

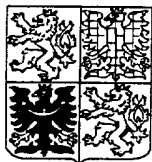
PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

285 840

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **3683-96**

(22) Přihlášeno: **18. 10. 95**

(30) Právo přednosti:
19. 10. 94 AT 94/357

(40) Zveřejněno: **11. 06. 97**
(Věstník č. 6/97)

(47) Uděleno: **14. 09. 99**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **17. 11. 99**
(Věstník č. 11/99)

(86) PCT číslo: **PCT/AT95/00204**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 96/12414**

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁶:
A 23 K 1/165

(73) Majitel patentu:

ERBER AKTIENGESELLSCHAFT,
Herzogenburg, AT;

(72) Původce vynálezu:

Erber Erich, St.Pölten, AT;

(74) Zástupce:

Guttmann Michal JUDr. Ing., Nad Štolou
12, Praha 7, 17000;

(54) Název vynálezu:

Krmná přísada pro inaktivaci mykotoxinů

(57) Anotace:

U krmné přísady pro inaktivaci mykotoxinů v krmivech nebo zaživacím traktu zvířat je v krmivu přítomen enzymový preparát, vyrobený z mikroorganismů produkujících enzym ze skupiny bakterií, kvasinek nebo protozoí, přičemž enzymy produkující mikroorganismy jsou zvoleny ze skupiny, která je schopna tvorby epoxidas a/nebo laktonas. Při použití se výhodně míchá přísada s krmivem a vodou o pH 1 až 4,5 při 15 °C až 40 °C 3 až 30 minut a směs se poté suší.

Krmná přísada pro inaktivaci mykotoxinů

Oblast techniky

5

Předložený vynález se týká krmné přísady pro inaktivaci mykotoxinů v krmivech popř. v zažívacím traktu zvířat, kdy v krmivu je obsažen enzymový preparát vyrobený z enzymů produkovaných organismy ze skupiny bakterií, kvasinek nebo protozoí, použití krmné přísady pro inaktivaci mykotoxinů v krmivech popř. v zažívacím traktu zvířat, jakož i způsobu výroby krmiv, obsahujících krmnou přísadu.

10

Dosavadní stav techniky

15

Z EP-A 0257996 je již znám krmný premix jakož i způsob jeho výroby, který vedle fyziologicky přijatelného nosiče, jako např. obilné mouky, obsahuje jeden nebo více enzymů. Také z EP-A 0286056 je známa krmná směs jakož i způsob zpracování surového krmného materiálu, který obsahuje jako přísadu enzymový přípravek. Obě známé krmné přísady obsahují jako přísadu v podstatě amylázy, protože tyto obilí rozkládající enzymy mladým zvířatům, zejména prasatům, chybí.

20

Dále je například z AT-PS 397756 známa krmná přísada, která pro absorpci toxinů obsahuje anorganické substance s velkým vnitřním povrchem, jako například silikáty nebo zeolity a organické heterocyklické polymery.

25

Mykotoxiny, které představují jedovaté produkty látkové výměny plísní, platí v průmyslu krmiv a chovu zvířat až do určitého stupně za nevyhnutelné a jsou známy až ve vysokém stupni jako příčiny ztráty produkce při chování a šlechtění užitkových zvířat. Proto jsou již delší dobu používány různé metody pro udržování přívodu mykotoxinů do těla zvířete v určité míře popř. pro inaktivaci do těla zvířete zavedených mykotoxinů, aby se zabránilo škodlivému působení mykotoxinů v těle zvířete. Toto zejména působí, protože mykotoxiny na základě v molekule přítomných funkčních skupin většinou vykazují vysokou chemickou reaktivitu. Tato vysoká chemická reaktivita hraje ústřední roli v poměrech toxicity takových substancí, protože tyto skupiny s biologicky důležitými molekulami, jako třeba nukleovými kyselinami, enzymy, ale také lipidy buněčné membrány uskutečňují látkovou výměnu.

30

35

Pro detoxifikaci mykotoxinů byly dosud popsány fyzikální metody, jako například extrakce, zahřívání, ozařování jakož i adsorpce mykotoxinů, jakož i jejich chemická inaktivace, například zpracováním s kyselinami, bázemi a různými oxidačními činidly. Z těchto různých známých způsobů se v praxi jako nejvhodnější jeví adsorpce. Tato adsorpce se přitom obvykle provádí přidávkou větších množství adsorpčních činidel, jako například hlinek, aktivního uhlí nebo polymerů. Ovšem tímto způsobem na základě účinného mechanismu adsorpce v žádném případě není možná plná inaktivace popř. fixace všech mykotoxinů na adsorpční činidla. V podstatě adsorpce přitom působí vytvořením takzvaného hydratačního obalu na adsorpčním činidle, na který se ukládají na základě van der Waalsových sil polární molekuly. Tímto způsobem bylo možno až dosud relativně uspokojivým způsobem inaktivovat polární mykotoxiny, jako například aflatoxiny. Mykotoxiny, které obsahují méně silné polární funkční skupiny, mohou tímto způsobem být však jen nedostatečně navázány na adsorpční materiál a dostačující inaktivace takových mykotoxinů není v adsorpčním způsobu podle stavu techniky v žádném případě možná.

40

45

50

V ISI Atlas of Science: Biochemistry, sv. 1, č. 4, 1988, Helmut Thomas et al.: „Functions of epoxide hydrolases“ se popisuje detoxifikace pomocí epoxidhydroláz zvířecího původu. Na str. 288 se uvádí, že „je známo, že aktivita epoxidhydrolázy je přítomná ve všech organismech... Může však být klasifikována jen ve vyšších formách života, u nichž se ukázalo, že obsahují...“.

Enzymy zvířecího původu však nelze, pokud jde o funkci, považovat za porovnatelné s enzymy mikrobiálního původu, protože neexistuje žádná souvislost mezi funkcí epoxidhydroláz zvířecího a mikrobiálního původu. Pro specifickou účinnost enzymů je nehledě na to rozhodující, že mohou přeměňovat jen substráty, vůči nimž mají specifickou afinitu.

V Biochemical and Biophysical Research Communications, sv. 110, č. 2, 1983, str. 668–674, John J. Ch'ih et al.: „Activation and desactivation of aflatoxin B1 isolated rat hepatocytes“ se popisuje výzkum enzymatické reaktivace epoxymykotoxinů za pomoci epoxidhydroláz. Použitá epoxidhydroláza je opět zvířecího původu a s uvedenými mykotoxiny nereaguje.

Také v Chemical and Pharmaceutical Bulletin, sv. 25, č. 12, 1977 Tokyo, str. 3410–3414, Yasuko Nakamura et al.: „Reactivity of 12,13-epoxytrichothecenes with epoxide hydroláze, glutathione-S-transferase and glutathione“ se aflatoxiny odbourávají za použití zvířecích epoxidhydroláz.

Není tedy popsáno ani není zřejmé použití hydroláz mikrobiálního původu k detoxifikaci mykotoxinů.

Podstata vynálezu

Vynález je proto zaměřen na získání krmné přísady, zejména enzymového preparátu z enzymů produkovaných mikroorganismy ze skupin bakterií, kvasinek nebo protozoí pro inaktivaci mykotoxinů v krmivech popř. zažívacím traktu, kterou by se v krmivech obvykle přítomné mykotoxiny jak adsorbovaly, tak také alespoň částečně odbourávaly a tak mohly být v širokém rozsahu odstraněny.

Vynález je dále zaměřen na použití krmných přísad, které by mohly inaktivovat v krmivech popř. zažívacím traktu zvířat přítomné mykotoxiny, aby se zabránilo produkčním ztrátám při chovu užitkových zvířat.

Vyřešení této úlohy spočívá u krmné přísady podle vynálezu v tom, že enzymy produkující mikroorganismy jsou zvoleny ze skupin, které jsou schopny tvorby epoxidáz a/nebo laktonáz. Tím, že enzymy produkující mikroorganismy jsou zvoleny ze skupin, které jsou schopny tvorby epoxidáz a/nebo laktonáz, se podařilo mykotoxiny obsažené v krmivu pro zvířata, které vykazují vysokou chemickou reaktivitu a proto jsou extrémně silně toxické, dalekosáhle enzymovým preparátem v krmivu popř. zažívacím traktu zvířat odbourávat a/nebo přeměnit chemicky na netoxické nebo méně toxické sloučeniny a tak silně snížit jejich toxicitu.

Zvláště se zde používá enzymový preparát, který byl získán výhodným způsobem výrobou čisté kultury popř. čistých kultur enzym produkujících organismů, které jsou schopny tvorby epoxidáz a/nebo laktonáz, v závislosti na jejich optimálních růstových podmínkách. Potom se buňky takto rozmnožovaných čistých kultur popřípadě známým způsobem inaktivují, aby se takto získaly enzymy, které se žádným způsobem nemění a tak zůstávají nepoškozeny. Jako enzymový preparát je následně možné buď přímo tyto inaktivované buňky, nebo surový nebo čistý extrakt z těchto buněk přimísit do krmiva. Zvláště výhodným způsobem je přitom použití epoxidázy a/nebo laktonázy. Enzymy popř. enzymové preparáty mají tu výhodu, že mohou odbourávat, popřípadě chemicky přeměňovat mykotoxiny, které obecně spadají do velmi rozdílných tříd chemických substancí. Toto je zejména proto, že mnoho mykotoxinů představuje cyklické uhlovodíkové sloučeniny s kyslíkem jako heteroatomem, přičemž vazba kyslíku v těchto cyklech je velmi často ve formě epoxidů nebo laktonů. Výhodně použité epoxidázy, které spadají do skupiny hydroláz, se štěpí přitom na epoxidovém kruhu mykotoxinu za tvorby dvou hydroxylových skupin, čímž se hydroxylové skupiny následně ve zvířecím těle mohou snadno

odbourávat. Rovněž výhodně používané laktonázy působí analogickým způsobem. Pro dosažení tohoto účinku může být již před krmením dosaženo částečné odbourání mykotoxinů tak, že se krmivo, krmná přísada podle vynálezu jakož i voda, která je upravena na mírně kyselou až neutrální hodnotu pH, předem smísí a přímo zkrmuje. Je třeba dbát na to, aby krmná kaše nebyla příliš silně okyselena, aby nežádoucím způsobem nebyl ovlivněn návyk zvířat ke krmení popř. nedošlo ke zdravotním potížím. Zvláště důležité je v této souvislosti, že mykotoxinové odbourávání s enzymovým preparátem působí bez přívodu přídavné energie a je možno jej dosáhnout pouze homogenním zamícháním enzymového preparátu do krmiva v prostředí zaživacího traktu zvířat nebo popřípadě již při smísení s vodou nastavenou na odpovídající hodnotu pH.

Zvláště výhodně podle předloženého vynálezu se jako enzymový preparát použije extrakt z kmenů *Saccharomyces*, zejména ze *Saccharomyces telluris*. Kmeny *Saccharomyces* jsou speciální druhy kvasinek, které jsou při získání enzymů nejdůležitějšími skupinami. Kvasinky mohou přitom tvořit nejrozličnější hydrolytické enzymy v extrémně vysokých množstvích a ukázalo se, že v krmivářském průmyslu pro zcela jiné účely používané druhy kmenů *Saccharomyces* mohou také být použity ke zvláště rychlému a plnému odbourání mykotoxinů, které mohou obsahovat jak epoxidovou, tak také laktonovou skupinu. Ve zvláště výhodném způsobu se používá *Saccharomyces telluris*, se kterým může být dosaženo odbourání trichothezenů, zejména T-2-toxinu, H-T-2-toxinu a deoxynivalenolu, za přirozených, v zaživacím traktu zvířat panujících podmínek. Přidavkem zejména *Saccharomyces telluris* by přitom mohl být štěpen epoxidový kruh výše uvedených mykotoxinů a vzniklá dihydroxysloučenina se bude následně v zaživacím traktu látkově přeměňovat, aniž by se prokázala toxická účinnost.

Pro dosažení co možná největší inaktivace mykotoxinů obsažených v krmivech, je krmná přísada podle vynálezu výhodně sestavena tak, že navíc obsahuje přirozený nebo syntetický, porézní minerál s větším, vnitřním povrchem v množství od 0,5 do 8 kg/1000 kg, zejména 0,7 až 4 kg/1000 kg krmiva. Krmnou přísadou ze směsi z enzymového preparátu a přírodního nebo syntetického porézního minerálu s velkým vnitřním povrchem se zajišťuje, že ve vodném médiu s hodnotou pH odpovídající zaživacímu traktu zvířat popř. v zaživacím traktu zvířat samotném se všechny na povrchu krmiva se nacházející, zejména polární mykotoxiny buď adsorbují na minerál, nebo se přímo enzymovým preparátem odbourají popř. se chemicky přemění. Uvedený přirozený nebo syntetický porézní minerál s velkým vnitřním povrchem má tu přednost, že adsorpcí na povrchu těchto minerálů se nacházející mykotoxiny jsou snadněji dostupné pro další rozklad enzymovým preparátem.

Jako přirozený nebo syntetický porézní materiál s velkým vnitřním povrchem jsou podle předloženého vynálezu výhodně používány křemelina, zeolity, 2- a 3-vrstvé hlínky nebo jejich směsi s kumulovaným objemem pórů od 0,05 do 4 cm³/g, zejména 0,5 až 2,5 cm³/g a pH-hodnotě povrchu od 4,5 do 7,5. Křemelina, zeolity a/nebo vrstvené hlínky nebo jejich směsi, které vykazují kumulovaný objem pórů 0,05 až 4 cm³/g, zejména 0,5 až 2,5 cm³/g, mohou zvláště účinně adsorbovat mykotoxiny a tím inaktivovat ve velkém rozsahu. Takové minerály výhodně vykazují průměr pórů od 10 nm až do 1 μm a vykazují pH povrchu od 4,5 do 7,5. Takové minerály se připravují obvykle takovým způsobem, kdy je zvláště výhodné minerály kalcinovat při asi 800 °C až 900 °C bez přídavku tavidla, čímž je možno dosáhnout rovnoměrného rozdělení povrchové struktury pórů. Mohou být například použity směsi minerálů z 80 % klinoptilolitu a 20 % muskovitu, 80 % chabasitu a 20 % muskovitu, 75 % klinoptilolitu a 25 % kaolinitu jakož i 80 % chabasitu a 15 % kaolinitu.

Konečná se krmná přísada podle vynálezu pro inaktivaci mykotoxinů v krmivech popř. v zaživacím traktu zvířat v podstatě vyznačuje tím, že je tvořena směsí z 1 až 65 % hmotn., zejména 5 až 50 % hmotn. enzymového preparátu a 99 až 35 % hmotn., zejména 95 až 500 % hmotn. přírodních nebo syntetických, porézních minerálů s velkým vnitřním povrchem. Použitím relativně velkých množství, a sice 1 až 65 % hmotn., zejména 5 až 50 % hmotn., enzymového preparátu

- se zajišťuje, že se odbourání přítomných mykotoxinů v krmivu dosáhne ve velkém rozsahu. Dále zajišťuje množství přítomných přirozených nebo syntetických, porézních minerálů s velkým vnitřním povrchem, že ty mykotoxiny, které nejsou dostupné pro chemické odbourání enzymy, se v podstatě naváží na povrch těchto minerálů a tak rovněž nejsou již dostupné pro látkovou výměnu a nemohou již tak nežádoucím způsobem působit na zvířata. Přitom se jako výhodné ukázalo nastavení aktivity enzymového preparátu přimísením přirozených nebo syntetických porézních materiálů pro epoxidázu na 470 až 600 jednotek/g a pro laktonázu na 280 až 400 jednotek/g.
- 10 Krmné přísady podle předloženého vynálezu s přísadou přírodních nebo syntetických porézních minerálů s velkým vnitřním povrchem nebo bez ní mohou být zvláště výhodným způsobem použity k inaktivaci popř. odbourání aflatoxinů, T-2 toxinu, deoxynivalenolu, nivalenolu, zearalenonu, monoacetoxyscirpenolu, H-T-2 toxinu, verrucarinu, roridinu, satratoxinu, baccharinolu, trichodermolu, diacetoxyscirpenolu, fumonisinu, ochratoxinu, moniliforminu, fusarenonu
- 15 X a crotocinu v krmivu popř. v zažívacím traktu zvířat.

- Vzhledem k velkému rozsahu mykotoxinů, které mohou být inaktivovány popř. odbourány enzymovými preparáty podle předloženého vynálezu, představuje použití krmné přísady podle předloženého vynálezu mimořádně výhodnou a účinnou metodu pro odstranění jedovatých látek z krmiv. Použitím krmné přísady se zajišťuje, že také silně mykotoxiny kontaminovaná krmiva již nemohou škodlivě působit na hospodářská zvířata a že tímto způsobem zvláště plodiny, které byly podrobeny rozmělnovacímu, sušicímu zpracování nebo zejména zpracování pro umožnění skladování, nebo směsi krmiv, po smísení s krmnou přísadou podle předloženého vynálezu bez rozmyšlení a bez dalšího přezkoušení vědeckými ústavy mohou být zkrmovány buď přímo, nebo
- 20 po kondicionování s vodou nastavenou na mírně kyselé pH užitkovým zvířatům.

- Předložený vynález se dále týká způsobu výroby krmiva, který se v podstatě vyznačuje tím, že se mísí popřípadě rozmělněné a/nebo sušené plodiny s krmnou přísadou podle vynálezu jakož i s vodou, která je upravena na hodnotu pH vhodnou pro reakci, 3 až 30 min při 15 °C až 40 °C a po nastavení na hodnotu pH vhodnou pro krmivo a odstranění kapalných složek se suší pod zavedením proudu teplého vzduchu. Nastavení hodnoty pH popř. okyselení může být provedeno přitom farmaceuticky přijatelnými kyselinami jako je zejména kyselina chlorovodíková, kyselina octová nebo podobně, přičemž se hodnota pH nastaví výhodně na hodnotu mezi 1 a 4,5, pro dosažení odpovídající rychlé inaktivace v krmivu obsažených mykotoxinů. Podle vynálezu se
- 30 přitom rozsah teploty nastaví mezi 15 °C a 40 °C, tj. v podstatě na teplotu místnosti až tělesnou teplotu, na dobu od 3 do 30 minut, pro dosažení další inaktivace mykotoxinů. Protože krmivo s hodnotou pH ve výše uvedeném silně kyselém rozsahu nemůže být bezprostředně zkrmováno zvířatům, může být provedena po inaktivaci neutralizace, například přidávkou hydroxidu sodného, hydrogenuhličitanu sodného nebo podobně, na mírně kyselou až neutrální hodnotu pH.
- 40 Dále se provede po odtahování kapalných složek sušení krmiva přívodem proudu teplého vzduchu pro získání mykotoxinů prostého, po dlouhou dobu skladovatelného krmiva. Zvláště výhodně se přitom postupuje tak, že kaše krmiva před sušením se o sobě známým způsobem slisuje na pelety. Takové pelety umožňují vzhledem ke sníženému povrchu sníženou oxidaci živin krmiva při vyhovující skladovatelnosti a transportovatelnosti.

45

Příklady provedení vynálezu

Vynález bude blíže vysvětlen pomocí následujících příkladů.

Příklad 1

Studie, týkající se klinického vlivu krmné přísady podle vynálezu na mykotoxiny

5 Krmná přísada:

60 % hmotn. extraktu z kmene *Saccharomyces telluris*, obsahujícího epoxidázy a laktonázy

10 % hmotn. % kaolinitu

30 % hmotn. % klinoptilolitu

10

Pro pokus bylo použito 48 hybridních selat obojího pohlaví s průměrnou počáteční hmotností 8,16 kg, koeficienty proměnnosti 20,83 %, s průměrným stářím 28,6 dnů. Pro každý stupeň pokusu byla zvolena srovnatelná selata. Během celého pokusu byla teplota a vlhkost v ustájení selat kontrolována.

15

Pokusné skupiny byly krmeny dietou, která obsahuje tři různé obsahy mykotoxinu a dva různé typy mykotoxinů. 4 pokusné skupiny dostávaly navíc krmnou přísadu podle vynálezu. Jedna pokusná skupina nedostávala ani mykotoxiny ani krmnou přísadu podle vynálezu.

20

Krmivo obsahuje hlavně soju, proso a mléčný prášek a bylo podáváno 4 až 5 krát denně, voda byla dostupná ad libitum. Mykotoxiny byly rozpuštěny v ethanolu, potom smíchány s malým množstvím diety pro následné vmíchání do krmiva. Vytvořené skupiny jsou uvedeny v tabulce 1, přičemž selata obou skupin se shodnými mykotoxiny vykazují stejné stáří a stejný původ.

25

Tabulka 1

Pokusné skupiny s různým obsahem mykotoxinů s doplněním a bez doplnění krmnou přísadou

	T2-toxin + aflatoxin B ₁	krmná přísada
1	0,3 ppm + 0,1 ppm	0 kg/t
2	0,5 ppm + 0,1 ppm	0 kg/t
3	1,0 ppm + 0,1 ppm	0 kg/t
4	0,3 ppm + 0,1 ppm	2 kg/t
5	0,5 ppm + 0,1 ppm	2 kg/t
6	1,0 ppm + 0,1 ppm	2 kg/t
7	0,0 ppm + 0,0 ppm	2 kg/t
8	0,0 ppm + 0,0 ppm	0 kg/t

30

Zjišťovanými parametry byly tělesná hmotnost, příjem potravy, průměrný denní hmotnostní přírůstek a rychlost přeměny potravy.

Výsledky produkčních parametrů jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2

Průměrný příjem potravy, denní průměrný hmotnostní přírůstek, rychlost přeměny potravy 8 pokusných skupin

5

Skupina	Průměrný příjem potravy	denní průměrný přírůstek hmotnosti	přeměna potravy
1	904	453	1,99
2	909	455	1,99
3	796	471	1,69
4	916	530	1,73
5	910	487	1,86
6	818	492	1,66
7	922	520*	1,77
8	899	509	1,77

*) Korigováno eliminací jednoho úhynu

Klinické hodnocení:

10

– Skupina 1 (0,3 ppm T–2 toxin + 0,1 ppm aflatoxin B₁ a 0,0 kg krmná přísada):

Lehká konjunktivita, tělesný stav a kůže byly normální, byl zjištěn mírně redukováný příjem potravy.

15

– Skupina 2 (0,5 ppm T–2 toxin + 0,1 ppm aflatoxin B₁ a 0,0 kg krmná přísada):

Bylo pozorováno čisté a vážné podráždění očí, rypáku a nosu byly patrné, tělesný stav byl normální, byl zjištěn snížený apetit.

20

– Skupina 3 (1,0 ppm T–2 toxin + 0,1 ppm aflatoxin B₁ a 0,0 kg krmná přísada):

Všechna selata vykazují podráždění očí, nosu a rypáku a bočních stran krku a thoraxu. Všechna selata vykazují nadmutí břicha a první zaznamenání snížení příjmu potravy započalo 2. týden. Jedno sele uhynulo 12. den.

25

– Skupiny 4 a 5 (0,3 ppm popř. 0,5 ppm T–2 toxin + 0,1 ppm aflatoxin B₁ a 2 kg krmná přísada):

Byly pozorovány lehké znaky konjunktivity a podráždění kůže, příjem potravy a tělesný stav byly hodnoceny jako normální.

30

– Skupina 6 (1,0 ppm T–2 toxin + 0,1 ppm aflatoxin B₁ a 2 kg krmná přísada):

2 selata (ze 6) vykazují jen lehkou konjunktivitis, všechny ostatní nálezy byly v oblasti normálu.

– Skupina 7 (0,0 ppm T–2 toxin + 0,0 ppm aflatoxin B₁ a 2 kg krmná přísada): a

35

– Skupina 8 (0,0 ppm T–2 toxin + 0,0 ppm aflatoxin B₁ a 0,0 kg krmná přísada) (porovnání):

Selata byla zdravá.

Analogických výsledků bylo dosaženo s použitím enzymového preparátu získaného z eubakterií.

40

Z výše uvedených hodnocení je jasný pozitivní vliv krmné přísady podle vynálezu na příjem potravy, hmotnostní přírůstek a přeměna potravy jsou v každém ze tří dávkových stupňů zřejmé. Neošetřené skupiny vykazují mnohem silnější klinické mykotoxikotické symptomy než skupiny, které byly ošetřeny krmnou přísadou. Rovněž jak z produkčních parametrů, tak také z klinického

hlediska zde je zřejmý příznivý vliv – zejména účinnější ochrana proti T-2 toxinové a aflatoxinové kontaminaci – krmné přísady podle vynálezu.

5

PATENTOVÉ NÁROKY

- 10 1. Krmná přísada pro inaktivaci mykotoxinů v krmivech nebo zažívacím traktu zvířat na bázi enzymového preparátu vyrobeného z mikroorganismů, produkujících enzymy, ze skupiny bakterií, kvasinek nebo protozoí, **vyznačující se tím**, že enzymy produkující mikroorganismy jsou zvoleny ze skupin, které jsou schopny tvorby epoxidáz a/nebo laktonáz.
- 15 2. Krmná přísada podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že enzymový preparát je vytvořen ze surového extraktu z inaktivované čisté kultury enzym produkujících organismů.
3. Krmná přísada podle nároků 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že se jako enzymový preparát použije extrakt z kmenů *Saccharomyces*, zejména ze *Saccharomyces telluris*.
- 20 4. Krmná přísada podle nároků 1 nebo 2 nebo 3, **vyznačující se tím**, že navíc obsahuje přírodní nebo syntetický porézní minerál s velkým vnitřním povrchem.
5. Krmná přísada podle nároku 4, **vyznačující se tím**, že se jako přírodní nebo
25 syntetický porézní minerál s velkým vnitřním povrchem použijí křemeliny, zeolity, 2- a 3-vrstvé hlínky nebo jejich směsi s kumulovaným objemem pórů od 0,05 do 4 cm³/g, zejména 0,5 až 2,5 cm³/g a vykazující hodnotu pH povrchu 4,5 až 7,5.
6. Krmná přísada podle nároků 1 až 5, **vyznačující se tím**, že se skládá ze směsi
30 z 1 až 65 % hmotn., zejména 5 až 50 % hmotn. enzymového preparátu a 99 až 35 % hmotn., zejména 95 až 50 % hmotn., přírodních nebo syntetických porézních minerálů s velkým vnitřním povrchem.
7. Použití krmné přísady podle některého z nároků 1 až 6 k inaktivaci aflatoxinů, T-2 toxinu,
35 deoxynivalenolu, nivalenolu, zearalenonu, monoacetoxyscirpenolu, H-T-2 toxinu, verrucarinu, roridinu, satrotoxinu, baccharinolu, trichodermolu, diacetoxyscirpenolu, fumonisinu, ochratoxinu, moniliforminu, fusarenonu X a crotocinu v krmivu nebo v zažívacím traktu zvířat.
8. Způsob výroby krmiva, **vyznačující se tím**, že se smísí popřípadě rozmělněné
40 a/nebo sušené plodiny s krmnou přísadou podle některého z nároků 1 až 6 jakož i s vodou, která je nastavena přídatkem kyseliny na hodnotu pH 1 až 4,5, vhodnou pro reakci, míchá se 3 až 30 min při 15 °C až 40 °C a po nastavení krmiva na vhodnou hodnotu pH a odtažení kapalných složek se suší při zavádění proudu teplého vzduchu.
9. Způsob podle nároku 8, **vyznačující se tím**, že se krmivová kaše před sušením
45 o sobě známým způsobem lisuje do pelet.

50

Konec dokumentu
