(19) OFICIUL DE STAT
PENTRU INVENŢII ŞI MĂRCI
Bucureşti

ROMÂNIA

(11) **RO 128592 B1**

(51) Int.Cl.
A23K 1/00 (2006.01);
A23K 1/10 (2006.01)

(12) # BREVET DE INVENŢIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 01299**

(22) Data de depozit: **05.12.2011**

(45) Data publicării menţiunii acordării brevetului: **28.02.2014** BOPI nr. **2/2014**

(41) Data publicării cererii:
30.07.2013 BOPI nr. **7/2013**

(73) Titular:
• **SIMION VIOLETA-ELENA**,
DRUMUL VALEA ARGOVEI NR.7-9,
SECTOR 6, BUCUREŞTI, B, RO

(72) Inventatori:
• **SIMION VIOLETA-ELENA**,
DRUMUL VALEA ARGOVEI NR.7-9,
SECTOR 6, BUCUREŞTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
US 4119741 (A); US 4037002 (A);
US 3932670 (A)

(54) # PROCEDEU DE PREPARARE A UNUI SUPLIMENT BIOACTIV DE HRANĂ PENTRU ANIMALE

Examinator: **dr. medic veterinar MOROIANU IULIANA**

Orice persoană are dreptul să formuleze în scris şi motivat, la OSIM, o cerere de revocare a brevetului de invenţie, în termen de 6 luni de la publicarea menţiunii hotărârii de acordare a acesteia

RO 128592 B1

Invenţia se referă la un procedeu de preparare a unui supliment bioactiv de hrană pentru animale, cu utilizare în domeniul zoo-veterinar.

Rumegătoarele, comparativ cu animalele monogastrice, au un ecosistem ruminal microbian care joacă un rol activ în digestia hranei, producerea de aminoacizi, vitamine din complexul B şi, totodată, este implicat în digestia unor toxine din plante (Cheeke şi Palo, 1995) sau a unor micotoxine (Kurmanov, 1977; Diez, 2005). Micotoxinele sunt metaboliţi secundari, elaboraţi de fungi printr-un metabolism diferit de cel primar prin natura sa aleatorie, diversitatea compuşilor formaţi şi specificitatea suşelor implicate. Datorită structurii chimice diverse şi condiţiilor variate în care fungii le produc, aceste toxine sunt capabile să provoace o mare varietate de simptome acute, în egală măsură la animale şi om. Majoritatea - dintre care se remarcă aflatoxinele, ochratoxinele, tricotecenele, zearalenona şi fumonizinele - au efecte carcinogene, mutagene, teratogene.

Conţinutul ruminal singur sau în combinaţie cu alte substanţe nutritive constituie o sursă suplimentară de proteine şi energie pentru hrana animalelor şi, totodată, un supliment alimentar cu proprietăţi de biodegradare a unor toxine, cum sunt micotoxinele de exemplu.

Este cunoscută valorificarea conţinutului ruminal obţinut de la taurine în unităţi de abatorizare, în urma căruia rezultă un complex de substanţe bioactive cu valoare nutritivă îmbunătăţită faţă de caracteristicile native, ce pot fi folosite ca atare în hrana animalelor sau prin prelucrări ulterioare, în diverse produse.

Studii şi cercetări anterioare au relevat calitatea nutritivă a lichidului ruminal ca sursă de proteină pentru hrana administrată iepurilor (Togun şi col., 2009), puilor de găină (Adeniji şi Jimoh, 2007) şi rumegătoarelor (Messersmith şi col., 1974; Prokop şi col., 1974; El-Yassin şi col., 1991; Slinas-Chavira si col., 2007), deşi tipul de digestie şi alimentaţie este diferit pentru fiecare dintre speciile prezentate.

El-Yassin şi col. (1991), Dominguez şi col. (1994) au raportat pentru o probă de conţinut ruminal recoltat de la taurine şi ulterior uscat, următoarea compoziţie chimică brută: 14,4% proteină brută (PB), 4,2% grăsime brută (GB), 41,1% acid-detergent-fibră (ADF) şi 9,7% cenuşă brută (CenB).

Microbiologic, la nivelul rumenului există o populaţie de 108-1010 microorganisme/g lichid ruminal, cele mai comune fiind bacteriile şi protozoarele. Protozoarele din rumen contribuie la peste 50% din totalul biomasei microbiene ruminale (Williams şi Coleman, 1992), cantitatea şi calitatea acestora fiind dependente de factori legaţi de animal (specia de rumegătoare, rasa, vârsta animalului, stadiul fiziologic) şi de hrana administrată (structură, compoziţie chimică).

În funcţie de substratul utilizat în hrană, protozoarele sunt specializate în consumul de zaharuri solubile, amidon sau lignoceluloză, acest lucru fiind posibil datorită unui echipament enzimatic foarte bine dezvoltat (amilază, invertază, pectinesterază, poligalacturonază) (Williams şi Coleman, 1992). Protozoarele având dimensiuni mari digeră şi degradează polimerii structurali ai plantelor, în timp ce protozoarele de dimensiuni mai mici digeră predominant zaharurile (Orpin, 1983). Toate protozoarele depozitează glucide solubile sub forma amilopectină ca şi polizaharide (componentele amidonului sunt amiloza şi amilopectina) şi au specificitate pentru zaharuri: holotrichele depozitează zaharuri solubile în timp ce oligotrichele depozitează amidon.

Câteva dintre invenţiile referitoare la metodele de obţinere şi valorificare a lichidului ruminal sub forma unor suplimente pentru hrana animalelor, brevetate până în prezent, sunt prezentate în continuare:

US 4119741 *Production of substantialty full-diet beef cattle feed through processing of the rumen content of slaughtered cattle* prezintă un procedeu de obţinere care constă în valorificarea conţinutului ruminal de la vacile abatorizate, fără adaosuri de substanţe sau diluţie a acestuia. Conţinutul este separat mecanic pentru a înlătura 90% din lichid.

Materia primă obţinută este tocată şi ulterior uscată pe un transportor, valoarea temperaturii şi tipul de aer aplicat având proprietatea de a fragmenta materia fibroasă din conţinut. În funcţie de umiditatea (U%) finală a produsului, care poate varia între 2 şi 60%, compoziţia chimică a acestuia este: 10...12% PB; 3,3...3,8% GB şi 70...80% SEN.

US 403 70 02 *Method and process for treating rumen content* descrie procedeele de prelucrare a conţinutulu ruminal prin: sterilizare, separare mecanică a fazelor lichidă şi solidă. Ulterior, este reţinută faza solidă pentru hrana animalelor, are loc convertirea unor acizi din faza lichidă în diverse săruri, concentrarea reziduului solid în lichid neutralizant prin evaporare până la 80% din conţinutul de apă şi prelucrarea mecanică a produsului solid astfel obţinut, în vederea administrării în hrana animalelor.

US 3932670 *Method of manufacturing a bacterial preparation consisting of a normal rumen bacterial flora with an improved ability to utilize ammonium salts* prezintă metoda de producere a unui preparat bacterian pe baza conţinutului rumial, prin inoculări repetate şi cultivare pe un mediu selectiv conţinând săruri de amoniu, care influenţează pozitiv capacitatea bacteriilor de prelucrare a azotului.

RU 2270584 *Method for production of bioactive additive* se referă la un procedeu care constă în producerea unui aditiv bioactiv pentru animale, din conţinut ruminal nativ. Acesta este supus proceselor de: extracţie (timp de 72 h, la 38...42°C, în apă minerală/plată în raport de 2:1), defecare (timp de 36 h, la 10°C), filtrare concomitent cu răcire (timp de 48 h, la -50°C); congelarea-deshidratarea se desfăşoară timp de 48 h, la 38...40°C (în primele 5 h, la 10°C, apoi se creşte temperatura cu 5°C/oră până la 38...40°C).

US 403 70 02 *Method and process for treating rumen content* descrie procedeele de prelucrare a conţinutulu ruminal prin: sterilizare, separare mecanică a fazelor lichidă şi solidă. Ulterior, este reţinută faza solidă pentru hrana animalelor, are loc convertirea unor acizi din faza lichidă în diverse săruri, concentrarea reziduului solid în lichid neutralizant prin evaporare până la 80% din conţinutul de apă şi prelucrarea mecanică a produsului solid astfel obţinut, în vederea administrării în hrana animalelor.

DE 4118908 *Stomach rumen contents disposal of slaughtered beef-uses mechanical and indirect drying before burning with enclosed gas system to contain smells* prezintă prelucrarea conţinutului ruminal recoltat de la vaci abatorizate: o parte a conţinutului de apă din lichidul ruminal este îndepărtată mecanic, iar restul conţinutului rămas este uscat indirect, printr-un procedeu specific de uscare, fără pătrunderea aerului şi a vaporilor de apă care sunt absorbiţi. Materia uscată obţinută este carbonizată în vacuum, la temperatură scăzută, pentru producerea de cenuşă şi CO_2. Gazul de combustie obţinut este utilizat în continuare, ca sursă de energie termică, în procesul aplicat prin invenţie.

JP 57091158 *Preparation of concentrated feed by artificial rumen* prezintă prepararea unei hrane concentrate pe baza resturilor de materie organică provenite de la animale, prelucrate prin adaos de substanţe (melasă, aşchii de lemn, salivă artificială, microorganisme colectate din rumenul vacilor etc.) şi procese mecanice şi microbiologice precum: măcinare, tocare, autoclavare, fermentare etc. într-un rumen artificial.

US 3857971 *Ruminant feed additive and method of preparing the same* prezintă un aditiv furajer pentru administrarea în hrana rumegătoarelor cu afecţiuni digestive, obţinut din microorganisme din rumen adaptate şi cultivate *in vitro* pe un mediu cu conţinut bogat în amidon.

Metodele folosite până în prezent presupun prelucrarea conţinutului ruminal prin diferite procedee mecanice, chimice şi microbiologice, în vederea obţinerii de produse în stare proaspătă sau procesate (umede, semi-umede sau uscate), care sunt ulterior folosite în hrana animalelor, ca sursă suplimentară de hrană sau pentru capacitatea microorganică îmbunătăţită.

Problema tehnică obiectivă propusă spre rezolvare de prezenta cerere constă în obţinerea unui supliment bioactiv de hrană pentru animale.

Soluţia constă în valorificarea conţinutului ruminal obţinut de la taurine în condiţii de abatorizare, printr-un procedeu de prelucrare fizică şi chimică de biodegradare a toxinelor.

Procedeul conform invenţiei constă în aceea că se recoltează în întregime conţinutul ruminal de la taurine, în stare proaspătă, din abator, se depozitează într-un recipient menţinut la bain-marie la o temperatură de 39°C, în condiţii de anaerobioză, se adaugă 0,5...1,5 părţi amidon/părţi conţinut ruminal şi 0,5...1,5 părţi sucroză/părţi conţinut ruminal, se filtrează conţinutul ruminal după un interval de 1...5 h, printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea resturilor de materie vegetală din compoziţia acestuia, apoi se centrifughează şi se filtrează lichidul obţinut anterior, printr-o pânză de etamină.

Procedeul conform invenţiei prezintă următoarele avantaje:

- este valorificat un deşeu de abator cu o valoare nutritivă semnificativă;
- rezultă un produs cu calităţi nutritive şi de biodegradare îmbunătăţite;
- prelucrarea conţinutului ruminal nu este laborioasă şi poate fi efectuată cu costuri reduse pentru tehnologie în abator sau în unităţi specializate în acest sens;
- se efectuează un număr redus de operaţii mecanice (recoltare, depozitare, filtrare, centrifugare) şi chimice (adăugarea a două substanţe glucidice);
- se prelucrează fizic şi chimic lichidul ruminal, în vederea obţinerii unui supliment bioactiv de hrană pentru animale.

Se prezintă în continuare explicaţia figurii: fluxul de prelucrare a lichidului ruminal.

Se prezintă în continuare 2 exemple de realizare a invenţiei.

Exemplul 1. Procedeul conform invenţiei a constat din următoarele faze şi etape:

- recoltarea în întregime a conţinutul ruminal în stare proaspătă din abator;
- depozitarea conţinutului ruminal într-un recipient menţinut la bain-marie la o temperatură de 39°C, în condiţii de anaerobioză;
- îmbunătăţirea calităţii nutritive a conţinutului ruminal prin adăugarea a 0,5...1,5 g amidon solubil p.a./kg conţinut ruminal şi 0,5...1,5 g sucroză/kg conţinut ruminal;
- filtrarea conţinutului ruminal după un interval de 1...3 h printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea/stoarcerea resturilor de materie vegetală din compoziţia acestuia;
- centrifugarea lichidului la 1.000 x g, 10 min, la temperatura camerei; filtrarea conţinutului ruminal printr-un filtru din pânză de etamină.

Exemplul 2. Procedeul conform invenţiei a constat din următoarele etape şi faze:

- recoltarea în întregime a conţinutul ruminal în stare proaspătă din abator;
- depozitarea conţinutului ruminal într-un recipient menţinut la bain-marie la o temperatură de 39°C, în condiţii de anaerobioză;
- îmbunătăţirea calităţii nutritive a conţinutului ruminal prin adăugarea a 0,5...1,5 g amidon solubil p.a./kg conţinut ruminal şi 0,5...1,5 g sucroză/kg conţinut ruminal;
- filtrarea conţinutului ruminal după un interval de 3...5 h printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea/stoarcerea resturilor de materie vegetală din compoziţia acestuia;
- centrifugarea lichidului la 1.000 x g, 10 min, la temperatura camerei;
- filtrarea conţinutului ruminal printr-un filtru din pânză de etamină.

În continuare, este prezentată pe larg invenţia.

Procedeul folosit permite obţinerea unui produs, care administrat ulterior în hrana vacilor de lapte, de exemplu, îmbunătăţeşte calitatea conţinutului ruminal prin prisma calităţii protozoarelor, permiţând totodată păstrarea alimentaţiei specific fibroase la acestea.

Datorită procedeului de obţinere a conţinutului ruminal direct de la rumegătoarele abatorizate şi a unui număr redus de substanţe nutritive adăugate (un dizaharid şi un polizaharid), este valorificat, cu costuri foarte scăzute, un deşeu cu un potenţial nutritiv şi de biodegradare valoros.

Tipul de alimentaţie al taurinelor (structura raţiei, compoziţia chimică) este primul factor implicat în calitatea populaţiei de microsimbionţi ruminali.

Conţinutul ruminal la taurine, care poate varia cantitativ de la 70 la 90 kg/animal în funcţie de particularităţile animalului (rasă, vârstă, stare fiziologică), este caracterizat microbiologic prin următoarea populaţie de: *bacterii* de ordinul a 10 miliarde/ml conţinut, condiţionată de cantitatea de energie liberă, de N_2 degradabil disponibil şi de o cantitate suficientă de substanţe minerale; *protozoare* de ordinul a 5 milioane/ml atunci când raţia este bogată în glucide solubile sau în alimente concentrate; *fungi* cu rol mai ales în degradarea celulozei, hemicelulozei.

Protozoarele au capacitatea de a sintetiza acizi cu lanţ lung utilizând ca precursori substanţe din lichidul ruminal precum şi capacitatea de a metaboliza şi sintetiza proteinele microbiene şi proteinele rezultate din hrană; acest lucru este cu atât mai remarcabil cu cât protozoarele sunt capabile să sintetizeze aminoacizi care pot lipsi din structura proteinei alimentare.

Un alt aspect important este digestibilitatea proteinei sintetizate de protozoare, care este crescută comparativ cu cea produsă de bacteriile ruminale.

Procedeul utilizat a urmărit îmbunătăţirea calităţilor naturale şi valorificarea potenţialului detoxifiant al lichidului ruminal, alcătuit dintr-o diversitate de populaţii microbiene incluzând bacterii (10^{11}/mL), protozoare (10^6/mL) şi fungi (10^4 zoospori/mL); dintre acestea, protozoarele reprezintă aproximativ 50% din biomasa microbiană ruminală.

Valorificarea conţinutului ruminal obţinut de la taurine are loc în unităţi de abatorizare, printr-un procedeu de prelucrare fizică şi chimică, în urma căruia rezultă un complex de substanţe bioactive cu valoare nutritivă îmbunătăţită faţă de proprietăţile microbiologice native, precum şi de biodegradare a unor toxine.

Procedeul de îmbunătăţire a conţinutului ruminal prin adaosul a două substanţe glucidice - amidonul şi sucroza - creşte calitatea protozoarelor din lichidul ruminal şi implicit capacitatea acestora de metabolizare a unor micotoxine.

TESTĂRI MICOTOXICOLOGICE

În vederea aprecierii calităţii populaţiei de protozoare din lichidul ruminal, au fost efectuate numărări ale simbionţilor ciliaţi după o prelucrare sumară a probei.

S-a procedat la adăugarea de colorant verde briliant şi diluţie în glicerol 30%, după care proba a fost diluată cu un amestec de verde de metil-formalină-clorură de sodiu. S-a luat o picătură din lichidul ruminal diluat şi s-a analizat între lamă şi lamelă la microscop (obiectiv 400x) în vederea numărării microsimbionţilor ciliaţi.

În final, a fost aplicat în final un algoritm de calculare a microsimbionţilor ruminali/cm^3.

REZULTATE

Rezultatele obţinute au relevat un număr constant al microsimbionţilor ciliaţi în fiecare din probele analizate.

Au rezultat în medie 6 microsimbionţi/picătură în proba analizată, atât în stare nativă, pe lichidul proaspăt recoltat, cât şi după adăugarea celor două substanţe glucidice, la un interval de 5 h de la recoltare, în condiţiile menţinerii lichidului ruminal la temperatura de 39°C, *p*H în jur de 6,5 şi condiţii de anaerobioză.

Cercetări anterioare, efectuate la vaci de lapte, privind transferul micotoxinelor din furaje în sânge şi urină, au demonstrat că atât metaboliţii, cât şi cantitatea acestora, sunt influenţaţi de mulţi factori, unii imprevizibili ca efect (sursa de hrană, starea fiziologică a animalului, particularităţile fiziologice ale acestuia).

Studiul efectuat a demonstrat că, pentru OTA, valorile obţinute au fost de 2,2 µg/kg în ovăz, 3,2 µg/kg în tărâţe şi 0,1 ng/ml în serul sanguin, 0,018 ng/ml în lapte şi 0,009 ng/ml în urină, toate fiind sub limita maximă admisă.

Din cantitatea totală de micotoxină OTA ingerată prin furaje (5,4 µg/kg), o proporţie de 1,8% s-a regăsit în serul sanguin, 0,3% în lapte şi 0,1% în urină ceea ce confirmă transferul metaboliţilor acestor micotoxine din furaje prin lichide biologice, în produse date la exterior.

Rezultatele diverselor studii privind absorbţia şi excreţia OTA şi a metabolitului OTA-alfa la rumegătoare sunt explicate prin varietatea raţiilor administrate în hrana animalelor. Microorganismele ruminale ca şi cele intestinale degradează nesemnificativ OTA atunci când raţia rumegătoarelor este bogată în nutreţuri concentrate.

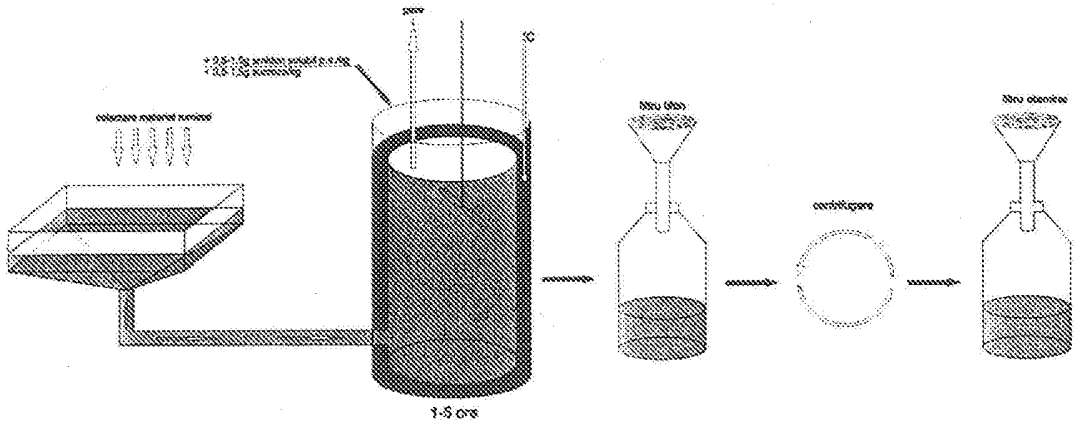
Activitatea protozoarelor este strâns condiţionată de modul de alimentaţie şi de calitatea hranei, transformarea OTA în OTA-alfa, de exemplu, fiind favorizată de raţia bogată în amidon (Diaz, 2005) mai mult decât cea bogată în fibre. Trebuie precizat că alimentaţia de bază la rumegătoare o reprezintă furajele fibroase, astfel că suplimentarea acestora cu nutreţuri concentrate trebuie să se facă limitat şi în favoarea sănătăţii animalelor.

Procedeul revendicat este realizabil în condiţii de laborator, de către personal specializat, cât şi în condiţii industriale, în abator sau în unităţi specializate în acest sens.

Revendicare

Procedeu de preparare a unui supliment bioactiv de hrană pentru animale, **caracterizat prin aceea că** se recoltează în întregime conţinutul ruminal de la taurine, în stare proaspătă, din abator, se depozitează într-un recipient menţinut la bain-marie la o temperatură de 39°C, în condiţii de anaerobioză, se adaugă 0,5...1,5 părţi amidon/părţi conţinut ruminal şi 0,5...1,5 părţi sucroză/părţi conţinut ruminal, se filtrează conţinutul ruminal după un interval de 1...5 h, printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea resturilor de materie vegetală din compoziţia acestuia, apoi se centrifughează şi se filtrează lichidul obţinut anterior, printr-o pânză de etamină.

(51) Int.Cl.
A23K 1/00 (2006.01);
A23K 1/10 (2006.01)



Editare şi tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenţii şi Mărci
sub comanda nr. 79/2014