



(19) INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
PORTUGAL

(11) Número de Publicação: PT 678241 E

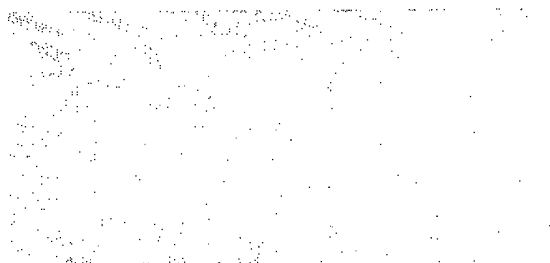
(51) Classificação Internacional: (Ed. 6)
A01N043/90 A A23B004/20 B
A23C019/11 B A23L003/3463 B

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de depósito: 1995.04.10	(73) Titular(es): DSM N.V. HET OVERLOON 1 NL-6411 TE HEERLEN NL
(30) Prioridade: 1994.04.11 EP 94200888	
(43) Data de publicação do pedido: 1995.10.25	(72) Inventor(es): HONG SHENG TAN BEN RUDOLF DE HAAN BERTUS NOORDAM JACOBUS STARK NL NL NL NL
(45) Data e BPI da concessão: 2000.01.12	(74) Mandatário(s): JOSÉ LUÍS FAZENDA ARNAUT DUARTE RUA DO PATROCÍNIO, 94 1350 LISBOA PT

(54) Epígrafe: SUSPENSÕES ESTÁVEIS DE NATAMICINA

(57) Resumo:



DESCRIÇÃO

"SUSPENSÕES ESTÁVEIS DE NATAMICINA"

Esta invenção relaciona-se com suspensões concentradas quimicamente, fisicamente e microbianamente estáveis de natamicina que proporcionam uma suspensão-mãe conveniente para a dosagem fácil e reprodutível do fungicida, e.g. para rações para animais ou cereais ou para o fabrico de preparações líquidas para o tratamento de alimentos tais como queijos e salsichas ou para tratar produtos agrícolas tais como vegetais, frutos e bolbos de flores. Além disso a invenção relaciona-se com composições sólidas de natamicina para a preparação dessas suspensões.

Descrição do estado da técnica

Durante mais de 20 anos, a natamicina tem sido utilizada para impedir o crescimento de bolor em queijos e salsichas. (Ref. 1-3) Os queijos são tratados por imersão numa suspensão de natamicina em água ou cobertos por uma emulsão de um polímero (sobretudo acetato de polivinilo) em água contendo natamicina. As salsichas são sobretudo tratadas por imersão ou por revestimento por aspersão com uma suspensão de natamicina em água. Normalmente as suspensões aquosas para tratamentos por imersão contêm 0,1 até 0,2% (p/v) de natamicina, enquanto que as emulsões de polímeros para efeitos de revestimento contêm 0,01 até 0,05% (p/v) de natamicina.

Para a produção dessas suspensões ou emulsões de polímeros, a natamicina pode ser adicionada directamente ao líquido como um pó, por exemplo utilizando uma composição em pó molhável conhecida com o nome comercial de Delvolid[®] Instant. Em vez de utilizar o pó como tal, frequentemente é preparada uma

f. l. A

pré-suspensão concentrada da natamicina em água antes de se adicionar a natamicina aos líquidos a serem utilizados para tratamentos. O objectivo da preparação da pré-suspensão é evitar a formação de grumos e facilitar a homogeneização da natamicina nos líquidos de tratamento. A maior parte destes métodos de preparação de suspensões para tratamento de alimentos são adequados. Contudo, quando têm de ser preparados vários tipos de suspensão com concentrações variadas de natamicina ou é preciso produzir várias porções de grandes quantidades ao longo de um período mais prolongado esses métodos são menos convenientes.

Quando a natamicina é adicionada como um pó às preparações de tratamento, a pesagem laboriosa do pó tem de ser repetida para cada tipo de suspensão, multiplicando assim o inconveniente de possíveis problemas com o pó.

Quando se utiliza uma pré-suspensão em água para evitar dosagens inexactas, a pré-suspensão tem de ser agitada continuamente para impedir a natamicina de se depositar no fundo ou a pré-suspensão tem de ser adicionada na totalidade às preparações de tratamento. Além disso, essas suspensões são susceptíveis de contaminação bacteriana indesejável e não podem ser utilizadas como uma suspensão-mãe durante períodos prolongados sem se tomar precauções, e.g. adição de um conservante.

Uma maneira possível de evitar a sedimentação é fazer uma solução-mãe de natamicina em vez de uma suspensão. As soluções aquosas de natamicina podem ser preparadas por ajustamento do pH de uma mistura para um valor elevado ou baixo. Contudo, nessas condições a estabilidade da natamicina é bastante fraca (Ref. 4, página 542).

As suspensões aquosas de natamicina são bem conhecidas na prática. Sob o nome comercial de Pimafucin[®], estão comercialmente disponíveis suspensões estéreis de natamicina

como uma apresentação a 1% ou a 2,5% em frascos pequenos até 100 mL. A Pimafucin® é usada sobretudo para fins médicos. Para tornar estas suspensões adequadas como uma apresentação de dose múltipla as suspensões são conservadas pela utilização de cloreto de benzalcônio, um conservante do tipo amônio quaternário. Devido à sedimentação da natamicina sólida, essa suspensão tem de ser muito bem agitada de cada vez antes da utilização. Além disso para evitar a inactivação excessiva da natamicina, o pH da Pimafucin® é normalmente ajustado para um valor de 5,5 até 7,5.

Devido aos problemas de sedimentação e à vulnerabilidade bacteriana das suspensões de natamicina conhecidas, e à instabilidade de soluções de natamicina, até agora uma preparação-mãe aquosa de natamicina que possa ser doseada por métodos volumétricos e que permaneça estável durante um período prolongado, e.g. para o fabrico de líquidos de tratamento para queijos ou salsichas, não foi considerada como uma proposta prática.

Sumário do estado da técnica

As suspensões de natamicina são bem conhecidas. Contudo não é conhecida a utilização de suspensões concentradas para utilização como suspensão-mãe durante períodos prolongados ou até para utilização durante um só dia. Isto deve-se principalmente (1) à tendência da natamicina fracamente solúvel para sedimentar, (2) à instabilidade química da natamicina a valores de pH baixos e elevados e (3) à susceptibilidade das suspensões de natamicina ao crescimento bacteriano. Além disso uma solução aquosa de natamicina como solução-mãe não é possível devido à instabilidade da natamicina em solução.

f. L. A.

OBJECTO DA INVENÇÃO

O objecto desta invenção é proporcionar suspensões-mãe aquosas concentradas de natamicina quimicamente, microbiologicamente e fisicamente estáveis, que são adequadas para serem utilizadas ao longo de pelo menos vários dias sem um conservante e sem a necessidade de equipamento complicado quer para a preparação quer para a dosagem a partir delas.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Inesperadamente verificou-se que, sem a utilização de conservantes, por aplicação de uma gama de pH adequada e utilizando um agente espessante é possível produzir suspensões aquosas concentradas de natamicina, que são quimicamente e microbiologicamente estáveis durante mais do que 14 dias e que têm uma estabilidade física de pelo menos várias horas.

Surpreendentemente essas suspensões de natamicina foram obtidas com um pH menor do que 6, mais particularmente um pH menor do que 5,1. O pH de uma suspensão de acordo com a invenção estará na gama desde 3 até 5,1, preferencialmente desde 3,5 até 5,1 e mais preferencialmente desde 3,5 até 4,5. Assim, um pH de cerca de 4,0 é considerado, por exemplo, desejável, embora um pH ligeiramente mais baixo, e.g. 3,6, ou um pH ligeiramente mais alto, e.g. 5,0 seja igualmente aceitável.

As novas suspensões são muito convenientes para utilização como uma solução-mãe para a dosagem fácil e reprodutível de natamicina, e.g. para utilização na produção em larga escala de emulsões de revestimento para o tratamento de queijos. A concentração de fungicida polieno na suspensão-mãe da invenção pode ser tão elevada como 40% (p/p). Preferencialmente, a concentração de fungicida é desde 0,5 até 30%, mais preferencialmente desde 2 até 25% e mais preferencialmente ainda desde 5 até 20%.

f l A

Para proporcionar uma suspensão com suficiente estabilidade física, pode ser utilizado qualquer agente espessante que é conhecido na arte ou qualquer combinação desses agentes espessantes. Agentes espessantes preferidos para utilização numa suspensão da invenção são os que têm propriedades tixotrópicas ou de adelgaçamento ao cisalhamento e/ou pseudoplásticas tais como, por exemplo xantana, carragenina, metilcelulose, goma arábica e suas combinações.

Quando se utiliza um agente espessante sem propriedades de adelgaçamento ao cisalhamento, a viscosidade da suspensão é de pelo menos cerca de 500 mPa, mais preferencialmente desde cerca de 1000 até 5000 mPa e mais preferencialmente ainda desde cerca de 1000 até 3000 mPa. Quando se utiliza um agente espessante com propriedades de adelgaçamento ao cisalhamento tal como xantana, a viscosidade da suspensão sem cisalhamento pode ser mais do que 50.000 mPa.

Outra característica da invenção é um método para a formação de uma suspensão da invenção por mistura de uma composição sólida com água. Preferencialmente, as formulações em pó molhável para este fim contêm pelo menos o fungicida polieno, i.e. natamicina, um agente espessante tal como xantana ou metilcelulose e preferencialmente um tensoactivo tal como dodecil sulfato de sódio. Opcionalmente pode ser incorporado na mistura em pó um sistema tamponante, e.g. do tipo citrato e/ou fosfato.

As suspensões da invenção podem ser utilizadas directamente para tratar alimentos, rações para animais ou produtos agrícolas com natamicina ou podem ser utilizadas para preparar uma suspensão alternativa ou emulsão de revestimento para esse tratamento.

f l A

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

Num aspecto, a presente invenção proporciona uma suspensão aquosa de natamicina tendo um pH inferior a 6, mais particularmente um pH de 3 até 5,1, e.g. 3,6 até 5,1, e contendo um agente espessante para conferir uma viscosidade de pelo menos 500 mPa. Sem incluir um conservante, essa suspensão aquosa concentrada de natamicina permanecerá quimicamente e microbiologicamente estável durante um período de dias, e.g. mais do que 14 dias, e apresenta estabilidade física durante pelo menos várias horas. Por estabilidade física pretende-se significar que não é necessária agitação ou que não mais do que agitação suave a cada duas horas durante 5 minutos será suficiente para impedir os materiais sólidos de se depositarem.

Tal como indicado anteriormente, a concentração de natamicina numa suspensão-mãe da invenção pode ser tão elevada como 40% (p/p). Preferencialmente a concentração é desde 0,5 até 30%, mais preferencialmente desde 2 até 25% e mais preferencialmente ainda desde 5 até 20%. Para a preparação de uma suspensão de acordo com a invenção, pode ser utilizada natamicina tal e qual ou uma preparação contendo natamicina. Por exemplo, podem ser convenientemente utilizadas as composições em pó disponíveis comercialmente sob a marca comercial de Delvolid® Instant ou Natamax® e contendo 50% (p/p) de natamicina.

Assim, num outro aspecto, a presente invenção proporciona um método para a preparação de uma suspensão da invenção que compreende adicionar aditivos apropriados incluindo natamicina e um agente espessante, quer separadamente quer como uma composição em pó, a água e misturar, seguida se necessário por ajustamento do pH. Preferencialmente, uma composição em pó compreendendo a natamicina, o agente espessante, e um tensoactivo, opcionalmente conjuntamente com um agente tamponante, serão misturados com água, seguido se apropriado por ajustamento do pH.

f l A

Em princípio para a preparação dessas suspensões pode ser utilizado qualquer agente espessante que é conhecido na arte ou qualquer combinação desses agentes espessantes conhecidos. Exemplos de agentes espessantes adequados são goma xantana, goma arábica, goma tragacanta, goma de gellan, goma de guar, goma de semente de alfarroba, goma de carragenina, goma de rhamnan, alginato, acetato de polivinilo e agentes espessantes de origem celulósica tais como hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose, carboximetilcelulose e metilcelulose. Agentes espessantes preferidos são aqueles que têm propriedades tixotrópicas e de adelgaçamento ao cisalhamento e/ou pseudoplásticas tais como por exemplo metilcelulose, goma xantana, goma de carragenina, goma arábica e suas combinações.

O agente espessante é preferencialmente utilizado numa quantidade desde 0,1 até 0,5% (p/p), mais preferencialmente desde 0,1 até 3,0% (p/p) e mais preferencialmente ainda desde 0,2 até 2,0% (p/p).

Quando se utiliza um agente espessante sem propriedades de adelgaçamento ao cisalhamento, a viscosidade da suspensão é de pelo menos 500 mPa, mais preferencialmente desde cerca de 1000 até 5000 mPa e mais preferencialmente ainda desde cerca de 1000 até 3000 mPa. Quando se utiliza um agente espessante com propriedades de adelgaçamento ao cisalhamento tal como xantana, a viscosidade da suspensão sem cisalhamento pode ser mais do que 50.000 mPa, enquanto que a viscosidade sob cisalhamento será dependente da força de cisalhamento aplicada.

Com vantagem, é utilizado um agente de suspensão que serve como um desfloculante. Agentes de suspensão adequados são por exemplo celulose microcristalina-carboximetilcelulose de sódio (Avicel[®] RC), dodecil sulfato de sódio, polietileno glicol, sílica coloidal pirogenada, glicol e glicerol.

f l A

O pH de uma suspensão de acordo com a invenção pode ser ajustado por qualquer método conhecido na arte, e.g. por adição de um composto ácido ou alcalino ou por utilização de um sistema tamponante. Ácidos úteis são por exemplo ácido cítrico, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido clorídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico e ácido tartárico. Compostos básicos úteis são por exemplo hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, amoníaco e hidróxido de cálcio. Sistemas tamponantes úteis são por exemplo os do tipo citrato e/ou fosfato.

Tal como indicado acima, uma composição em pó sólida para combinação com água para proporcionar uma suspensão de acordo com a invenção deve preferencialmente conter pelo menos o fungicida polieno, um agente espessante tal como xantana ou metilcelulose, e opcionalmente um tensoactivo tal como dodecil sulfato de sódio. A presença de um agente tamponante na composição em pó sólida pode ser vantajosa, mas não é essencial. A formulação também pode conter componentes que já estão presentes numa preparação do fungicida polieno de partida. Por exemplo, quando se utiliza Delvolid® Instant ou Natamax® como a fonte de natamicina, na mistura final também estará presente lactose.

A quantidade de fungicida polieno tal como trihidrato de natamicina nas composições sólidas para utilização na preparação da uma suspensão da invenção pode ser até 99,8% (p/p), e.g. 80 até 99,8% (p/p), preferencialmente até 99,5%. Preferencialmente a quantidade do agente espessante numa tal composição sólida é desde 0,2 até 20% (p/p), mais preferencialmente desde 0,5 até 10% (p/p). A quantidade de tensoactivo é preferencialmente desde 0,1 até 2% (p/p), mais preferencialmente desde 0,2 até 1% (p/p). Um sistema tamponante pode estar presente até 20% (p/p). Sistemas tamponantes úteis podem consistir em um ou mais de ácido cítrico, os sais mono-, di-, e trissódico do ácido cítrico e os sais mono- e dissódico do ácido fosfórico. Finalmente, é

óbvio que cargas tais como lactose e/ou celulose também podem estar presentes na composição sólida final.

Após mistura da composição em pó sólida com água para dar uma suspensão-mãe, se necessário, o pH da mistura resultante será ajustado para um valor apropriado por métodos conhecidos *per se*.

Em aspectos adicionais, a presente invenção proporciona a utilização de uma suspensão de acordo com a invenção directamente para tratamento de um alimento, ração para animais ou produto agrícola ou para a preparação de um líquido de tratamento ou emulsão de revestimento para esse tratamento.

Tal como afirmado acima, as suspensões preparadas de acordo com a presente invenção são muito convenientes para utilização como uma suspensão-mãe. Por exemplo, essas suspensões são muito úteis para a preparação de líquidos de imersão para o tratamento de alimentos e para a produção em larga escala de emulsões de revestimento para o tratamento de queijos. Além disso, essas suspensões são convenientes para utilização como parte de um processo contínuo, e.g. para produzir emulsões de revestimento para o tratamento de rações para animais. Além disso não é necessário equipamento complicado nem para a sua preparação nem para a sua aplicação. Na maior parte dos casos, será satisfatória a utilização de um dispositivo de agitação simples. Uma vantagem adicional da utilização de uma suspensão de acordo com a invenção como uma suspensão-mãe para a preparação de líquidos de tratamento é que são minimizados os problemas com poeiras e a formação de grumos.

Formas de realização do presente pedido são ilustradas pelos exemplos seguintes.

f l A

Exemplo 1

Este exemplo demonstra a estabilidade microbiana e química de suspensões de acordo com a invenção.

1a. 100 g de Delvolid® Instant (contendo 50% de natamicina), 0,1 g de dodecil sulfato de sódio e 10 g de metilcelulose 400 CP (sigma) foram misturados conjuntamente. A mistura foi então suspensa em 390 mL de água utilizando um agitador magnético. O pH da suspensão foi ajustado para 4,8 por meio de uma solução 1 N de ácido clorídrico.

1b. Repetiu-se a experiência excepto que o pH foi ajustado para 4,4 em vez de 4,8.

1c. Repetiu-se a experiência excepto que o pH foi ajustado para 4,0 em vez de 4,8.

1d. Repetiu-se a experiência excepto que o pH foi ajustado para 3,6 em vez de 4,8.

1e. Repetiu-se a experiência acima excepto que o pH foi ajustado para 4,0 utilizando uma solução de ácido acético em vez de ácido clorídrico.

1f. 100 g de Delvolid® Instant, 0,1 g de dodecil sulfato de sódio, 10 g de metilcelulose 400 cp e 0,1 g de ácido ascórbico foram misturados conjuntamente e depois suspensos em 390 mL de água. O pH da suspensão foi ajustado para 4 por meio de uma solução 1 N de hidróxido de sódio.

50 mL de cada uma das misturas acima foram inoculados com uma mistura de respectivamente $3,4 \times 10^6$ CFU/mL de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, $2,9 \times 10^6$ CFU/mL de *Escherichia coli* ATCC 11229, $5,5 \times 10^4$ CFU/mL de *Bacillus cereus* ATCC 2 e $1,5 \times 10^5$ CFU/mL de *Lactococcus lactis* ATCC 19257. Após

f l A

incubação a 25°C durante 14 dias, a contagem de células totais foi realizada utilizando métodos conhecidos *per se*. A composição la tinha uma contagem de células totais de mais do que 10^7 CFU/mL enquanto que as outras composições continham menos do que 200 CFU/mL.

Os resultados acima mostraram que um valor de pH de menos do que 4,8 é suficiente para inibir o crescimento bacteriano.

O teor de natamicina em cada suspensão foi calculado por HPLC imediatamente após a preparação e após 13 dias de armazenagem a 25°C. Nenhuma das seis misturas mostrou um declínio na concentração de natamicina.

Exemplo 2

Nesta experiência investigou-se o efeito da viscosidade sobre a sedimentação de natamicina.

Foram preparadas suspensões aquosas contendo 20% (p/p) de Delvolid® Instant, 0,1% (p/p) de dodecil sulfato de sódio e respectivamente 1,8%, 1,6% e 1,4% (p/p) de metilcelulose 400 cp e com 0,7% de metilcelulose 4000 cp de acordo com o método descrito no Exemplo 1. O pH das suspensões foi ajustado para 4,0 por meio de uma solução 1 N de ácido clorídrico.

As viscosidades das suspensões resultantes tal como medidas num viscosímetro Brookfield eram respectivamente de 2740, 1910, 1080 e 2380 mPa.

Para verificar a sedimentação de natamicina, colocou-se 100 mL de cada suspensão numa proveta graduada de 100 mL. A separação de fases foi avaliada visualmente. Não se observou separação de fases durante mais de 8 horas para a suspensão com a viscosidade mais baixa (1080 mPa) e durante mais de 24 horas para as outras quatro misturas.

f. l. A

Exemplo 3

106 g de trihidrato de natamicina, 4 g de goma xantana (Keltrol® RD, Kelco International Limited) e 0,5 g de dodecil sulfato de sódio foram misturados conjuntamente e depois adicionados a 990 mL de água. Após agitação da mistura durante 30 minutos, o pH foi ajustado para 4,0 por meio de uma solução 1 N de ácido clorídrico.

As características de sedimentação foram verificadas visualmente colocando 100 mL da suspensão resultante numa proveta graduada de 100 mL. Mesmo após duas semanas em repouso não se observou separação de fases.

A estabilidade microbiana e química foi verificada do mesmo modo que o descrito no Exemplo 1.

Após incubação a 25°C durante 14 dias, a contagem de células microbianas era menos do que 200 CFU/mL. A análise por HPLC mostrou que o teor de natamicina imediatamente após a preparação e após armazenagem à temperatura ambiente durante 14 dias era de respectivamente 10,2 e 10,0% (p/p).

Exemplo 4

200 g de Delvolid® Instant, 0,2 g de dodecil sulfato de sódio e 4 g de Keltrol® RD foram misturados conjuntamente e depois suspensos em 796 mL de água por agitação durante 30 minutos. O pH das suspensões foi ajustado para 4,0 por meio de uma solução 1 N de ácido clorídrico.

A suspensão resultante mostrou não haver sedimentação após permanecer em repouso durante mais de 14 dias. A estabilidade microbiana e química foi verificada do mesmo modo que o descrito no Exemplo 1. Após incubação a 25°C durante 14 dias, a contagem de células microbianas era menos do que 200 CFU/mL. A análise

f l A

por HPLC mostrou que o teor de natamicina imediatamente após a preparação e após a armazenagem à temperatura ambiente durante 14 dias era respectivamente de 10,5 e 10,7% (p/p).

Exemplo 5

Um pó molhável com a seguinte composição foi produzido num misturador Turbula®: 100 g de trihidrato de natamicina, 100 g de lactose, 4 g de Keltrol® RD, 1 g de dodecil sulfato de sódio, 1 g de ácido cítrico e 0,1 g de citrato trissódico dihidratado. Os componentes foram misturados conjuntamente.

O pó molhável é suspenso em 800 mL de água dando um volume total de 1000 mL e é agitado durante 30 minutos.

O pH da suspensão foi medido imediatamente após a preparação e após 14 dias de armazenagem no escuro à temperatura ambiente. Em ambos os casos o pH era de 4,04.

As características de sedimentação foram verificadas do mesmo modo que o descrito no Exemplo 3. A suspensão não apresentou sedimentação depois de permanecer em repouso durante mais de 14 dias.

A estabilidade microbiológica foi verificada usando o método de desafio bem conhecido.

Cinco amostras de 50 mL da suspensão foram inoculadas com respectivamente com $3,8 \times 10^3$ CFU/mL de *Escherichia coli* ATCC 11229, $7,7 \times 10^3$ CFU/mL de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, $1,5 \times 10^4$ CFU/mL de *Listeria monocytogenes* DSM 20500, $9,2 \times 10^3$ CFU/mL de *Bacillus cereus* ATCC 2 e $1,8 \times 10^3$ CFU/mL de *Lactococcus lactis* ATCC 19257.

Após incubação a 30°C durante 1 hora, 7 dias e 14 dias foram retiradas amostras e a contagem de células totais de cada amostra foi determinada utilizando métodos bem conhecidos.

Todas as amostras continham menos do que 10 CFU/mL, que demonstra que a suspensão é microbiologicamente estável durante pelo menos 14 dias.

O teor de natamicina da suspensão foi calculado por HPLC imediatamente após a preparação e após 14 dias de armazenagem no escuro à temperatura ambiente. O teor de natamicina em ambos os casos era de 10,4% (p/p).

Exemplo 6

Um pó molhável com a mesma composição que a descrita no Exemplo 5 foi preparado e armazenado durante mais do que 2 meses à temperatura ambiente.

Produziu-se uma suspensão de natamicina tal como descrito no Exemplo 5.

Os resultados relativos a estabilidade física, microbiológica e química eram os mesmos que os descritos no Exemplo 5.

Exemplo 7

Um pó molhável com a seguinte composição foi produzido num misturador Turbula®: 106 g de trihidrato de natamicina, 8,3 g de lactose, 1 g de Keltrol® RD, 0,5 g de ácido cítrico e 0,055 g de citrato dissódico dihidratado. Os componentes foram misturados conjuntamente. 54 g do pó molhável foram suspensos em 196 mL de água por agitação durante 30 minutos (suspensão A).

f. L. A.

O pH de metade da suspensão A foi ajustado para 6,5 por meio de uma solução 4 N de NaOH (suspensão B).

O pH da suspensão A foi medido imediatamente após a preparação (pH = 4,87) e após 14 dias de armazenagem no escuro à temperatura ambiente (pH = 5,04).

As características de sedimentação da suspensão A foram verificadas do mesmo modo que o descrito no Exemplo 3. A suspensão não apresentou sedimentação após permanecer em repouso durante mais do que 14 dias.

Após incubação à temperatura ambiente a contagem de células totais da suspensão A foi determinada após 1 hora, 7 dias e 14 dias utilizando métodos bem conhecidos.

Todas as amostras continham menos do que 10 CFU/mL, que demonstra que a suspensão é microbiologicamente estável durante pelo menos 14 dias.

Após incubação à temperatura ambiente a contagem de células totais da suspensão B era mais do que 10^7 CFU/mL após 4 dias.

Os resultados acima mostraram que um valor de pH maior do que 6,5 é insuficiente para inibir o crescimento bacteriano.

O teor de natamicina da suspensão A foi determinado por HPLC imediatamente após a preparação e após 14 dias de armazenagem no escuro à temperatura ambiente. O teor de natamicina era respectivamente de 18,0 e 18,1% (p/p).

Referências

1. Daamen, C. B. G. e Berg, G. van den;
"Prevention of mould growth on cheese by means of natamycin"
Voedingsmiddelentechnologie, 18 (2), 26 (1985).
2. Morris, H. A. e Castberg, H. B.;
"Control of surface growth on Blue cheese using pimaricin"
Cultured Dairy Products Journal, 15 (2), 21 (1980)
3. Morris, H. A. e Hart, P. A. ;
"Pimaricin - What is it?"
Cultured Dairy Products Journal, 13 (3), 22 (1978)
4. Brik, H. ;
"Natamycin"
Analytical Profiles of Drug Substances, 10, 513-561
(1981).

Lisboa, 27 de Janeiro de 2000

AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

F. L. A.

f L A

REIVINDICAÇÕES

1. Suspensão aquosa de natamicina tendo um pH de 3 até 6 e contendo um agente espessante para produzir uma viscosidade de pelo menos 500 mPa.
2. Suspensão aquosa de acordo com a reivindicação 1 tendo um pH de 3,6 até 5,1.
3. Suspensão aquosa de acordo com a reivindicação 1 ou a reivindicação 2 em que está presente um agente espessante para produzir uma viscosidade de pelo menos 1000 mPa.
4. Suspensão aquosa de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3 em que a natamicina está presente a 0,5 até 40% (p/p) e o agente espessante está presente a 0,1 até 5% (p/p).
5. Suspensão aquosa de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 em que o agente espessante é seleccionado de goma xantana, goma arábica, goma tragacanta, goma de gellan, goma de guar, goma de semente de alfarroba, goma de carragenina, goma de rhamnan, alginato, acetato de polivinilo, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose, carboximetilcelulose e suas combinações.
6. Suspensão aquosa de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 5 que contém adicionalmente um tensoactivo.
7. Método para a preparação de uma suspensão de acordo com qualquer das reivindicações anteriores que compreende a adição de aditivos apropriados incluindo natamicina e agente espessante, quer separadamente quer como uma composição em pó, a água e mistura, seguida se necessário por ajustamento do pH.

8. Composição em pó para utilização num método de acordo com a reivindicação 7 compreendendo natamicina, um agente espessante e um tensoactivo.
9. Utilização de uma suspensão aquosa de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 6 para a preparação de um líquido de tratamento ou emulsão de revestimento para o tratamento de um alimento, ração para animais ou produto agrícola.
10. Utilização de uma suspensão aquosa de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 6 para o tratamento de um alimento, uma ração para animais ou um produto agrícola.
11. Alimento, ração para animais ou produto agrícola a que foi aplicada uma suspensão de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 6.

Lisboa, 27 de Janeiro de 2000

AGENTE ÓFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

L. L. A.