullo a depressione (7); detto rullo a depressione consente l'asportazione dell'eccesso di materiale applicato dai perni perforatori;

10 c) guidare il foglio di materiale perforato (8) su un gruppo di raffreddamento (9) che provvede al fissaggio sulle pareti dei fori delle forature e alla stabilizzazione del disegno dei fori così ottenuti.

In un altro aspetto, la presente invenzione riguarda un prodotto selezionato dal gruppo costituito da pannolini, assorbenti igienici, medicazioni per ferite, prodotti cosmetici, prodotti per la cura personale e abbigliamento, comprendente il materiale tessuto non
15 tessuto della presente invenzione, o che è ottenibile da uno qualsiasi dei metodi della presente invenzione.

Film perforato termoplastico

La presente invenzione riguarda anche un film perforato termoplastico comprendente
20 spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico.

In una forma di realizzazione, detto microrganismo probiotico è incorporato nella matrice polimerica di film perforato termoplastico.

Il termine "incorporato nella matrice polimerica" significa che le spore, i metaboliti solubili e/o i lisati cellulari vengono aggiunti durante il processo di fabbricazione del film
25 termoplastico e sono in grado di rimanere vitali durante le condizioni di alta pressione e/o alta temperatura applicate prima e durante il processo di produzione del materiale tessuto non tessuto.

Un esempio di film plastico termoplastico è descritto nel brevetto ITCH 2006003. In accordo con tale brevetto, un film poliperforato di materiale (solitamente a base di LDPE, LLDPE e HDPE) viene estruso con tecnologia cast. Il film ancora allo stato plastico viene
30 adagiato su una matrice dove sono presenti delle micro-aperture con una densità che

va da 140 fori per cmq a 1024 fori per cmq e subito posto sottovuoto, facendo così implodere il film e creando dei microconi tridimensionali.

Il film viene lasciato a contatto con la matrice per il tempo necessario a passare dalla temperatura di rammollimento ad una temperatura tale da consentire il distacco del film
5 dalla matrice di formazione. Il film così formato è pronto per la macroforatura.

Un rullo opportunamente termoregolato ad una temperatura prossima alla temperatura di termoformatura del film termoplastico viene posto in rotazione e sincronizzato con una coppia di rulli forati con una densità di fori pari alla densità degli aghi.

Entrambi i rulli perforati possono essere termoregolati. Il rullo forato ha la funzione di
10 creare il cono tridimensionale e può essere sostituito da un rullo a spazzola ad alta densità di setole. Il rullo perforato ha la funzione di staccare il film perforato dagli aghi.

Il film microperforato viene fatto passare attraverso la coppia di rulli creando così il macro foro tridimensionale; il film ottenuto viene lasciato a contatto con gli aghi per il tempo necessario ad ottenere una corretta termoformatura. Il film poliperforato può essere
15 ottenuto anche con altri metodi noti allo stato dell'arte quali l'utilizzo dell'estrusione in bolla e la perforazione mediante getti di acqua compressa.

Il substrato perforato consente alle spore, metaboliti e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico, quando il materiale è a diretto contatto con il corpo e/o fluidi corporei, di interagire direttamente con il microbiota corporeo/cutaneo, essendo così in grado di
20 esplicare i loro effetti benefici nel preservare/ripristinare l'equilibrio ecologico microbico.

In un'altra forma di realizzazione, detto film perforato termoplastico è rivestito con detto microrganismo probiotico.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, detto microrganismo probiotico comprende uno o più batteri sporigeni del genere *Bacillus* scelto tra *Bacillus subtilis*,
25 *Bacillus Licheniformis*, *Bacillus Polymyxa*, *Bacillus Circulans*, *Bacillus Coagulans*, *Bacillus Amyloliquefaciens*.

In una forma di realizzazione preferita, detto microrganismo probiotico è almeno uno scelto tra *Bifidobacterium*, *Brevibacterium*, *Propionibacterium*, *Lactococcus*,
Streptococcus, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcusa*,
30 un batterio di acido lattico o una loro combinazione.

In un'altra forma di realizzazione, detto microrganismo probiotico è almeno uno scelto tra *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium lactis*, *Propionibacterium jensenii* o una loro combinazione.

- 5 In una forma di realizzazione più preferita, detti microrganismi probiotici comprendono una miscela probiotica di *B. Subtilis* preferibilmente dal 20 al 30%, *B. Licheniformis* preferibilmente dal 10 al 20%, *B. Coagulans* preferibilmente dal 10 al 20%, *B. Polymyxa* preferibilmente dal 20 al 30%, *B. Amyloliquefacens* preferibilmente dal 10 al 20%.

In particolare, in una forma di realizzazione dell'invenzione, il microrganismo probiotico è presente in quantità da 10^3 a 10^9 CFU/g di materiale.

- 10 In una forma di realizzazione preferita, detto film perforato termoplastico comprende fibre di polietilene, polipropilene, poliestere, PLA, viscosa, lyocell, cotone, canapa, lino, cellulosa, kapok o una loro combinazione, eventualmente comprendente anche additivi.

In una forma di realizzazione, dette fibre sono combinazioni di poliestere e viscosa, poliestere e cotone, viscosa e cotone, viscosa e canapa, viscosa e lino o PLA e viscosa.

- 15 Esempi di additivi sono stabilizzanti, tensioattivi e coloranti, e sono ben noti all'esperto.

Vengono qui riportati due esempi di formulazione del film termoplastico perforato della presente invenzione:

Esempio 1: Film estruso

- LDPE (polietilene a bassa densità) 44%
- 20 - HDPE (polietilene ad alta densità) 54%
- 1,45% CaCO_3 (stabilizzante)
- 0,05% tensioattivo non ionico
- 0,5% spore di microrganismo probiotico

Esempio 2: Film rivestito

- 25 - LDPE (polietilene a bassa densità) 44,5%
- HDPE (polietilene a bassa densità) 54%
- 1,4% TiO_2 (colorante)
- 0,05% tensioattivo non ionico
- 0,1% spore di microrganismo probiotico

In un ulteriore aspetto, la presente invenzione riguarda un metodo per preparare un film termoplastico comprendente spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico nella matrice polimerica comprendente i seguenti passaggi:

- 5 i) miscelare spore, metaboliti solubili e /o lisati cellulari di microrganismo probiotico con granuli di un polimero termoplastico per fornire una miscela con una concentrazione totale di probiotici da 0,01% a 10% p/p;
- ii) estrudere detta miscela ottenuta al punto i) ad una temperatura da 100°C a 350°C, una pressione da 0,1 MPa a 40,0 MPa, tempi medi di permanenza da 1 a 10 min; o
- 10 pellettizzazione, termoformatura, stampaggio a compressione, stampaggio ad iniezione, termoformatura, impregnazione, formatura sottovuoto, schiumatura o fusione a caldo di detta miscela ottenuta al punto i) al fine di ottenere un film termoplastico,

In una forma di realizzazione, in detto passaggio i), la concentrazione totale di probiotici va dallo 0,1 al 10%, preferibilmente nell'intervallo dall'1,0 all'8%, più preferibilmente

15 nell'intervallo dall'1,0 al 5,0% p/p.

In un'altra forma di realizzazione, in detto passaggio ii) la temperatura è da 120 a 300°C, preferibilmente da 130 a 300°C, più preferibilmente da 150 a 300°C, ancora più preferibilmente la temperatura più alta è 220°C, 210°C , 200°C o ancor più preferibilmente da 150 a 200°C.

20 In un'ulteriore forma di realizzazione, in detto passaggio ii) la pressione è da 0,5 a 10,0 MPa, preferibilmente 35 da 0,5 a 5,0 MPa.

Inoltre, in una forma di realizzazione, in detto passaggio ii) i tempi medi di permanenza sono da 1 a 6 min, preferibilmente da 1,5 a 4,5 min. È noto all'esperto del settore che la temperatura, la pressione e il tempo di permanenza utilizzati nei metodi della presente

25 invenzione possono essere adattati il più possibile per garantire la massima vitalità dei microrganismi pur essendo in grado di manipolare la matrice del materiale a piacere.

In una forma di realizzazione preferita, dette spore, metaboliti e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico sono in forma di polvere o polvere liofilizzata. I metodi per preparare una polvere o una polvere liofilizzata sono ben noti all'esperto del settore.

30 Inoltre, in una forma di realizzazione, il metodo comprende inoltre una fase di perforazione di detto film termoplastico ottenuto nella fase ii) secondo i metodi noti all'esperto del settore.

In un ulteriore aspetto, la presente invenzione riguarda un metodo per preparare un film termoplastico rivestito con spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico, comprendente i seguenti passaggi:

5 a) miscelazione di spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico per fornire una miscela con una concentrazione totale di probiotici da 0,01% a 10% p/p rispetto al peso del film termoplastico, opzionalmente anche con additivi;

10 b) spruzzare o rivestire un film termoplastico con detta miscela ottenuta nel passaggio a). La spruzzatura o il rivestimento di detta pellicola termoplastica perforata può essere soggetta a modifiche, se necessario, in funzione della forma, dello spessore, della resistenza alla trazione, della resistenza alla rottura, della capacità di carico e di altre caratteristiche strutturali e meccaniche della pellicola termoplastica perforata. L'esperto del settore è in grado di determinare le migliori condizioni in funzione del particolare film termoplastico perforato e dell'apparecchiatura utilizzata per la sua fabbricazione.

15 In una forma di realizzazione, in detto passaggio i), la concentrazione totale di probiotici va dallo 0,1 al 10%, preferibilmente nell'intervallo dall'1,0 all'8%, più preferibilmente nell'intervallo dall'1,0 al 5,0% p/p.

20 In una forma di realizzazione preferita, quando il microrganismo probiotico viene miscelato con additivi, detti additivi sono scelti tra tensioattivi ionici, tensioattivi cationici, tensioattivi anfoteri o loro miscele. Esempi di detti additivi sono Cirrasol PP682 commercializzato da Uniqema, Stantex S 6327 commercializzato da Cognis, Silastol PST commercializzato da Schill & Seilacher, Silwet L-7608 commercializzato da Momentive Performance Materials.

25 In un altro aspetto, la presente invenzione riguarda un metodo per la preparazione di un film termoplastico perforato rivestito con spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico, comprendente i seguenti passaggi:

a) introdurre un foglio di film termoplastico attraverso una linea di perforazione (5) formata da un tamburo (4) recante perni perforanti e un rullo femmina (3), mentre i perni perforanti applicati sul tamburo passano attraverso un applicatore di materiali probiotici (6) prima entrare in contatto con il foglio di film termoplastico;

30 b) tenere a contatto il foglio di film termoplastico perforato con i perni del rullo a tamburo fino ad una fase di distacco dai perni per azione di un rullo a depressione (7); detto rullo a depressione consente l'asportazione dell'eccesso di materiale applicato dai perni perforatori;

c) guidare il foglio di materiale perforato (8) su un gruppo di raffreddamento (9) provvedendo così al fissaggio sulle pareti dei fori delle forature e alla stabilizzazione del disegno dei fori così ottenuti.

5 In un ultimo aspetto, la presente invenzione si riferisce ad un prodotto selezionato dal gruppo costituito da pannolini, assorbenti igienici, medicazioni per ferite, prodotti cosmetici, prodotti per la cura della persona e abbigliamento, comprendente il materiale tessuto non tessuto della presente invenzione, o cioè ottenibile da uno qualsiasi dei metodi della presente invenzione.

10 **ESEMPI**

Esempio 1. Attività antimicrobica di materiali rivestiti

Due tessuti non tessuti: air-through-bonding (ATB) e spunlace sono stati rivestiti con due tipi di metaboliti probiotici (Leuconostoc ferment filtrate e Lactobacillus ferment)

15 L'attività antimicrobica dei risultanti tessuti rivestiti è stato esaminata contro Escherichia coli mediante il test di diffusione in agar: pezzi di tessuti rivestiti sono stati posti sulla superficie dell'agar precedentemente inoculata con i microrganismi in esame. Dopo 24 ore di incubazione a 37-40°C, la capacità di entrambi i tessuti rivestiti di sopprimere/inibire la crescita di Escherichia coli è stata determinata dalle risultanti aree di alone di inibizione.

20

Esempio 2.

Un film perforato in PE, air-through-bonding (ATB) e non tessuti spunlace sono stati rivestiti con una batteriocina (nisina, nome commerciale Delvonis) ed hanno dimostrato attività antimicrobica contro il batterio indicatore S. Aureus che è stata valutata mediante
25 il test di diffusione in agar .

Per valutare l'attività antimicrobica del film estruso risultante pezzi di materiali non trattati (controllo) e incorporanti nisina sono stati posti su una superficie di agar precedentemente inoculata con S. aureus.

30 Dopo 24 ore di incubazione a 37-40 °C, la capacità di sopprimere/inibire la crescita di S. aureus è stata determinata dalle risultanti aree di alone di inibizione di crescita rispetto al controllo.

Esempio 3. Vitalità delle spore rivestite su film perforato in PE

La vitalità delle spore rivestite su un film perforato in PE è determinata dal saggio biologico di crescita/germinazione che significa che le spore che sopravvivono alle condizioni di lavorazione del rivestimento formano colonie dopo l'inoculazione e vengono
5 rilevate come vitali.

I campioni rivestiti vengono tagliati in piccoli pezzi, quindi sterilizzati immergendoli in etanolo (96%) per 10 minuti. Dopo la sterilizzazione, i campioni vengono immersi in 10 ml di soluzione fisiologica sterile 10 e quindi inoculati su piastre di agar nutriente e incubati a 37°C per 24 ore.

10

Esempio 4. Resistenza delle spore alla estrusione

La vitalità delle spore estruse all'interno di un film perforato di PE è determinata mediante saggio biologico di crescita/germinazione, il che significa che le spore che sopravvivono alle condizioni di lavorazione dell'estrusione sviluppano colonie dopo l'inoculazione e
15 vengono rilevate come vitali.

I campioni estrusi vengono tagliati in piccoli pezzi, quindi sterilizzati immergendoli in etanolo (96%) per 10 minuti. Dopo la sterilizzazione, i campioni vengono immersi in 10 ml di soluzione salina fisiologica sterile e quindi inoculati su piastre di agar nutriente e incubati a 37°C per 24 ore.

20

Esempio 5. Attività antimicrobica di un film plastico estruso incorporante una batteriocina

Una batteriocina, nisina, è stata incorporata in una plastica a base di polietilene ed è stata valutata la sua attività antimicrobica contro il batterio indicatore S. Aureus.

25 Preparazione del film plastico

200 grammi di polietilene a bassa densità in polvere sono stati miscelati a secco con 8 grammi di nisina in polvere essiccata con sali e proteine del latte con il nome commerciale Delvonis. Il contenuto di nisina attiva della polvere era del 2,5% p/p. Il contenuto di nisina nel film era quindi dello 0,1% in peso. La temperatura di estrusione
30 era di 120°C, il tempo di ritenzione nell'estrusore sotto era di 30 circa 7 min. L'attività antimicrobica del film estruso risultante è stata valutata mediante il saggio di diffusione

in agar. Pezzi di pellicola sono stati posti su una superficie di agar precedentemente inoculata con *S. aureus*. Dopo 24 ore di incubazione a 37-40°C, la capacità di sopprimere/inibire la crescita di *S. aureus* è stata determinata dalle risultanti aree di alone di inibizione di crescita.

- 5 I risultati mostrano che sia le spore che i metaboliti mantengono le loro proprietà (capacità delle spore di germinare e attività antimicrobica dei metaboliti e delle batteriocine) quando vengono rivestite e/o estruse nei materiali, “attivando” quindi i materiali in cui sono contenuti/depositati.

- A loro volta queste proprietà e benefici finali saranno trasmessi attraverso il prodotto
10 finito sul corpo durante l'utilizzo del prodotto.

RIVENDICAZIONI

1. Film perforato termoplastico comprendente spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico.
- 5 2. Film perforato termoplastico secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui detto microrganismo probiotico è incorporato nella matrice polimerica di detto film perforato termoplastico.
3. Film perforato termoplastico secondo la rivendicazione 1, in cui detto film perforato
10 termoplastico è rivestito con detto microrganismo probiotico.
4. Film perforato termoplastico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 3, in cui detto microrganismo probiotico è uno o più batteri sporigeni del genere *Bacillus* selezionato tra *Bacillus subtilis*, *Bacillus Licheniformis*, *Bacillus Polymyxa*, *Bacillus*
15 *Circulans*, *Bacillus Coagulants*, *Bacillus Amyloliquefacens*, preferibilmente è almeno uno selezionato tra *Bifidobacterium*, *Brevibacterium*, *Propionibacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcusa*, un batterio di acido lattico o una loro combinazione, ancora più preferibilmente è almeno uno selezionato tra *Lactobacillus acidophilus* , *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium*
20 *lactis*, *Propionibacterium jensenii* o una loro combinazione.
5. Film perforato termoplastico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 4, in cui l'almeno un microrganismo probiotico è una miscela probiotica comprendente *B. Subtilis* preferibilmente dal 20 al 30%, *B. Licheniformis* preferibilmente dal 10 al 20%, *B.*
25 *Coagulants* preferibilmente dal 10 al 20%, *B. Polymyxa* preferibilmente dal 20 al 30%, *B. Amyloliquefacens* preferibilmente dal 10 al 20%.
6. Film perforato termoplastico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 5, in cui il microrganismo probiotico è presente in quantità da 10^3 a 10^9 CFU/g di materiale.

7. Film perforato termoplastico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 6, in cui detto film perforato termoplastico comprende fibre di polietilene, polipropilene, poliestere, PLA, viscosa, lyocell, cotone, canapa, lino, cellulosa, kapok o una loro combinazione, opzionalmente ulteriormente comprendente additivi.

5

8. Metodo per preparare un film termoplastico comprendente spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismi probiotici, preferibilmente in forma di polvere o polvere liofilizzata, nella matrice polimerica comprendente i seguenti passaggi:

10 i) miscelare spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico con granuli di un polimero termoplastico per fornire una miscela con una concentrazione totale di probiotico da 0,01% a 10% p/p;

15 ii) estrarre detta miscela ottenuta al punto i) ad una temperatura da 100°C a 350°C, una pressione da 0,1 MPa a 40,0 MPa, tempi medi di permanenza da 1 a 10 min; oppure pellettizzazione, termoformazione, stampaggio a compressione, stampaggio ad iniezione, termoformazione, impregnazione, formazione sottovuoto, schiumatura o fusione a caldo di detta miscela ottenuta al punto i) per ottenere un film termoplastico.

9. Metodo secondo la rivendicazione 8, ulteriormente comprendente un passaggio di perforazione di detto film termoplastico ottenuto nella fase ii).

20

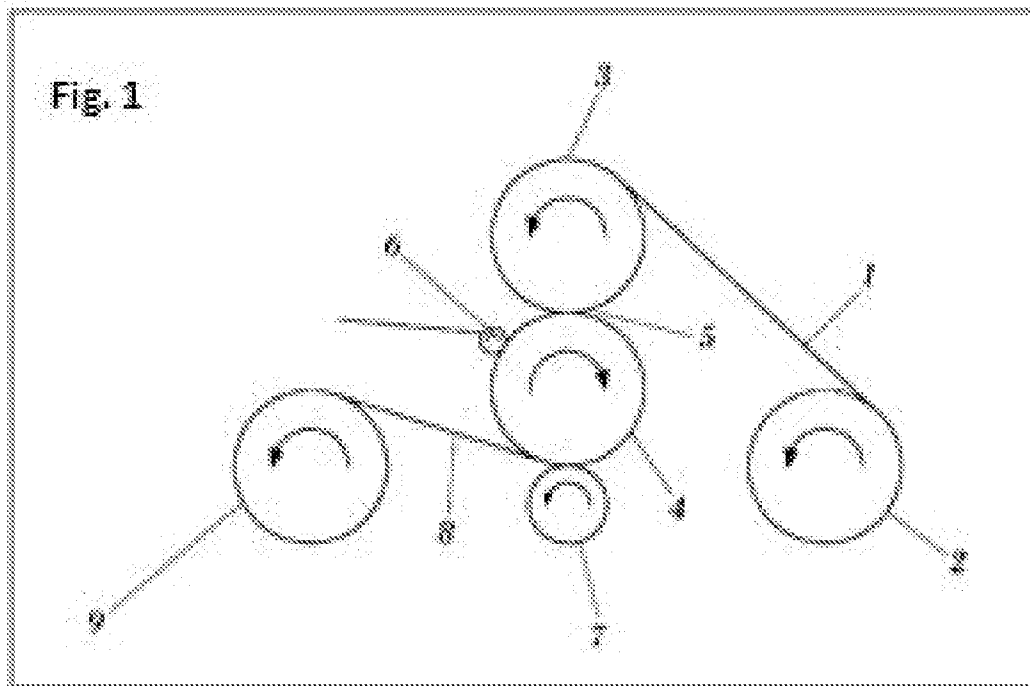
10. Metodo per la preparazione di un film termoplastico rivestito di spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismi probiotici, comprendente i seguenti passaggi:

25 a) miscelare spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico per fornire una miscela con una concentrazione totale di probiotici da 0,01% a 10% p/p rispetto al peso del film termoplastico perforato, opzionalmente anche con additivi;

b) spruzzare o rivestire un film termoplastico con detta miscela ottenuta nel passaggio a).

30 11. Metodo per la preparazione di un film termoplastico perforato rivestito con spore, metaboliti solubili e/o lisati cellulari di microrganismo probiotico, comprendente i seguenti passaggi:

- a) introdurre un foglio di film termoplastico attraverso una linea di perforazione (5) formata da un tamburo (4) recante perni perforanti e un rullo femmina (3), mentre i perni perforanti applicati sul tamburo passano attraverso un applicatore di materiali probiotici (6) prima di entrare in contatto con il foglio di film termoplastico;
- 5 b) tenere in contatto il foglio di film termoplastico perforato con i perni del rullo a tamburo fino ad una fase di distacco dai perni per azione di un rullo a depressione (7); detto rullo a depressione consente l'asportazione dell'eccesso di materiale applicato dai perni perforatori;
- 10 c) guidare il foglio di materiale perforato (8) su un gruppo di raffreddamento (9) provvedendo così al fissaggio sulle pareti dei fori delle forature e alla stabilizzazione del disegno dei fori così ottenuti.
12. Prodotto selezionato dal gruppo costituito da pannolini, assorbenti, medicazioni per ferite, prodotti cosmetici, prodotti per la cura della persona e abbigliamento,
- 15 comprendente la pellicola perforata termoplastica di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 7 o ottenibile da uno qualsiasi dei metodi secondo le rivendicazioni da 8 a 11.



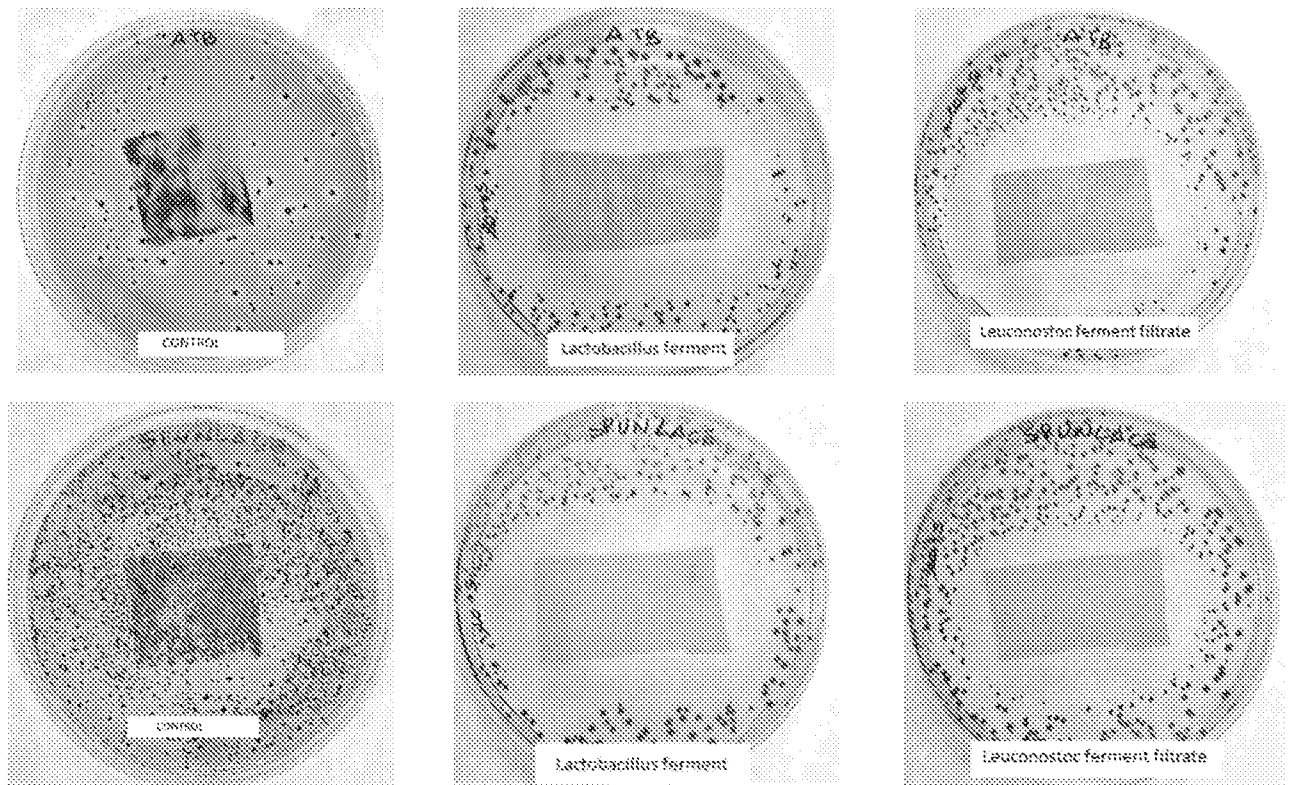


Fig. 3

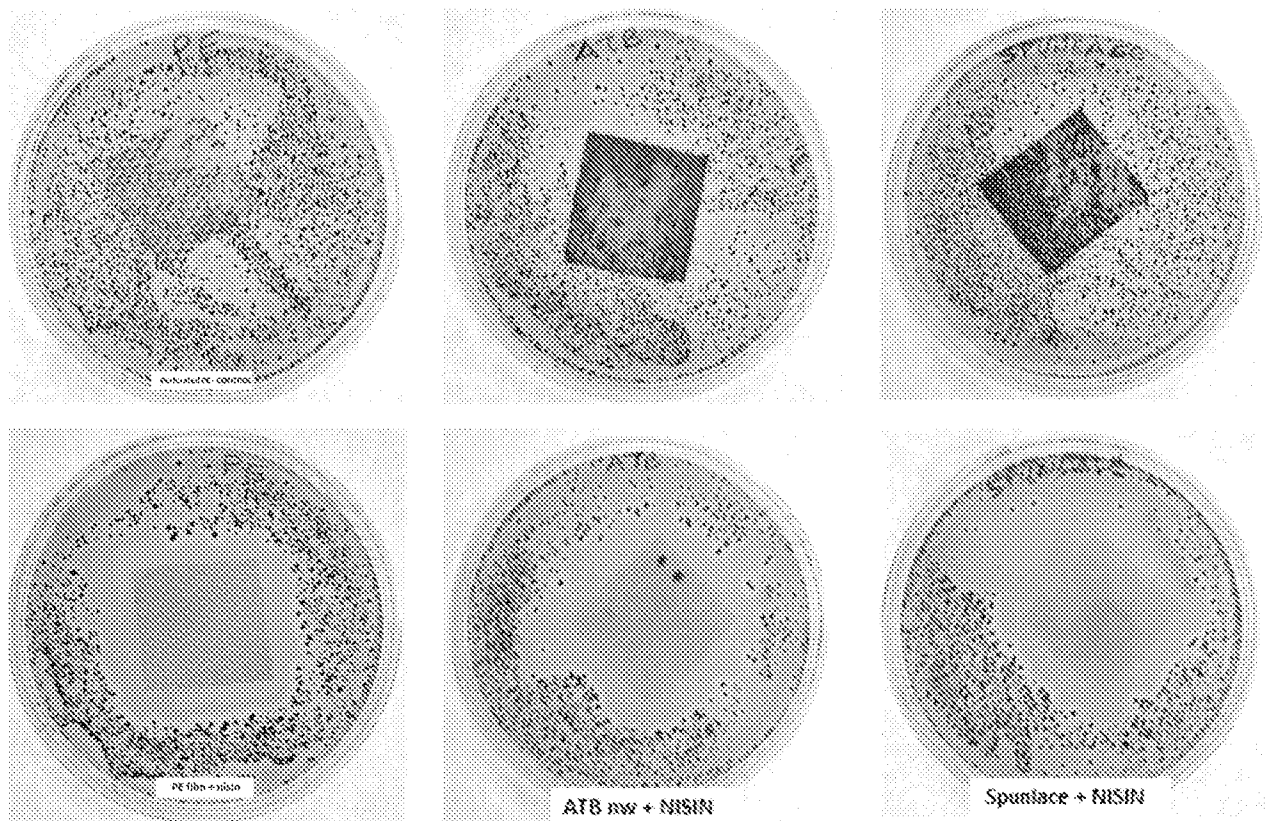


Fig. 4

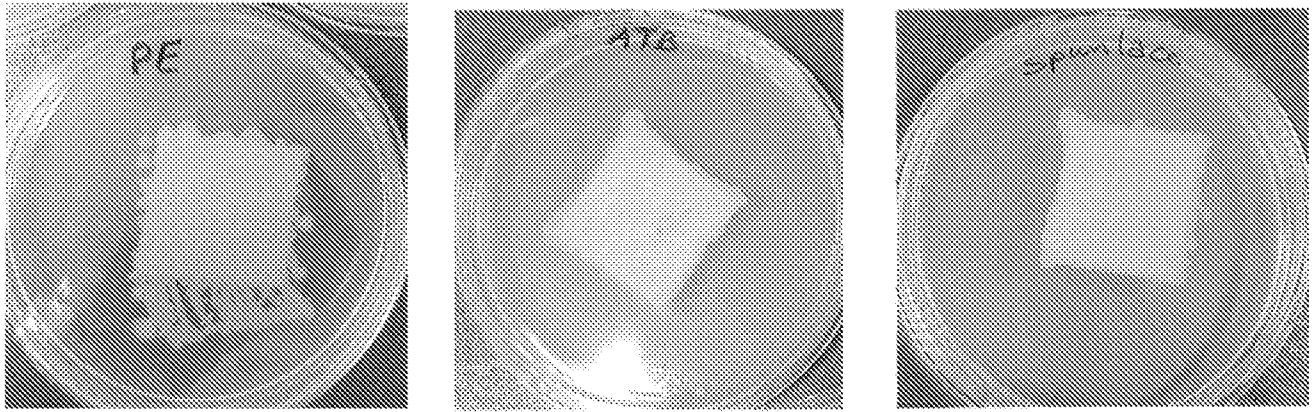


Fig. 5

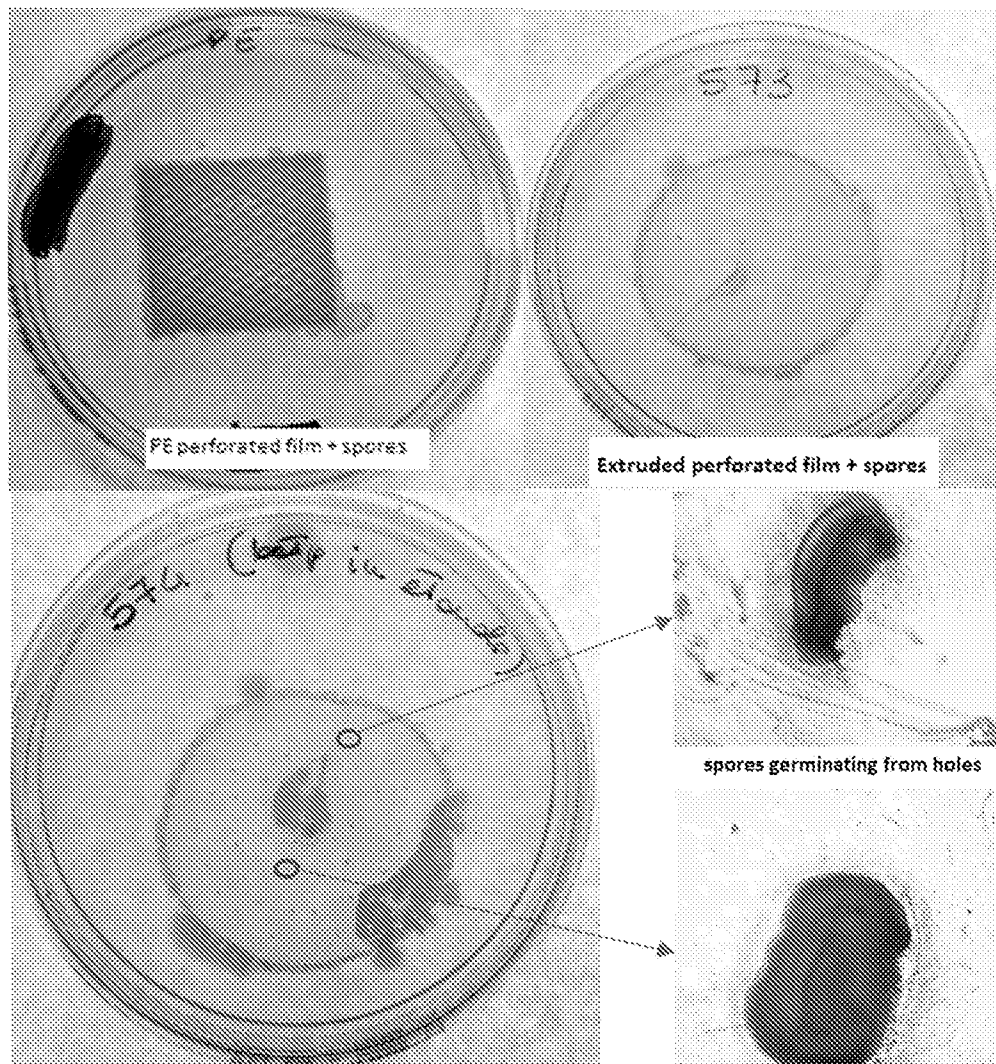


Fig. 6

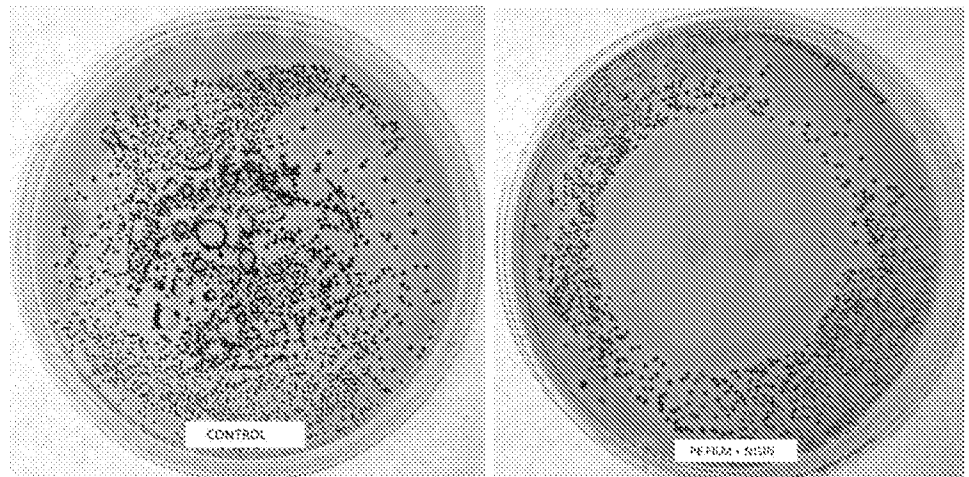


Fig. 7

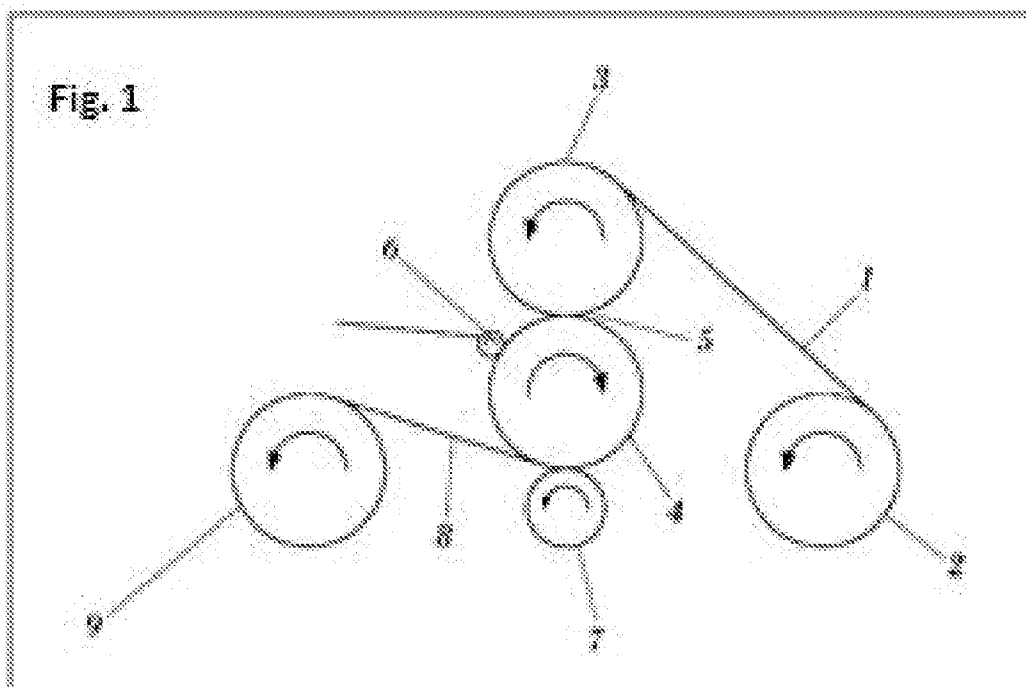
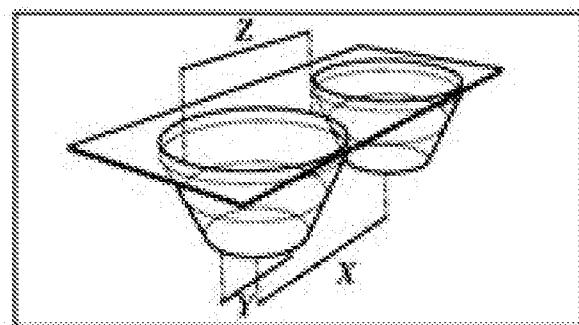
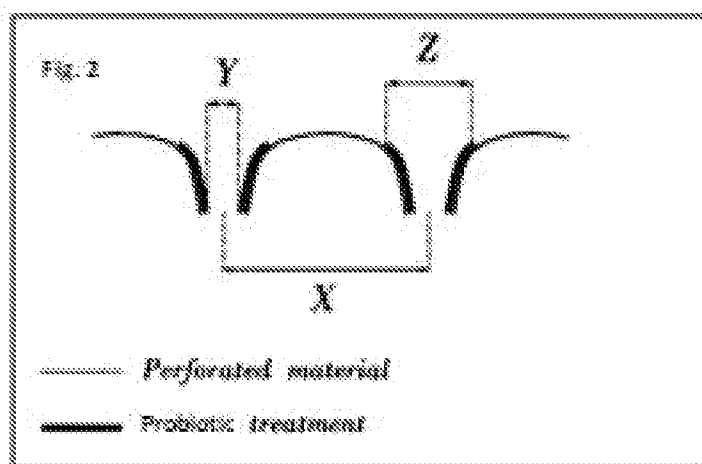
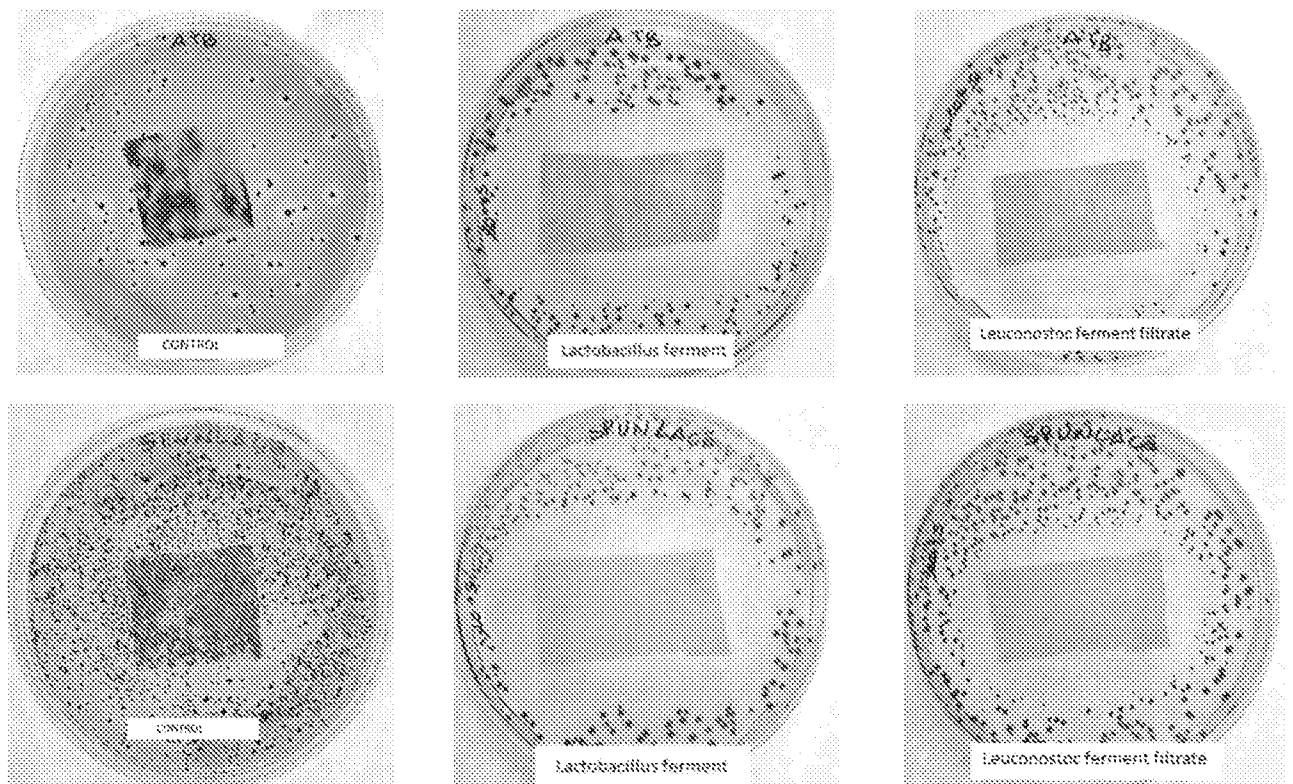


Fig. 1



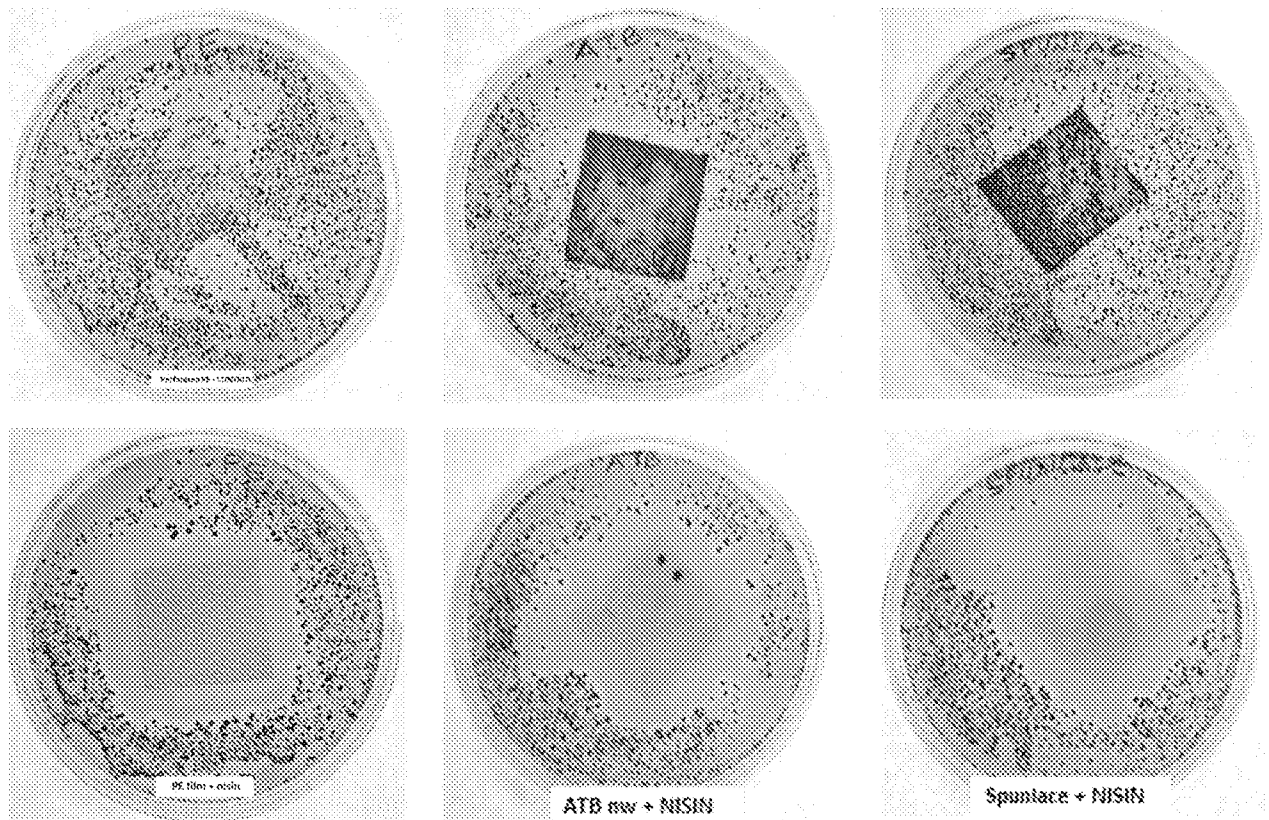
Inglese	Italiano
Perforated material	Materiale perforato
Probiotic treatment	Trattamento con probiotico

Fig. 2



Inglese	Italiano
Control	Controllo
Lactobacillus ferment	Fermento di lactobacillus
Leuconostoc ferment filtrate	Fermento di leuconostoc filtrato

Fig. 3



Inglese	Italiano
Control	Controllo
Perforated PE	PE perforato

Fig. 4

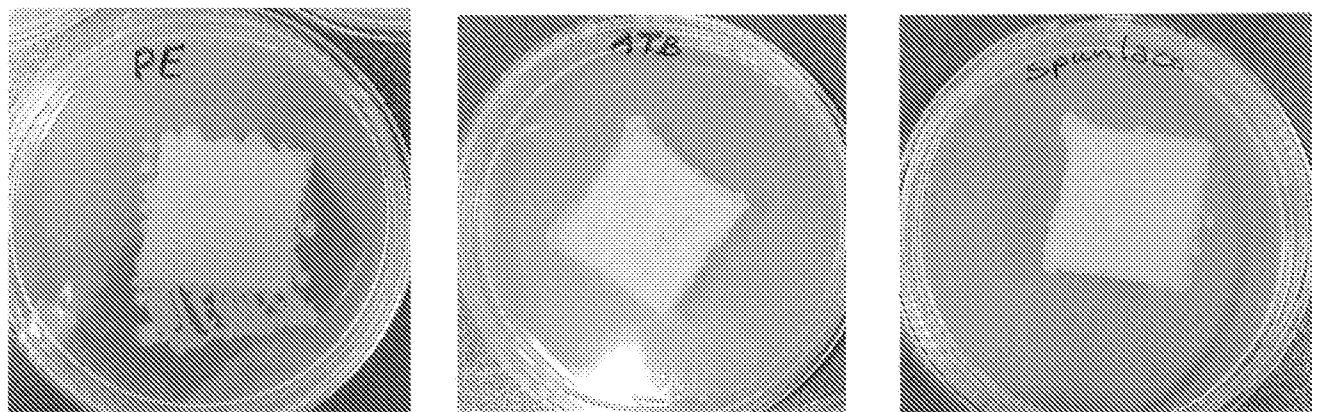
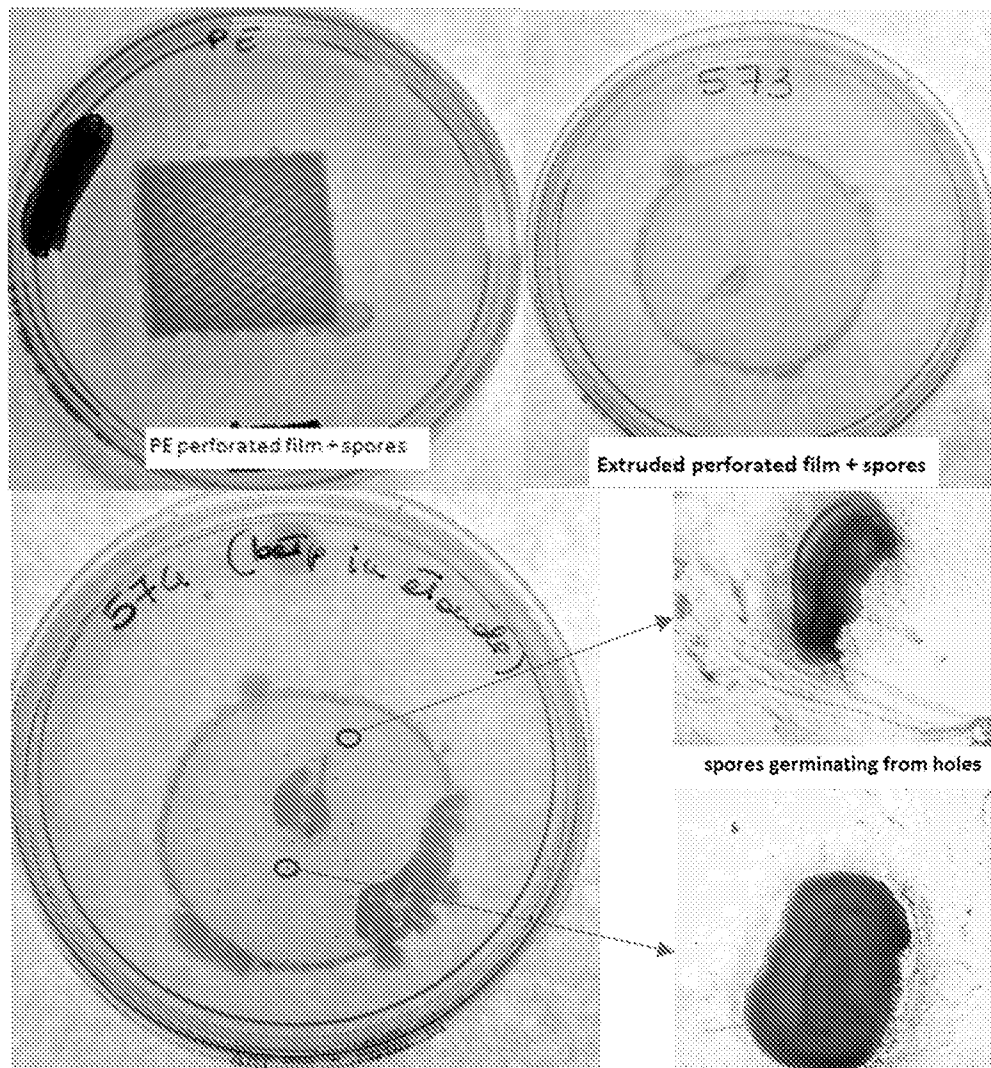
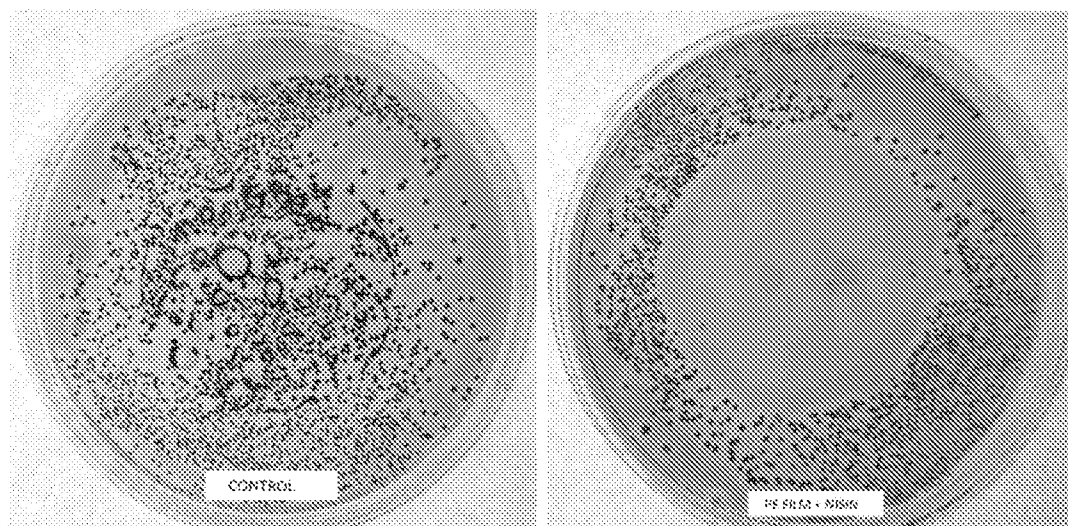


Fig. 5



Inglese	Italiano
PE perforated film + spores	Film perforato in PE + spore
Extruded perforated film + spores	Film perforato estruso + spore
Spores germinating from holes	Spore che germinano dai buchi

Fig. 6



Inglese	Italiano
Control	Controllo

Fig. 7