



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

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

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

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

(71) Solicitant:
• **SIMION VIOLETA ELENA,**
STR. DRUMUL VALEA ARGOVEI NR.3-7,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• **SIMION VIOLETA ELENA,**
STR. DRUMUL VALEA ARGOVEI NR.3-7,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

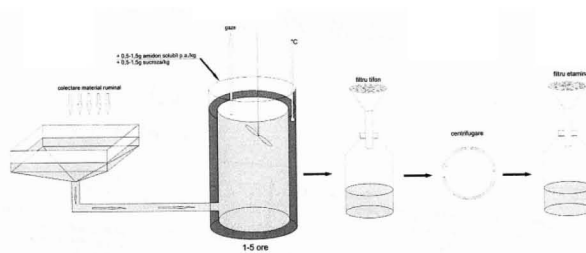
(54) PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI SUPLIMENT BIOACTIV DE HRANĂ PENTRU ANIMALE

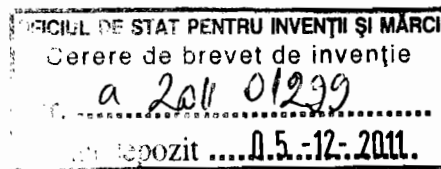
(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unui supliment bioactiv de hrană pentru animale, prin prelucrarea conținutului ruminal, în stare proaspătă, din abator, prin depozitarea, într-un recipient care este menținut pe bain-marie, la o temperatură de 39°C, adăugarea a 0,5...1,5 părți amidon și 0,5...1,5 părți sucroză/parte conținut ruminal, părțile fiind exprimate în greutate. După un interval de 1...5 h, conținutul ruminal astfel tratat este filtrat printr-un filtru din pânză de tifon de bumbac, presându-se totodată resturile de materie vegetală, lichidul se centrifughează și apoi se filtrează prin pânză de etamină. Produsul rezultat se administrează, de exemplu, în hrana vitelor, îmbunătățind calitatea protozoarelor din lichidul ruminal al acestora și, implicit, capacitatea de metabolizare a unor micotoxine.

Revendicări: 4

Figuri: 1





PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI SUPLIMENT BIOACTIV DE HRANĂ PENTRU ANIMALE

Invenția se referă la un procedeu de valorificare a conținutului ruminal obținut de la taurine în unități de abatorizare în urma căruia rezultă un complex de substanțe bioactive cu valoare nutritivă îmbunătățită față de caracteristicile native, ce pot fi folosite ca atare în hrana animalelor sau prin prelucrări ulterioare, în diverse produse.

Conținutul ruminal, singur sau în combinație cu alte substanțe nutritive constituie o sursă suplimentară de proteine și energie pentru hrana animalelor și, totodată, un supliment alimentar cu proprietăți de biodegradare a unor toxine, cum sunt micotoxinele de exemplu. Procedeu de obținere a unui supliment de hrană bioactiv se poate aplica industrial, în incinta abatoarelor sau în unități de prelucrare a deșeurilor de origine animală, special concepute în acest scop.

Studii și cercetări anterioare au relevat calitatea nutritivă a lichidului ruminal ca sursă de proteină pentru hrana administrată iepurilor (Togun și col., 2009), puilor de găină (Adeniji și Jimoh, 2007) și rumegătoarelor (Messersmith și col., 1974; Prokop și col., 1974; El-Yassin și col., 1991; Slinas-Chavira și col., 2007), deși tipul de digestie și alimentație este diferit pentru fiecare dintre speciile prezentate. El-Yassin și col. (1991), Dominguez și col. (1994) au raportat pentru o probă de conținut ruminal recoltat de la taurine și ulterior uscat, următoarea compoziție chimică brută: 14,4% proteină brută (PB), 4,2% grăsime brută (GB), 41,1% acid-detergent-fibră (ADF) și 9,7% cenușă brută (CenB).

Microbiologic, la nivelul rumenului există o populație de $10^8 - 10^{10}$ microorganisme/g lichid ruminal, cele mai comune fiind bacteriile și protozoarele. Protozoarele din rumen contribuie la peste 50% din totalul biomasei microbiene ruminale (Williams și Coleman, 1992), cantitatea și calitatea acestora fiind dependentă de factori legați de animal (specia de rumegătoare, rasa, vârsta animalului, stadiul fiziologic) și de hrana administrată (structură, compoziție chimică). În funcție de substratul utilizat în hrană, protozoarele sunt specializate în consumul de zaharuri solubile, amidon sau lignoceluloză, acest lucru fiind posibil datorită unui echipament enzimatic foarte bine dezvoltat (amilază, invertază, pectinesterază, poligalacturonază) (Williams și Coleman, 1992). Protozoarele având dimensiuni mari digeră și

degradează polimerii structurali ai plantelor în timp protozoarele de dimensiuni mai mici digeră predominant zaharurile (Orpin, 1983). Toate protozoarele depozitează glucide solubile sub forma amilopectină ca și polizaharide (componentele amidonului sunt amiloza și amilopectina) și au specificitate pentru zaharuri: holotrichele depozitează zaharuri solubile în timp ce oligotrichele depozitează amidon.

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

(US4119741) *Production of substantially full-diet beef cattle feed through processing of the rumen content of slaughtered cattle* prezintă un proces care constă în valorificarea conținutului ruminal de la vacile abatorizate, fără adaosuri de substanțe sau diluție a acestuia. Conținutul este separat mecanic pentru a înlătura 90% din lichid. Materia primă obținută este tocată și ulterior uscată pe un transportor, valoarea temperaturii și tipul de aer aplicat având proprietatea de a fragmenta materia fibroasă din conținut. În funcție de umiditatea (U%) finală a produsului care poate varia între 2-60%, compoziția chimică a acestuia este: 10-12% PB; 3,3-3,8% GB și 70-80% SEN.

(RU2270584) *Method for production of bioactive additive* se referă la un procedeu care constă în producerea unui aditiv bioactiv pentru animale, din conținut ruminal nativ. Acesta este supus proceselor de: extracție (timp de 72 de ore, la 38-42°C, în apă minerală/plată în raport de 2:1), defecare (timp de 36 de ore, la 10°C), filtrare concomitent cu răcire (timp de 48 de ore la minus 50°C); congelarea-deshidratarea se desfășoară timp de 48 de ore la 38-40°C (în primele 5 ore la 10°C apoi se crește temperatura cu 5°C/oră până la 38-40°C).

(US4037002) *Method and process for treating rumen content* descrie procedeele de prelucrare a conținutului ruminal prin: sterilizare, separare mecanică a fazelor lichidă și solidă. Ulterior, este reținută faza solidă pentru hrana animalelor, are loc convertirea unor acizi din faza lichidă în diverse săruri, concentrarea rezidului solid în lichid neutralizant prin evaporare până la 80% din conținutul de apă și prelucrarea mecanică a produsului solid astfel obținut, în vederea administrării în hrana animalelor.

(DE4118908) *Stomach rumen contents disposal of slaughtered beef-uses mechanical and indirect drying before burning with enclosed gas system to contain smells* prezintă prelucrarea conținutului ruminal recoltat de la vaci abatorizate: o parte a conținutului de apă din lichidul

ruminal este îndepărtată mecanic, iar restul conținutului rămas este uscat indirect, printr-un procedeu specific de uscare, fără pătrunderea aerului și a vaporilor de apă care sunt absorbiți. Materia uscată obținută este carbonizată în vacuum, la temperatură scăzută, pentru producerea de cenușă și CO₂. Gazul de combustie obținut este utilizat în continuare, ca sursă de energie termică, în procesul aplicat prin invenție.

(JP57091158) *Preparation of concentrated feed by artificial rumen* prezintă prepararea unei hrane concentrate pe baza resturilor de materie organică provenite de la animale, prelucrate prin adaos de substanțe (melasă, aşchii de lemn, salivă artificială, microorganisme colectate din rumenul vacilor etc) și procese mecanice și microbiologice precum: măcinare, tocare, autoclavare, fermentare etc într-un rumen artificial.

(US3857971) *Ruminant feed additive and method of preparing the same* prezintă un aditiv furajer pentru administrarea în hrana rumegetoarelor cu afecțiuni digestive, obținut din microorganisme din rumen adaptate și cultivate *in vitro* pe un mediu cu conținut bogat în amidon.

(US3932670) *Method of manufacturing a bacterial preparation consisting of a normal rumen bacterial flora with an improved ability to utilize ammonium salts* prezintă metoda de producere a unui preparat bacterian pe baza conținutului ruminal, prin inoculări repetate și cultivare pe un mediu selectiv conținând săruri de amoniu, care influențează pozitiv capacitatea bacteriilor de prelucrare a azotului.

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

Până în prezent, la noi în țară, nu este brevetat nici un procedeu de prelucrare fizică și chimică a lichidului ruminal, în vederea obținerii unui supliment bioactiv de hrană pentru animale.

Problema tehnică propusă spre rezolvare de prezenta cerere constă în identificarea unui procedeu de valorificare a conținutului ruminal obținut de la taurine în unități de abatorizare, în vederea îmbunătățirii capacității naturale a acestuia.

Soluția constă în valorificarea conținutului ruminal obținut de la taurine în unități de abatorizare, printr-un procedeu de prelucrare fizică și chimică, în urma căruia rezultă un complex

de substanțe bioactive cu valoare nutritivă îmbunătățită față de proprietățile microbiologice native precum și de biodegradare a unor toxine.

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

Procedeul utilizat a urmărit îmbunătățirea calităților naturale și valorificarea potențialului detoxifiant al lichidului ruminal, alcătuit dintr-o diversitate de populații microbiene incluzând bacterii (10^{11} /mL), protozoare (10^6 /mL) și fungi (10^4 zoospori/mL); dintre acestea, protozoarele reprezintă aproximativ 50% din biomasa microbială ruminală.

Datorită procedurii de obținere a conținutului ruminal direct de la rumegătoarele abatorizate și a unui număr redus de substanțe nutritive adăugate (un dizaharid și un polizaharid), este valorificat cu costuri foarte scăzute, un deșeu cu un potențial nutritiv și de biodegradare valoros.

Procedeul conform invenției constă în aceea că s-a recoltat în întregime conținutul ruminal în stare proaspătă din abator, s-a depozitat într-un recipient menținut la bain-marin la o temperatură de 39°C, în condiții de anaerobioză, s-au adăugat 0,5...1,5 părți amidon/părți conținut ruminal și 0,5...1,5 părți sucroză/părți conținut ruminal, părțile fiind exprimate în greutate. Procedeele finale au constat în filtrarea conținutului ruminal după un interval de 1...5 ore printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea resturilor de materie vegetală din compoziția acestuia, centrifugarea și ulterior filtrarea lichidului obținut printr-o pânză de etamină.

Avantajele procedurii folosite sunt următoarele:

- este valorificat un deșeu de abator cu o valoare nutritivă semnificativă;
- prelucrarea conținutului ruminal nu este laborioasă și poate fi efectuată cu costuri

suplimentare reduse pentru tehnologie în abator sau în unități specializate în acest sens;

- procedeul de prelucrare constă în efectuarea unui număr redus de operații mecanice (recoltare, depozitare, filtrare, centrifugare) și chimice (adăugarea a două substanțe glucidice);

- în urma aplicării procedurii de valorificare a conținutului ruminal rezultă un produs cu calități nutritive și de biodegradare îmbunătățite;

Se prezintă în continuare câteva exemple de realizare a invenției:

Exemplul 1. Procedeul conform invenției a constat din:

- recoltarea în întregime a conținutului ruminal în stare proaspătă din abator;
- depozitarea conținutului ruminal într-un recipient menținut la bain-marin la o temperatură de 39°C, în condiții de anaerobioză;
- îmbunătățirea calității nutritive a conținutului ruminal prin adăugarea a 0,5-1,5 g amidon solubil p.a./kg conținut ruminal și 0,5-1,5 g sucroză/kg conținut ruminal;
- filtrarea conținutului ruminal după un interval de 1-3 ore printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea/stoarcerea resturilor de materie vegetală din compoziția acestuia;
- centrifugarea lichidului la 1.000 x g, 10 minute, la temperatura camerei;
- filtrarea conținutului ruminal printr-un filtru din pânză de etamină.

Exemplul 2. Procedeul conform invenției a constat din:

- recoltarea în întregime a conținutului ruminal în stare proaspătă din abator;
- depozitarea conținutului ruminal într-un recipient menținut la bain-marin la o temperatură de 39°C, în condiții de anaerobioză;
- îmbunătățirea calității nutritive a conținutului ruminal prin adăugarea a 0,5-1,5 g amidon solubil p.a./kg conținut ruminal și 0,5-1,5 g sucroză/kg conținut ruminal;
- filtrarea conținutului ruminal după un interval de 3-5 ore printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea/stoarcerea resturilor de materie vegetală din compoziția acestuia;
- centrifugarea lichidului la 1.000 x g, 10 minute, la temperatura camerei;
- filtrarea conținutului ruminal printr-un filtru din pânză de etamină.

Fluxul de prelucrare a lichidului ruminal este prezentat în figură.

Tipul de alimentație (structura rației, compoziția chimică) este primul factor implicat în calitatea populației de microsimbionți ruminali. Conținutul ruminal, care poate varia cantitativ de la 70 la 90 kg/animal în funcție de particularitățile animalului (rasă, vârstă, stare fiziologică), este caracterizat microbiologic printr-o populație de: *bacterii* de ordinul a 10 miliarde/ml conținut, condiționată de cantitatea de energie liberă, de N₂ degradabil disponibil și de o cantitate suficientă de substanțe minerale; *protozoare* de ordinul a 5 milioane/ml atunci când rația este bogată în glucide solubile sau în alimente concentrate; *fungi* cu rol mai ales în degradarea celulozei, hemicelulozei.

Protozoarele au capacitatea de a sintetiza acizi cu lanț lung utilizând ca precursori substanțe din lichidul ruminal precum și capacitatea de a metaboliza și sintetiza proteine microbiene și proteine rezultate din hrană; acest lucru este cu atât mai remarcabil cu cât protozoarele sunt capabile să sintetizeze aminoacizi care pot lipsi din structura proteinei alimentare. Un alt aspect important este digestibilitatea proteinei sintetizate de protozoare, care este crescută comparativ cu cea produsă de bacteriile ruminale.

Procedeul de îmbunătățire a conținutului ruminal prin adaosul a două substanțe glucidice – amidonul și sucroza, îmbunătățește calitatea protozoarelor din lichidul ruminal și implicit capacitatea acestora de metabolizare a unor micotoxine. În vederea aprecierii calității populației de protozoare din lichidul ruminal au fost efectuate numărări ale simbiionților ciliați după o prelucrare sumară a probei care a constat în adăugarea de colorant verde brillant și diluție în glicerol 30%; ulterior, proba a fost diluată cu un amestec de verde de metil-formalină-clorură de sodiu, s-a luat o picătură de lichid ruminal diluat și s-a analizat lamă-lamelă la microscop (obiectiv 400x) în vederea numărării microsimbionților ciliați; a fost aplicat în final un algoritm de calculare a microsimbionților ruminali/cm³.

Rezultatele obținute au relevat un număr constant al microsimbionților ciliați în fiecare din probele analizate (în medie 6 microsimbionți/picătură probă analizată), atât în stare nativă, pe lichidul proaspăt recoltat cât și după adăugarea celor două substanțe glucidice, la un interval de 5 ore de la recoltare, în condițiile menținerii lichidului ruminal la temperatura de 39°C, pH în jur de 6,5 și condiții de anaerobioză.

Cercetări anterioare pe care le-am efectuat la vaci de lapte privind transferul micotoxinelor din furaje în sânge și urină au demonstrat că atât metaboliții cât și cantitatea acestora este influențată de mulți factori, unii imprevizibili ca efect (sursa de hrană, starea

fiziologică a animalului, particularitățile fiziologice ale acestuia). Studiul efectuat a demonstrat că pentru OTA, valorile obținute au fost de 2,2 μg/kg în ovăz, 3,2 μg/kg în tărâțe și 0,1 ng/ml în serul sanguin, 0,018 ng/ml în lapte și 0,009 ng/ml în urină, toate fiind sub limita maximă admisă. Din cantitatea totală de micotoxină OTA ingerată prin furaje (5,4 μg/kg), o proporție de 1,8% s-a regăsit în serul sanguin, 0,3% în lapte și 0,1% în urină ceea ce confirmă transferul metaboliților acestor micotoxine din furaje prin lichide biologice, în produse date la exterior.

Rezultatele diverselor studii privind absorbția și excreția OTA și a metabolitului OTA-alfa la rumegetoare sunt explicate prin varietatea rațiilor administrate în hrana animalelor. Microorganismele ruminale ca și cele intestinale degradează ne semnificativ OTA atunci când rația rumegetoarelor este bogată în nutrețuri concentrate. Activitatea protozoarelor este strâns condiționată de modul de alimentație și de calitatea hranei, transformarea OTA în OTA-alfa, de exemplu, fiind favorizată de rația bogată în amidon (Diaz, 2005) mai mult decât cea bogată în fibre. Trebuie precizat că alimentația de bază la rumegetoare o reprezintă furajele fibroase, astfel că, suplimentarea acestora cu nutrețuri concentrate trebuie să se facă limitat și în favoarea sănătății animalelor.

Procedeul folosit permite obținerea unui produs care administrat ulterior în hrana vacilor de lapte de exemplu, îmbunătățește calitatea conținutului ruminal prin prisma calității protozoarelor, permițând totodată păstrarea alimentației specific fibroase la acestea.

Procedeul indicat este realizabil în condiții de laborator, de către personal specializat cât și în condiții industriale, în abator sau în unități specializate în acest sens.

REVENDICĂRI

1. Procedeul conform invenției se caracterizează prin aceea că: s-a recoltat în întregime conținutul ruminal în stare proaspătă din abator, s-a depozitat într-un recipient menținut la bain-marin la o temperatură de 39°C, în condiții de anaerobioză, s-au adăugat 0,5...1,5 părți amidon/părți conținut ruminal și 0,5...1,5 părți sucroză/părți conținut ruminal, s-a filtrat conținutul ruminal după un interval de 1...5 ore printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea resturilor de materie vegetală din compoziția acestuia, s-a centrifugat și s-a filtrat lichidul obținut anterior printr-o pânză de etamină.

2. Procedeul conform revendicării 1, se caracterizează prin aceea că, s-a recoltat în

fiziologică a animalului, particularitățile fiziologice ale acestuia). Studiul efectuat a demonstrat că pentru OTA, valorile obținute au fost de 2,2 µg/kg în ovăz, 3,2 µg/kg în tărâțe și 0,1 ng/ml în serul sanguin, 0,018 ng/ml în lapte și 0,009 ng/ml în urină, toate fiind sub limita maximă admisă. Din cantitatea totală de micotoxină OTA ingerată prin furaje (5,4 µg/kg), o proporție de 1,8% s-a regăsit în serul sanguin, 0,3% în lapte și 0,1% în urină ceea ce confirmă transferul metaboliților acestor micotoxine din furaje prin lichide biologice, în produse date la exterior.

Rezultatele diverselor studii privind absorbția și excreția OTA și a metabolitului OTA-alfa la rumegătoare sunt explicate prin varietatea rațiilor administrate în hrana animalelor. Microorganismele ruminale ca și cele intestinale degradează nesemnificativ OTA atunci când rația rumegătoarelor este bogată în nutrețuri concentrate. Activitatea protozoarelor este strâns condiționată de modul de alimentație și de calitatea hranei, transformarea OTA în OTA-alfa, de exemplu, fiind favorizată de rația bogată în amidon (Diaz, 2005) mai mult decât cea bogată în fibre. Trebuie precizat că alimentația de bază la rumegătoare o reprezintă furajele fibroase, astfel că, suplimentarea acestora cu nutrețuri concentrate trebuie să se facă limitat și în favoarea sănătății animalelor.

Procedeu folosit permite obținerea unui produs care administrat ulterior în hrana vacilor de lapte de exemplu, îmbunătățește calitatea conținutului ruminal prin prisma calității protozoarelor, permițând totodată păstrarea alimentației specific fibroase la acestea.

Procedeu indicat este realizabil în condiții de laborator, de către personal specializat cât și în condiții industriale, în abator sau în unități specializate în acest sens.

REVEDICĂRI

1. Procedeu conform invenției se caracterizează prin aceea că: s-a recoltat în întregime conținutul ruminal în stare proaspătă din abator, s-a depozitat într-un recipient menținut la bain-marin la o temperatură de 39°C, în condiții de anaerobioză, s-au adăugat 0,5...1,5 părți amidon/părți conținut ruminal și 0,5...1,5 părți sucroză/părți conținut ruminal, s-a filtrat conținutul ruminal după un interval de 1...5 ore printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea resturilor de materie vegetală din compoziția acestuia, s-a centrifugat și s-a filtrat lichidul obținut anterior printr-o pânză de etamină.

2. Procedeu conform revendicării 1, se caracterizează prin aceea că, s-a recoltat în

întregime conținutul ruminal în stare proaspătă din abator, s-a depozitat într-un recipient menținut la bain-marin la o temperatură de 39°C, în condiții de anaerobioză.

3. Procedeu conform revendicării 1, se caracterizează prin aceea că, s-au adăugat 0,5...1,5 părți amidon/părți conținut ruminal și 0,5...1,5 părți sucroză/părți conținut ruminal.

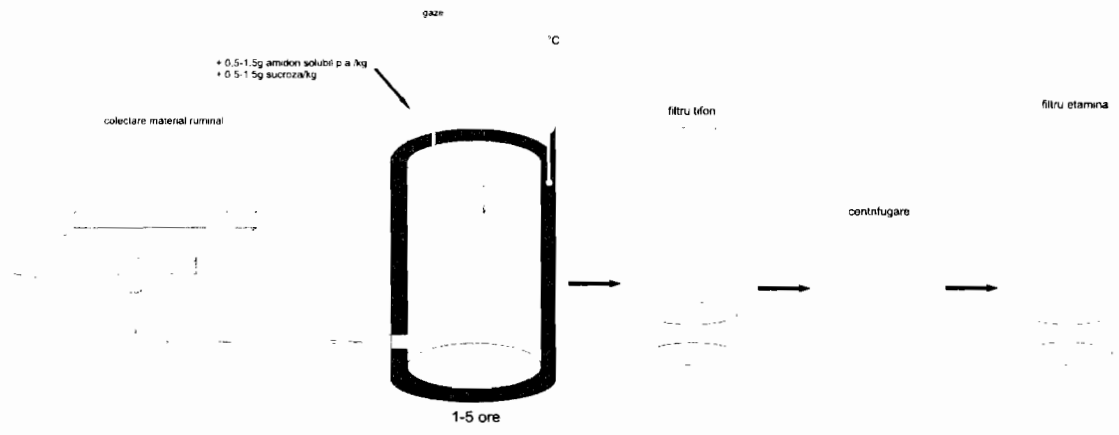
4. Procedeu conform revendicării 1, se caracterizează prin aceea că, s-a filtrat conținutul ruminal după un interval de 1...5 ore printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea resturilor de materie vegetală din compoziția acestuia, s-a centrifugat și s-a filtrat lichidul obținut anterior printr-o pânză de etamină.

REZUMATUL INVENȚIEI

Invenția se referă la un procedeu de prelucrare a conținutului ruminal în stare proaspătă din abator, prin depozitarea într-un recipient menținut la bain-marin la o temperatură de 39°C, adăugarea a 0,5...1,5 părți amidon/părți conținut ruminal și 0,5...1,5 părți sucroză/părți conținut ruminal, părțile fiind exprimate în greutate. Procedeele finale au constat în filtrarea conținutului ruminal după un interval de 1...5 ore printr-un filtru din pânză de tifon bbc concomitent cu presarea resturilor de materie vegetală din compoziția acestuia, centrifugarea și ulterior filtrarea lichidului obținut prin pânză de etamină.



Fluxul tehnologic de prelucrare a lichidului ruminal



Jan