



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

202077

(11) (B2)

(51) Int. Cl.³
A 23 K 1/16

/22/ Přihlášeno 21 07 77
/21/ /PV 4873-77/
/32//31//33/ Právo přednosti
od 23 07 76 /P 26 33 105.5/
Německá spolková republika

(40) Zveřejněno 31 03 80

(45) Vydáno 15 03 83

(72) Autor vynálezu HILLER GÜNTER dr., ERKRATH /NSR/

(73) Majitel patentu HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT auf AKTIEN, DÜSSELDORF /NSR/

(54) Krmivová směs pro užitková zvířata

1

Vysoce výkonné krmivé směsi, jak se obvykle dnes používají při intenzivním chovu užitkových zvířat, obsahují řadu přísad s profylaktickým nebo/a nutritivním účinkem. K nim náleží mezi jinými antibiotika a enzymy. Zatímco se používání antibiotik uplatnilo již v krmivových směsích všech typů, enzymů se v praxi ve větší míře ještě nepoužívá.

Krmivé směsi, používané při moderním intenzivním chovu zvířat, jsou obvykle ve všech živinových složkách natolik optimalizovány, že další zlepšení se nezdá jen tak možné. Překvapivě však bylo zjištěno, že i optimálně sestavené vysoce výkonné krmivo je možno ještě zlepšit, pokud jde o využití krmiva nebo/a o jím dosažitelný hmotnostní přírůstek, když se k těmto krmivům přidají určitá antibiotika spolu s proteolytickými enzymy.

Předmětem vynálezu je proto krmivová směs pro užitková zvířata na bázi uhlohydrátů, bílkovin, tuků a popřípadě obvyklých přísad, která se vyznačuje tím, že obsahuje 5 až 20 ppm virginiamycinu jakožto antibiotikum a proteolytické enzymy v množství, postačujícím k dosažení aktivity 0,05 až 2,5 mTU/g.

Antibiotikum virginiamycin patří ke skupině peptolidů. Produkuje jej jeden kmen hub *Streptomyces virginiae* a sestává ze složek typu M (sumární vzorec $C_{28}H_{35}N_3O_7$) a typu S (sumární vzorec $C_{43}H_{49}N_7O_{10}$).

Vhodné proteolytické enzymy se získají především pěstováním mikroorganismů a izolováním ze živných roztoků. Příslušné postupy jsou známe. Například se použije proteolytických enzymů z mikroorganismů *Bacillus licheniformis*, *Bacillus natta*, *Bacillus subtilis* atd. Obzvláště výhodné jsou kyselé proteázy, například z *Aspergillus niger* nebo z *Rhizopus rhizopodiformis*, podle německé patentové přihlášky P 25 28 490.6. Takovéto proteázy mají obzvláště

široké spektrum účinnosti ve slabě kyselém rozsahu pH 2,5 až 6,5. Komerční krmivové směsi jsou co nejoptimálněji sestaveny pro zvláštní potřeby jednotlivých druhů zvířat. Jejich základ tvoří uhlohydráty především z obilných složek, kukuřice nebo pod. Jako zdroje bílkovin slouží v první řadě sójový šrot, rybí moučka, živočišná moučka, otruby apod. Chybějící aminokyseliny, například metionin, je možno přidat dodatečně. Tuky se přidávají v podobě rostlinných nebo živočišných tuků nebo v podobě odpadních tuků.

Jako další složky, potřebné pro růst těla, se přidávají soli, jako je střední fosforečnan vápenatý, uhličitán vápenatý, chlorid sodný. Popřípadě se krmivová směs doplní přidáním stopových prvků, vitamínů, plniv atd. I fermentativně vyrobené látky, jako jsou jednobuněčné proteiny z ropných frakcí nebo alkoholů, různé kvasinky, bílkoviny z řas nebo jiné, popřípadě i z odpadních látek získané substance mohou být zčásti ve značné míře složkou předpisu pro krmivo.

Krmivové směsi podle vynálezu obsahují kromě obvyklých, vždy pro určitý druh zvířat upravených složek rovněž 5 až 20 ppm, s výhodou 10 až 15 ppm uvedeného antibiotika a proteolytické enzymy v množství, umožňujícím dosáhnout enzymatické aktivity 0,05 až 2,5 mTU/g, s výhodou 0,2 až 0,5 mTU/g. Zejména se používá kombinace virginiamycinu a kyselé proteázy z hub, popřípadě směsi proteáz. Tímto krmivem dosažený hmotnostní přírůstek, popřípadě zlepšené využití krmiva činí až 4 % ve srovnání s příslušnými kontrolními směsmi, obsahujícími pouze antibiotikum.

Účinná kombinace virginiamycinu s enzymy se osvědčuje především v krmivu pro kuřata. Je však užitečná i u všech ostatních druhů zvířat, u nichž je už výhodné použití samotného virginiamycinu, například při výkrmu vepřů a v krmivu pro nosné slepice.

Antibiotikum se účelně přidává ke krmivu v podobě předsměsi, například vázané na sójový extrakční šrot. Při použití moučkovitých krmivových směsí se aplikuje i enzymová složka v podobě předsměsi. Jako nosič zde slouží libovolná složka krmivové směsi, například rovněž sójový šrot. Při použití parou peletizovaného krmiva se enzymy musí přimísit ve vhodně stabilizované formě, aby se zabránilo deaktivaci vlhkostí a teplem během peletizačního postupu. Takovýto postup je například popsán v německé patentové přihlášce P 26 02 260.6.

K určení enzymové jednotky (TU) se stanoví proteolytická účinnost proteázy podle známého Ansonova postupu: vhodně zředěné množství roztoku enzymu se při teplotě 40 °C 20 minut inkubuje se stejným objemovým množstvím 1,2% roztoku kaseinu, přičemž tento roztok obsahuje 0,6 % kyseliny mléčné, 6 molů močoviny a 0,1 molu kyseliny citrónové nebo octové. Hodnota pH roztoku kaseinu se upraví přidáním 2 N louhu sodného na 4,5. Po inkubaci se přidá 0,4 N kyselina trichloroctová v objemovém poměru 1:1, vzniklá sraženina nestráveného kaseinu se odfiltruje a ve filtrátu se libovolnou metodou k určení bílkovin stanoví štěpné produkty proteinu, vzniklé při odbourání. K tomuto určení je vhodný například postup, popsán Laynem v časopisu *Methods of Enzymology*, 3, str. 448 a další (1957).

Pro každé určení je nejprve třeba stanovit slepou hodnotu; přitom se napřed přidá kyselina trifluoroctová a pak roztok kaseinu. Tato slepá hodnota udává kromě jalové hodnoty, vyplývající z použití reagensů, podíl nízkomolekulárních peptidů, který je přítomen již před strávením v roztoku enzymu. Rozdíl mezi hlavní hodnotou a slepou hodnotou se při uvedené metodě pak porovnává s extinkcí, kterou při tomto stanovení poskytuje určité množství tyrosinu. Toto množství tyrosinu je pak mírou proteolytické aktivity použitého enzymu: enzymová jednotka (TU) představuje takové množství enzymu, které z roztoku kaseinu za 1 minutu uvolní štěpné produkty, vyznačující se stejnou extinkcí jako 1 molární roztok tyrosinu. Obvyklý je údaj v jednotkách $\text{mTU} = 10^{-3} \text{ TU}$.

P ř í k l a d 1

270 sameček jednodenních kuřat Lohmann se v posadách krmí po dobu 6 týdnů vždy stejně sestavenými krmivovými směsmi, avšak

- a) bez přídatku antibiotika nebo enzymu,
- b) s přídatkem 15 ppm virginiamycinu,
- c) s přídatkem 15 ppm virginiamycinu a 0,45 mTU/g kyselých proteáz z *Rhizopus rhizopodiformis*,

a po skončení pokusu se stanoví konečná hmotnost a stupeň využití krmiva. Využitím krmiva se rozumí poměr spotřeba krmiva/hmotnostní přírůstek.

Složení krmiva (%):

sójový extrakční šrot	31,00
kukuřice	55,31
živočišná moučka	5,00
hovězí lůj	5,80
sójový olej	0,20
střední fosforečnan vápenatý	1,34
uhličitan vápenatý	0,37
chlorid sodný	0,25
DL-metionin	0,17
předsměs se stopovými prvky	0,20
předsměs s vitamíny	0,20
předsměs s kokcidostatikem	0,16
	100,00

Výsledek:

	a) bez přídatku	b) s přídatkem virginiamycinu	c) s přídatkem virginiamycinu +E
konečná hmotnost (g)	1 459	1 504	1 524
využití krmiva	1,82	1,80	1,72

E = proteolytické enzymy z uvedených mikroorganismů

P ř í k l a d 2

720 sameček brojlerů Lohmann se v podmínkách půdního chovu krmí po dobu 6 týdnů jednotným krmivem níže uvedeného složení a po skončení pokusu se stejně jako v příkladu 1 zjistí konečná hmotnost zvířat, jakož i stupeň využití krmiva. Krmivové směsi obsahovaly též v případě a) pouze uvedené složky bez přísady antibiotika nebo enzymu, v případě b) obsahují 7,5 ppm virginiamycinu a v případě c) obsahují přísadu 7,5 ppm virginiamycinu a 0,45 mTU/g kyselých proteáz z *Aspergillus niger*.

Složení krmiva (%):

sójový šrot	37,35
kukuřice	52,325
DL-metionin	0,3
sójový olej	6,0
střední fosforečnan vápenatý	1,82
uhličitan vápenatý	1,03
chlorid sodný	0,31
stopové prvky	0,065
směs vitamínů	0,25
cholinchlorid, 50 %	0,2
coyden	0,05
ovesné plevy	0,30
	100,00

Výsledek:

	a) bez přídatku	b) s přídatkem virginiamycinu	c) s přídatkem virginiamycinu +E
konečná hmotnost (g)	1 443	1 445	1 518
využití krmiva	1,90	1,85	1,83

E = proteolytické enzymy z uvedených mikroorganismů

P ř í k l a d 3

768 jednodenních kuřat druhu Hubbard (384 sameček a 384 samiček) se v posadách krmí po dobu 8 týdnů vždy stejně sestavenými krmivovými směsmi, avšak

- bez přídatku antibiotika nebo enzymu,
- s přídatkem 15 ppm virginiamycinu,
- s přídatkem 0,33 mTU/g krmiva kyselých proteáz (E) z *Aspergillus niger* a *Rhizopus rhizopodiformis*,
- jako c), avšak spolu s 15 ppm virginiamycinu

a stanoví se průběh přírůstu živé hmotnosti a stupeň využití krmiva. Využitím krmiva se rozumí poměr spotřeba krmiva/hmotnostní přírůstek.

Složení krmiva (v %) pro 1. až 4. týden:

sójový extrakční šrot	43,0
kukuřice	41,0
vojtěška	3,0
tuk	9,0
hydrofosforečnan vápenatý	2,0
hydrouhličitan vápenatý	1,0
chlorid sodný	0,3
DL-metionin	0,2
vitamíny, stopové prvky	0,5
	100,0

Složení krmiva (v %) pro 5. až 8. týden:

sójový extrakční šrot	35,0
kukuřice	51,08
vojtěška	3,0
tuk	7,0
hydrofosforečnan vápenatý	2,0
hydrouhličitán vápenatý	1,0
chlorid sodný	0,3
D,L-metionin	0,12
vitamíny, stopové prvky	0,5
	100,00

Výsledek:

	a) bez přídavku	b) s přídavkem virginiamycinu	c) s přídavkem kyselých proteáz (E)	d) s přídavkem virginiamycinu a kyselých proteáz (E)
<u>po 6. týdnu</u>				
konečná hmotnost (g)	1 640	1 643	1 637	1 663
stupeň využití krmiva	1,94	1,94	1,94	1,89
<u>po 8. týdnu</u>				
konečná hmotnost (g)	2 292	2 347	2 343	2 390
stupeň využití krmiva	2,83	2,65	2,67	2,62

Lepší výsledky při použití kombinace antibiotika a enzymů se stávají patrnými, zejména po 6. týdnu. Dosažený předstih vydrží až do konce výkrmového období.

P ř í k l a d 4

3 200 jednodenních kuřat druhu Ross (1 600 sameček a 1 600 samiček) se v podmínkách půdního chovu krmí po dobu 7 týdnů vždy stejně sestavenými krmivovými směsmi, avšak

- a) bez přídavku antibiotika nebo enzymu,
- b) s přídavkem 10 ppm virginiamycinu,
- c) s přídavkem 0,36 mTU/g krmiva kyselých proteáz (E) z *Aspergillus niger* a *Rhizopus rhizopodiformis*,
- d) jako c), avšak spolu s 10 ppm virginiamycinu,

a stanoví se průběh přírůstku živné hmotnosti a stupeň využití krmiva zvířaty. Využitím krmiva se rozumí poměr spotřeby krmiva/hmotnostní přírůstek.

Složení krmiva (v %):

rybí moučka	6,0
sójový šrot	26,0
kukuřice	40,0
sójový olej	5,0
pšenice	14,5
kukuřičný lepek	5,0
D,L-metionin	0,1
uhličitán vápenatý (krmný)	0,3
vitamíny, stopové prvky atd.	3,1
	100,0

Výsledek:

	a) bez přísady antibio- tika nebo enzymu	b) s přísadou virginiamy- cinu	c) s přísadou kyselých proteáz (E)	d) s přísadou kyselých proteáz a virginiamy- cinu
konečná hmotnost (g)	1 594	1 661	1 607	1 712
stupeň využití krmiva	1,95	1,89	1,90	1,88

P ř í k l a d 5

48 selat DL se výkrmných kotech krmí po 24 dny ve hmotnostním rozmezí přibližně 10 až 20 kg vždy stejně sestavenými krmivovými směsmi, avšak

- a) bez přísady antibiotika nebo enzymů,
- b) s přidavkem 40 ppm virginiamycinu,
- c) s přidavkem 0,15 mTU/g krmiva kyselých proteáz z *Aspergillus niger* (E),
- d) s přísadami b) + c)

a stanoví se průběh přírůstku živé hmotnosti a stupeň využití krmiva. Využitím krmiva se rozumí poměr spotřeby krmiva/hmotnostní přírůstek.

Složení krmiva (v %):

pšenice	31,7
kukuřice	29,3
sójový šrot	15,0
pšeničné otruby	7,0
oves	7,0
dextróza	4,5
vojtěška	2,0
předsměs minerálních látek a vitamínů	3,5
	100,0

Výsledek:

	a) bez přídavku	b) s přidavkem virginiamy- cinu	c) s přidavkem kyselých proteáz (E)	d) s přidavkem virginiamy- cinu a ky- selých pro- teáz (E)
denní přírůstek (g)	381	394	398	426
stupeň využití krmiva	2,26	2,26	2,24	2,16

P ř í k l a d 6

64 selat DL v klecích se v hmotnostním rozmezí přibližně 7 až 24 kg krmí identicky sestaveným krmivem, které však je

- a) bez přídavku antibiotika nebo enzymu, vyznačuje se
- b) přídavkem 50 ppm virginiamycinu,
- c) přídavkem 0,2 mTU/g krmiva kyselé proteázy (E) z *Rhizopus rhizopodiformis*,
- d) přísadami b) + c).

K doplnění dostávají zvířata ve všech skupinách identicky sestavené počáteční krmivo. Poté obdrží zvířata vlastní pokusnou směs, jejíž složení je níže uvedeno. Sleduje se průběh přírůstku hmotnosti a stupeň využití krmiva. Stupněm využití krmiva se rozumí poměr spotřeby krmiva/hmotnostní přírůstek.

Složení krmiva (v %):

bílkovinný krmný koncentrát (62,5 % sojového šrotu, 25 % rybí moučky, 12,5 % předsměsi minerálních látek a vitamínů)	18
oves	14
pšeničné otruby	10
ječmen	28
pšenice	15
kukuřice	15
	100

Výsledek:

	a) bez přídavku antibio- tika nebo enzymu	b) s přídavkem virginiamy- cinu	c) s přídavkem kyselé proteázy (E)	d) s přídavkem virginiamy- cinu a ky- selé pro- teázy (E)
denní hmotnostní přírůstek (g)	412	436	425	471
stupeň využití krmiva	2,08	2,06	2,06	1,98

P ř í k l a d 7

Celkem 48 selat, chovaných na šterbinových podlahách bez slámové podestýlky, se od počáteční hmotnosti přibližně 30 kg krmí ve dvou výkrmných etapách až do konečné hmotnosti přibližně 100 kg vždy identicky sestavenou krmivovou směsí, která ve výkrmné etapě I (30 až 60 kg) je

- a) bez přídavku antibiotika nebo enzymu a vyznačuje se
- b) přídavkem 20 ppm virginiamycinu,
- c) přídavkem 0,4 mTU/g krmiva kyselé proteázy (E) z *Rhizopus rhizopodiformis*,
- d) přídavkem b) + c).

Ve výkrmné etapě II (60 až 100 kg) se v příslušných skupinách použije těchto přísad:

- a) bez přísady antibiotika nebo enzymu,

- b) přídatek 10 ppm virginiamycinu,
- c) přídatek 0,2 mTU/g krmiva kyselá proteázy (E) z *Rhizopus rhizopodiformis*,
- d) přídatky b) + c).

Pravidelným vážením se stanoví průběh hmotnostních přírůstků a stupeň využití krmiva. Stupněm využití krmiva se rozumí poměr spotřeby krmiva/hmotnostní přírůstek.

Zvířata se krmí ve dvou denních dávkách podle doporučení DLG.

Složení krmiva (v %):

	výkrmná etapa I (30 až 60 kg)	výkrmná etapa II (60 až 100 kg)
ječmen	20	22
kukuřice	20	22
pšenice	15	22
oves	15	-
pšeničné otruby	9	21,5
rybí moučka	7	3
sójový šrot	12	8
minerální krmivo	<u>2</u>	<u>1,5</u>
	100	100,0

Výsledek (obě etapy celkem /30 až 100 kg/):

	a) bez přídatku antibio- tika nebo enzymu	b) s přídatkem virginiamy- cinu	c) s přídatkem kyselá proteázy (E)	d) s přídatkem virginiamy- cinu a ky- selá pro- teázy (E)
denní hmotnostní přírůstek (g)	674	722	712	753
stupeň využití krmiva	3,31	3,18	3,25	3,14

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Krmivová směs pro užitková zvířata na bázi uhlohydrátů, bílkovin, tuků a popřípadě obvyklých přísad, vyznačující se tím, že obsahuje 5 až 20 ppm antibiotika virginiamycinu a proteolytické enzymy.

2. Krmivová směs podle bodu 1, vyznačující se tím, že proteolytickými enzymy jsou kyselá proteázy se spektrem účinnosti při pH v rozmezí 2,5 až 6,5.