(19) DANMARK

(12) PATENTSKRIFT (11) 172139 B1

Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 2758/90 (51) Int.Cl.6 A 23 K 1/18

(22) Indleveringsdag: 20 nov 1990

(41) Alm. tilgængelig: 22 maj 1991

(45) Patentets meddelelse bkg. den: 24 nov 1997

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 21 nov 1989 JP 300841/89

(73) Patenthaver: *NIPPON PAPER INDUSTRIES CO., LTD.; 4-1, Oji 1-chome; Kita-ku; Tokyo, JP

(72) Opfinder: Katsuhiro *Mamoto; JP, Yasuyuki *Nakamura; JP, Akiyoshi *Kawaoka; JP, Masahiko *Tabata; JP

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard, Lehmann & Ree A/S

(54) Foder til forbedring af fødeoptagelsen hos fisk

(56) Fremdragne publikationer

---

(57) Sammendrag:

2758-90

Foderblanding til fiskeopdræt, hvorved foderet optages bedre af fiskene indeholdende 0,03 til 1 vægt-% 5'-guanylsyre, 5'-cytidylsyre, 5'-uridylsyre, og 5'-adenylsyre eller 5'-inosinsyre, der alle er hydrolysater af ribonucleinsyre, eller gærekstrakt indeholdende store mængder af ovennævnte 5'-nucleotider og oligopeptid.

DK 172139 B1

Den foreliggende opfindelse angår et blandet foder til opdræt af fisk for at forbedre fisk's fødeoptagelse, idet foderet er ejendommelig ved det i kravets kendetegnende del angivne.

Igennem de senere år har mængden af opdrættet fisk udgjort en større del af fangsten, og betydningen af fiskeopdræt har en tendens til at øges i fremtiden.

Når det drejer sig om ferskvandsfisk anvendes for øjeblikket især blandet foder. Når det imidlertid drejer sig om saltvandsfisk, anvendes især levende agn, og saltvandsfisk opdrættes med fugtige pellets, der består af en blanding af et blandet foder og levende agn. Når det imidlertid drejer sig om saltvandsfisk og der anvendes levende agn har der vist sig problemer med hensyn til forurening af havvandet, stabilitet af kvaliteten og oparbejdning af agnfoderet. Man er derfor begyndt at anvende fuldstændigt blandet foder, der er uden disse problemer.

Imidlertid er problemet med blandet foder at det er kostbart og smagen ikke er tilfredsstillende i forhold til levende agn, faktum er, at de er lidet udbredte undtagen til fiskeyngel. For at forbedre fisk's fødeoptagelse anvendes ekstrakter af fiskeindvolde, kril og lignende, men der er problemer med hensyn til foderets kvalitet og stabilitet, og man har endnu ikke opnået tilfredsstillende foderblandinger.

Man har nu efter grundige undersøgelser fundet, at medens en enkelt anvendelse af et 5'-nucleotid er utilstrækkeligt til at forbedre fødeoptagelsen, forbedres fødeoptagelsen i udstrakt grad på grund af en synergistisk virkning, dersom en blanding af fire slags nucleotider omfattende en kombination af AMP, GMP, UMP og CMP eller af IMP, GMP, UMP og CMP, eller fra 0,1 til 20 vægt-% af

en gærekstrakt indeholdende fra 0,1 til 10 vægt-% GMP, UMP, CMP og AMP eller IMP, eller fra 0,1 til 20 vægt-% af en gærekstrakt indeholdende fra 10 til 45 vægt-% af et oligopeptid udover ovennævnte nucleotider indarbejdes i et blandet foder. Yderligere har man fundet den særlige virkning, der opnås, dersom fire slags nucleotider af AMP, GMP, UMP og CMP eller af IMP, GMP, UMP og CMP, der alle er hydrolysater af ribonucleinsyre, tilsættes i en mængde på fra 0,03 til 1 vægt-% til et almindeligt blandet foderpræparat.

Da nucleotidkomponenterne let kan fås ved hydrolyse af ribonucleinsyre, der for øjeblikket fremstilles industrielt ud fra gær, og ved yderligere deaminering af hydrolysatet, er det muligt praktisk at anvende den foreliggende opfindelse.

For at opnå en blanding af AMP, GMP, UMP og CMP er en metode til hydrolyse af ribonucleinsyre, der er opnået ud fra en gærart med 5'-phosphodiesterase til opnåelse af 5'-nucleotider, fordelagtig. For at få en blanding af IMP, GMP, UMP og CMP kan ovenfor beskrevne blanding behandles med deaminaser.

Dersom man ønsker at anvende gærekstrakt indeholdende store mængder 5'-nucleotider og oligopeptid, kan denne opnås ved metoden omhandlet i offentliggjort japansk patentskrift nr. 201595/1987. Dvs. en metode ved hvilken en gærcellesuspension opvarmes til 80-100 °C for at deaktivere tilstedeværende proteaser og ribonucleaser i cellen og herefter med fordel behandle med cellemembranlysiner, 5'-phosphodiesteraser, 5'-adenylsyredeaminaser og proteaser. Yderligere er den gær, der anvendes som råstof for gærekstrakten ifølge opfindelsen, ikke begrænset til gær hørende til Saccharomyces som f.eks. ølgær eller bageri-

gær, men omfatter også sådanne gærarter, der hører til Candida eller Pichia eller lignende.

Hidtil har man frembragt gærekstrakter ved autolysemetoden, men ved denne metode ses knapt nok dannelse af 5'-nucleotider og oligopeptid. På grund heraf har man med almindelige gærekstrakter set en mindre udtalt forbedring af fødeoptagelsen.

Med hensyn til den type fisk, der kan optage foderet ifølge opfindelsen, kan man med held anvende ferskvandsfisk som ål og saltvandsfisk som "yellowtail", der alle opdrættes kunstigt. Specielt til småfisk er disse præparater effektive, fordi foderoptagelsen forbedres, mængden af indtaget agn forøges, dødsfald på grund af sygdom reduceres, og væksten fremmes.

Hvad angår råmaterialet til det blandede foder, der skal anvendes i forbindelse med den foreliggende opfindelse, kan anvendes almindelige råmaterialer til blandet foder som f.eks. fiskemel, hvede, hvedegluten, sojabønnekager og lignende. Dersom mængden af fiskemel nedsættes, falder fødeoptagelsen, og mængden af optaget agn reduceres. Imidlertid kan nucleotiderne og gærekstrakten ifølge opfindelsen løse problemer i forbindelse hermed.

Indholdet af hvert af 5'-nucleotiderne i foderet ifølge opfindelsen er i en mængde på 0,03% eller mere, men dersom mængden overskrider 2% opnås ikke yderligere virkning. Yderligere er indholdet af gærekstrakt effektivt i en mængde på 0,1% eller mere, men dersom mængden overskrider 20%, opnås ikke yderligere virkning.

Tilsætningen af 5'-nucleotiderne eller gærekstrakten kan foretages på et hvilket som helst vilkårligt trin, indtil der opnås et slutprodukt. Når det f.eks. drejer sig om pulveriseret blandet foder, kan den nødvendige mængde

heraf tilsættes under blandingen af pulverne. Når det drejer som om tørre pellets, kan de nødvendige mængder heraf tilsættes under blandingen af pulverne, og en passende mængde vand tilsættes, hvorefter der blandes i en ælteanordning eller lignende, idet blandingen formes ved hjælp af en ekstruder under opvarmning og tryk, efterfulgt af tørring. Yderligere kan man også anvende en metode til at overtrække eller sprede de nødvendige mængder af materialet på overfladen. På denne måde fås foder til fiskeopdræt med forbedret fødeoptagelse af fisken.

EKSEMPEL 1

Til et basisfoder vist i tabel 1 blev tilsat et eller flere 5'-nucleotider i en mængde angivet i tabel 2. Blandingen blev ältet med vand i et forhold vand til foder på 1,2/1 til fremstilling af et forsøgsfoder.

TABEL 1

Fiskemel	75
α-stivelse	18
Hvedegluten	2
Salt	1
Calciumphosphat	1
Galdepulver	1
Ølgær	2

TABEL 2

Indhold af nucleotid og fodernavn

Nucleotid	a	b	c	d	e	f	g	h
IMP	0	0,1	0	0	0	0	0,025	0
AMP	0	0	0,1	0	0	0	0	0,025
GMP	0	0	0	0,1	0	0	0,025	0,025
CMP	0	0	0	0	0,1	0	0,025	0,025
UMP	0	0	0	0	0	0,1	0,025	0,025
Total	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

500 g småfisk af europæisk åleart blev udsat og opdrættet til forsøgsformål i en vandbeholder med en størrelse 2 x 1 x 0,8 mm (vanddybde 0,6 m), medens man tilførte postevand ved 24,8 °C.

I forsøget blev en gennemskinnelig hul plastcylinder anbragt i et plast-trådnet-bur, forsøgsfoderet blev anbragt deri, og antallet af ål, der samledes om foderet blev registreret for derved at bestemme en forbedret virkning på foderoptagelsen, foretage vurdering og herefter foretage en bedømmelse baseret på en gennemsnitsvurdering. Hvert af forsøgene blev udført 10 gange om dagen ved at kombinere fire slags foder dvs. foder a som en kontrol, foder g, foder h og en af foderarterne b til f.

TABEL 3

Forsøgsresultater med hensyn til forbedret fødeoptagelse hos ål (synergistisk virkning)

Forsøgs-	Fodernavn							
nummer	a	b	c	d	e	f	g	h
1	3,6	3,4					1,6	1,4
2	3,6		3,4				1,4	1,6
3	3,6			3,4			1,6	1,4
4	3,6				3,4		1,4	1,6
5						3,4	1,4	1,6

Som det fremgår af ovenstående resultater, forbedrer blandingerne af fire slags nucleotider kraftigt fødeoptagelsen ved den synergistiske virkning i forhold til det tilfælde, hvor der blev anvendt et nucleotid alene.

EKSEMPEL 2

Indvirkning af indholdet af nucleotider på åls foderoptagelse blev undersøgt på samme måde som i eksempel 1 i forhold til nucleotidsammensætningen angivet i tabel 4.

TABEL 4

Indhold af nucleotid og fodernavn

Nucleotid	Fodernavn						
	a	g	h	i	j	k	l
IMP	0	0,025	0	0,1	0	1	0
AMP	0	0	0,025	0	0,1	0	1
GMP	0	0,025	0,025	0,1	0,1	1	1
CMP	0	0,025	0,025	0,1	0,1	1	1
UMP	0	0,025	0,025	0,1	0,1	1	1
Total	0	0,1	0,1	0,4	0,4	4	4

TABEL 5

Indhold af nucleotid og fodernavn

Forsøgs-nummer	Fodernavn						
	a	g	h	i	j	k	l
6	4	3		1,6		1,4	
7	4		3		1,6		1,4

Som det fremgår af ovenstående resultater, er den forbedrede virkning på foderoptagelsen opbrugt ved et indhold på 1%.

EKSEMPEL 3

Den forbedrede virkning på fødeoptagelsen for "yellowtails" blev undersøgt ved at anvende de samme foderpræparater som i eksempel 1.

Forsøget blev udført ved at anvende 4-8 "yellowtails"-fiskeyngel i en 100 liters vandtank og fodre småfisken med agn, indtil mætning dvs. indtil de nægtede at dele agn. Agn-fodringen blev udført hurtigt én gang om dagen i ca. 15 minutter. Man anvendte fem forskellige vandtanke, og forsøget blev udført flere gange således som angivet nedenfor. Mængden af optaget agn blev målt, og bedømmelsen blev foretaget udtrykt som et forhold med hensyn til indtagelse af agn (forsøgshold/kontrolhold a).

Agnfodringsmønster

Første hold a (kontrol) → g → b → h
Andet hold a (kontrol) → g → c → h
Tredie hold a (kontrol) → g → d → h
Fjerde hold a (kontrol) → g → e → h
Femte hold a (kontrol) → g → f → h

i hvert af holdene blev agnfodring udført kontinuert i 12 dage.

TABEL 6

Forsøgsresultater m.h.t. forbedret fødeoptagelse af "yellowtail"

Forsøgs-nummer	Fodernavn							
	a	b	c	d	e	f	g	h
8 1.hold	1,00	1,01					1,11	1,10
9 2.hold	1,00		0,98				1,11	1,11
10 3.hold	1,00			0,97			1,10	1,13
11 4.hold	1,00				1,00		1,12	1,11
12 5.hold	1,00					1,01	1,11	1,13

Som det fremgår af ovenstående resultater, forbedrer blandingen af fire slags nucleotider kraftigt virkningen på "yellowtails" i forhold til det tilfælde, hvor der kun anvendes et nucleotid alene.

EKSEMPEL 4

Virkningen af nucleotidindholdet på "yellowtails" foderoptagelse blev undersøgt som beskrevet i eksempel 3 ved at anvende de samme foderpræparater som i eksempel 2. Agnfodringen blev udført tre gange efter følgende mønster.

(1) a → g → a → i → a → k
(2) a → h → a → j → a → l

TABEL 7

Forsøgsresultater m.h.t. forbedret foderoptagelse af "yellowtail"

Forsøgs-nummer	Fodernavn						
	a	g	h	i	j	k	l
12	1,00	1,11		1,18		1,20	
13	1,00		1,12		1,19		1,20

Som det fremgår af ovenstående resultater, er den forbedrede virkning med hensyn til foderoptagelse opbrugt ved et indhold på 1%.

EKSEMPEL 5

Til et basisfoder angivet i tabel 8 blev sat en gærekstrakt med sammensætningen angivet i tabel 9, således at indholdet heraf var 1%. Blandingen blev herefter ältet med vand i et forhold vand til foder på 1,2/1 til frem-

stilling af forsøgsfoderet. Fodernavnene er hvert angivet med et lille bogstav for den gærekstrakt, der skal tilsættes.

TABEL 8

Fiskemel	75
α-stivelse	18
Hvedegluten	1
Salt	1
Calciumphosphat	1
Galdepulver	1
Ølgær	2

TABEL 9

Sammensætning af gærekstrakt

	Gærekstrakt navn								
	m*	**n**	**o**	**p**	**q**	**r**	**s**	**t**	**u**
Oligopeptid	5	5	6	5	5	6	10	25	32
Fri aminosyre	32	32	32	32	32	32	28	8	8
5'-Nucleotid	0,1	0,5	4	10			0,1	0,1	9
5'-I	0,1	0,5	5	10			0,1	0,1	9
5'-A					0,5	5			
5'-G	0,2	0,6	3	9	0,6	4	0,2	0,2	9
5'-C	0,1	0,6	3	9	0,7	5	0,1	0,2	10
5'-U	0,2	0,6	3	10	0,7	5	0,2	0,1	11
Total	0,6	2,3	13	38	2,5	19	0,6	0,6	39

*m: almindelig gærekstrakt

På samme måde som beskrevet i eksempel 1 blev udsat 500 g fiskeyngel af europæisk ål og opdrættet til forsøgsformål i en vandbeholder med en størrelse på 2 x 1 x 0,8 m

(vanddybde: 0,6 m), medens man tilførte postevand ved 24,8 °C.

Ved forsøget blev en transparent hul plastcylinder anbragt i et plastnetbur, forsøgsfoderet blev anbragt heri, og antallet af ål, der samledes rundt om foderet blev registreret, for derved at bestemme den forbedrede virkning på foderoptagelse, vurdering og derefter bedømmelse baseret på den gennemsnitlige vurdering. Hvert af forsøgene blev udført ti gange om dagen ved at kombinere fire eller fem slags foder udvalgt fra foder m til u og foder a som kontrol.

Forsøgsresultaterne af den forbedrede virkning på foderoptagelsen hos ål er angivet i tabel 10.

TABEL 10

Sammensætning af gærekstrakt

Forsøg nr.	Gærekstrakt navn									
	a*	m	n	o	p	q	r	s	t	u
14	4,6	4,4	3,0	1,6	1,4					
15	3,6	3,4				1,6	1,4			
16	3,6	3,4						1,6	1,4	
17	4,6	4,4			2,2		2,0			1,8

*: Kun basisfoder

Som det fremgår af ovenstående resultater, opnås der ikke yderligere forbedrende virkning på fødeoptagelsen ved et indhold af hvert af 5'-nucleotiderne på ca. 10% i forsøg 14 og 15 og et indhold af oligopeptid på ca. 30% i henholdsvis eksempel 16 og 17.

Med hensyn til foderet n undersøgtes indflydelsen af tilsætningsmængden af gærekstrakt til basisfoderet (forsøg 18). De opnåede resultater er angivet i tabel 11.

TABEL 11

Indflydelse af tilsætningsmængde af gærekstrakt

Tilsætningsmængde (%)	0	0,1	1	5	20
Gennemsnitlig vurdering	5	4	2,4	1,8	1,8

EKSEMPEL 6

Den forbedrede virkning på fødeoptagelsen hos "yellowtails" blev undersøgt ved at anvende de samme foderpræparater som i eksempel 5.

Undersøgelsen blev udført under anvendelse af 4-8 "yellowtails" fiskeyngel i en 100 liter vandtank og fodring af småfisken med agn indtil mætning, dvs. indtil de ikke optog yderligere agn. Agnfodringen blev udført hurtigt én gang om dagen i ca. 15 minutter. Fire forskellige vandbeholdere blev brugt, og forsøget blev udført og gentaget i et mønster som angivet nedenfor. Mængden af optaget agn blev målt, og bedømmelsen blev foretaget som et forhold i indtagelse af agn (forsøgshold/kontrolhold a). Agnfodringen blev foretaget på samme tid i de fire forsøg.

Første forsøg a → m → n → o → p
Andet forsøg a → m → w → r
Tredie forsøg a → m → s → t
Fjerde forsøg a → m → p → r → u

Agnfodringen i hvert af forsøgene blev udført kontinuert i tre cycler.

Forsøgsresultaterne med "yellowtails" er angivet i tabel 12.

TABEL 12

Forsøgsresultater m.h.t. forbedring i fødeoptagelsen af "yellowtails" med forskellige gærekstrakter (totalværdier: forhold mellem virkning på agnoptagelse, forsøgshold/kontrolhold)

Forsøgs-nummer	Fodernavn								
	m	n	o	p	q	r	s	t	u
6 1.hold	1,01	1,07	1,15	1,14					
7 2.hold	1,02				1,08	1,14			
8 3.hold	0,98						1,05	1,09	
9 4.hold	0,99			1,13		1,12			1,14

Dernæst undersøgtes for foder n indflydelsen af tilsætningsmængde af gærekstrakt til basisfoderet (forsøg 23). De opnåede resultater er angivet i tabel 13.

Agnfodring blev udført tre gange efter samme mønster som angivet i eksempel 2 efter følgende mønster.

0% (kontrol) → 0,1% → 0% → 1% → 0% → 5% → 0% → 10%

TABEL 13

Indflydelse af tilsætningsmængde af gærekstrakt

Tilsætningsmængde (%)	0,1	0,1	1	5	20
Forhold på virkning på optagen agn	1,00	1,06	1,09	1,16	1,15

Det fremgår af ovenstående resultater, at virkningen er opbrugt ved en tilsætning på ca. 5%.

Af ovennævnte eksempel fremgår det, at fiskefoderoptagelse kan forbedres betydeligt, dersom et foder til fiskeopdræt er tilsat GMP, CMP, UMP og AMP eller IMP, eller en gærekstrakt indeholdende store mængder af nævnte nucleotider og oligopeptid.

PATENTKRAV:

Foderblanding til opdræt af fisk, k e n d e t e g n e t ved, at den indeholder a) 0,03 til 1 vægt-% af hver af nucleotiderne 5'-guanylsyre, 5'-cytidylsyre, 5'-uridylsyre og 5'-adenylsyre eller 5'-inosinsyre eller b) 0,1 til 20 vægt-% af en gærekstrakt indeholdende 0,5 til 10 vægt-% af hver af nucleotiderne 5'-guanylsyre, 5'-cytidylsyre, 5'-uridylsyre, og 5'-adenylsyre eller 5'-inosinsyre og fra 10 til 45 vægt-% oligopeptid.