



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201325464 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：101112081

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 05 日

(51)Int. Cl. : *A23K1/14 (2006.01)* *A23K1/16 (2006.01)*

(30)優先權：2011/12/20 匈牙利 P1100697

(71)申請人：匈牙利巴塔博士有限公司 (匈牙利) DR. BATA LTD. (HU)
匈牙利

(72)發明人：阿帕德 巴塔 (HU)；約瑟夫 庫陶希 (HU)

(74)代理人：許世正

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：14 項 圖式數：0 共 29 頁

(54)名稱

植物源動物飼料添加劑

ANIMAL FEED ADDITIVE OF PLANT ORIGIN

(57)摘要

本發明關於一種飼料添加劑，包含對於消化道的小腸有效的洋槐種子與百里香提取物以及微量元素甘氨酸螯合穩定劑。本發明更關於一種包含此種飼料添加劑的飼料，及其製備方法，此外關於此種飼料添加劑或此種飼料在畜牧業中用以增加獲得之體重或蛋的產量，或者用以減少豬群體的死亡率之用途。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201325464 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：101112081

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 05 日

(51)Int. Cl. : *A23K1/14 (2006.01)* *A23K1/16 (2006.01)*

(30)優先權：2011/12/20 匈牙利 P1100697

(71)申請人：匈牙利巴塔博士有限公司 (匈牙利) DR. BATA LTD. (HU)
匈牙利

(72)發明人：阿帕德 巴塔 (HU)；約瑟夫 庫陶希 (HU)

(74)代理人：許世正

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：14 項 圖式數：0 共 29 頁

(54)名稱

植物源動物飼料添加劑

ANIMAL FEED ADDITIVE OF PLANT ORIGIN

(57)摘要

本發明關於一種飼料添加劑，包含對於消化道的小腸有效的洋槐種子與百里香提取物以及微量元素甘氨酸螯合穩定劑。本發明更關於一種包含此種飼料添加劑的飼料，及其製備方法，此外關於此種飼料添加劑或此種飼料在畜牧業中用以增加獲得之體重或蛋的產量，或者用以減少豬群體的死亡率之用途。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101112081

※申請日：101.4.5

※IPC 分類：A23K1/14 (2006.01)
A23K1/16 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

植物源動物飼料添加劑/ANIMAL FEED ADDITIVE OF
PLANT ORIGIN

二、中文發明摘要：

本發明關於一種飼料添加劑，包含對於消化道的小腸有效的洋槐種子與百里香提取物以及微量元素甘氨酸螯合穩定劑。本發明更關於一種包含此種飼料添加劑的飼料，及其製備方法，此外關於此種飼料添加劑或此種飼料在畜牧業中用以增加獲得之體重或蛋的產量，或者用以減少豬群體的死亡率之用途。

三、英文發明摘要：

The invention relates to a feed additive, comprising locust-tree seed and thyme extract and microelement glycinate and microelement glycinate chelate stabilizing agents effective in the small intestine of the digestive tract. The invention further relates to a feed comprising said feed additive, and methods for preparing thereof, as well as the use of the feed additive or the feed in stock farming for increasing body weight gain or egg production, or decreasing mortality in pig stocks.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種飼料添加劑。

【先前技術】

豬痢疾為一種在全球範圍內，以及在匈牙利廣泛分佈的疾病。除了無特定病原（Specific Pathogen Free, SPF）豬以外，此種疾病目前臨床上三分之一的家畜中存在，並且家畜中一更顯著的份額中為沒有症狀的感染。由於直接損失以及治療的高費用，此種疾病為在匈牙利以及其他主要養豬國家中經濟上最重要的問題之一。同時，在最近的幾十年內，對於醫藥、食品、保存以及化妝品行業中的天然、主要為植物源的物質之使用具有世界範圍的興趣。

此種疾病首先透過美國的威廷（Whiting）、道爾（Doyle）以及斯潘（Spray）描述（1921 年）。在匈牙利，此種疾病的病理透過霍業里（Hegyeli）及希爾特（Hirt）（1942 年），以及曼尼哥（Manninger）及考森特（Csontos）描述（1943），將其命名為傳染性的豬胃以及腸炎。雖然始終強調此疾病的傳染性，但是其病理上假定為幾種不同的微生物（病毒、弧形桿菌（弧菌）大腸菌、螺旋體、滴蟲等）。儘管此種疾病具有高的經濟影響力，但本病的病因僅在 70 年代初期才澄清。病原體由英國的泰勒（Taylor）及亞歷山大（Alexander）（1971 年），以及美國的哈里斯（Harris）等（1972 年）首先培養，並且闡明產生本疾病的病因作用。

在最近的幾十年內，對於醫藥、食品、保存以及化妝品行業

中的使用天然、主要為植物源的物質的使用具有世界範圍的興趣。具有五百多種出版物討論這些物質的組成以及效能。

此病原體係為豬痢疾短螺旋體（初期的小蛇菌，以前的密螺旋體），一種具有長、寬、不均勻螺旋的螺旋體。它能夠透過苯酚-品紅與吉姆薩（Giemsa）兩者染色，能夠在厭氧條件下在血液瓊脂上培養。包含介質的大觀霉素可用於其選擇性的培養。在有毒菌株之下以及圍繞有毒菌株，發生強烈的 β -溶血。溶血素為一種具有細胞毒素特性的低分子量肽。基於自細胞壁中提取的脂多糖抗原，豬痢疾短螺旋體株可透過瓊脂凝膠沉澱（Agar Gel Precipitation, AGP）分析劃分為9個血清組。然而，在相同的血清組的菌株之間根據抗原結構具有進一步細微的差別。

短螺旋體的抵抗力為低，它們在超過60°C且使用消毒劑時在幾分鐘內死亡，並且當乾燥時，在幾天內死亡，但在黏液，帶血的糞便中，它們在夏季存活至少一個星期，以及在冬天存活至長達兩個月。類似地，病原體在弱鹼性的糞料中可能存活幾個月。

此病原體可移植於於豬農場生活的小鼠、大鼠以及狗的腸中。它能夠由大鼠排泄幾天、由狗排泄幾周、由小鼠排泄幾個月。

病原體在此種疾病的病因學中的作用透過此疾病在無特定病原體與普通的豬中均由人工成功地產生的事實所證明。為了理解發病機制與成功的保護，應強調無菌仔豬僅當短螺旋體引入至具有腸道內正常存在厭氧細菌的豬體內時成功地感染。這一點透過短螺旋體與正常的厭氧細菌，例如主要為類桿菌屬，以及後桿菌門之間的協同效應解釋。根據此假定，這些微生物提供短螺旋體

傳播的適合的微環境及基質。因此，除了在透過豬痢疾感染的豬腸物體中存在大量的短螺旋體之外，它不為偶然的，正常腸菌群的平衡之失調也是值得注意的。

在急性豬痢疾中，腸球菌與桿狀菌的數量在腸菌群中顯著減少，並且同時，類桿菌屬的細菌，後桿菌門，大腸桿菌以及某些大腸菌群的數量增加。在慢性情況中，梭狀芽胞桿菌的增加明顯。伴隨及剩餘菌群對主菌群之比例的增加導致生態平衡停止，以及代替地形成一有害性狀態。有害性菌群表示對宿主生物的負擔增加。在這種狀態下，飼料利用性劣化，產量下降，並且在更嚴重的情況下，動物可死亡。

需要開發適合於取代抗生素且有效競爭性的基於草藥的製品。

不同的藥用及醚性植物，以及由其製成的提取物自古代開始在本土文化中廣泛應用，其抗菌效果也長時間為人所知。

在草藥提取物的情況下，它往往可以證明具有一些殺菌抑菌效果，以及「改善腸道菌群」，益生的效果。其中一個最普遍的這種化合物為，例如百里香油提取物，除了上面提到的積極效果，百里香油提取物還能夠根據初步實驗選擇性地抑制沙門氏菌。

產量增加的使用藥用植物的多數產品，包含植物本身，或者其一些提取物。問題在於藥用植物的藥物含量顯著變化的事實。這取決於產地、收穫時間，因此它們的使用從安全的觀點看為有問題的，但是至少它不能夠標準化。藥用植物源的藥物的進一步問題為食物中可能出現殘留藥物及風險。

麝香草（百里香）屬於唇形科家族，唇形目。它為一常年的半灌木，在五月與七月之間開花。它為地中海天生的，而不是匈牙利的地方性的，但是它可以培育。其有效成分主要為香精油，包含的香精油為大約 1-2.5%。香精油的主要成分為大約出現為 20-60%的麝香草酚，以及大約 25%的香芹酚。

除香精油之外，百里香還包含其他物質中的類胡蘿蔔素、多酚、黃酮類似物等。麝香草酚與香芹酚的抗病毒、抗菌以及抗真菌的活性已知相比較於苯酚高出一個數量級，同時類胡蘿蔔素、多酚以及黃酮類化合物具有自由基清除劑以及抗氧化劑能力。

根據一些研究，即使在存在血液時，百里香油完全抑制革蘭氏陽性微生物的繁殖。其對單胞菌株的繁殖的抑製效果較弱，並且對其他革蘭氏陰性微生物，以及某些真菌的抑制作用較強。百里香精油與其不同的提取物對抗菌及抗真菌的影響進行了長期的研究。這些研究到目前為止已經清楚地證明其對廣泛變化的致病性以及食物腐壞微生物的有效性（多爾曼（Dorman）與迪安（Deans），2000 年；帕斯誇（Pasqua）等人，2005 年；Arnal-Schnebelen 等人，2004 年；安哥里尼（Angelini）等人，2006 年）。

根據其中的一些研究，它對革蘭氏陽性菌的活動性相比較於對革蘭氏陰性菌更高（法拉格（Farag）等人，1989 年；史密斯帕爾默（Smith-Palmer）等人，1998 年；馬里諾（Marino）等人，1999 年；卡勒巴（Kalembe），1999 年），而其他的研究也發現抵抗革蘭陰性菌的效果（Penalver 等人，2005 年；Ashour 等人，2005 年；Oussalah 等人，2006 年）。其在離體條件下（對豬痢疾短螺旋體）

產生作用。然而，沒有對百里香的反短螺旋體活性的資料。因為如此，我們研究抵抗豬痢疾的病原體的百里香之水提取物。

在初步的實驗室研究中，驚訝地發現，在一些藥用植物的情況下，能夠看到幾個藥用植物的較佳提取物的協同效應。研究的組合物除了百里香提取物之外，還包含自洋槐（長角豆屬，長角果）的自然菌株的胚乳製備的粉狀物。此粉末物由高分子量的，由苷邊界連接的半乳糖與甘露糖單元組成的水膠體多醣，化學上描述為半乳甘露聚糖形成。此半乳甘露聚糖之含量係為至少 75 %。此種種子粉用於食品應用中，並且作為嬰兒配方的添加劑（E 410）。

百里香與洋槐種子的水提取物的組合物按照濃度依賴的方式，抑制豬痢疾短螺旋體，我們的瓊脂擴散試驗中稱為豬痢疾之病原體的活性。這表現出與其他具有不同微生物的結果很好的相關性（瑪格達（Magda）等人，2000 年；EL-Astal 等人，2004 年；EL-Astal 等人，2005 年；Czapska 等人，2006 年）。

自 1999 年以來，歐盟禁止維吉尼亞黴素（Virginiamycin）、泰黴素（Tylosin）、史黴素（Spiramycin）以及桿菌肽（Bacitracin）的預防與增加量的使用。這個規則在 2006 年 1 月 1 日收緊，並且歐盟成員國完全禁止抗生素用於疾病預防以及產量提高的使用。本發明的方法具有特別重要的意義，因為百里香中存在的活性成分影響抗藥性微生物（尼爾森（Nelson）等人，1997 年；赫希（Hersch）等人，2005 年；弗里德曼（Friedman）等人，2006 年；弗里德曼（Friedman）等人，2006 年），因此，這些抗生素能夠按照需要被

取代（Onibala 等人，2001 年；Urbanczyk 等人，2002 年），並且能夠認為作為一產量提高的替代（德米爾（Demir）等人，2005 年），並且使用它們，安全食品的生產條件具有環境意識的提高。

【發明內容】

本發明的產品根據以下的細節為新穎的，並且它們相比較於類似產品為具有創新的。

- 首先，根據我們所知，在國際市場上沒有類似於開發的產品，抵抗上述豬疾病的具體、基於草藥、高效以及無抗生素的保護方法。
- 該項目涉及產品中有效成分的發展，而非植物本身。
- 該產品不包含一單一的藥用植物，而是包含適合於獲得目標的活性成分的適當的結合。
- 尋求與使用的活性成分之間的協同作用。
- 自草藥提取物中清除殘餘物質成分，因此開發的產品從食品安全的立場看無風險。
- 草藥提取物的效率透過化學過程提高。微量元素甘氨酸螯合化合物的穩定作用增強草藥的活性成分。
- 微量元素甘氨酸螯合物在人類藥用產品中發現，但這些廠家不是競爭對手，因為它們不是獸醫市場的生產者。
- （藥用）植物產品主要用於動物飼料中的香味增強。

Ayurved 公司為印度最大的飼料添加劑產品的生產商

之一。它具有幾種藥用植物產品，但這些並非用於這裡所述的豬疾病的預防，因此不是這個項目的產品的競爭對手。Ruchamax 與 Yakrifit 為基於草藥的反芻動物的增產產品。在匈牙利 (SzieÁOTK) 具有它們的測試資訊，但是觀測值沒有優勢。Uperliv 與 Ayucee 為對家禽開發的藥用植物的混合物。

印度公司 Kamdhenu 飼料的對抗腹瀉的藥用植物產品 (Diakam) 用於改善一般症狀。它對疾病沒有特別的效果。在歐洲沒有使用這些產品的經驗。

【實施方式】

藥用植物提取物的濃縮

超濾為一種長期用於發酵工業中的分離技術。當目標為去除一具有已知大小，例如大於 10 千道爾頓 (kDa) 但是小於 100 千道爾頓 (kDa) 的分子時，超濾用於過濾或分離的具有分子量為 1000 千道爾頓 (kDa) 或更小的分子濃度。具有兩種主要類型的膜過濾：薄膜與中空纖維過濾。在膜過濾期間，提取物使用一給定的壓力通過具有一給定孔徑尺寸的膜板，因此其為一傳統的過濾技術。中空纖維過濾在毛細管中執行，其中該毛細管具有一具有給定千道爾頓 (kDa) 的截止值的表面。過濾的液體在這些穿孔的毛細管中循環，直至去除較小分子量材料的大部分，並且濃縮物保持於這些毛細管中。此種技術的一個新穎使用為藥用植物提取物的濃縮。水狀與/或異丙醇提取物的小於 100 千道爾頓 (kDa) 的分子大小的片段在 1 千道爾頓 (kDa) 的截止毛細管中循環，用

以濃縮它，由此產生藥用植物提取物的濃縮版本。

微量元素甘氨酸螯合物及其配製

礦物質在活體的生理及生化作業中起到多種與基本的作用。其中，這些礦物質為酶成分（鋅、銅、錳、鎂、鐵），（鐵、錳、鋅、銅、鎂、鉀）以及維生素（Co），它們在不同的保護機制中具有特殊作用（銅、鋅、鐵、硒），參與造血功能（銅、鐵），繁殖（磷、銅、鉀、錳、鋅、鎂），促進核酸與蛋白質的合成。

飼料植物的微量元素含量取決於幾個因素（例如氣候、應用的農業技術、環境污染等），並且具有很大差異。然而，繁育高產的牲畜需要一增加及平衡的礦物質（包含微量元素）的補充。該要求幾乎通過飼料完全滿足，主要向提供飼料中混合不同的礦物鹽。

這些生產預混料的工廠使用無機形式的微量元素，儘管事實上這些元素在植物中主要以有機化合物存在，並且在過去的 10-15 年的科研表明使用有機化合物的微量元素相比較於無機形式具有確實的優勢。

含有金屬的有機複合體係為生物系統中的主要化合物形式之一。金屬離子在這些複合體中佔據中心位置，並且離子、分子、天然有機化合物（氨基酸、多肽、蛋白質、碳水化合物等），即為附加於其的配體。當該金屬離子附加至一配體的兩個或兩個以上的原子時，某些離子與有機化合物之間的化學反應產生螯合物。具有金屬-配體相互作用的螯合化合物對於有機體最重要，因為在

這些複合體中金屬的活性相比較於離子形式高 105-107 倍。

在大多數微量元素的情況下，形成以下的螯合物：使用氨基酸、蛋白質、有機酸等形成複合體，其中蛋白質（氨基酸）微量元素複合體為基本的。最近獲得可喜的成果——與品種、年齡以及使用無關——在更高效的微量元素供應中，主要使用硒、鉻、鋅、銅、錳以及鐵。

同時，有機形式提供的甘氨酸銅及鋅不僅利用較好，而且令人驚訝的對微生物具有抑製作用。微量元素有機甘氨酸銅及鋅螯合物的作用機制中的一重要因素為，這些螯合物能夠抑制飼料中革蘭氏陰性病原體或兼性病原體的擴散，因此腸菌群的有用成員，例如雙歧桿菌與乳酸桿菌，可佔上風。有機結合微量元素甘氨酸組合物與藥用植物的混合物可有效地用於恢復腸菌群的平衡，用於腸菌群的生產以及用於對抗對動物健康具有風險的兼致病微生物體。

此外，微量元素管理的一基本問題為如何防止在吸收前，金屬離子與腸菌群中的其他成分的相互作用，這一點可透過提供顆粒狀配方獲得。

對於在粒化期間使用的擠出與成球狀步驟的理想擠出物的物理性質，透過自藥用植物提取物中準備的糊之濕度，微量元素甘氨酸及添加劑，以及其中包含的輔助材料的比例確定。一些添加劑使用於食品與製藥行業中，例如微晶纖維素（一纖維素的結晶形式），或者聚乙烯吡咯烷酮（ Σ -PVP）以及 PVP 及 CMC。它們通常用作載體，對於造粒乳化及賦形。結合及包圍有濕度，致使

其顆粒膨脹，從而粒子之間的空間為細菌提供了理想的環境。CMC 由於在食品工業以及其他行業中的高黏度性能，因此受到使用。它沒有毒性，不會引起過敏，不在地面中累積。透過吸收水分，它可以用作顆粒中的黏合劑。PVP 提供高持水能力，因為它可以吸收自身重量的 40%。由於顆粒在滾圓期間，受到顯著的物理衝擊，因此顆粒的適當凝聚力與蓄水能力非常重要。高黏度聚合物吸收水分是必要的，用以避免水的沉澱，以及從而避免在工藝步驟中顆粒的黏附。一個完全同質的「塊」具有普遍的濕粉的一致性，因此它不像每天感覺的糊料。

產生的糊料利用壓力擠壓而擠出：透過填充至一管中受壓縮，以及該擠出物在一預定的每分鐘轉數下施壓至一螺桿擠出機中的羅線中，然後收集。

在擠壓期間，糊料在一高壓下壓縮且恢復為長絲線的形狀，如果糊料具有適當的長度、強度以及稠度，則該長絲線可在一滾圓機中成為珠粒狀。在滾圓過程期間，擠出物受到高物理衝擊，以及不正確結合的水分沉澱於擠出物或顆粒的表面上。在此種情況下，成粒狀的顆粒黏合在一起，並且其尺寸可達到 5-6 毫米(mm) 的直徑。滾圓在一具有方格圖案의 凹槽的金屬板上執行，並且在高迴轉下旋轉，稀糊細線根據凹槽的密度裁剪，然後根據迴轉數滾圓。由於在滾圓期間透過連續的空氣噴射形成一殼，因此顆粒硬化，並且它們的結構得到維持。

實例 1

對於在離體實驗中，準備該藥物的一冷（25°C）水提取物。測量該植物樣本的細粉三克，以及在室溫下使用 100 毫升的蒸餾水搖晃 1 小時，然後在不同的分子量截止（1 kDa、10 kD、100 kDa、500 kDa）超濾膜柱（KOCH/Romicon WF2，中空纖維）下過濾幾次，然後使用號數為 2005/89 與 2005/94 的濾液以準備系列稀釋，直至濃度為 1：20 000。

對於在離體實驗中，準備該藥物的一冷（25°C）水提取物。測量該植物樣本的細粉三克，以及在室溫下使用 100 毫升的蒸餾水搖晃 1 小時，然後通過 100 kDa 的柱過濾，然後通過 1 kDa 的柱濃縮，然後自該濃縮的提取物中準備系列的稀釋直至濃度為 1：20 000。

實例 2

洋槐種子粗粉在 40°C 下，在水溶液中提取 2 小時，然後透過添加 20% 的異丙醇進一步提取，該提取物如實例 1 中所述通過 100 kDa 的柱過濾，然後通過 1 kDa 的柱濃縮，然後自該濃縮的提取物中準備一系列稀釋直至濃度為 1：20 000。

研究來自該濃縮的異丙醇-水部份的該沉澱的提取物。

實例 3

對表現出豬痢疾臨床症狀的生長肥育豬隔離的豬痢疾短螺旋體（*Brachyspira hyodysenteriae*）巴塔（Bata）變種菌株執行抗菌

效果的研究，然後在 5 個不同的農場隔離的豬痢疾短螺旋體菌株進一步包含於該研究中。根據廣為所之的瓊脂擴散協定，測試菌擴散至血液瓊脂培養基上，然後在無菌條件下在瓊脂平板中切割井。待研究的這些提取物移液至這些井中，然後在 35 °C 下孵育 24-48 小時。在一活性樣品的情況下，圍繞瓊脂井的測試菌死亡，並且抑制區能夠以較小或較大的環之形式觀察到。抗菌活性能夠自抑制區的直徑測量中推斷出。

豬痢疾短螺旋體的分離及其瓊脂擴散試驗：

豬痢疾短螺旋體菌株自在匈牙利的不同地區飼養的，表現出豬痢疾的臨床症狀的生長肥育的豬中隔離。在屠宰場出血之後，表現出臨床體徵的豬的結腸圈系住且在六小時內運送至實驗室。在打開結腸部分之後，該樣本作為結腸黏膜的刮樣提供。在任何情況下，在刮痕器上的黏膜刮屑在供給有 10% 的去纖維蛋白牛血與 400 微克/毫升的大觀黴素（Sigma-Aldrich 公司的 Kft）作為抑制劑的新鮮準備的 TSA 瓊脂（Scharlau 微生物）的表面散布。在孕育之後，培養物在嚴格的厭氧條件下在 +42°C 孵育 96 小時。厭氧條件透過使用厭氧氣體生成包（Oxoid 公司，Gas Generating Kit，厭氧系統 BR0038B）以及厭氧培養罐（Oxoid 公司，厭氧罐）獲得。確定初級及此級的生化特性與識別分離株透過標準技術（奎恩（Quinn）等人，1994 年）執行。在識別之後且直至在試驗中使用，這些菌株以懸浮形式儲存於在 -80 °C 下冷凍的具有無菌甘油的 TSB 液中（Scharlau 微生物）。

這些株預先在 -25°C 下冷凍儲存。自解凍的細菌塊中，在血瓊脂上（改良的胰蛋白大豆瓊脂培養基，輔以 5-10% 的去纖維蛋白牛血）準備預先培養物。自顯著很好地溶血的預培養的瓊脂平板上，切離 8-10 個，幾乎相同的大小（ $\pm 5\%$ 的差別）的瓊脂塊移植物，然後使用直徑大約 5 毫米（mm）的玻璃棒分佈至直徑為 90 毫米（mm）的新鮮配製的瓊脂平板上。該面板以覆蓋形式乾燥 5 分鐘。

根據實驗室中的開發順序，該移植的面板使用瓊脂盤切割設備在中間打孔。這些 5 毫米（mm）直徑的全體放置於距離面板之邊緣至少 40 毫米，用以允許容易評估圍繞敏感單離體的較大抑菌區。因此，形成於 90 毫米（mm）直徑的培養面板上的全體僅包含一個樣本。在應用一定濃度的百里香提取物之後，這些面板在 15 分鐘之內放置於一浮空器中（Oxoid 公司的厭氧包及罐），並且在無氧氣體環境中在 37°C 下孵育 4-5 天。

研究的菌株根據圍繞面板全體的溶血抑制環的直徑尺寸分類，用以確定其對於水溶百里香藥物提取物的給定濃度的敏感性。

標記敏感度 (S)（抑制環的直徑 > 25 毫米（mm）），表明細菌對於一定濃度的離體敏感且死去。

適度敏感 (M) 的結果（抑制環的直徑為 15-25 毫米（mm））表示給定濃度的離體效果為不可靠。

標記抗藥，不敏感 (R)（10 毫米（mm）或一類似的敏感直徑）表示離體的無效性。

結果：

結果總結於表 1，2 以及 3 中

抗菌檢測樣本	稀釋	敏感區直徑 (mm)	評估
第 89 號組成物	500 x	50	S
第 89 號組成物	1000 x	45	S
第 89 號組成物	2500 x	32,5	S
第 89 號組成物	5000 x	35	S
第 89 號組成物	10000 x	30	S
第 89 號組成物	20000 x	15	M
第 94 號組成物	500 x	完全溶血抑制	S
第 94 號組成物	1000 x	50	S
第 94 號組成物	2500 x	47	S
第 94 號組成物	5000 x	40	S
第 94 號組成物	10000 x	28	S
第 94 號組成物	20000 x	25 局部的	M

豬痢疾短螺旋 體菌株	活性成分及稀釋	敏感區直徑 (mm)	評估
Bata	(5000 x)	38	S
171/06	(5000x)	29	S

168/06	(5000x)	26	S
167/06	(5000x)	25	S,M
169/06	(5000x)	31	S
170/06	(5000x)	32	S

表 1、2 以及 3 -百里香藥用植物與甘氨酸螯合提取物在瓊脂擴散試驗中對豬痢疾短螺旋體 (B/06) 菌株的不同稀釋效果

試驗樣本	稀釋	抑制區直徑 (mm)	評估
2005/89	500 ×	50	S
”	1000 ×	45	S
”	2500 ×	36	S
”	5000 ×	35	S
”	10000 ×	30	S
”	20000 ×	15	R
2005/94	500 ×	60	S
”	1000 ×	50	S
”	2500 ×	47	S
”	5000 ×	40	S
”	10000 ×	28	S
”	20000 ×	25	M

表 1、2 以及 3 -百里香藥用植物與甘氨酸螯合提取物在瓊脂擴散試驗中對豬痢疾短螺旋體 (B/06) 菌株的不同稀釋效果

S=敏感；M=適度敏感；R=抗藥

豬痢疾短螺旋體菌株	第 2005/94 號 樣本 及其稀釋	抑制區直徑 (mm)	評估
167/06	5000 ×	25.0	M
168/06	„	26.0	S
169/06	„	31.0	S
170/06	„	32.0	S
171/06	„	29.0	S
B/06	„	38.0	S
X		30.2	S
SD ±		4.7	

豬痢疾短螺旋體菌株	有效成分 及其稀釋	豬痢疾短螺旋體 敏感區直徑(mm)	表型 評估
171/06	95 (500x) 及 94 (5000x)	29	S
171/06	95 (500x) 及 94 (5000x)	28	S
168/06	95 (500x) 及 94 (5000x)	26	S
167/06	95 (500x) 及 94 (5000x)	25	S

豬痢疾短螺旋體菌株	有效成分及其稀釋	豬痢疾短螺旋體敏感區直徑(mm)	表型評估
169/06	95 (500x) 及 94 (5000x)	31	S
167/06	95 (500x) 及 94 (5000x)	25	S
170/06	95 (500x) 及 94 (5000x)	30	S
170/06	95 (500x) 及 94 (5000x)	32	S

表 3 及表 4-百里香藥用植物與甘氨酸螯合提取物在瓊脂擴散試驗中對豬痢疾短螺旋體菌株的不同稀釋效果

S=敏感；M=適度敏感；R=抗藥

實例 4

在本實例中，百里香-與實例 1 及 2 一樣使用超濾濃縮的洋槐種子藥用植物提取物，按照 1:1 的比例混合，並且與地面菊苣以及 100 ppm 的含鋅微量元素甘氨酸摻鋅單甘氨酸與/或雙甘氨酸鋅與/或二甘氨酸鋅穩定劑混合在一起，並且在 90°C 進入且在 60 °C 排出的空氣溫度下乾燥噴霧。

實例 5

在本實例中，百里香-與實例 1 及 2 一樣使用超濾濃縮的洋槐種子藥用植物提取物，按照 1:1 的比例混合，並且與地面玉米芯以及 15 ppm 的含銅單甘氨酸銅與/或雙甘氨酸銅與/或二甘氨酸銅穩定劑混合在一起，並且在 70°C 進入且在 50 °C 排出的空氣溫度下在流化床上乾燥。

實例 6

粒化系統化的準備

確定粒化形式的助劑：

微晶纖維素（JRS-Vivapur®），以下簡稱為 Vivapur。它為一使用於食品與製藥行業的添加劑，一纖維素的結晶形式。

羧甲基纖維素鈉鹽（ Σ -CMC），以下簡稱為 CMC。CMC 由於其在食品工業，以及其他行業中的高黏度特性受到使用。通過吸收水，它能夠用作顆粒化的黏合劑。

聚乙烯基吡咯烷酮，（ Σ -PVP），以下簡稱為 PVP。對於適當的凝聚力與顆粒的蓄水能力是重要的。

對於纖維素吸收濕氣需要一小時的均質化，用以膨脹以及形成正確的微晶構造，以及因此為細胞生存提供理想的環境。攪拌設備以產生均勻的糊料：Kendwood，英國。

粒化（擠出-滾圓）較佳地在一 4M-8 擠出（Pro-C-Ept）設備中進行。擠出在 35°C 下發生。擠出的參數：40 rpm，慢螺旋轉轉及壓縮。擠出機篩分尺寸：1.0 毫米（mm）。滾圓的參數：3.25 毫

米（mm）的溝槽板，1400 rpm，允許達到期望的粒度（1-2 毫米（mm））。

顆粒如在實例 5 中所述在流化床上乾燥。

表 5 — 粒化協定

待粒化的粉末成分的名稱	粒化的粉末成分之含量 (g)	粉末的總和%
甘氨酸銅(15 ppm 銅含量) 或甘氨酸鋅(100 ppm 鋅含量)	60	40
飼料粉	25	16.6
小麥麵粉，食品品質	15	10
PVP	5	3.33
微晶纖維素 (Vivapur®)	40	26.66
CMC-納 (Σ)	5	3.33
乾燥含量的總和	150	100
待粒化的液體成分的名稱		
百里香提取物濃縮液	30	66.66
洋槐提取物濃縮液	15	33.33
濕成分的總合	45	100

實例 7

根據實例 1 及 2 的藥用植物提取物的 1:1 比例混合物，在類似於上述實例 4、5 以及 6 用於乾燥及粒化組合物技術的離體實驗完成之後，為用於實地測試（**Dysantic 1、2、3 以及 4**）準備的劑型變化，以及賦形劑成分的功效在豬痢疾短螺旋體菌株上的不同稀釋中進行了測試（表 6）。

該豬痢疾短螺旋體菌株對於 Dysantic 樣本混合物的兩種稀釋在離體中出現敏感（S），而賦形劑成分證明單獨為無效的。

表 6—抗菌譜

抗菌分析樣本	稀釋	豬痢疾短螺旋體敏感區直徑（mm）	表型評估
Biosantrix 1 濃縮混合物	5000 x	28	S
噴霧乾燥的 Biosantrix 2	5000 x	35	S
流化床乾燥的 Biosantrix 3	2500 x	40	S
粒化的 Biosantrix 4	2500 x	47	S
乾燥的 Biosantrix 賦形劑	500X	13	R

粒化的 Biosantrix 賦形劑	250x	0	R
--------------------	------	---	---

實例 8

具有百里香提取物與甘氨酸鋅及銅穩定劑的組成物的初步實驗

在初步實驗條件下，在兩種情況下進行實驗性飼養以生長豬。對照組與實驗組均包含 100 頭生長肥育用豬。後者組接收實驗組合物，如實驗室試驗確定的 5 公斤/噸的飼料劑量。在第一項研究中，對照組在其飼料中接收預防劑量的 Getroxel (karbadox) (表 7)。在第二項研究中，僅執行受到痢疾的豬之個體的治療(表 8)。研究的參數：治療數、損失的發生、平均屠宰體重、以及飼料利用率。

表 7 -植物活性組合物對生長肥育用豬的產量及健康的效果
(實驗 1)

名稱	對 照 組 (Getroxel)	實驗組
動物的數量	100	100
初 始 平 均 體 重 (kg)	31.5	31.7
治療次數	1	4
死光	0	0
平均屠宰體重(kg)	109.5	112.3

飼料攝取 (kg)	25877	25071
飼料利用率 (kg/kg)	3.31	3.11

表 8-植物活性組合物對生長肥育用豬的產量及對個體治療的數目的效果（實驗 2）

名稱	對照組	實驗組
動物的數量	100	100
初始平均體重 (kg)	28.4	28.1
個體治療的數目 (Baytril im.)	21	2
死光	0	0
平均屠宰體重(kg)	105.8	109.8
飼料攝取 (kg)	25035	24175
飼料利用率 (kg/kg)	3.23	2.96

在第一個實驗中（表 7），在相同長度的育肥時間之後，實驗組中的屠宰體重相比較於對照組平均高出 2.8 公斤，即 2.6%，並且用以產生 1 公斤活畜重量必需的飼料量更小 0.2 公斤，這意味著在飼料利用率上增加 6%。第二次（表 8），在相同長度的育肥時間之後，實驗組中的屠宰體重相比較於對照組平均高 4 公斤，即 3.8%，並且用以產生 1 公斤活畜重量必需的飼料量更低 0.27 公斤，即飼料利用率相比較於對照的動物減少 9%。相比較於對照組（2），在對照組中對於豬痢疾的治療具有十倍以上（21）。

【圖式簡單說明】

無

【主要元件符號說明】

無

七、申請專利範圍：

1. 一種飼料添加劑，係包含對於消化道的小腸有效的洋槐種子與百里香提取物以及微量元素甘氨酸螯合穩定劑。
2. 如請求項第 1 項所述之飼料添加劑，係用於單胃動物。
3. 如請求項第 1 項所述之飼料添加劑，係為來自一適合的載體材料之一可釋放形式。
4. 如請求項第 3 項所述之飼料添加劑，其中該載體材料係為處理的植物材料之纖維素基廢料。
5. 如請求項第 4 項所述之飼料添加劑，其中該載體材料包含地面玉米芯與地面菊苣植物中的至少一個。
6. 如請求項第 3 項所述之飼料添加劑，其中該載體材料的粒度為 30-500 微米。
7. 如請求項第 1 項所述之飼料添加劑，其中該穩定劑係為單甘氨酸鋅、雙甘氨酸鋅以及二甘氨酸鋅中的至少一個。
8. 如請求項第 1 項飼料添加劑，其中該穩定劑係為單甘氨酸銅、雙甘氨酸銅以及二甘氨酸銅中的至少一個。
9. 如請求項第 1 項所述之飼料添加劑，包含具有高澱粉含量，較佳為高飼料粉含量的一材料。
10. 如請求項第 1 項所述之飼料添加劑，該飼料添加劑粒化。
11. 一種飼料，係包含如請求項第 1 項至第 10 項中任意一項所述之飼料添加劑。

12. 一種飼料添加劑之製備方法，係包含將洋槐種子與百里香提取物、微量元素甘氨酸以及微量元素甘氨酸螯合穩定劑混合在一起，以及任選地進一步標準化飼料添加成分。
13. 一種飼料之製備方法，係包含將如請求項第 1 項至第 10 項中任意一項所述之飼料添加劑混合至標準飼料中。
14. 一種如請求項第 1 項至第 10 項中任意一項所述之該飼料添加劑，或如請求項第 11 項所述之該飼料，或如請求項第 12 項或第 13 項之製備方法準備之該飼料添加劑或該飼料，在畜牧業中用以增加獲得之體重或蛋的產量，或者用以減少豬群體的死亡率之用途。