



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0919187-9 A2



(22) Data do Depósito: 09/09/2009

(43) Data da Publicação Nacional: 17/11/2020

(54) Título: RAÇÃO PARA ALIMENTO DE ANIMAL COM NÚCLEO À BASE DE PROTEÍNA E MÉTODOS RELACIONADOS.

(51) Int. Cl.: A23K 1/00; A23K 1/16; A23K 1/18.

(30) Prioridade Unionista: 11/09/2008 US 61/096,127.

(71) Depositante(es): THE IAMS COMPANY.

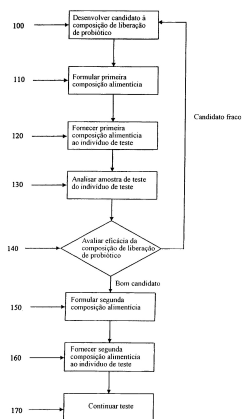
(72) Inventor(es): GREGORY DEAN SUNVOLD; JOHN LESLIE BRENT JR.; PATRICK JOSEPH CORRIGAN; MICHAEL GRIFFIN HAYEK.

(86) Pedido PCT: PCT US2009056292 de 09/09/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/030614 de 18/03/2010

(85) Data da Fase Nacional: 03/03/2011

(57) Resumo: RAÇÃO PARA ALIMENTO DE ANIMAL COM NÚCLEO A BASE DE PROTEÍNA E MÉTODOS RELACIONADOS A presente invenção descreve rações ou alimentos peletizados para animais ou animais de estimação que incluem uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal e um revestimento de uma gordura e pelo menos um aditivo. O revestimento pode incluir um revestimento enriquecido com probiótico. São descritos, também, métodos para a formação dos alimentos sob a forma de péletes de ração para animais e animais de estimação. A presente invenção apresenta um revestimento probiótico para uma ração mostrando estabilidade e bicatividade aceitáveis e descreve também métodos para avaliar a bicatividade de um probiótico em uma composição alimentícia.



## **RAÇÃO PARA ALIMENTO DE ANIMAL COM NÚCLEO À BASE DE PROTEÍNA**

### **E MÉTODOS RELACIONADOS**

#### **CAMPO DA INVENÇÃO**

5           A presente invenção refere-se a rações para  
alimento de animais que contêm um núcleo à base de proteína  
que é substancialmente isento de uma matriz de amido  
gelatinizado. Em certas modalidades, a ração para animais  
pode compreender, ainda, ao menos um revestimento ativo  
10 sobre a superfície do núcleo à base de proteína. Em  
modalidades específicas, o revestimento ativo pode incluir  
um microorganismo probiótico. Outras modalidades referem-se  
a revestimentos para microorganismos probióticos e métodos  
para avaliar a bioatividade de probióticos em composições  
15 alimentícias.

#### **ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

Alimentos do tipo ração para animais, tais como  
alimentos para cães e gatos, são produtos alimentícios secos  
prontos para consumo de animais de estimação. As rações podem  
20 ser formadas por um processo de extrusão no qual as matérias  
primas da ração são extrudadas sob calor e pressão para  
formar a ração na forma peletizada. A tecnologia de extrusão  
fornece um método barato e eficiente de formulação de rações  
para animais, como as rações que contêm uma matriz de amido.  
25 Durante o processo de extrusão, a matriz de amido tipicamente  
torna-se gelatinizada sob as condições de extrusão.

Os mecanismos de defesa para proteger o trato  
gastrointestinal (GI) de mamíferos contra a colonização por

bactérias patogênicas são altamente complexos. Os tratos GI da maioria dos mamíferos são colonizados por microflora nativa, e microorganismos patogênicos invasivos. Em um indivíduo saudável, essas microfloras concorrentes encontram-se em um estado de equilíbrio. A alteração do equilíbrio da microflora intestinal pode causar ou evitar muitos transtornos gastrointestinais, tanto em seres humanos quanto em outras espécies de mamíferos, como animais de estimação, incluindo, por exemplo, gatos, cães e coelhos. O bem-estar de animais de estimação está estreitamente relacionado à alimentação e à saúde gastrointestinal, e a manutenção do equilíbrio da microflora intestinal nesses animais de estimação pode resultar em animais de estimação mais saudáveis.

O número e a composição da microflora intestinal tendem a ser estáveis, embora idade e dieta possam modificá-los. A atividade gástrica, biliar, peristaltismo intestinal e imunidade local são fatores considerados importantes na regulação da flora bacteriana no intestino delgado de seres humanos e de vários outros mamíferos. Frequentemente, os transtornos gastrointestinais em animais de estimação, inclusive aqueles encontrados em caninos e felinos, estão ligados ao crescimento bacteriano excessivo e à produção de enterotoxinas pelas bactérias patogênicas. Esses fatores perturbam o equilíbrio da microflora intestinal e podem promover inflamação e resposta imunológica aberrante.

As pesquisas começaram a destacar algumas cepas valiosas de bactérias e seus usos potenciais como agentes

probióticos. Os probióticos são considerados como  
preparações de bactérias, viáveis ou mortas, seus  
constituintes como proteínas ou carboidratos, ou frações  
purificadas de fermentos bacterianos que promovem a saúde  
5 de mamíferos preservando e/ou promovendo a microflora  
natural do trato GI, e reforçando os controles normais de  
respostas imunológicas aberrantes.

Existe um desejo de melhorar a saúde de animais de  
estimação. Entretanto, muitos desses ingredientes podem ser  
10 caros, sensíveis aos efeitos da extrusão ou de outros métodos  
de produção, e/ou sensíveis à estabilidade do produto  
(exposição a oxigênio ou umidade). Além disso, pode ser  
problemático determinar se um probiótico em uma composição  
alimentícia será bioativa. A identificação de novos projetos  
15 de produtos capazes de superar esses desafios permitiria sua  
fabricação de modo a satisfazer o desejo dos consumidores de  
fornecer benefícios de saúde aprimorados aos seus animais de  
estimação. Dessa forma, existe uma necessidade por matrizes  
de rações e por rações e alimentos aprimorados para animais e  
20 animais de estimação. Além disso, existe também a necessidade  
por métodos de avaliação da bioatividade dos probióticos.

### **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

A presente descrição refere-se a alimentos para  
animais de estimação sob a forma de ração peletizada que  
25 contém um núcleo à base de proteína. De acordo com uma  
modalidade, a presente descrição apresenta uma ração para  
animais de estimação que compreende uma matriz com núcleo à  
base de proteína contendo mais de 70%, em peso, de uma

proteína vegetal, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado, e tem pelo menos um revestimento que compreende uma gordura e pelo menos um aditivo, sendo que o revestimento é aplicado sobre uma superfície do núcleo à base de proteína.

Uma outra modalidade da presente descrição fornece uma ração para animais de estimação que compreende uma matriz com núcleo à base de proteína contendo mais de 70%, em peso, de uma proteína vegetal, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado e com pelo menos um revestimento ativo em ao menos uma porção de uma superfície da matriz com núcleo à base de proteína. Em certas modalidades, o ao menos um revestimento ativo compreende ao menos um revestimento enriquecido com probiótico.

Outras modalidades da presente descrição apresentam um método para formar uma ração para animais que compreende a extrusão de uma matriz com núcleo à base de proteína contendo mais de 70%, em peso, de uma proteína vegetal, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado e reveste ao menos uma porção de uma superfície da matriz com núcleo à base de proteína com um revestimento que compreende um probiótico.

Outra modalidade, ainda, da presente invenção descreve um produto alimentício para animais que compreende uma ração sob a forma de péletes contendo uma matriz com um núcleo à base de proteína vegetal que é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado. O pélete de

ração com a matriz de núcleo à base de proteína vegetal compreende até 100% do total dos péletes de ração.

Outras modalidades, ainda, da presente descrição apresentam um produto alimentício para animais sob a forma de ração peletizada que compreende um primeiro tipo de pélete de ração e um segundo tipo de pélete de ração. O primeiro tipo de pélete de ração compreende uma fonte de proteína de 16% a 50%, em peso, do primeiro tipo de pélete de ração, uma fonte de gordura de 5% a 35%, em peso, do primeiro tipo de pélete de ração, e uma fonte de carboidrato. O segundo tipo de pélete de ração compreende uma matriz com um núcleo à base de proteína que é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado. As várias modalidades da presente invenção são descritas com mais detalhes a seguir.

Em outras modalidades, a presente descrição apresenta métodos para avaliar a bioatividade de um probiótico em uma composição alimentícia que compreende fornecer uma primeira composição alimentícia que compreende uma composição de liberação de probiótico e um marcador substituto para liberação do probiótico; fornecer a primeira composição alimentícia a um indivíduo de teste; analisar uma amostra de teste que compreende ao menos um de sangue, urina e fezes do indivíduo de teste quanto à presença do marcador substituto; e avaliar a eficácia da composição de liberação de probiótico para a liberação de um ou mais microorganismo ou material probiótico. O marcador substituto pode estar contido em ou circundado pela composição de liberação de probiótico.

### **BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS**

As várias modalidades apresentadas na Descrição da invenção serão mais bem compreendidas com referência aos seguintes desenhos, sendo que:

5           As Figuras 1 a 3 ilustram fluxogramas que representam as etapas associadas a várias modalidades dos métodos da presente invenção para avaliar a bioatividade de uma composição alimentícia probiótica.

### **DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO**

#### 10   Definições

Para uso na presente invenção, o termo "compreendendo" significa vários componentes conjuntamente empregados no preparo das composições da presente descrição. Da mesma forma, os termos "consistindo essencialmente em" e  
15 "consistindo em" estão incorporados ao termo "compreendendo".

Para uso na presente invenção, os artigos incluindo "o(a)", "os(as)", "um(a)" e "uns(umas)", quando usados em uma reivindicação ou no relatório descritivo, devem ser compreendidos com significado de um ou mais do  
20 que é reivindicado ou descrito.

Para uso na presente invenção, os termos "incluir", "inclui" e "incluindo" destinam-se a ser não-limitadores.

Para uso na presente invenção, o termo "pluralidade" significa mais de um.

25           Para uso na presente invenção, o termo "amido gelatinizado" inclui amido que foi aquecido na presença de água, de modo que as áreas de ligação ao hidrogênio na cadeia principal de amido anidroglicose associam-se com e ligam-se

"hidrogenicamente" com um número maior de moléculas de água resultando em uma estrutura mais amorfa, menos cristalina.

Para uso na presente invenção, o termo "matriz", quando usado em referência a um componente de um pélete de ração, significa que o componente forma uma rede contínua em toda a porção do pélete de ração, por exemplo, o núcleo do pélete de ração.

Para uso na presente invenção, o termo "substancialmente isento", quando usado em referência ao amido gelatinizado, significa que a matriz do núcleo inclui menor que 10%, em peso, de amido gelatinizado, ou mesmo menor que 5%, em peso, de amido gelatinizado.

Para uso na presente invenção, o termo "pélete de ração" isoladamente inclui um componente particulado semelhante a um pélete de alimentos para animais, como alimentos para cães e gatos, que tem, tipicamente, um teor de umidade menor que 12%, em peso. Os péletes de ração podem situar-se em uma faixa de textura que varia de duros a macios. Os péletes de ração podem situar-se em uma faixa de estrutura interna que varia de expandidos a densos. Os péletes de ração podem ser formados por um processo de extrusão.

Para uso na presente invenção, os termos "probiótico" ou "organismo probiótico" significam bactérias ou outros microorganismos, viáveis ou mortos, seus constituintes como proteínas ou carboidratos, ou frações purificadas de fermentos bacterianos, inclusive aqueles em estado dormente e esporos, capazes de promover a saúde de

mamíferos preservando e/ou promovendo a microflora natural do trato GI, e reforçando os controles normais de respostas imunológicas aberrantes.

Para uso na presente invenção, o termo "enriquecido" significa um objeto ou estrutura que tem uma quantidade maior do componente enriquecido em relação a um objeto ou estrutura que não é enriquecida com o componente. De acordo com determinadas modalidades, um objeto ou estrutura enriquecida tem ao menos 5% mais do componente enriquecido em relação ao objeto ou estrutura não-enriquecida.

Para uso na presente invenção, os termos "animal" e "animal de estimação" significam um animal doméstico incluindo, mas não se limitando a cães, gatos, cavalos, vacas, furões, coelhos, porcos domésticos, e similares. Cães e gatos domésticos são exemplos particulares de animais de estimação.

Para uso na presente invenção, os termos "ração animal", "composições de ração animal", "ração para animais", "alimento para animais de estimação" ou "composição alimentícia para animais de estimação" significam uma composição destinada para ingestão por um animal de estimação. Alimentos para animais de estimação podem incluir, porém não se limitam a, composições nutricionalmente balanceadas adequadas para alimentação diária, bem como suplementos (por exemplo, petiscos) que podem ser ou não nutricionalmente balanceadas.

Exceto onde especificado em contrário, todos os níveis de componente ou de composição referem-se à porção ativa daquele componente ou composição e são exclusivos de

impurezas, por exemplo, solventes residuais ou subprodutos, os quais podem estar presentes em fontes comercialmente disponíveis de tais componentes ou composições.

Todas as porcentagens e razões são calculadas em peso, exceto onde indicado em contrário. Todas as porcentagens e razões são calculadas com base no total da composição, exceto onde indicado em contrário.

Deve-se compreender que cada limite numérico máximo mencionado neste relatório descritivo inclui todos os limites numéricos inferiores, como se tais limites numéricos inferiores estivessem expressamente registrados no presente documento. Cada limite numérico mínimo mencionado neste relatório descritivo inclui cada um dos limites numéricos superiores, como se tais limites numéricos superiores estivessem expressamente registrados no presente documento. Cada intervalo numérico mencionado neste relatório descritivo inclui cada intervalo numérico mais restrito que esteja situado dentro deste intervalo numérico mais amplo, como se tais intervalos numéricos mais restritos estivessem expressamente registrados no presente documento.

Podem ser aqui mencionados nomes comerciais de componentes que incluem vários ingredientes utilizados na presente descrição. Os inventores da presente invenção não pretendem estar limitados a materiais sob nenhum nome comercial particular. Os materiais equivalentes (por exemplo, aqueles obtidos a partir de uma fonte diferente, com um nome ou número de referência diferente) àqueles mencionados pelo

nome comercial podem servir como substitutos e serem utilizados nas descrições da presente invenção.

Na descrição das várias modalidades da presente invenção, são descritas várias modalidades ou características individuais. Como ficará aparente para o elemento versado na técnica, todas as combinações de tais modalidades e características são possíveis e podem resultar em realizações preferenciais da presente descrição. Muito embora várias modalidades e características individuais da presente invenção tenham sido ilustradas e descritas, várias outras alterações e modificações podem ser feitas sem que se desvie do caráter e âmbito da invenção. Ficaré aparente para o elemento versado na técnica, que todas as combinações de tais modalidades e características instruídas na descrição anteriormente mencionada são possíveis e podem resultar em realizações preferenciais da presente invenção.

#### Péletes de ração com núcleo à base de proteína vegetal

Várias modalidades não-limitadoras da presente descrição incluem uma ração para animais que compreende uma matriz com um núcleo à base de proteína que é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado. Outras modalidades incluem métodos de formação das composições de ração para animais aqui apresentadas. Outras modalidades, ainda, da presente descrição incluem alimentos para animais sob a forma de ração peletizada. Em modalidades específicas, a ração para animais pode ser projetada para incorporar um revestimento

que compreende ao menos um aditivo, tal como, mas não se limitando a, um probiótico ou outro biológico.

De acordo com uma modalidade, a presente descrição apresenta uma ração para animais que compreende uma matriz com núcleo à base de proteína contendo mais de 70%, em peso, de uma proteína vegetal, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado; e contém pelo menos um revestimento que compreende uma gordura e pelo menos um aditivo, sendo que o revestimento é aplicado sobre uma superfície do núcleo à base de proteína. Em modalidades específicas, a matriz com núcleo à base de proteína pode compreender mais de 80%, em peso, de uma proteína vegetal. Em outras modalidades, ainda, a matriz com núcleo à base de proteína pode compreender mais de 85%, 90% ou mesmo 95%, em peso, de uma proteína vegetal. Exemplos específicos de proteínas vegetais incluem qualquer proteína de origem vegetal que é substancialmente isenta ou pode ser modificada ou fabricada para ser substancialmente isenta de amido gelatinizado. Exemplos de proteínas vegetais adequadas para uso nas várias modalidades da presente descrição incluem, mas não se limitam a, grãos secos destilados ("GSD"), grãos secos destilados solúveis ("GSDS"), concentrado de proteína de milho ("CPM"), farinha de glúten de milho ("FGM"), isolado de proteína de soja ("IPS"), concentrado de proteína de soja ("CPS"), glúten de trigo ("GT"), isolado de proteína de arroz ("IPA"), concentrado de proteína de arroz ("CPAr"), concentrado de proteína de sorgo ("CPSorg"), concentrado de proteína de aveia ("CPAv"),

concentrado de proteína de cevada ("CPC"), e combinações de quaisquer dos mesmos. Em modalidades específicas, a proteína vegetal pode ser GSDS, CPM, ou IPS. Em uma modalidade específica, a proteína vegetal pode ser CPM.

5           A proteína de origem animal é um componente comum em rações animais, particularmente para animais carnívoros ou onívoros. Entretanto, certas rações à base de proteína animal podem conter compostos e componentes específicos que podem conferir ao alimento animal um odor indesejável.

10 Alimentos animais com aromas agradáveis podem atrair o animal a comer um produto nutritivo e podem também ser agradáveis para o dono do animal de estimação. Certas modalidades das rações à base de proteína vegetal da presente descrição podem mostrar redução de componentes de

15 odor desagradável, como ácidos carboxílicos de cadeia curta, por exemplo, ácido 3-metilbutanóico, ácido butanóico, ácido pentanóico e ácido hexanóico, que podem ocorrer em certas proteínas comuns de origem animal. Além disso, fontes de proteína de carne podem desenvolver um aroma de gordura

20 oxidada, típico de rancidez. Compostos odor desagradável devido à oxidação de lipídios podem incluir, por exemplo, certos aldeídos, furanos, alcoóis e produtos de oxidação de cetona. Rações à base de proteína vegetal podem ter muito pouca gordura e as pequenas proporções de gordura no núcleo

25 da ração à base de proteína vegetal podem ser uma gordura pura mais estável (por exemplo, na forma purificada, ou com antioxidantes, a partir de uma fonte comercial), de modo que tal ração pode ser menos propensa a desenvolver odores

indesejáveis associados à oxidação da gordura. Portanto, os  
péletes de ração formados a partir de uma matriz com núcleo  
à base de proteína vegetal podem demonstrar certas  
vantagens, como aroma agradável e vida útil mais longa, em  
5 relação às rações à base de proteína de origem animal.

As proteínas de origem vegetal não têm sido  
tradicionalmente usadas exclusivamente como o componente de  
proteína em rações animais e alimentos para animais de  
estimação. Isso pode ser particularmente verdadeiro para  
10 alimentos para animais de estimação sob a forma de péletes  
de ração devido a problemas de estabilidade e de formulação.  
Proteínas vegetais, como GSDS, CPM, FGM, IPS e CPS  
prontamente disponíveis na fabricação e produção agrícola e  
em certas proteínas vegetais, como, por exemplo, GSD e GSDS,  
15 CPM, FGM, podem ser subprodutos de operações de fabricação  
como usinas de produção de etanol. Dessa forma, as proteínas  
de origem vegetal podem ser uma fonte de proteína  
prontamente disponível e de baixo custo para rações animais.

Em modalidades específicas, o pélete de ração  
20 compreende de 25% a 99,99%, em peso, da matriz com núcleo à  
base de proteína. Em outras modalidades, o pélete de ração  
compreende de 50% a 99%, em peso, da matriz com núcleo à  
base de proteína. Modalidades específicas das rações de  
acordo com a presente descrição podem incluir uma matriz  
25 com núcleo à base de proteína que pode compreender, ainda,  
um ou mais outros ingredientes, como ingredientes que podem  
otimizar o processamento, a estabilidade, e/ou a  
palatabilidade, ou fornecer ingredientes nutricionais

específicos. Por exemplo, a matriz com núcleo à base de proteína pode compreender, ainda, ao menos um de sólidos de xarope de milho, minerais, vitaminas, prebióticos (por exemplo, frutooligossacarídeos, oligofrutossacarídeos, inulina, chicória, xilooligossacarídeos, mananooligossacarídeos, lactosucrose, galactooligossacarídeos, ou amido resistente), óleos vegetais, gorduras animais, óleos de peixe, óleos minerais, aminoácidos, fibras, proteína de animais, proteínas de peixe, emulsificantes, elementos auxiliares ao processamento, umectantes, e dextrinas.

Em muitas aplicações, o amido pode ser adicionado ao componente de proteína da ração para otimizar a estabilidade, por exemplo, mantendo os componentes na forma de pélete de ração. Em certas aplicações, pode ser desejável fornecer um pélete de ração que seja substancialmente isento de amido. Entretanto, a formulação de um pélete de ração, como um pélete de ração à base de proteína sem amido não é um processo direto, uma vez que a estabilidade do pélete de ração sem amido é reduzida. Os inventores das várias modalidades da presente descrição desenvolveram metodologias para produzir uma ração de matriz com núcleo à base de proteína extrudado que é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado e na qual o pélete de ração contém mais de 70%, em peso, de uma proteína vegetal. Dessa forma, uma modalidade da presente descrição apresenta uma matriz com núcleo à base de proteína, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de

amido gelatinizado. Modalidades específicas podem compreender um núcleo à base de proteína que tenha menos de 5%, 2%, 1%, ou mesmo 0,5%, em peso, de amido gelatinizado. Em outras modalidades, ainda, a matriz com núcleo à base de proteína pode ser essencialmente isenta de amido gelatinizado. Para uso na presente invenção, o termo "essencialmente isento(a)", quando usado em referência à concentração de um componente específico em uma composição significa menos de uma quantidade mensurável usando-se métodos de medição de concentração comuns na técnica.

Várias modalidades da presente descrição podem, ainda, fornecer uma ração para animais que compreende ao menos um revestimento que compreende ao menos um aditivo. Conforme descrito na presente invenção, quando se diz que um revestimento é aplicado sobre uma superfície da matriz do núcleo, o revestimento pode ser colocado em contato diretamente com a matriz do núcleo à base de proteína ou em contato com um ou mais outros revestimentos intermediários na matriz com núcleo à base de proteína (isto é, como uma camada específica em uma série de camadas de revestimento sobre a superfície da matriz do núcleo). Em modalidades específicas, o revestimento pode compreender uma gordura além do ao menos um aditivo.

Em certas modalidades, o ao menos um revestimento pode compreender ao menos um revestimento ativo sobre a superfície da matriz com núcleo à base de proteína. Para uso na presente invenção, o termo "ativo" significa um revestimento que compreende um componente ativo, a título de

exemplo, mas sem constituir em uma limitação, componentes que podem conferir algum benefício desejado à nutrição ou à saúde do animal que consome a ração animal, ou que podem conferir algum benefício desejado de estética ou palatabilidade à ração animal. Exemplos de componentes ativos que podem ser incorporados ou adicionado nos revestimentos ativos incluem, mas não se limitam a, frutooligossacarídeos (FOS), polpa de beterraba, mananoligossacarídeos (MOS), chicória, fibra de aveia, polpa de cítricos, carbóxi metil celulose (CMC), goma guar, goma arábica, polpa de maçã, fibra de cítricos, extratos de fibras, derivados de fibras, fibra de beterraba seca (açúcar removido), celuloses,  $\alpha$ -celulose, galactooligossacarídeos, xilooligossacarídeos, oligoderivados de amido, inulina, plantago, pectinas, pectina cítrica, goma de xantana, alginatos, goma de talha, beta-glucanos, quitinas, lignina, polissacarídeos não-amidos, carragenina, amido reduzido, oligossacarídeos de soja, trealose, rafinose, estaquiose, lactulose, polidextrose, oligodextrano, genti-oligossacarídeo, oligossacarídeo péctico, monossacarídeos, dissacarídeos, hemicelulose, farinha de aves, aves, farinha de subprodutos de aves, cordeiro, farinha de cordeiro, peru, farinha de peru, carne, subprodutos de carne, vísceras, farinha de peixe, enterais, canguru, pescado branco, carne de cervo, farinha de soja, isolado de proteína de soja, concentrado de proteína de soja, farinha de glúten de milho, concentrado de proteína de milho, grãos secos destilados solúveis, cereais, grãos, milho, trigo, arroz, aveias, grits de milho, sorgo, sorgo em grão, milo, fibra de trigo, fibra

de aveia, amaranto, duro, semolina, gordura de aves, gordura de frango, gordura de peru, gordura suína, banha, sebo, gordura bovina, óleos vegetais, óleo de milho, óleo de soja, óleo de caroço de algodão, óleo de babaçu, óleo de coco de babaçu (azeite de dendê), óleo de linhaça, óleo de canola, 5 óleo de semente de colza, óleo de peixe, óleo de savelha, óleo de anchova, olestra, selenito de sódio, fosfato monossódico, carbonato de cálcio, cloreto de potássio, sulfato ferroso, óxido de zinco, cloreto de zinco, sulfato de 10 manganês, sulfato de cobre, óxido manganoso, iodeto de potássio, carbonato de cobalto, citrato de potássio, carbonato de cálcio, cloreto de cálcio, bissulfato de sódio, cloreto estanoso, fluoreto estanoso, fluoreto de sódio, cloreto de colina, suplemento de vitamina E, ácido ascórbico, 15 acetato de vitamina A, pantotenato de cálcio, ácido pantotênico, biotina, mononitrato de tiamina (fonte de vitamina B1), suplemento de vitamina B12, niacina, suplemento de riboflavina (fonte de vitamina B2), inositol, cloridrato de piridoxina (fonte de vitamina B6), suplemento de vitamina 20 D3, ácido fólico, vitamina C, caldo de carne bovina, quirela de levedura seca, ovos, produto à base de ovos, farelo de linhaça, metionina DL, aminoácidos, cistina, l-triptofano, taurina, carnosina, alanina, cisteína, arginina, metionina, triptofano, lisina, asparagina, ácido aspártico, 25 fenilalanina, valina, treonina, isoleucina, histidina, leucina, glicina, glutamina, tirosina, homocisteína, ornitina, citrulina, ácido glutâmico, prolina, serina, polifosfatos, hexametafosfato de sódio (SHMP), pirofosfato de

sódio, tripolifosfato de sódio, gluconato de cobre, triclosano, cloridrato de glicosamina, sulfato de condroitina, mexilhão verde da Nova Zelândia, mexilhão azul da Nova Zelândia, metil sulfonil metano (MSM), boro, ácido bórico, fitoestrogênios, fitoandrógenos, genisteína, daidzeína, L-carnitina, picolinato de cromo, tripicolinato de cromo, nicotinato de cromo, anti-metabólitos de glicose, 2-desoxi-D-glicose, 5-tio-D-glicose, 3-O-metil glicose, alcoóis anidroaçúcar, 1,5-anidro-D-glicitol, 2,5-anidro-D-glicitol, 2,5-anidro-D-manitol, manoeptulose, extrato de abacate compreendendo manoeptulose, modificadores de ácido/base, eucalipto, lavanda, hortelã pimenta, extrato de chá, extrato de alecrim, ácido rosmarínico, extrato de café, ácido caféico, extrato de turmerico, extrato de mirtilo, extrato de uva, extrato de semente de uva, extrato de soja, luteína, astaxantina, zeaxantina, bixina, licopeno, beta-caroteno, tocoferóis (vitamina E), vitamina C, vitamina A, materiais derivados de plantas, carotenóides, selênio, coenzima Q10, ácido araquidônico, ácido alfa-linoléico, ácido gama-linoléico, ácido linoléico, ácido eicosapentanóico (EPA), ácido docosaexanóico (DHA), óleos de peixe enriquecidos com ácidos graxos ômega-3, plastificantes, corantes, flavorizantes, adoçantes, agentes tampão, auxiliadores deslizantes, veículos, agentes reguladores do pH, ingredientes naturais, estabilizantes, aditivos biológicos, enzimas, proteases, lipases, aditivos químicos, agentes refrigerantes, quelantes, desnaturantes, adstringentes medicinais, emulsificantes, analgésicos externos, compostos

de fragrância, umectantes, agentes opacificantes, óxido de zinco, dióxido de titânio, agentes anti-espumantes, silicone, preservativos, hidróxi tolueno butilado (BHT), hidróxi tolueno anisol butilado (BHA), galato de propila, cloreto de 5 benzalcônio, EDTA, álcool benzílico, sorbato de potássio, parabenos, agentes redutores, solventes, hidrótropos, agentes solubilizantes, agentes de suspensão não-tensoativos, solventes, agentes de aumento de viscosidade aquosos e não-aquosos, sequestrantes, queratolíticos, corantes naturais, 10 corantes sintéticos, e combinações de quaisquer dos mesmos.

Outras modalidades da presente descrição podem compreender rações para animais de estimação sendo que o ao menos um revestimento pode compreender ao menos um revestimento biológico sobre a superfície da matriz com 15 núcleo à base de proteína. Biológicos adequados incluem, a título de exemplo, mas sem constituir-se em limitação enzimas, anticorpos, imunoglobulinas, citocinas, agentes epigenéticos, e microorganismos e materiais probióticos. Em modalidades específicas, o revestimento biológico pode 20 compreender ao menos um revestimento probiótico enriquecido. O revestimento probiótico enriquecido pode compreender um biológico ou probiótico selecionado do grupo que consiste em um componente probiótico que tem uma contagem de microorganismo probiótico de ao menos  $10^5$  ufc/grama do 25 revestimento, levedura, enzimas, anticorpos, imunoglobulinas, citocinas, agentes epigenéticos, e combinações dos mesmos. Em outras modalidades, o probiótico pode ser medido em relação ao peso do pélete de ração. De

acordo com essas modalidades, o componente probiótico pode ter uma contagem de microorganismo probiótico de ao menos  $10^4$  ufc/grama do pélete de ração.

O revestimento enriquecido com probiótico, de acordo com modalidades específicas, pode compreender um ou mais microorganismo probiótico bacteriano adequado para consumo de animais de estimação e eficaz para otimizar o equilíbrio microbiano no trato intestinal do animal de estimação ou para outros benefícios, como alívio de doença ou condição ou profilaxia, para o animal de estimação. Diversos microorganismos probióticos conhecidos na técnica são adequados ao uso na presente invenção. Consulte, por exemplo, o documento WO 03/075676, e o pedido publicado nº US 2006/0228448A1. Em modalidades específicas, o componente probiótico pode ser selecionado de bactérias, levedura ou microorganismos dos gêneros *Bacillus*, *bacteróides*, *bactérias bífidas*, *enterococo* (por exemplo, *Enterococcus faecium* DSM 10663 e *Enterococcus faecium* SF68), *lactobacilo*, *leuconostroco*, *sacaromicetos*, *cândida*, *estreptococo*, e misturas de quaisquer dos mesmos. Em outras modalidades, o probiótico pode ser selecionado dos gêneros *bactérias bífidas*, *lactobacilo*, e combinações dos mesmos. Aquelas dos gêneros *Bacillus* podem formar esporos. Em outras modalidades, o probiótico não forma um esporo. Alguns exemplos não-limitadores de bactérias formadoras de ácido láctico adequadas ao uso na presente invenção incluem cepas de *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*,

*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* (por exemplo, cepa de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241), *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus delbrukii*, *Lactobacillus thermophilus*, *Lactobacillus fermentii*, *Lactobacillus salvarius*, *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium pseudolongum*, e *Pediococcus cerevisiae*, ou misturas de quaisquer dos mesmos. Em modalidades específicas, o revestimento enriquecido com probiótico pode compreender a cepa bacteriana *Bifidobacterium animalis* AHC7 NCIMB 41199. Outras modalidades do revestimento enriquecido com probiótico podem incluir um ou mais microorganismos identificados nos pedidos publicados sob números US 2005/0152884A1, US 2005/0158294A1, US 2005/0158293A1, US 2005/0175598A1, US 2006/0269534A1 e US 2006/0270020A1 e na publicação internacional sob o PCT nº WO 2005/060707A2.

Em certas modalidades, o revestimento enriquecido com probiótico pode ter uma contagem de microorganismos probióticos viáveis de ao menos cerca de  $10^4$  de unidades formadoras de colônia (UFC) por grama do pélete de ração, ou ao menos cerca de  $10^5$  UFC por grama do pélete de ração, ou ao menos cerca de  $10^7$  UFC por grama do pélete de ração. Por exemplo, o revestimento pode ter uma contagem de microorganismos probióticos viáveis de até cerca de  $10^{11}$  UFC por grama do pélete de ração, ou até cerca de  $10^9$  UFC por

grama do pélete de ração, ou até cerca de  $10^8$  UFC por grama do pélete de ração. A contagem definida por UFC é determinada usando-se métodos como os apresentados na publicação U.S. n° US 2006/0228448A1. Vantajosamente, os revestimentos probióticos enriquecidos aqui fornecidos têm uma vida útil de ao menos cerca de três meses, alternativamente ao menos cerca de seis meses, alternativamente de cerca de três meses a cerca de vinte e quatro meses, alternativamente de cerca de seis meses a cerca de dezoito meses. Em modalidades específicas, os revestimentos probióticos enriquecidos podem ter uma vida útil de ao menos 16 meses. Para uso na presente invenção, o termo "vida útil" refere-se à propriedade do segundo componente de modo que cerca de 1% ou mais, alternativamente cerca de 5% ou mais, alternativamente cerca de 10% ou mais, alternativamente cerca de 25% ou mais, alternativamente cerca de 50% ou mais, alternativamente cerca de 75% ou mais, dos microorganismos probióticos do revestimento enriquecido com probiótico sejam viáveis nos períodos mencionados após exposição às condições do meio ambiente.

Em modalidades específicas, o revestimento enriquecido com probiótico pode compreender uma levedura. Pode ser utilizada qualquer uma dentre diversas leveduras, conforme bem conhecido na técnica, como aquelas dos gêneros *Saccharomyces* (incluindo, por exemplo, *Saccharomyces cerevisiae* (às vezes chamada de levedura de "Baker"), e *Candida utilis* (que pode também ser chamada de *Torulopsis utilis*). Para uso na presente invenção, o termo "leveduras"

inclui, porém não se limita a, aquelas que incorporam um ou mais componentes incorporados do meio no qual são cultivadas, como leveduras enriquecida com minerais. Vários processos de fermentação são bem conhecidos na técnica.

5           Em outras modalidades, o revestimento enriquecido com probiótico pode compreender uma ou mais enzimas. As enzimas incluem, particularmente, aquelas que apresentam atividade biológica benéfica em um animal de estimação, como enzimas digestivas ou outras enzimas terapêuticas.

10   Alguns exemplos não-limitadores incluem proteases, collagenases, lipases, amilases, celulasas, lisozimas, candidases, lactases, quinases, invertases, galactosidases, pectinases, ribonucleases (inclusive desoxirribonucleases) e combinações das mesmas.

15           Em outras modalidades, o revestimento enriquecido com probiótico pode compreender um ou mais anticorpos. Anticorpos para vírus, bactérias patogênicas, parasitas, ou similares podem ser usados no revestimento da presente invenção. Alguns exemplos não-limitadores incluem

20   anticorpos para inflamação na traqueia de felinos, panleucopenia felina, calicivírus felino, pneumonia felina, leucemia felina, cinomose canina, parvovírus canino, coronavírus, *Borrelia burgdorferi* (doença de Lyme), *Toxoplasma gondii*, *E. coli*, *Campylobacter*, *salmonela*,

25   *clostridia*, bacteróides, giardia, tênia, nematelminto, coccidiasina, criptosporídio, e combinações dos mesmos.

Em certas modalidades, o revestimento enriquecido com probiótico pode compreender uma ou mais imunoglobulinas.

Alguns exemplos não-limitadores incluem imunoglobulina A (IgA), imunoglobulina M (IgM), imunoglobulina G (IgG) e combinações dos mesmos. Em outras modalidades, o revestimento enriquecido com probiótico pode compreender uma ou mais  
5 citocinas. Alguns exemplos não-limitadores incluem Fator de Crescimento de Transformação beta (TGF-beta), Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF-alfa), interleucina-4, interleucina-10, interleucina-12, e combinações dos mesmos.

O revestimento enriquecido com probiótico pode  
10 compreender também um prebiótico. O termo "prebiótico" inclui substâncias ou compostos que são fermentados pela flora intestinal do animal de estimação e, conseqüentemente, promovem a proliferação ou o desenvolvimento de bactérias formadoras de ácido láctico no trato gastrointestinal do dito  
15 animal, em detrimento de bactérias patogênicas. O resultado dessa fermentação pode incluir a liberação de ácidos graxos, em particular de ácidos graxos de cadeia curta, no cólon. Isso pode ter o efeito de reduzir o valor do pH no cólon. Alguns exemplos não-limitadores de prebióticos adequados  
20 incluem oligossacarídeos, como inulina e seus produtos de hidrólise, oligofrutose, frutooligossacarídeos, galactooligossacarídeos, xilooligossacarídeos ou oligoderivados de amido. Os prebióticos podem ser fornecidos sob qualquer forma adequada. Por exemplo, o prebiótico pode  
25 ser fornecido sob a forma de material de origem vegetal contendo essas fibras. Os materiais de origem vegetal adequados incluem aspargo, alcachofras, cebolas, trigo ou chicória, bem como resíduos desses materiais de origem

vegetal. Alternativamente, a fibra prebiótica pode ser fornecida sob a forma de um extrato de inulina, sendo adequados, por exemplo, os extratos de chicória. Extratos de inulina adequados podem ser obtidos junto à Orafti SA de Tirlemont 3300, Bélgica, sob a marca registrada RAFTILINE. Alternativamente, a fibra pode ser sob a forma de um frutooligossacarídeo como o obtido junto à Orafti SA de Tirlemont 3300, Bélgica, sob a marca registrada RAFTILOSE. De outro modo, os frutooligossacarídeos podem ser obtidos hidrolizando-se a inulina com métodos enzimáticos, ou usando-se microorganismos.

Em modalidades específicas, a ração para animais da presente descrição pode compreender de 0,01% a 75%, em peso, do revestimento enriquecido com probiótico. Em outras modalidades, o pélete de ração pode compreender de 0,3% a 50% ou de 0,4% a 25%, em peso, do revestimento enriquecido com probiótico. A quantidade de revestimento enriquecido com probiótico utilizado em uma modalidade particular da ração para animais podem depender de uma variedade de fatores, incluindo, por exemplo, mas não se limitando a, tipos probióticos, dieta animal, necessidades nutricionais animais, e/ou formulação da ração animal. Por exemplo, em certas modalidades, a ração animal ou a dieta animal pode compreender basicamente as rações de acordo com a presente descrição. Nesse caso, o pélete de ração pode compreender concentrações em menor porcentagem (em peso) do revestimento probiótico enriquecido. Em outras modalidades, a ração ou dieta animal pode compreender um ou mais de outros

ingredientes. Por exemplo, a presente descrição contempla uma ração animal que compreende dois ou mais ingredientes do tipo pélete, incluindo um pélete de ração ativo que tem uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que é substancialmente isento de amido gelatinizado e tem pelo menos um revestimento probiótico enriquecido (conforme descrito em detalhes neste documento), e uma ou mais rações tradicionais. Nesse caso, o pélete de ração ativo pode compreender uma concentração mais alta em porcentagem (em peso) do revestimento enriquecido com probiótico. A concentração do revestimento probiótico incluído no pélete de ração pode ser prontamente determinada a partir da quantidade de probiótico (ou outro ingrediente ativo) que se deseja administrar ao animal.

Os materiais de revestimento para uso nos revestimentos ativos, como um revestimento enriquecido com probiótico, aqui descritos podem demonstrar características e recursos, como o fornecimento de estabilidade (conforme descrito em detalhes neste documento) aos ingrediente(s) ativo(s) no revestimento. Além disso, conforme descrito na presente invenção, quando o revestimento é um revestimento enriquecido com probiótico, o mesmo pode ser também formulado para assegurar que uma quantidade suficiente dos microorganismos probióticos seja liberada no sistema digestivo do animal (isto é, os probióticos tornam-se bioativos). Composições de revestimento adequadas para uso nas várias modalidades do pélete de ração com um núcleo à base de proteína e um revestimento ativo incluem, mas não se limitam a, manteiga de cacau, óleo de coco de babaçu (azeite

de dendê), óleo de babaçu, óleo de caroço de algodão, óleo de soja, óleo de canola, óleo de semente de colza, óleo de amendoim, óleo de manteiga, derivados hidrogenados e parcialmente hidrogenados de óleos e gorduras (inclusive aqueles aqui mencionados), cera, parafina, cera de parafina, óleo de parafina, parafina líquida, parafina sólida, cera de candelila, cera de carnaúba, cera microcristalina, cera de abelha, ácidos graxos de cadeia longa e ésteres dos mesmos, ácido cáprico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico, ácido láurico, ácido beênico, ácido adípico, acetil acil gliceróis, monoglicerídeo acetilado, goma-laca, laca desparafinada, trioleína, chocolate, licor de chocolate, leite com chocolate, sólidos de cacau, metil celulose, carbóxi metil celulose, hidróxi propil metil celulose, monoestearato de glicerol, polietileno glicol, pectina, glúten de trigo, lecitina de soja, caseinato de sódio, isolado de proteína de soro de leite, concentrado de proteína de soro de leite, álcool estearílico, álcool cetílico, álcool beenílico, olestra, tristearina, gordura animal, gordura de aves, e misturas de quaisquer dos mesmos. Em outras modalidades, o ao menos um revestimento adicional pode compreender um ou mais óleos de plantas parcialmente hidrogenados ou óleos de plantas com alto teor de gorduras saturadas (isto é, óleo de planta que seja substancialmente sólido à temperatura ambiente). Por exemplo, o ao menos um revestimento adicional pode compreender um revestimento que compreende óleo de planta parcialmente hidrogenado em ao menos uma porção de uma superfície do revestimento ativo ou

um revestimento em ao menos uma porção de uma superfície de um ou mais revestimentos intermediários sobre a superfície do revestimento ativo. Um revestimento que compreende óleo de planta parcialmente hidrogenado pode ajudar na estabilidade do pélete de ração e do probiótico, aumentando assim a vida útil da ração animal. Por exemplo, óleo de planta parcialmente hidrogenado, como óleo de soja, óleo de milho, óleo de caroço de algodão, manteiga de cacau, óleo de coco de babaçu (azeite de dendê), óleo de babaçu, óleo de canola, óleo de semente de colza, óleo de amendoim, óleo de manteiga, e similares (incluindo misturas de óleo), pode evitar a transmissão de água, oxidação ou outros processos de degradação. Exemplos adequados de componentes com temperatura mais elevada do ponto de fusão que podem ser usados como um agente de revestimento incluem, mas não se limitam a, ceras como, mas não se limitando a, cera de candelila, cera de carnaúba, cera microcristalina, cera de abelha; ácidos graxos e ésteres dos mesmos como, mas não se limitando a, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico, e ácido beênico; gorduras e óleos hidrogenados, como, mas não se limitando a, óleo de soja hidrogenado, óleo de caroço de algodão hidrogenado, óleo de palma hidrogenado, óleo de amendoim hidrogenado, óleo de semente de colza hidrogenado, óleo de milho hidrogenado, gordura de aves hidrogenada, sebo hidrogenado, banha hidrogenada, e óleo de peixe hidrogenado; glicerídeos parciais de gorduras e óleos hidrogenados, como, mas não se limitando a, todos esses aqui mencionados; alcoóis graxos,

como, mas não se limitando a, álcool cetílico, álcool estearílico, e álcool beenílico; e combinações de quaisquer dos mesmos. Em certas modalidades, o óleo de planta parcialmente hidrogenado ou outra composição de revestimento aqui apresentada pode ter um ponto de fusão na faixa de 25°C a 70°C, ou em certas modalidades na faixa de 45°C a 70°C. Em certas modalidades, o pélete de ração pode compreender de 0,01% a 20%, em peso, do revestimento que compreende o óleo de planta parcialmente hidrogenado ou as outras composições de revestimento aqui apresentadas.

Várias outras modalidades das rações para animais de estimação aqui descritas podem compreender, ainda, ao menos um revestimento adicional. Por exemplo, o ao menos um revestimentos adicionais pode incluir um ou mais revestimentos contendo ingredientes ativos adicionais (inclusive aqueles aqui descritos) ou um ou mais revestimentos enriquecidos com probióticos. Em outras modalidades, o um ou mais revestimentos adicionais podem compreender apenas o material do revestimento, sendo que o um ou mais revestimentos adicionais podem aumentar a estabilidade da composição alimentícia.

Modalidades específicas da presente invenção descrevem uma ração para animais que compreende uma matriz com núcleo à base de proteína contendo mais de 70%, em peso, de uma proteína vegetal, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado; e tem pelo menos um revestimento ativo em ao menos uma porção de uma superfície da matriz com núcleo à

base de proteína. São descritos exemplos de proteínas vegetais adequadas para a presente invenção. Em certas modalidades, o ao menos um revestimento ativo compreende ao menos um revestimento enriquecido com probiótico, como um revestimento enriquecido em um ou mais microorganismos probióticos aqui descritos.

Em certas modalidades, as rações para animais de estimação das várias modalidades aqui descritas incluem um pélete de ração que compreende de 25% a 99,99%, em peso, da matriz com núcleo à base de proteína e compreende de 0,01% a 75%, em peso, de ao menos um revestimento ativo. Outras modalidades das rações para animais de estimação podem compreender de 50% a 99,7%, em peso, da matriz com núcleo à base de proteína e 0,3% a 50%, em peso, do ao menos um revestimento ativo. Outras modalidades, ainda, das rações para animais de estimação podem compreender de 75% a 99,6%, em peso, da matriz com núcleo à base de proteína e 0,4% a 25%, em peso, do ao menos um revestimento ativo. As rações para animais de estimação de acordo com essas modalidades podem, adicionalmente, compreender ao menos um revestimento adicional, por exemplo, um revestimento que compreende um óleo de planta parcialmente hidrogenado, em ao menos uma porção de uma superfície do revestimento ativo (ou em um ou mais revestimentos intermediários no revestimento ativo), conforme descrito na presente invenção.

Outras modalidades da presente descrição fornecem métodos para a formação de uma ração para animais, como as várias modalidades das rações para animais de estimação

descritas em detalhes neste documento. De acordo com modalidades específicas, o método pode compreender a extrusão de uma matriz com núcleo à base de proteína, conforme descrito na presente invenção, como uma matriz com núcleo à base de proteína contendo mais de 70%, em peso, de uma proteína vegetal, e sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado e reveste ao menos uma porção de uma superfície da matriz com núcleo à base de proteína com um revestimento, como um revestimento que compreende um ingrediente ativo, incluindo um revestimento enriquecido com probiótico. Em outras modalidades, o método pode compreender, ainda, o revestimento de ao menos uma porção de uma superfície do revestimento probiótico com uma segundo revestimento ou camada. A segunda camada de revestimento pode compreender ao menos um óleo de planta parcialmente hidrogenado.

Em modalidades específicas, a extrusão da matriz do núcleo pode ser feita usando-se uma extrusora de rosca única, enquanto em outras modalidades a extrusão pode ser feita com uma extrusora de rosca dupla. A extrusão da matriz-núcleo que compreende mais de 70%, em peso, de uma proteína vegetal, como GSD, GSDS, CPM, FGM, IPS, GT, CPSorg, CPAv, CPAr, e/ou CPS, pode exigir configurações específicas da extrusora para produzir um material adequado para uma ração animal do tipo peletizada. Por exemplo, podem ser necessários índices muito altos de cisalhamento e tempos reduzidos de extrusão para evitar uma degradação significativa de cor e a polimerização do material no interior da extrusora e produzir rações que

sejam duráveis para processamento adicional, como revestimento com um ou mais revestimentos.

Outras modalidades da presente invenção descrevem alimentos peletizados para animais ou animais de estimação.

5 A ração ou o alimento sob a forma de péletes para animais ou animais de estimação pode compreender rações de acordo com quaisquer das modalidades aqui descritas. Por exemplo, de acordo com uma modalidade, a ração para animais sob a forma de péletes pode compreender uma ração para animais  
10 que compreende uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado, sendo que o pélete de ração com matriz de núcleo à base de proteína vegetal compreende até 100% do total dos péletes no alimento animal. Em certas  
15 modalidades, a ração com matriz de núcleo à base de proteína vegetal pode compreender de 70% a 100%, em algumas modalidades de 80% a 100%, ou mesmo de 90% a 100% do total de péletes de ração no alimento animal.

Em outra modalidade, a presente descrição apresenta  
20 um alimento para animais sob a forma de ração peletizada que compreende um primeiro tipo de pélete de ração que compreende uma fonte de proteína de cerca de 16% a cerca de 50%, em peso, do primeiro tipo de pélete de ração, uma fonte de gordura de cerca de 5% a cerca de 35%, em peso, do primeiro  
25 tipo de pélete de ração e uma fonte de carboidrato; e um segundo tipo de pélete de ração que compreende uma matriz com um núcleo à base de proteína que é substancialmente isento de

uma matriz de amido gelatinizado, como quaisquer das rações com matriz de núcleo à base de proteína aqui descritas.

De acordo com essas modalidades, o primeiro tipo de pélete de ração pode ser um pélete de ração que pode fornecer proteína, gordura e carboidrato necessários a uma dieta para manter uma boa nutrição ao animal. Em certas modalidades, o primeiro tipo de pélete de ração pode compreender uma fonte de proteína na faixa de 0% a 50%, em peso, do primeiro tipo de pélete de ração. Em outras modalidades, a fonte de proteína pode situar-se na faixa de 16% a 50%, em peso, ou mesmo de 20% a 50%, em peso, do primeiro tipo de pélete de ração. Ficará óbvio para um elemento versado na técnica que muitas formulações de péletes de ração podem ser usadas no primeiro tipo de pélete de ração para fornecer a quantidade desejada de proteína, gordura e carboidratos adicionais. Além disso, o primeiro tipo de pélete de ração pode compreender ingredientes adicionais, como vitaminas, minerais, corantes, flavorizantes, e similares.

Em certas modalidades, o segundo tipo de pélete de ração pode compreender até 90% dos péletes de ração no alimento para animais de estimação. Por exemplo, o segundo tipo de pélete de ração pode compreender de 2% a 90% dos péletes de ração, ou de 2% a 50% dos péletes de ração, ou mesmo de 2% a 25% dos péletes de ração no alimento para animais de estimação. Alternativamente, os péletes de ração podem estar presentes em razões específicas entre o primeiro tipo de pélete de ração e o segundo tipo de pélete de ração. Por exemplo, nas composições alimentícias para

animais de estimação da presente descrição, o primeiro tipo de pélete de ração e o segundo tipo de pélete de ração podem estar presentes em uma razão ao menos cerca de 2:1, ou ao menos cerca de 5:1, ou ao menos cerca de 10:1, todas em peso. Em uma outra modalidade da descrição, o primeiro tipo de pélete de ração e o segundo tipo de pélete de ração podem estar presentes em uma razão de cerca de 2:1 a cerca de 50:1, ou de cerca de 5:1 a cerca de 25:1, ou de cerca de 10:1 a cerca de 20:1, todas em peso.

Em várias modalidades, o segundo tipo de pélete de ração pode compreender, ainda, ao menos um revestimento ativo em ao menos uma porção de uma superfície da matriz com núcleo à base de proteína. Por exemplo, o ao menos um revestimento ativo pode compreender quaisquer dos revestimentos ativos aqui descritos. Em uma modalidade, o revestimento ativo pode compreender uma gordura contendo um aditivo, como as gorduras e aditivos aqui descritos. Em um modalidade específica, o ao menos um revestimento ativo pode ser um revestimento enriquecido com probiótico. Exemplos de revestimentos enriquecidos com probióticos são descritos em detalhe neste documento.

A composição alimentícia para animais de estimação pode compreender componentes fisicamente distintos (isto é, o primeiro tipo de pélete de ração e o segundo tipo de pélete de ração). O alimento para animais de estimação pode ser fornecido em uma variedade de apresentações diferentes do primeiro tipo de pélete de ração e do segundo tipo de pélete de ração. Por exemplo, a composição alimentícia para animais

de autoridades reconhecidas no campo de nutrição de animais de estimação, exceto para a necessidade adicional de água.

O primeiro tipo de pélete de ração das composições alimentícias para animais de estimação da presente descrição compreende uma fonte de proteína, uma fonte de gordura e uma fonte de carboidrato. Exemplos de um primeiro tipo de pélete de ração incluem as tradicionais rações peletizadas para animais de estimação. O primeiro tipo de pélete de ração pode ser, ou pode não ser, nutricionalmente balanceado. Em uma modalidade, o primeiro componente é nutricionalmente balanceado.

Em uma modalidade, o primeiro tipo de pélete de ração pode compreender, com base na matéria seca, de cerca de 20% a cerca de 50% de proteína bruta, ou de cerca de 22% a cerca de 40% de proteína bruta, em peso, do primeiro tipo de pélete de ração. O material de proteína bruta pode compreender qualquer material tendo um teor de proteínas de ao menos cerca de 15% em peso, sendo que alguns exemplos não-limitadores destes incluem proteínas vegetais como feijão soja, caroço de algodão e amendoim, e proteínas animais de estimação como caseína, albumina e tecido cárneo. Alguns exemplos não-limitadores de tecido cárneo útil à presente invenção incluem carne fresca e farinhas secas ou processadas, como farinha de peixe, farinha de aves, farinha de carne, farinha de ossos e similares. Outros tipos de fontes adequadas de proteína bruta incluem glúten de trigo ou de milho, e proteínas extraídas de fontes microbianas, como levedura.

O primeiro tipo de pélete de ração compreende uma fonte de gordura. Em uma modalidade, o primeiro tipo de pélete de ração pode compreender, com base na matéria seca, de cerca de 5% a cerca de 35% de gordura, de preferência de cerca de 10% a cerca de 30% de gordura, em peso, do primeiro componente. As fontes de gordura são amplamente conhecidas, incluindo qualquer componente que compreenda uma fonte de gordura, aqui definido como incluindo, por exemplo, cera, gordura, ácido graxo, e lipídio. Exemplos específicos de ceras, gorduras, ácidos graxos ou lipídios podem, frequentemente, ser intercambiáveis de acordo com a nomenclatura de uso comum na técnica, por exemplo um lipídio pode frequentemente ser também caracterizado como uma gordura. Os inventores da presente invenção não têm a intenção de limitar-se a qualquer designação específica de nomenclatura, e as classificações de um material específico como cera, gordura, ácido graxo, lipídio ou similar é feita somente por uma questão de conveniência.

Por exemplo, o componente de lipídio pode compreender uma gordura que é um componente de manteiga de cacau ou um óleo de planta ou óleo de planta parcialmente hidrogenado. Alternativamente ou adicionalmente, o componente de lipídio pode compreender um componente de gordura derivada de animais de estimação. Como é de conhecimento comum na técnica, o componente de gordura derivada de animais de estimação compreende uma gordura derivada de um animal. Alguns exemplos não-limitadores incluem materiais de origem bovina, aviária, suína e ovina (por exemplo, banhas e sebos).

As gorduras lácteas também podem servir como exemplos, inclusive a gordura de leite, a gordura de leite fracionada e a gordura de manteiga. Alternativamente ou adicionalmente, o componente de lipídio pode compreender um ácido graxo. Exemplos de fontes incluem os ácidos graxos ômega-3 ou ômega-6. Outros exemplos de ácidos graxos adequados podem incluir ácido oléico, ácido esteárico, ácido palmítico e ácidos láuricos, inclusive os sais adequados dos mesmos. Ainda outros exemplos de ácidos graxos adequados incluem ésteres ou outros derivados dos mesmos, como palmitato de cetila, ácidos graxos mono e diglicerídeos acéticos, lácticos ou cítricos, palmitato de isopropila, miristato de isopropila, e mono, di e triglicerídeos (alguns dos quais podem, também, ser caracterizados como gorduras). Alternativamente ou adicionalmente, as composições podem compreender cera. Por exemplo, exemplos de ceras incluem cera de parafina, cera de abelha (por exemplo, de cor branca ou amarela), cera de carnaúba, cera de candelila, cera microcristalina, cera de farelo de arroz, cera de éster cetílico e cera emulsificante.

São fontes ilustrativas de carboidrato os grãos ou cereais como arroz, milho, milo, sorgo, cevada, alfafa, trigo e similares. Essas fontes de carboidrato, bem como os teores típicos das mesmas, são amplamente conhecidas em composições tradicionais de alimentos para animais de estimação.

As presentes composições, como aquelas que compreendem um revestimento ativo, incluindo, mas não se limitando a, um revestimento enriquecido, podem ser usadas para fornecer benefícios após o consumo oral em animais,

como um animal de estimação. Esse benefício geralmente mantém ou melhora a saúde geral do animal. Alguns elementos não-limitadores da saúde e fisiologia animal que se beneficiam, seja pelo alívio terapêutico de sintomas, seja  
5 pela prevenção de doenças mediante profilaxia, ou ainda pela melhoria da saúde geral, inclusive mediante tratamento do sistema imune, do sistema gastrointestinal, da pele ou da pelagem, do estresse, e combinações dos mesmos. Alguns exemplos não-limitadores incluem transtornos inflamatórios,  
10 imunodeficiência, processo inflamatório intestinal, síndrome do intestino irritável, câncer (particularmente dos sistemas gastrointestinal e imune), otite externa, doença diarréica, diarréia associada a antibióticos, apendicite, transtornos autoimunes, esclerose múltipla,  
15 doença de Alzheimer, amiloidose, artrite reumatóide, artrite, mobilidade das articulações, displasia nos quadris, diabetes mellitus, resistência à insulina, infecções bacterianas, infecções virais, infecções fúngicas, doença periodontal, doença urogenital, cistite  
20 idiopática, cistite intersticial, trauma associado a cirurgias, doença metastática induzida por cirurgia, sepse, perda de peso, ganho de peso, acúmulo excessivo de tecido adiposo, anorexia, controle de febre, caquexia, cura de ferimentos, úlceras, infecção da barreira intestinal,  
25 alergia, asma, transtornos respiratórios, transtornos circulatórios, doença cardíaca coronariana, anemia, transtornos do sistema de coagulação do sangue, doença renal, transtornos do sistema nervoso central, doença

hepática, isquemia, transtornos nutricionais, tratamento ou prevenção de transtornos envolvendo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenais (HPA), osteoporose, transtornos endócrinos, e transtornos epidérmicos. São preferenciais os tratamentos do trato gastrointestinal, incluindo tratamento ou prevenção de diarreia; regulação do sistema imunológico, de preferência tratamento ou prevenção de doença autoimune e inflamação, manutenção ou aprimoramento da saúde da pele e/ou do sistema de revestimento, de preferência tratamento ou prevenção de doença atópica da pele (por exemplo, dermatite ou eczema), tratamento ou prevenção de transtornos envolvendo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenais (HPA), melhoria ou redução dos efeitos do envelhecimento, incluindo consciência mental e níveis de atividade, e prevenção contra a perda de peso durante e após infecção. O tratamento dos vários transtornos aqui descritos pode ser medido com o uso de técnicas conhecidas dos versados na técnica, por exemplo, os métodos de medição apresentados no pedido publicado U.S. nº US 2006/0228448A1.

#### 20 Estabilidade probiótica e bioatividade

A produção de uma ração para animais que compreende um revestimento ativo compreendendo um ou mais probióticos (isto é, um revestimento enriquecido com probiótico) pode apresentar problemas e dificuldades específicas de formulação. Por exemplo, quando se produz um pélete de ração, como um pélete de ração com o revestimento enriquecido com probiótico, o pélete de ração revestido e a ração animal resultante devem ter vida útil suficiente para

que os microorganismos do revestimento enriquecido com probiótico mantenham sua atividade após a venda ao consumidor e consumo por um animal. A estabilidade do revestimento probiótico é, portanto, necessária do ponto de vista de satisfação do consumidor e também do ponto de vista regulamentar. Por exemplo, os probióticos no revestimento devem ter estabilidade suficiente para que não percam uma quantidade perceptível de sua atividade probiótica, por exemplo, pela morte dos microorganismos probióticos, entre o tempo de formulação na instalação de produção e o tempo de consumo pelo animal. Se os consumidores não perceberem ou acreditarem que os probióticos nos revestimentos estejam fornecendo um benefício, eles não comprarão o produto. Além disso, certos órgãos fiscalizadores governamentais exigem que ao menos uma certa quantidade dos probióticos esteja ativa se um produto for identificado, garantido, ou anunciado como contendo probióticos e forneça certos benefícios de saúde produzidos pelos probióticos. Pelo menos por essas duas razões, os probióticos em composições alimentícias devem demonstrar uma estabilidade aceitável.

Em certas modalidades, as rações para animais de estimação com a matriz de núcleo à base de proteína vegetal e pelo menos um revestimento probiótico enriquecido da presente descrição podem ter uma estabilidade de ao menos 24 meses ou mais. Em modalidades específicas, os probióticos das rações para animais de estimação podem ter uma estabilidade de ao menos 20 meses. Em outras modalidades, ainda, os probióticos das rações para animais de estimação

podem ter uma estabilidade de ao menos 16 meses. Para uso na presente invenção, os termos "estabilidade" e "estável" significam que ao longo do período especificado, os microorganismos probióticos ativos (ou dormentes mas capazes de se tornarem ativos) encontram-se dentro de dois registros do nível real original de probióticos no revestimento probiótico enriquecido da ração animal (por exemplo, se o nível real de probióticos imediatamente após a produção do alimento for  $5 \times 10^7$  unidades formadoras de colônia (UFC)/grama da ração animal, então o probiótico e o alimento serão estáveis se o nível de probióticos medido após um período for igual ou maior que  $5 \times 10^5$  UFC)/grama da ração animal). Dessa forma, as rações animais que compreendem um ou mais revestimentos enriquecidos com probiótico conforme detalhado na presente descrição devem ser formuladas com ingredientes e uma metodologia de produção que assegure que os microorganismos probióticos na ração animal tenham uma estabilidade suficiente.

Para probióticos estáveis, os microorganismos probióticos devem ser mantidos em um estado dormente até serem consumidos pelo animal. A estabilidade dos probióticos no revestimento probiótico enriquecido pode depender, ao menos em parte, da capacidade do material do revestimento de evitar ou reduzir a transmissão de água. Por exemplo, a água é um habilitador do crescimento de bactérias ou de microorganismos. Dessa forma, se o material do revestimento envolvendo os microorganismos probióticos não evitar a transmissão de água, por exemplo, a partir da

umidade ou de outras fontes, os microorganismos probióticos poderão ser expostos à água, o que poderá, então, fazer os microorganismos probióticos saírem de seu estado dormente e começar a crescer. Isso apresenta uma preocupação, uma vez que os microorganismos probióticos crescerão apenas durante um curto período antes de consumirem seu suprimento de alimento disponível e morrer. A morte do microorganismo probiótico resulta em uma redução da atividade do probiótico e na redução da atividade geral da composição de ração animal probiótica. Dessa forma, o revestimento probiótico enriquecido e/ou qualquer revestimento sobre a superfície do revestimento probiótico devem ter um caráter de transmissão de água suficientemente baixo para evitar a ativação prematura e o crescimento do microorganismo probiótico antes do consumo pelo animal.

Além das questões de estabilidade aqui descritas, uma outra preocupação na formulação de uma ração para animais que compreende uma matriz com núcleo à base de proteína e pelo menos um revestimento probiótico é a bioatividade dos microorganismos probióticos. Isso pode também ser um problema com revestimentos que contêm outros aditivos e biológicos. Ou seja, a ração para animais deve ser capaz de fornecer com eficiência uma quantidade suficiente dos microorganismos probióticos (ou de outros aditivos e biológicos) ao sistema digestivo do animal após o consumo da ração. Os biológicos podem incluir, mas não se limitam a, enzimas, anticorpos, imunoglobulinas, e similares. Esse problema particular pode, às vezes,

conflitar com o objetivo de se produzir uma ração para animais com um revestimento enriquecido com probiótico estável, conforme discutido neste documento. Por exemplo, a produção de uma ração para animais com um revestimento probiótico enriquecido altamente estável (isto é, um no qual os organismos probióticos permaneçam viáveis por um período prolongado) pode resultar em bioatividade reduzida do microorganismo probiótico, por exemplo, quando material do revestimento fornece proteção excessiva aos microorganismos probióticos e impede que o probiótico se disperse para a área alvo (por exemplo, o intestino delgado ou o intestino grosso) durante o processo de digestão. Certos materiais convencionais de revestimento podem proporcionar estabilidade ao microorganismo probiótico revestido ou encerrado, mas não fornecem bioatividade suficiente do microorganismo probiótico no trato digestivo do animal. Alternativamente, outros materiais de revestimento podem proporcionar níveis aceitáveis de bioatividade, mas não fornecem a estabilidade necessária à composição alimentícia que compreende o probiótico.

Dessa forma, de acordo com várias modalidades, a presente descrição apresenta um revestimento ou matriz de revestimento adequado para uso com um material ou microorganismo probiótico ou outro biológico que possa ser usado para revestir ao menos uma porção de uma ração para animais, a título de exemplo, mas sem constituir-se em limitação, as composições com matriz contendo núcleo à base de proteína vegetal aqui descritas. Os materiais de

revestimento aqui descritos podem ser usados como uma matriz para um ou mais materiais ou microorganismos probióticos para formar um revestimento probiótico enriquecido sobre uma matriz do núcleo. Alternativamente, ou adicionalmente, os materiais de revestimento aqui descritos podem ser usados para formar um ou mais revestimentos adicionais sobre uma superfície externa de um revestimento probiótico enriquecido. Em outras modalidades, os materiais de revestimento aqui descritos podem ser usados como um revestimento entre uma matriz do núcleo e um revestimento probiótico enriquecido, por exemplo, para evitar transmissão de umidade da matriz do núcleo ao revestimento probiótico enriquecido. Os revestimentos que compreendem biológicos podem também ser revestidos com esses materiais. Os materiais de revestimento de acordo com as modalidades aqui apresentadas fornecem revestimentos enriquecidos com probióticos proporcionam estabilidade e bioatividade suficientes dos probióticos. Por exemplo, conforme discutido neste documento, os revestimentos podem proporcionar uma estabilidade de ao menos 24 meses, ou mais para os probióticos no material do revestimento. Em outras modalidades, os revestimentos podem proporcionar estabilidades de ao menos 20 meses ou mais, ou mesmo ao menos 16 meses ou mais. Em outras modalidades, ainda, podem ser proporcionadas durações ainda menores de estabilidade, como estabilidades de ao menos 12 meses, ou mesmo ao menos 8 meses. Além da estabilidade, os materiais de revestimento podem também proporcionar bioatividade suficiente para que

os microorganismos e materiais probióticos sejam liberados no intestino e tornem-se bioativos, fornecendo assim o benefício de saúde desejado.

Exemplos de materiais de revestimento para as  
5 várias modalidades da presente invenção incluem materiais que proporcionam capacidade hidrofóbica suficiente para evitar a transmissão de quantidades significativas de água e ao mesmo tempo permitem que o probiótico ou outros biológicos contidos no revestimento se tornem bioativos. Materiais de  
10 revestimento e composições adequados incluem, mas não se limitam a, manteiga de cacau, óleo de coco de babaçu (azeite de dendê), óleo de babaçu, óleo de caroço de algodão, óleo de soja, óleo de canola, óleo de semente de colza, óleo de amendoim, óleo de manteiga, derivados hidrogenados e  
15 parcialmente hidrogenados de óleos e gorduras (inclusive aqueles aqui mencionados), cera, parafina, cera de parafina, óleo de parafina, parafina líquida, parafina sólida, cera de candelila, cera de carnaúba, cera microcristalina, cera de abelha, ácidos graxos de cadeia longa e ésteres dos mesmos,  
20 ácido cáprico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico, ácido láurico, ácido beênico, ácido adípico, acetil acil gliceróis, monoglicerídeo acetilado, goma-laca, laca desparafinada, trioleína, chocolate, licor de chocolate, leite com chocolate, sólidos de cacau, metil  
25 celulose, carbóxi metil celulose, hidróxi propil metil celulose, monoestearato de glicerol, polietileno glicol, pectina, glúten de trigo, lecitina de soja, caseinato de sódio, isolado de proteína de soro de leite, concentrado de

proteína de soro de leite, álcool estearílico, álcool cetílico, álcool beenílico, olestra, tristearina, gordura animal, gordura de aves, e misturas de quaisquer dos mesmos. Em outras modalidades, os materiais de revestimento ou

5 composições podem compreender um óleo de planta parcialmente hidrogenado ou um óleo de planta com altos teores de gorduras saturadas (isto é, um óleo de planta que seja substancialmente sólido à temperatura ambiente), incluindo

10 blendas desses óleos de plantas. Por exemplo, os materiais de revestimento podem compreender um óleo de planta parcialmente hidrogenado, como óleo de soja, óleo de milho, óleo de caroço de algodão, manteiga de cacau, óleo de coco de babaçu (azeite de dendê), óleo de babaçu, óleo de canola, óleo de semente de colza, óleo de amendoim, óleo de manteiga parcialmente

15 hidrogenado, e similares (incluindo misturas e blendas de óleos), podem evitar a transmissão de água, proporcionando assim uma estabilidade aceitável e ao mesmo tempo permitindo níveis aceitáveis de bioatividades. Exemplos adequados de outros componentes com temperatura mais elevada do ponto de

20 fusão que podem também ser usados como uma composição de revestimento incluem, mas não se limitam a, ceras como, mas não se limitando a, cera de candelila, cera de carnaúba, cera microcristalina, e cera de abelha; ácidos graxos e ésteres dos mesmos como, mas não se limitando a, ácido cáprico, ácido

25 láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico, e ácido beênico; gorduras e óleos hidrogenados, como, mas não se limitando a, óleo de soja hidrogenado, óleo de caroço de algodão hidrogenado, óleo de palma hidrogenado

óleo de amendoim hidrogenado, óleo de semente de colza hidrogenado, óleo de milho hidrogenado, gordura de aves hidrogenada, sebo hidrogenado, banha hidrogenada, e óleo de peixe hidrogenado; glicerídeos parciais de gorduras e óleos hidrogenados, como, mas não se limitando a, todos aqueles aqui mencionados; alcoóis graxos, como, mas não se limitando a, álcool cetílico, álcool estearílico, e álcool beenílico; e combinações de quaisquer dos mesmos. De acordo com uma modalidade específica, a presente descrição resulta em um revestimento que compreende uma cera de parafina, um óleo vegetal parcialmente hidrogenado (por exemplo, uma blenda de semente de algodão e óleo de soja parcialmente hidrogenada, como, mas não se limitando a K.L.X., ou um óleo de coco de babaçu (azeite de dendê) parcialmente hidrogenado, como, mas não se limitando a Paramount B, ambos os quais estão disponíveis comercialmente junto à Dow Corning Lodgers Croklaan NA, Channahon, IL, EUA), e blendas de cera de parafina e o óleo vegetal parcialmente hidrogenado.

De acordo com determinadas modalidades, a quantidade de material de revestimento utilizada no revestimento probiótico enriquecido pode afetar a estabilidade e a bioatividade. Por exemplo, quando é usada uma quantidade maior de material de revestimento, a resistência do revestimento à transmissão de água é também, em geral, aumentada. Entretanto, quando a quantidade de material de revestimento é aumentada, a bioatividade do probiótico pode diminuir, uma vez que mais revestimento deve ser removido ou digerido para que probiótico seja liberado e

se torne bioativo no intestino do animal. De acordo com determinadas modalidades, a quantidade de material de revestimento no revestimento probiótico enriquecido pode situar-se na faixa de 0,01% a 75%, em peso, do peso total do pélete de ração. Em outras modalidades, a quantidade de material de revestimento no revestimento probiótico enriquecido pode situar-se na faixa de 0,1% a 30%, em peso, do peso total do pélete de ração, ou mesmo de 0,1 a 3%, em peso, do peso total do pélete de ração.

Concomitante ao estabelecimento da estabilidade e bioatividade em um produto de composição alimentícia é a questão de medir ou avaliar a bioatividade do microorganismo probiótico em uma composição alimentícia. Por exemplo, não há protocolo padrão para se determinar de maneira eficaz e rápida *in vivo* se um microorganismo probiótico de uma composição alimentícia, como uma ração animal ou outro consumível (como um petisco, pílula, etc.), estará bioativo no intestino do animal, sendo a avaliação feita ao longo de um curto período de tempo, por exemplo, em várias semanas ou menos. Certas modalidades aqui descritas fornecem métodos e protocolos para se determinar rapidamente se os microorganismos probióticos em uma ração animal se tornarão bioativos após o consumo.

Em vista da relação entre a estabilidade de um probiótico em uma composição alimentícia e a necessidade por uma resposta bioativa mensurável do probiótico no intestino do animal, devem ser desenvolvidas novas composições de revestimento que possam resolver essas questões mútuas.

Certas modalidades da presente descrição fornecem novas composições de revestimento que proporcionam alta estabilidade para os microorganismos probióticos encerrados ou revestidos pela composição de revestimento e também a bioatividade desejada do microorganismo probiótico. Outras modalidades, ainda, fornecem novos métodos e protocolos para a determinação da bioatividade de um ou mais probióticos ou biológicos em uma composição alimentícia para animais ao longo de um curto período de tempo.

Os métodos anteriores de avaliação da eficácia de composições alimentícias contendo probióticos ou biológicos concentravam-se de maneira mais ampla no fato de ser observado um benefício de saúde específico resultante da ação do probiótico/biológico, conforme anunciado. Por exemplo, utilizavam-se os resultados de estudos relacionados à reivindicação ou benefício de saúde para se afirmar que o probiótico estava fornecendo algum benefício. Entretanto, esses tipos de testes clínicos podem durar por tempos significativamente longos, como vários meses ou mais. Para avaliar questões como a bioatividade de um probiótico em uma formulação alimentícia e/ou a eficácia de uma composição de liberação de probiótico, o uso de benefícios de saúde observados em testes clínicos não permite uma determinação rápida desses problemas, uma vez que os benefícios de saúde proporcionados por níveis mais altos de probióticos no sistema digestivo podem levar meses para ocorrer ou serem percebidos. Além disso, nas atuais abordagens clínicas a bioatividade do microorganismo ou

material probiótico não é medida ou determinada diretamente (isto é, apenas os resultados do método indireto de análise de benefícios clínicos de saúde são tipicamente usados). Dessa forma, ao se desenvolver novas formulações para composições alimentícias contendo probióticos, avaliar se formulações específicas proporcionam a bioatividade necessária sob o protocolo de teste clínico pode ser impraticável ou economicamente indesejável; e ainda assim não determinar diretamente se um probiótico é liberado e bioativo no interior do intestino do indivíduo de teste.

Em contrapartida, a presente descrição apresenta uma metodologia para avaliar rapidamente se formulações específicas de composições alimentícias que compreendem probióticos ou outros biológicos podem fornecer probióticos ou biológicos bioativos. Por exemplo, os presentes métodos podem determinar ou avaliar se os probióticos ou outros biológicos são bioativos em um pequeno período de tempo, por exemplo quatro semanas ou menos. Em outras modalidades, os métodos da presente invenção podem determinar ou avaliar a bioatividade em duas semanas ou menos, ou mesmo uma semana ou menos. Em modalidades específicas, os métodos da presente invenção podem determinar ou avaliar a bioatividade em períodos tão curtos quanto quatro dias ou mesmo dois dias.

De acordo com determinadas modalidades, a presente descrição apresenta métodos para avaliar a bioatividade de uma composição alimentícia que compreende um microorganismo ou material probiótico. Conforme discutido anteriormente, as composições alimentícias que contêm probióticos devem

equilibrar a estabilidade dos probióticos com a bioatividade após o consumo. O presente método analisa a eficácia de uma composição de liberação de probiótico para liberação do probiótico usando-se um marcador substituto. Mediante a  
5 medição da quantidade de marcador substituto em uma amostra de teste do indivíduo de teste após o consumo da composição alimentícia, a bioatividade de um probiótico ou biológico em uma composição alimentícia sob condições similares de formulação pode ser avaliada. De acordo com determinadas  
10 modalidades, os métodos da presente invenção para avaliar a bioatividade de um probiótico em uma composição alimentícia pode compreender: fornecer uma primeira composição alimentícia que compreende uma composição de liberação de probiótico e um marcador substituto para liberação do  
15 probiótico, sendo que o marcador substituto está contido ou circundado pela composição de liberação de probiótico; fornecer uma primeira composição alimentícia a um indivíduo de teste; analisar uma amostra de teste compreendendo ao menos um de sangue, urina e fezes do indivíduo de teste  
20 quanto à presença do marcador substituto; e avaliar a eficácia da composição de liberação de probiótico para a liberação de um ou mais microorganismo ou material probiótico. Além de avaliar a bioatividade dos probióticos, os métodos da presente invenção podem avaliar a bioatividade  
25 dos biológicos.

A composição alimentícia pode ser qualquer composição alimentícia na qual a adição de um probiótico é desejada. De acordo com determinadas modalidades, a

composição alimentícia pode ser uma composição alimentícia para animais de estimação, como uma composição alimentícia para cães ou gatos. Em outras modalidades, a composição alimentícia pode ser um alimento para outros animais, como animais de fazenda. Em outras modalidades, ainda, a composição alimentícia pode ser um alimento para consumo humano.

A composição de liberação de probiótico pode ser qualquer composição conhecida na técnica para a liberação de um probiótico. Exemplos de composições de liberação de probióticos incluem, mas não se limitam a, uma composição de encapsulação, uma composição de revestimento, e similares. Em outras modalidades, o probiótico pode ser distribuído de maneira relativamente uniforme em toda a composição alimentícia, de modo que a composição alimentícia possa ser considerada a composição de liberação do probiótico. Em outras modalidades, ainda, péletes de rações específicas em uma mistura podem conter probióticos enquanto outros péletes de ração na mistura não contêm probióticos.

De acordo com várias modalidades, o marcador substituto pode ser qualquer composto ou composição prontamente detectável e pode ser solúvel em um fluido corpóreo do indivíduo de teste, como, por exemplo, sangue, suor e/ou urina, ou pode ser excretado pelo indivíduo de teste nas fezes. Em modalidades específicas, o marcador substituto pode ser um composto que não ocorre normalmente no sistema do indivíduo de teste. Dessa forma, a aparência do marcador substituto em um ou mais de suor, sangue, urina

e/ou fezes pode indicar que a composição de liberação do probiótico pode liberar eficazmente o probiótico para o sistema digestivo do indivíduo de teste. Qualquer composto que possa ser detectado em um fluido corpóreo ou excremento, não seja tóxico, não ocorra prontamente no sistema do indivíduo de teste, e possa ser incorporado em uma composição alimentícia pode ser um marcador substituto adequado. Um exemplo adequado de um marcador substituto é um ou mais dos carotenóides. Carotenóides são pigmentos orgânicos de ocorrência natural nos cloroplastos de plantas e alguns outros microorganismos. Carotenóides adequados incluem xantofilas e carotenos. Os princípios específicos para a identificação de um bom marcador substituto incluem: 1) novidade (isto é, não estar normalmente presente no sangue do indivíduo de teste), 2) mensurável (isto é, é preciso que haja uma técnica analítica para medir o marcador no sistema), e 3) absorção na corrente sanguínea após a digestão. Outras categorias de marcadores substitutos adequados podem incluir: carotenóides ou esteróis de plantas; fontes minerais novas, açúcares ou substitutos de açúcar; ou outros. Carotenóides ou esteróis de plantas adequados incluem, mas não se limitam a: carotenóides, xantonas, beta-caroteno, organoenxofre, curcumina, kaemferol, astaxantina, gama-glutamilcisteínas, catequinas, pterostilbeno, cantaxantina, sulfóxidos de cisteína, ácido elágico, quercetina, tunaxantina, isotiocianato, baicalina, tocoferóis, miricetina, zeaxantina, flavonóides, resveratrol, antocianinas, bixina,

isoflavonídes, vimpocetina, flavonóis, luteína, coenzima-Q10, proantocianidinas, licopene, ácido lipóico, fenóis, alcalóides, polifenóis, genisteína, e daidzeína. Fontes minerais novas adequadas incluem, mas não se limitam a: boro, ácido bórico, tripicolinato de cromo, picolinato de cromo, nicotinato de cromo, levedura de cromo, complexos aminoácidos de cromo e citrato de cromo. Açúcares simples ou substitutos de açúcar adequados incluem, mas não se limitam a: sacarina, aspartame, sorbitol, xilitol, xilose, manose e manitol. Outras fontes, ainda, que podem agir como marcador substituto incluem cloridrato de glicosamina, sulfato de condroitina e L-carnitina.

O marcador substituto deve ser incorporado na composição de liberação de probiótico, de modo similar à maneira como o probiótico seria incorporado na composição de liberação de probiótico. Por exemplo, de acordo com uma modalidade, o marcador substituto pode estar contido na composição de liberação de probiótico. Para uso na presente invenção, o termo "contido em" quando usado em referência ao marcador substituto ou a um probiótico significa que o marcador substituto ou probiótico pode ser dissolvido em, suspenso em, disperso em, distribuído em, intermisturado com, ou encapsulado pela composição de liberação de probiótico. Em certas modalidades, a composição de liberação de probiótico pode ser um revestimento (por exemplo, um revestimento que utiliza quaisquer dos materiais de revestimento aqui descritos) em ao menos uma porção de uma superfície da composição alimentícia, sendo

que o marcador substituto pode estar contido no revestimento. De acordo com uma outra modalidade, o marcador substituto ou probiótico pode ser circundado pela composição de liberação de probiótico. Para uso na presente invenção, o termo "circundado por" quando utilizado em referência ao marcador substituto ou a um probiótico significa que o marcador substituto ou probiótico pode ser encerrado pela composição de liberação de probiótico, como, por exemplo, um revestimento externo sobre a superfície do probiótico ou probiótico e da composição alimentícia. Em uma modalidade, a composição alimentícia pode ser uma partícula, como um pélete de ração, que tem um probiótico em um primeiro revestimento com um segundo revestimento que pode agir como o revestimento de liberação do probiótico. O revestimento de liberação do probiótico pode proporcionar estabilidade ao probiótico no primeiro revestimento.

De acordo com várias modalidades, fornecer a primeira composição alimentícia a um indivíduo de teste pode incluir a alimentação da composição alimentícia como parte de uma dieta regular ao longo de um período de teste. Por exemplo, o teste pode durar um período específico no qual o indivíduo de teste é alimentado regularmente com a primeira composição alimentícia como parte de uma dieta. Alternativamente, a primeira composição alimentícia pode ser fornecida ao indivíduos de teste em tempos específicos durante o teste, como no início do teste, para avaliar rapidamente se a composição de liberação de probiótico liberará de maneira eficaz o probiótico. O indivíduo de

teste pode ser qualquer animal, incluindo, mas não se limitando a, animais de estimação (como um gato ou cão), outros animais domésticos, e animais de fazenda. Em outras modalidades, o indivíduo de teste pode ser um ser humano.

5 De acordo com várias modalidades, a análise do indivíduo de teste quanto à presença do marcador substituto inclui a análise de uma amostra de teste, como um fluido corpóreo ou excreção corpórea, do indivíduo de teste quanto à presença do marcador substituto. Por exemplo, o suor, o  
10 sangue, a urina, ou as fezes podem ser analisadas quanto à presença do marcador substituto. Qualquer técnica analítica adequada pode ser usada para determinar a presença do marcador substituto. Por exemplo, uma amostra do indivíduo de teste pode ser analisada usando-se métodos cromatográficos,  
15 como métodos de cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida (LC) ou cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), incluindo métodos de cromatografia conjugados com espectrometria de massa (MS). Outros métodos analíticos conhecidos para a detecção da presença do marcador substituto  
20 na amostra de teste podem também ser usados. A análise da amostra do indivíduo de teste pode ser feita em qualquer momento durante o protocolo de teste, por exemplo, a cada hora, dia, semana ou mês. Em modalidades específicas, analisar uma amostra de teste que compreende ao menos um de  
25 suor, sangue, urina e fezes do indivíduo de teste compreende a análise do sangue do indivíduo de teste quanto à presença de beta-caroteno. De acordo com essas modalidades, o beta-caroteno pode agir como um marcador substituto adequado uma

vez que o mesmo não ocorre naturalmente na maior parte do sistema do indivíduo de teste, é prontamente absorvido no trato intestinal, e pode ser prontamente detectado e medido no sangue do indivíduo de teste.

5 De acordo com as várias modalidades, os métodos da presente invenção podem compreender a avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico em liberar um ou mais microorganismos ou materiais probióticos. A eficácia da composição de liberação de probiótico pode ser avaliada mediante a análise da  
10 quantidade do marcador substituto que aparece na amostra de teste do indivíduo de teste. De acordo com modalidades específicas, os métodos da presente invenção pode compreender, ainda, a etapa de determinar a quantidade de marcador substituto liberado da composição de liberação de  
15 probiótico. A quantidade de marcador substituto fornece uma medida da eficácia da composição de liberação de probiótico quanto à liberação do marcador substituto (e, portanto, do probiótico ou biológico) no trato digestivo, como no  
20 intestino delgado ou no intestino grosso, do indivíduo de teste. Se pouco ou nenhum marcador substituto for medido na amostra de teste, então a composição de liberação de probiótico pode não ser um candidato aceitável para a composição alimentícia contendo probiótico.  
25 Alternativamente, se forem encontradas quantidades aceitáveis do marcador substituto nas amostras de teste, a composição de liberação de probiótico poderá ser um bom candidato para a composição alimentícia contendo

probiótico. Em modalidades específicas, uma curva padrão da liberação do marcador para determinados marcadores substitutos pode ser desenvolvida usando-se composições de liberação de probióticos conhecidas e aceitáveis. A curva padrão pode, então, ser usada para quantificar a liberação do marcador substituto e do probiótico pela composição de liberação de probiótico sendo testada, por exemplo, avaliando-se sequencialmente a aparência do marcador substituto na amostra de teste durante a parte do teste em que a composição alimentícia que compreende a composição de liberação de probiótico e o marcador substituto são fornecidos como alimento ao indivíduo de teste.

A avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico quanto à liberação de um ou mais microorganismos ou materiais probióticos pode ser feita em qualquer momento durante o protocolo de teste. Como a liberação, a absorção e o acúmulo de quantidades mensuráveis de marcador substituto no suor, sangue, urina e/ou fezes da amostra de teste podem ocorrer após um período de tempo relativamente curto, a aparência do marcador substituto na amostra de teste fornece uma medida da eficácia da composição de liberação de probiótico. Em certas modalidades, a avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico pode ser feita um mês, duas semanas, ou mesmo uma semana após o início do fornecimento da primeira composição alimentícia ao indivíduo de teste. Em outras modalidades, a avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico pode ser feita quatro dias após o início do

fornecimento da primeira composição alimentícia ao indivíduo de teste. Em outras modalidades, ainda, a avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico pode ser feita em apenas dois dias após o início do fornecimento da primeira composição alimentícia ao indivíduo de teste. Dessa forma, o método pode proporcionar um método rápido para avaliar a eficácia de uma composição de liberação de probiótico e, portanto, um método rápido para avaliar a bioatividade de um probiótico em uma composição alimentícia que compreende a composição de liberação de probiótico.

Outras modalidades dos métodos da presente invenção podem compreender fornecer ao indivíduo de teste uma segunda composição alimentícia que compreende a composição de liberação de probiótico e pelo menos um probiótico ou biológico, sendo que o ao menos um probiótico ou biológico está contido em ou circundado pela composição de liberação de probiótico. De acordo com uma modalidade, o fornecimento ao indivíduo de teste a segunda composição alimentícia pode ser feito concomitantemente com o fornecimento da primeira composição alimentícia ao indivíduo de teste. Nessa modalidade, o teste pode ser continuado ou cancelado após da avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico quanto à liberação de um ou mais microorganismos ou materiais probióticos, dependendo de a composição de liberação de probiótico ser um bom candidato ou um mau candidato para a liberação do probiótico. Alternativamente, em outra modalidade, o fornecimento da segunda composição alimentícia ao indivíduo

de teste pode começar após a avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico quanto à liberação de um ou mais microorganismos ou materiais probióticos. Como os métodos da presente invenção aqui descritos permitem a

5 avaliação rápida da eficácia de uma composição de liberação de probiótico, um protocolo de teste probiótico pode ser continuado (isto é, fornecendo-se a segunda composição alimentícia ao indivíduo de teste) ou cancelado após a avaliação da eficácia da composição de liberação de

10 probiótico. Conforme discutido neste documento, os presentes métodos podem avaliar a eficácia da composição de liberação de probiótico em apenas quatro dias ou mesmo em apenas dois dias, permitindo a classificação rápida de vários candidatos à composição de liberação de probiótico.

15 Nas modalidades dos métodos da presente invenção que compreendem o fornecimento da segunda composição alimentícia ao indivíduo de teste, os métodos da presente invenção pode compreender, ainda, a análise adicional das amostras de teste do indivíduo de teste quanto à presença de

20 marcadores demonstrando a bioatividade do probiótico ou biológico. Por exemplo, em uma modalidade, o método pode compreender, ainda, a análise do sangue do indivíduo de teste quanto à presença de citocinas de sangue e a análise das fezes do indivíduo de teste quanto à presença de populações

25 bacterianas fecais. Os níveis de várias citocinas de sangue podem ser uma indicação do tipo de bactérias no sistema do indivíduo de teste, como o tipo de probióticos no trato digestivo do indivíduo de teste, indicando, dessa forma, a

bioatividade dos probióticos. Os níveis e tipos de populações bacterianas nas fezes do indivíduo de teste podem ser um indicador do tipo de populações bacterianas no trato digestivo do indivíduo de teste. Por exemplo, a detecção das bactérias probióticas nas populações bacterianas fecais pode indicar que os probióticos foram liberados para o sistema digestivo do indivíduo de teste pela composição de liberação de probiótico do alimento contendo probióticos e que os probióticos são bioativos. Tipos específicos de bactérias que provavelmente seriam negativamente afetadas (isto é, redução nas populações) pela presença de bactérias probióticas no sistema poderiam incluir, mas não se limitarem a, nenhuma ou combinações das seguintes bactérias: *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *E. coli*, *E. coli* O15: H7, *E. coli* EHEC, *E. coli* ETEC, *E. coli* EPEC, *E. coli* EIEC, *E. coli* EAEC, *Bacteroides fragilis*, e *Campylobacter jejuni*. As bactérias formadoras de ácido láctico (por exemplo, bactérias bífido e lactobacilos) provavelmente seriam afetadas positivamente (isto é, aumento nas populações) pela presença de bactérias probióticas no sistema.

De acordo com mais outras modalidades, os métodos da presente invenção que compreendem o fornecimento da segunda composição alimentícia ao indivíduo de teste podem compreender, ainda, uma ou mais de análise das fezes do indivíduo de teste quanto à consistência fecal, a análise das fezes do indivíduo de teste quanto à presença de lactato fecal, a análise das fezes do indivíduo de teste quanto à presença de ácidos graxos de cadeia curta fecais, e a análise

do sangue do indivíduo de teste quanto à presença de imunoglobulinas. Outros testes analíticos das fezes que podem ser conduzidos para avaliar a bioatividade incluem a medição dos níveis de pH fecal, amônia fecal, compostos fecais putrefatos como indol e escatol, e imunoglobulinas fecais. A consistência fecal, a aparência das fezes do indivíduo de teste, os níveis de lactato fecal, e/ou os padrões ou níveis de cadeias fecais curtas podem ser indicativos da presença de bactérias probióticas no trato digestivo do indivíduo de teste e, portanto, indicativos de que a composição de liberação de probiótico liberou os probióticos e que os probióticos são bioativos. Os níveis de várias imunoglobulinas de sangue no sangue do indivíduo de teste após o consumo da segunda composição alimentícia podem indicar a presença das bactérias probióticas no trato digestivo do indivíduo de teste e são, portanto, indicativos de que a composição de liberação de probiótico liberou os probióticos e que os probióticos são bioativos.

De acordo com certas modalidades, os vários métodos aqui descritos podem também ser usados para desenvolver uma composição alimentícia para animais, como uma composição alimentícia para animais de estimação ou um produto alimentício para animais de estimação que é enriquecida com um probiótico, sendo que o produto é asseguradamente bioativo e estável, conforme discutido neste documento.

Agora com referência às Figuras 1-3, várias modalidades exemplificadoras das etapas associadas a vários métodos para avaliar a bioatividade de uma composição

alimentícia (ou métodos para desenvolver uma composição alimentícia probiótica para animais) são mostradas na forma de um fluxograma. Agora com referência à Figura 1, são apresentadas as etapas de uma modalidade do método para avaliar a bioatividade de uma composição alimentícia. Na Figura 1, é desenvolvida uma composição candidata a composição de liberação de probiótico (100) que será testada para determinar se a mesma pode liberar quantidades suficientes de um probiótico para o sistema do indivíduo de teste. É formulada uma primeira composição alimentícia (110) que inclui a composição de liberação de probiótico e um marcador substituto. É fornecida a primeira composição alimentícia ao indivíduo de teste (120) ao longo de um período especificado no teste. A amostra de teste, por exemplo uma amostra de sangue, suor, fezes ou urina é coletada e analisada quanto à presença do marcador substituto (130). A composição de liberação de probiótico presente na composição alimentícia é, então, avaliada quanto à sua capacidade de liberar um probiótico bioativo (140), por exemplo, quantificando-se o marcador substituto medido na amostra de teste. Se a composição de liberação de probiótico for avaliada como um candidato fraco, uma nova composição de liberação de probiótico será desenvolvida e o processo reiniciado (100). Se a composição de liberação de probiótico for avaliada como um bom candidato, a segunda composição alimentícia será formulada (150) compreendendo a composição de liberação de probiótico e pelo menos um microorganismo probiótico. A segunda composição alimentícia é então

forneada ao indivíduo de teste (160) e o teste é continuado (170), e amostras adicionais de teste do indivíduo de teste são analisadas quanto à presença de um ou mais de citocinas de sangue, populações bacterianas fecais, consistência fecal, níveis de lactato fecal, ácidos graxos de cadeia curta fecais, e imunoglobulinas de sangue até o final do teste.

Agora com referência à Figura 2, são apresentadas as etapas de uma outra modalidade do método para avaliar a bioatividade de uma composição alimentícia. Nessa modalidade, uma composição alimentícia que compreende uma composição de liberação de probiótico e um marcador substituto ou um probiótico são fornecidos aos indivíduos de teste ao mesmo tempo. Na Figura 2, é desenvolvido um candidato à composição de liberação de probiótico (200) que será testado para determinar se o mesmo pode liberar quantidades suficientes de um probiótico ao sistema do indivíduo de teste. É formulada uma primeira composição alimentícia (210) que inclui a composição de liberação de probiótico e um marcador substituto. Ao mesmo tempo, é formulada uma segunda composição alimentícia (220) que inclui a composição de liberação de probiótico e um probiótico. A primeira composição alimentícia e a segunda composição alimentícia são fornecidas aos indivíduos de teste (230) ao longo de um período especificado no teste. Uma amostra de teste, por exemplo, uma amostra de sangue, suor, fezes ou urina, é coletada dos indivíduos de teste e analisada quanto à presença do marcador substituto (240). A composição de liberação de probiótico das composições

alimentícias é, então, avaliada quanto à sua capacidade de liberar um probiótico bioativo (250), por exemplo, quantificando-se o marcador substituto medido na amostra de teste. Se a composição de liberação de probiótico for avaliada com um candidato fraco, o teste será interrompido para reformular as composições alimentícias (270) desenvolvendo-se uma nova composição de liberação de probiótico (200) e reiniciando-se o teste. Se a composição de liberação de probiótico for avaliada como um bom candidato, o teste será continuado (260), e amostras adicionais de teste do indivíduo de teste serão analisadas quanto à presença de um ou mais de citocinas de sangue, populações bacterianas fecais, consistência fecal, níveis de lactato fecal, ácidos graxos de cadeia curta fecais, e imunoglobulinas de sangue até o final do teste.

Agora com referência à Figura 3, são apresentadas as etapas de uma outra modalidade do método para avaliar a bioatividade de uma composição alimentícia. Nessa modalidade, uma composição alimentícia que compreende uma composição de liberação de probiótico e um marcador substituto e um probiótico é fornecida aos indivíduos de teste. Na Figura 3, é desenvolvido um candidato à composição de liberação de probiótico (300) que será testado para determinar se o mesmo pode liberar quantidades suficientes de um probiótico ao sistema do indivíduo de teste. É formulada uma composição alimentícia (310) que inclui a composição de liberação de probiótico, um marcador substituto e pelo menos um probiótico. A composição

alimentícia é fornecida aos indivíduos de teste (320) ao longo de um período especificado no teste. Uma amostra de teste, por exemplo, uma amostra de sangue, suor, fezes ou urina, é coletada dos indivíduos de teste e analisada quanto à presença do marcador substituto (330). A composição de liberação de probiótico das composições alimentícias é, então, avaliada quanto à sua capacidade de liberar um probiótico bioativo (340), por exemplo, quantificando-se o marcador substituto medido na amostra de teste. Se a composição de liberação de probiótico for avaliada com um candidato fraco, o teste será interrompido para desenvolver uma nova composição de liberação de probiótico (300). Se a composição de liberação de probiótico for avaliada como um bom candidato, o teste será continuado (350), e amostras adicionais de teste do indivíduo de teste serão analisadas quanto à presença de um ou mais de citocinas de sangue, populações bacterianas fecais, consistência fecal, níveis de lactato fecal, ácidos graxos de cadeia curta fecais, e imunoglobulinas de sangue até o final do teste.

Em modalidades específicas dos métodos de teste aqui apresentados, os métodos da presente invenção podem incluir métodos para avaliar a bioatividade de um probiótico em uma composição alimentícia para animais, como uma composição alimentícia para animais de estimação, por exemplo, uma composição de alimento para cães ou uma composição de alimento para gatos. Em modalidades específicas, a composição alimentícia pode ser uma composição alimentícia para animais de estimação que

compreende uma ração animal peletizada que tem um revestimento enriquecido com probiótico. Exemplos de rações animais peletizadas com revestimentos enriquecidos com probióticos incluem, mas não se limitam a, rações à base de proteína vegetal com ao menos um revestimento probiótico de acordo com quaisquer das modalidades aqui discutidas.

Embora várias modalidades específicas tenham sido descritas em detalhes neste documento, a presente descrição se destina a abranger várias combinações diferentes das modalidades apresentadas e não se limita àquelas modalidades específicas aqui descritas. As várias modalidades da presente descrição podem ser mais bem compreendidas quando lidas em conjunto com os exemplos representativos apresentados a seguir. Os exemplos representativos apresentados a seguir estão incluídos para propósitos ilustrativos, e não para limitação.

### Exemplos

#### Exemplo 1

Neste exemplo, é produzida uma modalidade de uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que compreende uma partícula de alimento peletizada seca com tamanho, densidade e formato adequados para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio.

A composição da matriz com núcleo à base de proteína vegetal é apresentada na Tabela 1. Partículas de alimento secas com tamanho, densidade e formato para revestimento e adição a um típico alimento úmido para

animais de estimação seco e/ou macio são produzidas a partir dos ingredientes secos na Tabela 1 mediante o seguinte processo. Os ingredientes secos são adicionados a um misturador de lote de 1000 kg e misturados suficientemente para formar uma blenda homogênea. Os ingredientes líquidos são combinados com os ingredientes secos em um misturador contínuo modelo DDC16 disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). Os ingredientes líquidos são água a cerca de 22°C, vapor a cerca de 100°C, e gordura de aves a cerca de 32°C. Os ingredientes secos são adicionados a uma taxa de cerca de 1000 kg por hora. A água é adicionada a uma taxa de 129 kg por hora. O vapor é adicionado a uma taxa de 100 kg por hora. A gordura de aves é adicionada uma taxa de 7,5 kg por hora. Os ingredientes são misturados com um tempo de retenção médio de cerca de 3,3 minutos e deixam misturador contínuo a cerca de 85°C.

Tabela 1: Composição de ração peletizada – Ingredientes secos

| Ingredientes secos               | Porcentagem em peso |
|----------------------------------|---------------------|
| Concentrado de proteína de milho | 93,5                |
| Produto de ovos seco             | 2,1                 |
| Carbonato de cálcio              | 1,1                 |
| Frutooligossacarídeos            | 0,9                 |
| Cloreto de potássio              | 0,8                 |
| Fosfato monossódico              | 0,6                 |
| Pré-mistura de vitamina          | 0,4                 |
| Pré-mistura mineral              | 0,3                 |
| Cloreto de colina                | 0,2                 |
| DL-metionina                     | 0,1                 |

A mistura resultante é fornecida continuamente em uma extrusora de rosca dupla modelo TX85 disponível junto à

Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). As temperaturas dos barris variam de 52°C próximo da entrada da extrusora a cerca de 114°C próximo da saída da extrusora. A água é adicionada a uma taxa de 20 kg por hora. A uma rotação da rosca da extrusora de 461 rpm e carga do motor de 84%, as partículas são extrudadas com um teor de umidade de 18%, tal como é, e densidade de volume molhado de 214 gramas por litro. As partículas são criadas por extrusão através de seis aberturas de 6,8 mm de diâmetro, expansão a cerca de 12 mm de diâmetro, e corte a um comprimento de cerca de 8 mm de espessura. Essas partículas são transportadas até um secador para atingir um teor de umidade de partícula de 6,2%, tal como é, 242 gramas por litro de densidade aparente, e calculadas para ter um teor de sólidos de concentrado de proteína de milho de cerca de 87%, tal como é. A matriz com núcleo à base de proteína vegetal resultante pode ser revestida conforme descrito na presente invenção.

#### Exemplo 2

Neste exemplo, é produzida uma modalidade de uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que compreende partículas de alimento secas de diâmetro maior com tamanho, densidade e formato adequados para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio.

A composição da matriz com núcleo à base de proteína é apresentada na Tabela 2. Partículas de alimento secas com tamanho, densidade e formato para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação

seco e/ou macio são produzidas a partir dos ingredientes secos na Tabela 2 mediante o seguinte processo. Os ingredientes secos são adicionados a um misturador de lote de 1000 kg e misturados suficientemente para formar uma blenda homogênea. Os ingredientes líquidos são combinados com os ingredientes secos em um misturador contínuo modelo DDC16 disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). Ingredientes líquidos são água a cerca de 23°C, vapor a cerca de 100°C, e gordura de aves a cerca de 40°C. Os ingredientes secos são adicionados a uma taxa de cerca de 888 kg por hora. A água é adicionada a uma taxa de 127 kg por hora. O vapor é adicionado a uma taxa de 90 kg por hora. A gordura de aves é adicionada uma taxa de 9 kg por hora. Os ingredientes são misturados com um tempo de retenção médio de cerca de 3,4 minutos e deixam o misturador contínuo a cerca de 80°C.

Tabela 2: Composição de ração peletizada - Ingredientes secos

| Ingredientes secos               | Porcentagem em peso |
|----------------------------------|---------------------|
| Concentrado de proteína de milho | 93,5                |
| Produto de ovos seco             | 2,1                 |
| Carbonato de cálcio              | 1,1                 |
| Frutooligossacarídeos            | 0,9                 |
| Cloreto de potássio              | 0,8                 |
| Fosfato monossódico              | 0,6                 |
| Pré-mistura de vitamina          | 0,4                 |
| Pré-mistura mineral              | 0,3                 |
| Cloreto de colina                | 0,2                 |
| DL-metionina                     | 0,1                 |

A mistura resultante é fornecida continuamente em uma extrusora de rosca dupla modelo TX85 disponível junto à

Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). As temperaturas dos barris variam de 52°C próximo da entrada da extrusora a cerca de 117°C próximo da saída da extrusora. A água é adicionada a uma taxa de 27 kg por hora. A uma  
5 rotação da rosca da extrusora de 461 rpm e carga do motor de 75%, as partículas são extrudadas com um teor de umidade de 20%, tal como é, e densidade de volume molhado de 320 gramas por litro. As partículas são criadas por extrusão através de duas aberturas de 12,4 mm de diâmetro, expansão a cerca de  
10 16 mm de diâmetro, e corte a um comprimento de cerca de 10 mm de espessura. Essas partículas são transportadas até um secador para atingir um teor de umidade de partícula de 6,7%, tal como é, 369 gramas por litro de densidade aparente, e calculadas para ter um teor de sólidos de  
15 concentrado de proteína de milho de cerca de 86% tal como. A matriz com núcleo à base de proteína vegetal resultante pode ser revestida conforme descrito na presente invenção.

### Exemplo 3

Neste exemplo, uma modalidade de uma matriz com  
20 núcleo à base de proteína vegetal que compreende 100%, em peso, de matéria seca de proteína vegetal é formulada em uma partícula de alimento de diâmetro menor com tamanho, densidade e formato adequados para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco  
25 e/ou macio.

A composição da matriz com núcleo à base de proteína vegetal é apresentada na Tabela 3. Partículas de alimento secas com tamanho, densidade e formato para

revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio são produzidas a partir dos ingredientes secos na Tabela 3 mediante o seguinte o processo. Os ingredientes líquidos são combinados com o ingrediente seco em um misturador contínuo modelo DDC16 disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). Ingredientes líquidos são água a cerca de 23°C, vapor a cerca de 100°C, e gordura de aves a cerca de 32°C. Os ingredientes secos são adicionados a uma taxa de cerca de 698 kg por hora. A água é adicionada a uma taxa de 105 kg por hora. O vapor é adicionado a uma taxa de 70 kg por hora. A gordura de aves é adicionada uma taxa de 7 kg por hora. Os ingredientes são misturados com um tempo de retenção médio de cerca de 3,9 minutos e deixam o misturador contínuo a cerca de 80°C.

A mistura resultante é fornecida continuamente em uma extrusora de rosca dupla modelo TX85 disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). As temperaturas dos barris variam de 53°C próximo da entrada da extrusora a cerca de 96°C próximo da saída da extrusora. A água é adicionada a uma taxa de 28 kg por hora. A uma rotação da rosca da extrusora de 401 rpm e carga do motor de 80%, as partículas são extrudadas com um teor de umidade de 20%, tal como é, e densidade de volume molhado de 248 gramas por litro. As partículas são criadas por extrusão através de dezoito aberturas de 3,5 mm de diâmetro, expansão a cerca de 5,7 mm de diâmetro, e corte a um comprimento de cerca de 4,2 mm de espessura. Essas partículas são transportadas até

um secador para atingir um teor de umidade de partícula de 5,9%, tal como é, 299 gramas por litro de densidade aparente, e calculadas para ter um teor de sólidos de concentrado de proteína de milho de cerca de 93%, tal como é. A matriz com núcleo à base de proteína vegetal resultante pode ser revestida conforme descrito na presente invenção.

Tabela 3: Composição de ração peletizada - Ingredientes secos

| Ingrediente seco                 | Porcentagem em peso |
|----------------------------------|---------------------|
| Concentrado de proteína de milho | 100                 |

#### Exemplo 4

Neste exemplo, uma modalidade de uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que compreende proteína vegetal e uma fonte de proteína alternativa é formulada em uma partícula de alimento seca com tamanho, densidade e formato adequados para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio.

A composição da matriz com núcleo à base de proteína vegetal incluindo uma fonte de proteína alternativa (subproduto de farinha de aves) é apresentada na Tabela 4. Partículas de alimento secas com tamanho, densidade e formato para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio são produzidas a partir dos ingredientes secos na Tabela 4 mediante o seguinte o processo. Os ingredientes secos são adicionados a um misturador de lote de 1000 kg e misturados suficientemente para formar uma blenda homogênea. Os ingredientes líquidos são combinados com os ingredientes secos em um misturador contínuo modelo DDC16 disponível junto à Wenger

Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). Ingredientes líquidos são água a cerca de 23°C, vapor a cerca de 100°C, e gordura de aves a cerca de 32°C. Os ingredientes secos são adicionados a uma taxa de cerca de 995 kg por hora. A água é  
5 adicionada a uma taxa de 128 kg por hora. O vapor é adicionado a uma taxa de 99 kg por hora. A gordura de aves é adicionada uma taxa de 7,5 kg por hora. Os ingredientes são misturados com um tempo de retenção médio de cerca de 4 minutos e deixam o misturador contínuo a cerca de 86°C.

10 A mistura resultante é fornecida continuamente em uma extrusora de rosca dupla modelo TX85 disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). As temperaturas dos barris variam de 53°C próximo da entrada da extrusora a cerca de 120°C próximo da saída da extrusora. A  
15 água é adicionada a uma taxa de 20 kg por hora. A uma rotação da rosca da extrusora de 461 rpm e carga do motor de 76%, as partículas são extrudadas com um teor de umidade de 19%, tal como é, e densidade de volume molhado de 392 gramas por litro. As partículas são criadas por extrusão através de  
20 seis aberturas de 6,8 mm de diâmetro, expansão a cerca de 8 mm de diâmetro, e corte a um comprimento de cerca de 7,5 mm de espessura. Essas partículas são transportadas até um secador para atingir um teor de umidade de partícula de 5,6%, tal como é, 397 gramas por litro de densidade  
25 aparente, e calculadas para ter um teor de sólidos de concentrado de proteína de milho de cerca de 67%, tal como é. A matriz com núcleo à base de proteína vegetal resultante pode ser revestida conforme descrito na presente invenção.

Tabela 4: Composição de ração peletizada - Ingredientes secos

| Ingredientes secos               | Porcentagem em peso |
|----------------------------------|---------------------|
| Concentrado de proteína de milho | 71,4                |
| Farinha de subproduto de frango  | 22,1                |
| Produto de ovos seco             | 2,1                 |
| Carbonato de cálcio              | 1,1                 |
| Frutooligossacarídeos            | 0,9                 |
| Cloreto de potássio              | 0,8                 |
| Fosfato monossódico              | 0,6                 |
| Pré-mistura de vitamina          | 0,4                 |
| Pré-mistura mineral              | 0,3                 |
| Cloreto de colina                | 0,2                 |
| DL-metionina                     | 0,1                 |

#### Exemplo 5

Neste exemplo, uma modalidade de uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que compreende 100%, em peso, de matéria seca de proteína vegetal é formulada em uma partícula de alimento seca com tamanho, densidade e formato adequados para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio. Como alternativa à extrusão de rosca dupla, é empregada a extrusão de rosca única para criar as partículas de alimento secas.

A composição da matriz com núcleo à base de proteína vegetal é apresentada na Tabela 5. Partículas de alimento secas com tamanho, densidade e formato para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio são produzidas a partir dos ingredientes secos na Tabela 5 mediante o seguinte processo. Os ingredientes líquidos são combinados com o ingrediente seco em um misturador contínuo modelo DDC16

disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). Ingredientes líquidos são água a cerca de 23°C, vapor a cerca de 100°C, e gordura de aves quente. Os ingredientes secos são adicionados a uma taxa de cerca de 1496 kg por hora. A água é adicionada a uma taxa de 224 kg por hora. O vapor é adicionado a uma taxa de 152 kg por hora. A gordura de aves é adicionada uma taxa de 15 kg por hora. Os ingredientes deixam o misturador contínuo a cerca de 95°C.

A mistura resultante é fornecida continuamente em uma extrusora de rosca única modelo X165 disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). As temperaturas dos barris variam de 47°C próximo da entrada da extrusora, 82°C próximo da injeção de vapor, a cerca de 62°C próximo da saída da extrusora. A água é adicionada a uma taxa de 30 kg por hora. O vapor é adicionado a uma taxa de 40 kg por hora. A uma rotação da rosca da extrusora de 240 rpm e carga do motor de 89%, as partículas coesivas são extrudadas com um teor de umidade de 23%, tal como é, e densidade de volume molhado de 242 gramas por litro. As partículas são criadas por extrusão através de quatro aberturas de 6,4 mm de diâmetro, expansão a cerca de 8,6 mm de diâmetro, e corte a um comprimento de cerca de 7,2 mm de espessura. Essas partículas são transportadas até um secador para atingir um teor de umidade de partícula de 6,6%, tal como é, 393 gramas por litro de densidade aparente, e calculadas para ter um teor de sólidos de concentrado de proteína de milho de cerca de 92%, tal como é. A matriz com

núcleo à base de proteína vegetal resultante pode ser revestida conforme descrito na presente invenção.

Tabela 5: Composição de ração peletizada - Ingredientes secos

| Ingrediente seco                 | Porcentagem em peso |
|----------------------------------|---------------------|
| Concentrado de proteína de milho | 100                 |

#### 5                    Exemplo 6

Neste exemplo, uma modalidade de uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que compreende matéria seca de proteína vegetal é formulada em uma partícula de alimento seca com tamanho, densidade e formato adequados para  
 10 revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio. Podem ser criadas cores alternativas para as partículas pela adição de corantes. No presente exemplo, é adicionado coloração de caramelo líquido.

A composição da matriz com núcleo à base de  
 15 proteína vegetal é apresentada na Tabela 6. Partículas de alimento secas com tamanho, densidade e formato para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio são produzidas a partir dos ingredientes secos na Tabela 6 mediante o  
 20 seguinte o processo. Os ingredientes líquidos são combinados com os ingredientes secos em um misturador contínuo modelo DC disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). Ingredientes líquidos são água, vapor a cerca de 100°C, e caramelo à temperatura ambiente.  
 25 Os ingredientes secos são adicionados a uma taxa de cerca de 180 kg por hora. A água é adicionada a uma taxa de cerca de 24 kg por hora. É adicionado o vapor. O caramelo líquido

é adicionado a uma taxa de 6 kg por hora. Os ingredientes deixam o misturador contínuo a cerca de 74°C.

A mistura resultante é fornecida continuamente em uma extrusora de rosca única modelo X20 disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). As temperaturas dos barris variam de 74°C próximo da entrada da extrusora, seguidas de 76°C e 97°C, a cerca de 136°C próximo da saída da extrusora. A uma rotação da rosca da extrusora de 500 rpm e carga do motor de cerca de 48%, as partículas são extrudadas com um teor de umidade de 18%, tal como é, e densidade de volume molhado de 350 gramas por litro. As partículas são criadas por extrusão através de uma abertura de 5,9 mm de diâmetro, expansão a cerca de 8,8 mm de diâmetro, e corte a um comprimento de cerca de 7,2 mm de espessura. Essas partículas são transportadas até um secador para atingir um teor de umidade de partícula de 9,3%, tal como é, 367 gramas por litro de densidade aparente, e calculadas para ter um teor de sólidos de concentrado de proteína de milho de cerca de 83%, tal como é. A matriz com núcleo à base de proteína vegetal resultante pode ser revestida conforme descrito na presente invenção.

Tabela 6: Composição de ração peletizada - Ingredientes secos

| Ingredientes secos               | Porcentagem em peso |
|----------------------------------|---------------------|
| Concentrado de proteína de milho | 93,5                |
| Produto de ovos seco             | 2,1                 |
| Carbonato de cálcio              | 1,0                 |
| Frutooligossacarídeos            | 0,9                 |
| Cloreto de potássio              | 0,8                 |
| Fosfato monossódico              | 0,6                 |
| Pré-mistura de vitamina          | 0,4                 |
| Pré-mistura mineral              | 0,3                 |

|                   |     |
|-------------------|-----|
| Cloreto de colina | 0,2 |
| DL-metionina      | 0,1 |

---

### Exemplo 7

Neste exemplo, uma modalidade de uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que compreende matéria seca de proteína vegetal é formulada em uma partícula de alimento seca com tamanho, densidade e formato adequados para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio. Podem ser criadas densidades alternativas de partículas pela adição de gordura (gordura de aves líquida) e abertura maior da matriz.

A composição da matriz com núcleo à base de proteína vegetal é apresentada na Tabela 7. Partículas de alimento secas com tamanho, densidade e formato para revestimento e adição a um típico alimento úmido para animais de estimação seco e/ou macio são produzidas a partir dos ingredientes secos na Tabela 7 mediante o seguinte o processo. Os ingredientes líquidos são combinados com o ingrediente seco em um misturador contínuo modelo DC disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). Ingredientes líquidos são água, vapor a cerca de 100°C, gordura de aves a cerca de 40°C, e caramelo à temperatura ambiente. Os ingredientes secos são adicionados a uma taxa de cerca de 180 kg por hora. A água é adicionada a uma taxa de cerca de 11 kg por hora. É adicionado o vapor. O caramelo líquido é adicionado a uma taxa de cerca de 6 kg por hora. A gordura de aves é adicionada uma taxa de 4,9 kg por hora. Os ingredientes deixam o misturador contínuo a cerca de 93°C.

A mistura resultante é fornecida continuamente em uma extrusora de rosca única modelo X20 disponível junto à Wenger Manufacturing, Inc. (Sabetha, KS, EUA). As temperaturas dos barris variam de 86°C próximo da entrada da extrusora, seguidas de 74°C e 108°C, a cerca de 141°C próximo da saída da extrusora. A uma rotação da rosca da extrusora de 500 rpm e carga do motor de cerca de 42%, as partículas são extrudadas com um teor de umidade de 15,7%, tal como é, e densidade de volume molhado de 430 gramas por litro. As partículas são criadas por extrusão através de uma abertura de 8,1 mm de diâmetro, expansão a cerca de 11,1 mm de diâmetro, e corte a um comprimento de cerca de 7,4 mm de espessura. Essas partículas são transportadas até um secador para atingir um teor de umidade de partícula de 6,5%, tal como é, 430 gramas por litro de densidade aparente, e calculadas para ter um teor de sólidos de concentrado de proteína de milho de cerca de 86%, tal como é.

Tabela 7: Composição de ração peletizada - Ingredientes secos

| Ingredientes secos               | Porcentagem em peso |
|----------------------------------|---------------------|
| Concentrado de proteína de milho | 93,5                |
| Produto de ovos seco             | 2,1                 |
| Carbonato de cálcio              | 1,0                 |
| Frutooligossacarídeos            | 0,9                 |
| Cloreto de potássio              | 0,8                 |
| Fosfato monossódico              | 0,6                 |
| Pré-mistura de vitamina          | 0,4                 |
| Pré-mistura mineral              | 0,3                 |
| Cloreto de colina                | 0,2                 |
| DL-metionina                     | 0,1                 |

### Exemplo 8 - Exemplo de revestimento

Neste exemplo, a matriz com núcleo à base de proteína vegetal é revestida com um revestimento probiótico enriquecido para criar um pélete de ração ativo. Para criar um alimento para cães enriquecido com probiótico, o pélete de ração ativo (isto é, enriquecido com probióticos) foi misturado com pélete de ração enriquecido com não-probiótico.

A ração ativa foi criada usando-se cerca de 8000 g de péletes de ração com núcleo que consistem em uma proteína vegetal extrudada (produzida de acordo com o método descrito no Exemplo 1) que foi introduzida em um misturador de pás por uma tremonha localizada acima do misturador de pás. O misturador é um misturador de zona fluidizada modelo Bella de 32 litros de capacidade produzido pela Dynamic Air Inc., St. Paul, Minneapolis, EUA. Os péletes de ração são pré-resfriados com um resfriador a cerca de 0° C antes de serem adicionados no misturador. Depois que os péletes de ração são adicionados no misturador, as pás são giradas para fluidizar os péletes de ração. As pás são giradas a cerca de 94 rpm e um número de Froude de cerca de 1.1.

Cerca de 6,6 g de bactérias bífido, *Bifidobacteria animalis* AHC7, desidratadas (NCIMB 41199) com uma atividade de  $1,5 \times 10^{11}$  de unidades formadoras de colônia por grama são misturados completamente em cerca de 2000 g de gordura usando-se um misturador de cozinha para formar uma mistura. A gordura com ponto de fusão alto é K.L.X., uma blenda de feijão soja/óleo de caroço de algodão parcialmente hidrogenada produzido pela Loders Croklaan, Inc., Channahon,

IL, EUA. A mistura de gordura-bactérias bífido é adicionada aos péletes de ração no misturador de fluidização durante cerca de um minuto bombeando-se a mistura de um béquer através de um tubo de silicone para um ponto cerca de 25 cm  
5 acima da zona fluidizada no centro dos misturadores com uma bomba peristáltica Cole-Parmer modelo 07550-30 usando-se dois cabeçotes de bomba paralelos Masterflex L/S Easyload II. A temperatura da gordura é cerca de 56°C e é adicionada no centro do misturador acima da zona fluidizada. Ao final  
10 da adição da mistura, a misturação por pás das rações continuou durante cerca de 10 segundos e, então, a porta na base do misturador foi aberta para descarregar as rações revestidas em um recipiente de metal.

O exame visual dos péletes de ração mostra que a  
15 mistura foi revestida uniformemente sobre a superfície dos mesmos para formar uma camada sólida de gordura. O corte de vários péletes de ração ao meio confirma que a distribuição da gordura sólida ao redor da superfície de cada pélete de ração é substancialmente uniforme. Testes subsequentes de  
20 crescimento de bactérias conduzidos no produto mostram que a atividade satisfaz o objetivo desejado de  $2 \times 10^9$  unidades formadoras de colônia para cada 20 g de péletes de ração revestidos. A ração enriquecida com não-probióticos consistiu em uma ração peletizada para cães (Iams  
25 MiniChunks, disponível junto à Iams Co. Dayton, OH, EUA) que compreende 27,4% de proteína, 15,9% de gordura, 7,4% de umidade e 7,4% de cinzas. O produto final é uma mistura de

10%, em peso, de ração ativa com 90% de péletes de ração enriquecidos com não-probióticos.

#### Exemplo 9 - Exemplo de revestimento

Neste exemplo, uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal é revestida com um revestimento probiótico enriquecido e um segundo revestimento superior para formar uma ração ativa. Para criar um alimento para cães enriquecido com probiótico, o pélete de ração ativo (isto é, enriquecido com probióticos) foi misturado com pélete de ração enriquecido com não-probiótico.

A ração ativa foi criada usando-se cerca de 8000 g de péletes de ração com núcleo que consistem em uma proteína vegetal extrudada (produzida de acordo com o método descrito no Exemplo 1) que foi introduzida em um misturador de pás por uma tremonha localizada acima do misturador de pás. O misturador é um misturador de zona fluidizada modelo Bella de 32 litros de capacidade produzido pela Dynamic Air Inc., St Paul, Minneapolis, EUA. Os péletes de ração são pré-resfriados com um resfriador a cerca de 0°C antes de serem adicionados no misturador. Depois que os péletes de ração são adicionados no misturador, as pás são giradas para fluidizar os péletes de ração. As pás são giradas a cerca de 94 rpm e um número de Froude de cerca de 1.1.

A gordura com ponto de fusão mais alto no primeiro revestimento enriquecido com probióticos é óleo de coco de babaçu (azeite de dendê) parcialmente hidrogenado da marca Paramount B, produzido pela Loders Croklaan, Inc., Channahon, IL, EUA. Cerca de 7,1 g de bactérias bífido

*Bifidobacteria animalis* AHC7 desidratadas (NCIMB 41199) com um atividade de  $1,5 \times 10^{11}$  unidades formadoras de colônia por grama são misturadas completamente em cerca de 1100 g de Paramount B usando-se um misturador de cozinha para 5 formar uma mistura. A mistura de gordura-bactérias bífido é adicionada ao misturador de fluidização durante cerca de um minuto bombeando-se a mistura de um béquer através de um pote de silicone para um ponto cerca de 25 cm acima da zona fluidizada no centro dos misturadores com uma bomba 10 peristáltica Cole-Parmer modelo 07550-30 usando-se dois cabeçotes de bomba paralelos Masterflex L/S Easyload II. A temperatura da Paramount B é cerca de 37°C e é adicionada no centro do misturador sobre a zona fluidizada. Ao final da adição da mistura, a misturação por pás das rações 15 continuou durante cerca de 10 segundos e, então, a porta na base do misturador foi aberta para descarregar as rações revestidas em um recipiente de metal.

A gordura com ponto de fusão mais alto no segundo revestimento, externo, é K.L.X., uma blenda de feijão 20 soja/óleo de caroço de algodão parcialmente hidrogenada, produzida pela Loders Croklann, Inc., Channahon, IL, EUA. Os péletes de ração revestidos são, então, retornados ao resfriador para serem resfriados a cerca de 0°C. Os péletes de ração revestidos resfriados são retornados ao misturador 25 de pás, e a gordura K.L.X. fundida a cerca de 56°C é adicionada no misturador da mesma maneira que o primeiro revestimento de Paramount B. Ao final da adição da gordura, a misturação por pás das rações continuou durante cerca de

10 segundos e, então, a porta na base do misturador foi aberta para descarregar as rações revestidas em um recipiente de metal.

O exame visual dos péletes de ração mostra que as gorduras foram revestidas uniformemente sobre a superfície dos péletes de ração para formar duas camadas sólidas de gordura. O corte de vários péletes de ração ao meio confirma que a distribuição da gordura sólida ao redor da superfície de cada pélete de ração é substancialmente uniforme. Testes subsequentes de crescimento de bactérias conduzidos no produto mostram que a atividade satisfaz o objetivo desejado de  $2 \times 10^9$  unidades formadoras de colônia para cada 20 g de péletes de ração revestidos. A ração enriquecida com não-probióticos consistiu em uma ração peletizada para cães (Iams MiniChunks, disponível junto à Iams Co. Dayton, OH, EUA) que compreende 27,4% de proteína, 15,9% de gordura, 7,4% de umidade e 7,4% de cinzas. O produto final é uma mistura de 10%, em peso, de ração ativa com 90% de péletes de ração enriquecidos com não-probióticos.

#### 20        Exemplo 10 - Análise de aroma

Neste exemplo, o aroma de uma ração formada a partir de uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal é comparado com o aroma de péletes de ração formados a partir de uma ração com proteína de origem animal (aves). Nos alimentos para animais, um aroma agradável pode atrair o animal a comer um produto nutritivo e pode também ser agradável para o proprietário. O presente exemplo usa cromatografia a gás por microextração em fase

sólida/espectrometria de massa (SPME-GC-MS) para analisar amostras de alimentos para animais de estimação quanto à presença de compostos associados a compostos de aroma agradável e compostos de odor desagradável.

5 O procedimento a seguir foi utilizado para analisar os voláteis de espaço livre ("headspace") acima de uma amostra de alimento para animais de estimação. Uma ração contendo uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal (CPM) foi comparada com uma ração formada usando-se  
10 subproduto de farinha de aves. O produto de ração foi avaliado quanto ao peso (1,95 - 2,00 g) em um frasco de espaço livre ("headspace") SPME (22 mL com tampa de separação) e o frasco tapado. Foram preparados conjuntos duplicados de amostras a serem analisadas. As amostras  
15 foram colocadas em uma bandeja autoamostradora de um autoamostrador Gerstel MPS 2 (Gerstel, Inc. Linthicum, MD, EUA). As amostras foram aquecidas a 75°C durante 10 minutos (tempo para o equilíbrio) e, então, porções das mesmas foram tomadas com uma fibra SPME de 2 cm, disponível junto  
20 à Carb/DVB/PDMS (Supelco, Bellefonte, PA, EUA) a 75°C durante 10 minutos. A fibra SPME foi, então, dessorvida na entrada do cromatógrafo gasoso (250°C) de um Agilent 6890GC-5973 MS durante 8 minutos. O cromatógrafo gasoso é equipado com um filme de coluna Restek Stabilwax de 30 m x  
25 0,25 mm x 0,25 µm. A temperatura do cromatógrafo gasoso é inicialmente 50°C e mantida nesse valor durante 1 minuto, e depois elevada a 15°C/minuto até 240°C e mantida durante 5 minutos. O cromatograma é medido em função de tempos de

retenção padrão/ions-alvo com o software Chemstation, com os picos correspondendo a compostos específicos coletados usando-se cromatogramas de ions extraídos (EIC).

A análise de SPME-CG-MS dos péletes de ração revelou que os péletes de ração formados com CPM resultaram em um produto com baixo odor em relação à ração criada com o subproduto de farinha de aves (CBPM). A ração CPM mostrou redução substancial de ácidos de odor desagradável, ácido 3-metil butírico, ácido butanóico, ácido pentanóico e ácido hexanóico, em relação à ração CBPM. Os resultados da presença de compostos de ácidos odor desagradável são apresentados na Tabela 8.

A análise de SPME-CG-MS dos péletes de ração quanto à presença de odores desagradáveis desenvolvidos a partir de gordura oxidada resultou em rancidez. A gordura na ração CPM vem de uma fonte separada de matéria prima (gordura de aves) que é estabilizada como uma fonte de gordura pura. A ração CPM mostrou compostos de oxidação de lipídios muito mais baixa em relação à ração CBPM.

Os resultados para compostos de oxidação com odor desagradável são apresentados na Tabela 9.

As dimensões e valores apresentados na presente invenção não devem ser compreendidos como estando estritamente limitados aos exatos valores numéricos mencionados. Em vez disso, exceto onde especificado em contrário, cada uma dessas dimensões se destina a significar tanto o valor declarado como uma faixa de valores funcionalmente equivalentes em torno daquele valor.

Por exemplo, uma dimensão apresentada como "40 mm" destina-se a significar "cerca de 40 mm".

Todos os documentos mencionados na DESCRIÇÃO DETALHADA da descrição estão, em sua parte relevante, aqui incorporados, a título de referência; a menção a qualquer documento não deve ser interpretada como admissão de que este represente técnica anterior em relação à presente descrição. Se houver conflito entre qualquer significado ou definição de um termo mencionado neste documento e o significado ou definição do mesmo termo em um documento incorporado a título de referência, o significado ou definição atribuído ao termo mencionado neste documento terá precedência.

Embora modalidades específicas da presente descrição tenham sido ilustradas e descritas, será evidente para os versados na técnica que várias outras alterações e modificações poderão ser feitas sem que se desvie do espírito e âmbito da invenção. Portanto, pretende-se cobrir nas reivindicações anexas todas essas alterações e modificações que se enquadram no escopo da presente invenção.

Tabela 8: Teor de ácidos de odor desagradável

| <u>Produto</u>                                          | <u>Ácido acético</u> | <u>Ácido propiônico</u> | <u>Ácido 3-metil<br/>butírico</u> | <u>Ácido<br/>butanóico</u> | <u>Ácido<br/>pentanóico</u> | <u>Ácido<br/>hexanóico</u> | <u>Ácido 4-metil<br/>pentanóico</u> |
|---------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| Rações à base de<br>aves n.º 1                          | 18712436             | 6651430                 | 892996                            | 10342749                   | 2933528                     | 6494897                    | 127987                              |
| Rações à base de<br>aves n.º 2                          | 19408597             | 6550664                 | 2710114                           | 42450011                   | 1336058                     | 1644489                    | 304991                              |
| Rações à base de<br>concentrado de<br>proteína de milho | 16095623             | 3078146                 | 801862                            | 8028607                    | 575071                      | 1746261                    | 118810                              |

Tabela 9: Compostos de oxidação de lipídios de odor desagradável

| <u>Produto</u>                                    | <u>Hexanal</u> | <u>Heptanal</u> | <u>2-<br/>Pentilfurano</u> | <u>octanal</u> | <u>1-<br/>Octen-<br/>3-ol</u> | <u>3,5-<br/>octadieno-<br/>3-um</u> | <u>nonanal</u> |
|---------------------------------------------------|----------------|-----------------|----------------------------|----------------|-------------------------------|-------------------------------------|----------------|
| Rações à base de aves n° 1                        | 7864360        | 2733784         | 2778785                    | 1142677        | 6661130                       | 1750431                             | 2034848        |
| Rações à base de aves n° 2                        | 1609501        | 970282          | 2070812                    | 277503         | 4090726                       | 374212                              | 911914         |
| Rações à base de concentrado de proteína de milho | 1655605        | 921055          | 1149164                    | 307426         | 1827551                       | 394194                              | 965334         |

## REIVINDICAÇÕES

1. Ração alimentícia para animal caracterizada pelo fato de compreender:

5                   uma matriz com núcleo à base de proteína que é maior que 70%, em peso, de uma proteína vegetal, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado; e  
10                   ao menos um revestimento que compreende uma gordura e pelo menos um aditivo, sendo que o revestimento é aplicado sobre uma superfície do núcleo à base de proteína.

2. Ração alimentícia para animal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a matriz  
15 com núcleo à base de proteína compreende uma proteína vegetal selecionada do grupo que consiste em grãos secos destilados, grãos secos destilados solúveis, concentrado de proteína de milho, farinha de glúten de milho, isolado de proteína de soja, concentrado de proteína de soja, glúten  
20 de trigo, e combinações de quaisquer dos mesmos.

3. Ração alimentícia para animal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a matriz com núcleo à base de proteína compreende ao menos um de sólidos de xarope de milho, minerais, vitaminas,  
25 prebióticos, óleos vegetais, gorduras animais, óleos de peixe, óleos minerais, aminoácidos, fibras, proteína de animais, proteínas de peixe, emulsificantes, elementos auxiliares ao processamento, umectantes, e dextrinas.

4. Ração alimentícia para animal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a ração compreende de 25% a 99,99%, em peso, da matriz com núcleo à base de proteína.

5. Ração alimentícia para animal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o ao menos um revestimento compreende ao menos um revestimento ativo sobre a superfície da matriz com núcleo à base de proteína.

6. Ração alimentícia para animal, de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o ao menos um revestimento ativo compreende pelo menos um componente ativo selecionado do grupo consistindo em frutooligossacarídeos (FOS), polpa de beterraba, mananoligossacarídeos (MOS), chicória, fibra de aveia, polpa de cítricos, carbóxi metil celulose (CMC), goma guar, goma arábica, polpa de maçã, fibra de cítricos, extratos de fibras, derivados de fibras, fibra de beterraba seca (açúcar removido), celulosas,  $\alpha$ -celulose, galactooligossacarídeos, xilooligossacarídeos, oligoderivados de amido, inulina, plantago, pectinas, pectina cítrica, goma de xantana, alginatos, goma de talha, beta-glucanos, quitinas, lignina, polissacarídeos não-amídeos, carragenina, amido reduzido, oligossacarídeos de soja, trealose, rafinose, estaquiose, lactulose, polidextrose, oligodextrano, genti-  
oligossacarídeo, oligossacarídeo péptico, monossacarídeos, dissacarídeos, hemicelulose, farinha de aves, aves, farinha de subprodutos de aves, cordeiro, farinha de cordeiro, peru, farinha de peru, carne, subprodutos de carne, vísceras,

farinha de peixe, enterais, canguru, pescado branco, carne de cervo, farinha de soja, isolado de proteína de soja, concentrado de proteína de soja, farinha de glúten de milho, concentrado de proteína de milho, grãos secos destilados  
5 solúveis, cereais, grãos, milho, trigo, arroz, aveias, grits de milho, sorgo, sorgo em grão, milo, fibra de trigo, fibra de aveia, amaranto, duro, semolina, gordura de aves, gordura de frango, gordura de peru, gordura suína, banha, sebo, gordura bovina, óleos vegetais, óleo de milho, óleo de soja,  
10 óleo de caroço de algodão, óleo de babaçu, óleo de coco de babaçu (azeite de dendê), óleo de linhaça, óleo de canola, óleo de semente de colza, óleo de peixe, óleo de savelha, óleo de anchova, olestra, selenito de sódio, fosfato monossódico, carbonato de cálcio, cloreto de potássio,  
15 sulfato ferroso, óxido de zinco, cloreto de zinco, sulfato de manganês, sulfato de cobre, óxido manganoso, iodeto de potássio, carbonato de cobalto, citrato de potássio, carbonato de cálcio, cloreto de cálcio, bissulfato de sódio, cloreto estânico, fluoreto estânico, fluoreto de sódio,  
20 cloreto de colina, suplemento de vitamina E, ácido ascórbico, acetato de vitamina A, pantotenato de cálcio, ácido pantotênico, biotina, mononitrato de tiamina (fonte de vitamina B1), suplemento de vitamina B12, niacina, suplemento de riboflavina (fonte de vitamina B2), inositol, cloridrato  
25 de piridoxina (fonte de vitamina B6), suplemento de vitamina D3, ácido fólico, vitamina C, caldo de carne bovina, quirela de levedura seca, ovos, produto à base de ovos, farelo de linhaça, metionina DL, aminoácidos, cistina, l-triptofano,

taurina, carnosina, alanina, cisteína, arginina, metionina, triptofano, lisina, asparagina, ácido aspártico, fenilalanina, valina, treonina, isoleucina, histidina, leucina, glicina, glutamina, tirosina, homocisteína, 5 ornitina, citrulina, ácido glutâmico, prolina, serina, polifosfatos, hexametáfosfato de sódio (SHMP), pirofosfato de sódio, tripolifosfato de sódio, gluconato de cobre, triclosano, cloridrato de glicosamina, sulfato de condroitina, mexilhão verde da Nova Zelândia, mexilhão azul 10 da Nova Zelândia, metil sulfonil metano (MSM), boro, ácido bórico, fitoestrogênios, fitoandrógenos, genisteína, daidzeína, L-carnitina, picolinato de cromo, tripicolinato de cromo, nicotinato de cromo, anti-metabólitos de glicose, 2-desoxi-D-glicose, 5-tio-D-glicose, 3-O-metil glicose, alcoóis 15 anidroaçúcar, 1,5-anidro-D-glicitol, 2,5-anidro-D-glicitol, 2,5-anidro-D-manitol, manoeptulose, extrato de abacate compreendendo manoeptulose, modificadores de ácido/base, eucalipto, lavanda, hortelã pimenta, extrato de chá, extrato de alecrim, ácido rosmarínico, extrato de café, ácido 20 caféico, extrato de turmerico, extrato de mirtilo, extrato de uva, extrato de semente de uva, extrato de soja, luteína, astaxantina, zeaxantina, bixina, licopeno, beta-caroteno, tocoferóis (vitamina E), vitamina C, vitamina A, materiais derivados de plantas, carotenóides, selênio, coenzima Q10, 25 ácido araquidônico, ácido alfa-linoléico, ácido gama-linoléico, ácido linoléico, ácido eicosapentanóico (EPA), ácido docosaexanóico (DHA), óleos de peixe enriquecidos com ácidos graxos ômega-3, plastificantes, corantes,

flavorizantes, adoçantes, agentes tampão, auxiliadores  
deslizantes, veículos, agentes reguladores do pH,  
ingredientes naturais, estabilizantes, aditivos biológicos,  
enzimas, proteases, lipases, aditivos químicos, agentes  
5 refrigerantes, quelantes, desnaturantes, adstringentes  
medicinais, emulsificantes, analgésicos externos, compostos  
de fragrância, umectantes, agentes opacificantes, óxido de  
zinco, dióxido de titânio, agentes anti-espumantes, silicone,  
preservativos, hidróxi tolueno butilado (BHT), hidróxi  
10 tolueno anisol butilado (BHA), galato de propila, cloreto de  
benzalcônio, EDTA, álcool benzílico, sorbato de potássio,  
parabenos, agentes redutores, solventes, hidrótropos, agentes  
solubilizantes, agentes de suspensão não-tensoativos,  
solventes, agentes de aumento de viscosidade aquosos e não-  
15 aquosos, sequestrantes, queratolíticos, e combinações de  
quaisquer dos mesmos.

7. Ração alimentícia para animal, de acordo com a  
reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o ao menos um  
revestimento compreende ao menos um revestimento biológico  
20 sobre a superfície da matriz com núcleo à base de proteína.

8. Ração alimentícia para animal, de acordo com a  
reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que o ao menos  
um revestimento biológico compreende ao menos um  
revestimento enriquecido com probiótico.

25 9. Ração alimentícia para animal, de acordo com a  
reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que o ao menos  
um revestimento enriquecido com probiótico compreende pelo  
menos uma bactéria de um gênero selecionado do grupo

conistindo em *Bacillus*, *bacteróides*, *bactérias bífidas*, *enterococo*, *lactobacilo*, *leuconostroco*, *sacaromicetos*, *cândida*, *estreptococo*, e misturas de quaisquer dos mesmos.

10. Ração alimentícia para animal, de acordo com  
5 a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a ração compreende de 0,01% a 75%, em peso, do revestimento enriquecido com probiótico.

11. Ração alimentícia para animal, de acordo com  
a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que ainda  
10 compreende ao menos um revestimento adicional compreendendo um óleo de vegetal parcialmente hidrogenado.

12. Ração alimentícia para animal caracterizada  
pelo fato de compreender:

uma matriz com núcleo à base de proteína que é  
15 maior que 70%, em peso, de uma proteína vegetal, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado; e  
ao menos um revestimento ativo sobre ao menos  
20 uma porção de uma superfície da matriz do núcleo à base de proteína.

13. Ração alimentícia para animal, de acordo com  
a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que a matriz  
com núcleo à base de proteína compreende uma proteína  
25 vegetal selecionada do grupo que consiste em grãos secos destilados, grãos secos destilados solúveis, concentrado de proteína de milho, farinha de glúten de milho, isolado de

proteína de soja, concentrado de proteína de soja, e combinações de quaisquer dos mesmos.

14. Ração alimentícia para animal, de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que o ao menos um revestimento ativo compreende ao menos um revestimento enriquecido com probiótico.

15. Ração alimentícia para animal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a matriz com núcleo à base de proteína compreende de 25% a 99,99%, em peso, da ração e o ao menos um revestimento enriquecido com probiótico compreende de 0,01% a 75%, em peso, da ração.

16. Ração alimentícia para animal, de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de que ainda compreende ao menos um revestimento adicional compreendendo um óleo de vegetal parcialmente hidrogenado sobre pelo menos uma porção de uma superfície do revestimento ativo.

17. Método para formar uma ração alimentícia para animal caracterizado pelo fato de que compreende:

20 extrudar uma matriz com núcleo à base de proteína que é maior do que 70%, em peso, de uma proteína vegetal, sendo que o núcleo à base de proteína é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado; e

25 revestir ao menos uma porção de uma superfície da matriz com núcleo à base de proteína com um revestimento que compreende um probiótico.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que a matriz com núcleo à base de proteína compreende uma proteína vegetal selecionado do grupo que consiste em grãos secos destilados, grãos secos  
5 destilados solúveis, concentrados de proteína de milho, farinha de glúten de milho, isolados de proteína de soja, concentrados de proteína de soja, glúten de trigo, e combinações de quaisquer dos mesmos.

19. Método, de acordo com a reivindicação 17,  
10 caracterizado pelo fato de compreender, ainda, o revestimento de ao menos uma porção de uma superfície do revestimento probiótico com um segundo revestimento que compreende ao menos um óleo de planta parcialmente hidrogenado.

20. Alimento para animais sob a forma de ração,  
15 caracterizado pelo fato de compreender uma ração alimentícia para animais compreendendo uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal que é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado, em que ração de matriz com núcleo à base de proteína compreende até 100% do ração total.

20 21. Alimento para animais de estimação sob a forma de ração, caracterizado pelo fato de que compreende:

uma primeira ração que compreende:

uma fonte de proteína de 16% a 50%, em peso, da primeira ração;

25 uma fonte de gordura de 5% a 35%, em peso, da primeira ração; e

uma fonte de carboidrato; e

uma segunda ração que compreende:

uma matriz com um núcleo à base de proteína que é substancialmente isento de uma matriz de amido gelatinizado.

22. Alimento para animais de estimação sob a forma  
5 de ração, de acordo com a reivindicação 21, caracterizado  
pelo fato de que a segunda ração compreende até 90% do  
alimento para animal doméstico.

23. Alimento para animais de estimação sob a forma  
de ração, de acordo com a reivindicação 21, caracterizado  
10 pelo fato de que a segunda ração compreende adicionalmente:

ao menos um revestimento ativo em ao menos  
uma porção de uma superfície da matriz com  
núcleo à base de proteína.

24. Alimento para animais de estimação sob a  
15 forma de ração, de acordo com a reivindicação 23,  
caracterizado pelo fato de que o ao menos um revestimento  
ativo compreende uma gordura contendo um aditivo.

25. Alimento para animais de estimação sob a  
forma de ração, de acordo com a reivindicação 23,  
20 caracterizado pelo fato de que o ao menos um revestimento  
ativo é um revestimento enriquecido com probiótico.

26. Método para avaliar bioatividade de um  
probiótico em uma composição alimentícia caracterizado pelo  
fato de que compreende:

25 fornecer uma primeira composição alimentícia  
que compreende uma composição de liberação de  
probiótico e um marcador substituto para  
liberação do probiótico, sendo que o marcador

substituto está contido em ou é circundado pela composição de liberação de probiótico; alimentar um indivíduo de teste com a primeira composição alimentícia;

5 analisar uma amostra de teste que compreende ao menos um de sangue, urina e fezes do indivíduo de teste quanto à presença do marcador substituto; e

10 avaliar a eficácia da composição de liberação de probiótico quanto à liberação de um ou mais microorganismos ou materiais probióticos.

27. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de compreender, adicionalmente, a determinação da quantidade de marcador substituto liberado da composição de liberação de probiótico.

28. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que a avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico é feita quatro dias após o início da alimentação da primeira composição alimentícia ao indivíduo teste.

29. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que a avaliação da eficácia da composição de liberação de probiótico é feita dois dias após o início da alimentação da primeira composição alimentícia ao indivíduo teste.

30. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que a composição de liberação de

probiótico é um revestimento sobre ao menos uma porção de uma superfície da composição alimentícia.

31. Método, de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o marcador substituto está  
5 contido no revestimento.

32. Método, de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o revestimento é um revestimento ao redor do marcador substituto.

33. Método, de acordo com a reivindicação 26,  
10 caracterizado pelo fato de que o marcador substituto para liberação de probiótico é um carotenóide ou estrol vegetal selecionado do grupo consistindo em carotenóides, xantonas, beta-caroteno, organoenxofre, curcumina, kaemferol, astaxantina, gama-glutamylcisteínas, catequinas,  
15 pterostilbeno, cantaxantina, sulfóxidos de cisteína, ácido elágico, quercetina, tunaxantina, isotiocianato, baicalina, tocoferóis, miricetina, zeaxantina, flavonóides, resveratrol, antocianinas, bixina, isoflavonóides, vimpocetina, flavonóis, luteína, coenzima-Q10,  
20 proantocianidinas, licopene, ácido lipóico, fenóis, alcalóides, polifenóis, genisteína, e daidzeína.

34. Método, de acordo com a reivindicação 33, caracterizado pelo fato de que analisar a amostra teste compreende analisar ao menos um de sangue, urina, e fezes  
25 do indivíduo teste, que compreende analisar o sangue do indivíduo teste para a presença do marcador substituto.

35. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que a primeira composição

alimentícia adicionalmente compreende ao menos um probiótico, onde o ao menos um probiótico está contido em ou envolto pela composição de liberação de probiótico.

36. Método, de acordo com a reivindicação 26,  
5 caracterizado pelo fato de que ainda compreende alimentar o indivíduo teste com uma segunda composição alimentícia compreendendo a composição de liberação probiótico e pelo menos um probiótico, onde ao menos um probiótico está contido em ou envolto pela composição de liberação de  
10 probiótico.

37. Método, de acordo com a reivindicação 36,  
caracterizado pelo fato de alimentar o indivíduo teste com uma segunda composição alimentícia se realiza após avaliar a eficácia da composição de liberação de probiótico para  
15 liberar um ou mais material ou microorganismo probiótico.

38. Método, de acordo com a reivindicação 36,  
caracterizado pelo fato de que ainda compreende analisar o sangue do indivíduo teste para citocinas sanguíneas e analisar as fezes do indivíduo teste para populações de  
20 bactérias fecais.

39. Método, de acordo com a reivindicação 36,  
caracterizado pelo fato de que compreende um ou mais de:

analisar as fezes do indivíduo teste quanto a uma consistência fecal;

25 analisar as fezes do indivíduo teste quanto à presença de lactato fecal;

analisar as fezes do indivíduo teste quanto à presença de ácidos graxos de cadeia curta fecais; e

analisar as fezes do indivíduo teste quanto à presença de imunoglobulinas

40. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que a composição alimentícia é  
5 uma composição alimentícia para animal doméstico.

41. Método, de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de que a composição alimentícia para animal doméstico compreende um alimento animal tipo ração possuindo revestimento enriquecido com probiótico.

FIG. 1

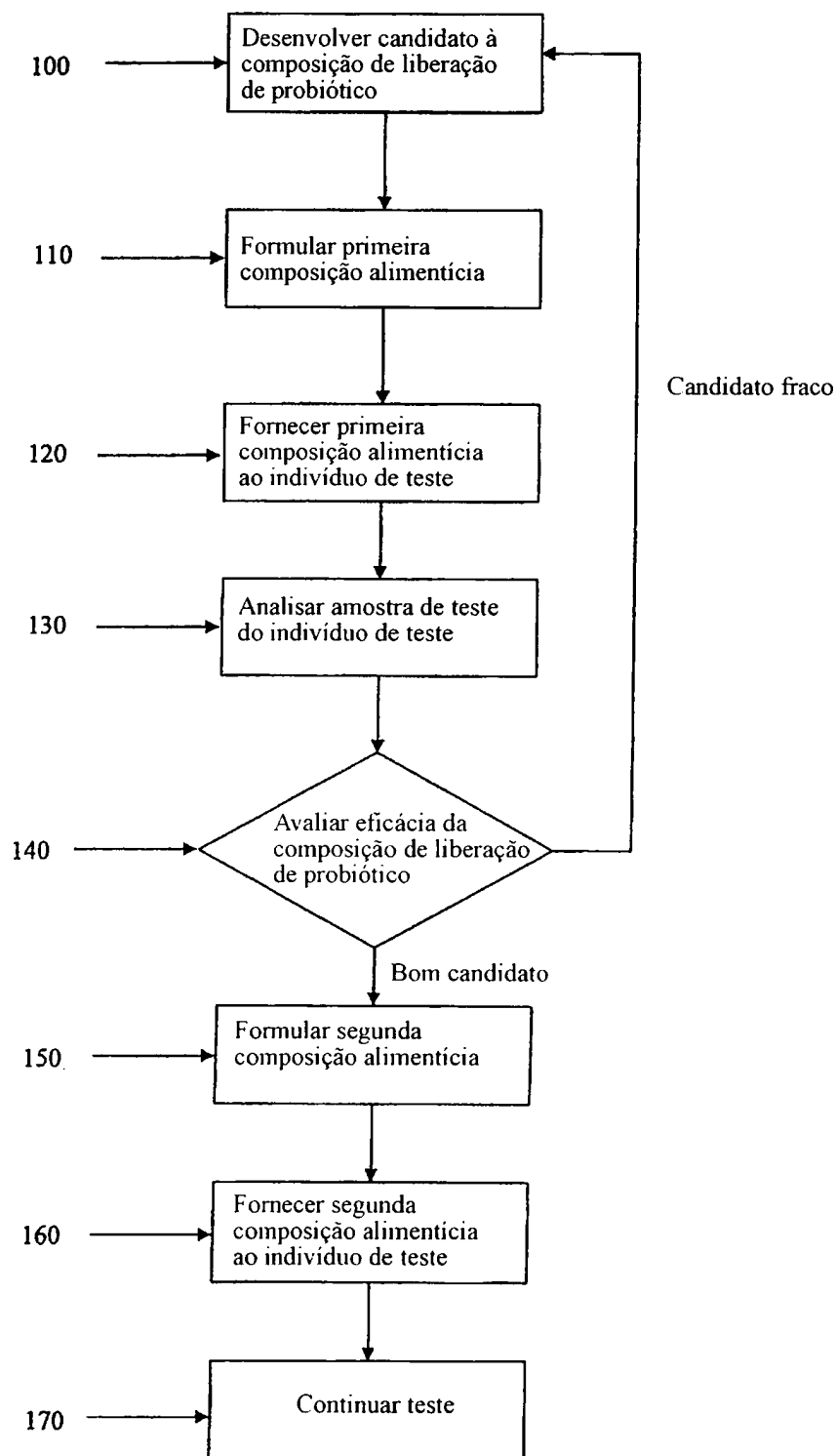


FIG. 2

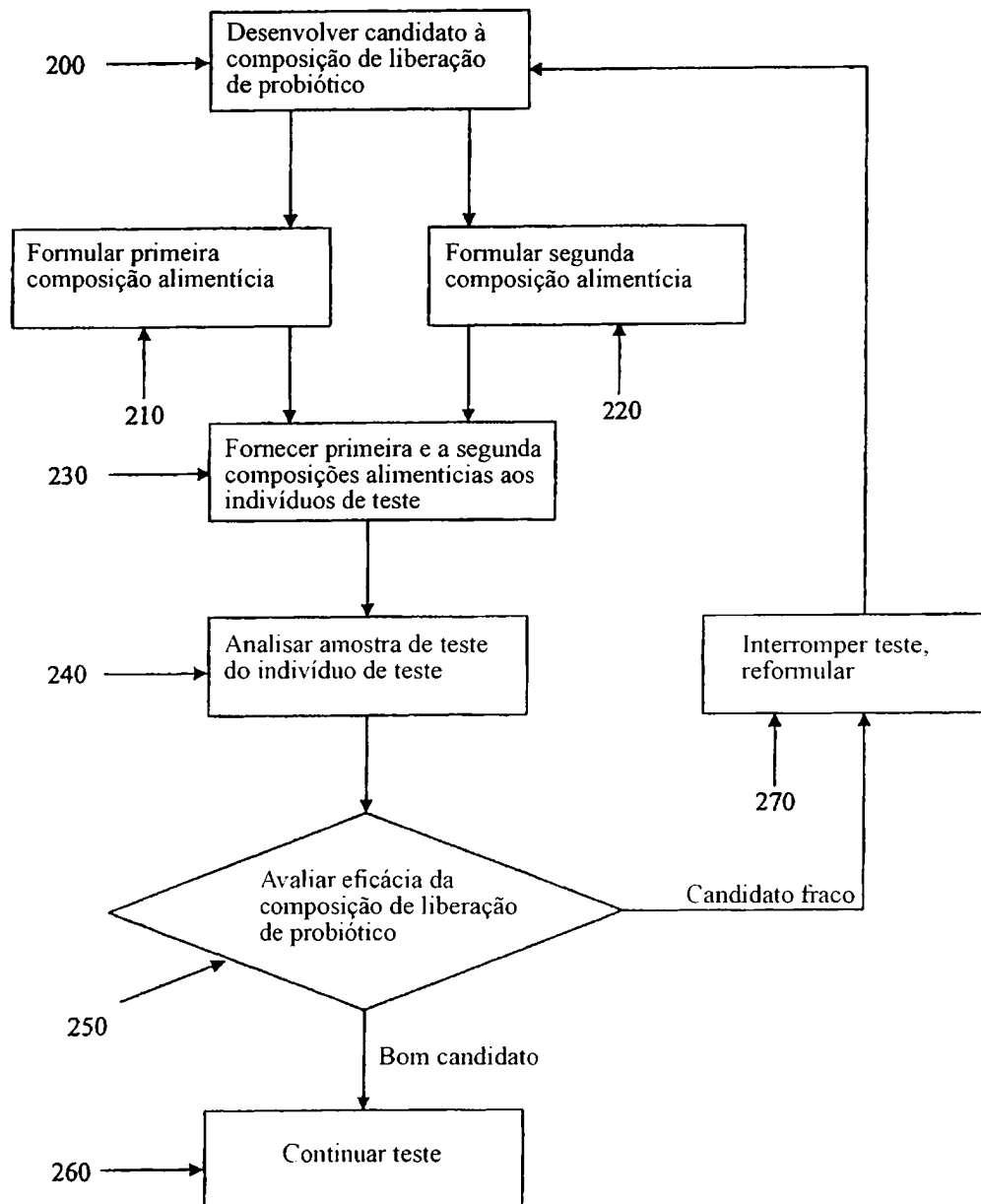
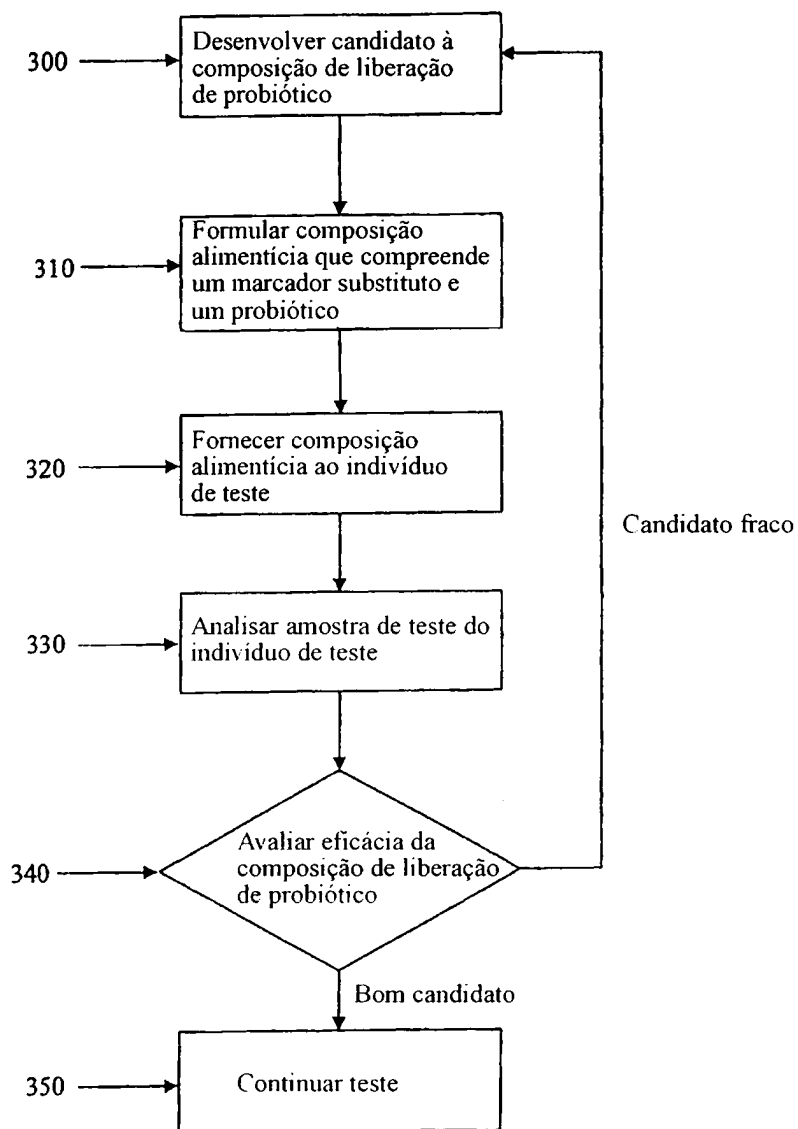


FIG. 3



## RESUMO

A presente invenção descreve rações ou alimentos peletizados para animais ou animais de estimação que incluem uma matriz com núcleo à base de proteína vegetal e um revestimento de uma gordura e pelo menos um aditivo. O revestimento pode incluir um revestimento enriquecido com probiótico. São descritos, também, métodos para a formação dos alimentos sob a forma de péletes de ração para animais e animais de estimação. A presente invenção apresenta um revestimento probiótico para uma ração mostrando estabilidade e bioatividade aceitáveis e descreve também métodos para avaliar a bioatividade de um probiótico em uma composição alimentícia.