



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 093 571** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁶ **C 12 N 1/20, A 23 K 1/18//C 12 N 1/20, C 12 R 1:465**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 94019485/13, 09.09.1992

(30) Приоритет: 20.09.1991 US 07/763,175

(46) Дата публикации: 20.10.1997

(56) Ссылки: Эрготропики: регуляторы обмена веществ и использования кормов сельскохозяйственными животными. /Под ред. И.Г.Пивняка. - М.: Агропромиздат, 1986, с. 79 - 80, 102. Патент Великобритании N 2016043, кл. C 12 N 1/20, 1979.

(86) Заявка PCT:
US 92/07589 (09.09.92)

(71) Заявитель:

Пайонир Хай-Бред Интернэшнл, Инк. (US)

(72) Изобретатель: Вильям М. Ратерфорд[US],

Джек Е. Эллен[US], Скотт М. Деннис[US], Марк А. Хиндс[US], Грегори Р. Дейна[US]

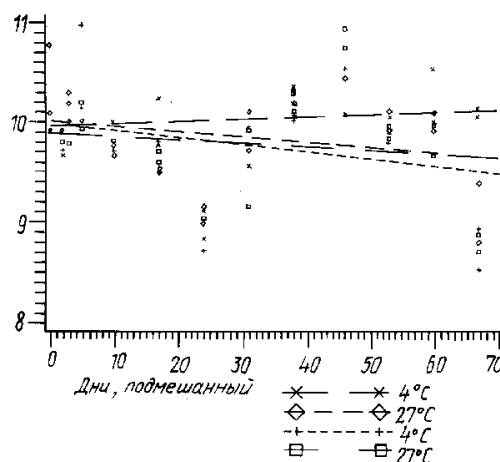
(73) Патентообладатель:

Пайонир Хай-Бред Интернэшнл, Инк. (US)

(54) СПОСОБ СТИМУЛИРОВАНИЯ РОСТА ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ И ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ПРОБИОТИКА

(57) Реферат:

Использование: биотехнология, птицеводство, для выращивания домашней птицы, в частности цыплят и индеек. Сущность изобретения: способ предусматривает добавление к нормальному рациону пищи пробиотика, состоящего из смеси приблизительно в равных количествах жирнокислотных микросфер жизнеспособных бактерий штаммов *Enterococcus faecium* 301, ATCC N 55059 и *Enterococcus faecium* 202, ATCC N 55519, сформированных с помощью роторного диска, причем жирной кислотой предпочтительно является стеариновая. Количество добавляемого пробиотика составляет от около 0,23 кг до около 9 кг на тонну корма. 2 с. и 8 з.п. ф-лы, 5 ил., 10 табл.



Фиг.1



RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 093 571** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁶ **C 12 N 1/20, A 23 K 1/18//(C 12 N 1/20, C 12 R 1:465)**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

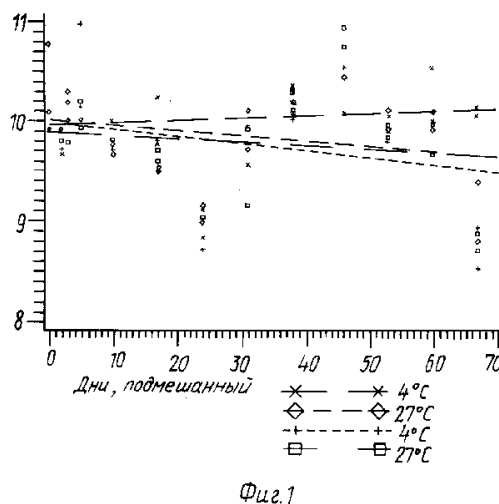
(21), (22) Application: 94019485/13, 09.09.1992
(30) Priority: 20.09.1991 US 07/763,175
(46) Date of publication: 20.10.1997
(86) PCT application:
US 92/07589 (09.09.92)

(71) Applicant:
Pajonir Khaj-Bred Internehshnl, Ink. (US)
(72) Inventor: Vil'jam M. Raterford[US],
Dzhek E. Ehllen[US], Skott M. Dennis[US], Mark
A. Khinds[US], Gregori R.Dejna[US]
(73) Proprietor:
Pajonir Khaj-Bred Internehshnl, Ink. (US)

(54) **METHOD OF STIMULATION OF POULTRY GROWTH AND THE PROBIOTIC-BASE PREPARATION**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology, poultry farming.
SUBSTANCE: method involves addition of probiotic to normal food diet. Probiotic consists of a mixture of an about equal amounts of fatty acid microspheres from viable bacteria of the strains Enterococcus faecium-301, ATCC N 55059 and Enterococcus faecium-202, ATCC N 55519. Microspheres were made by rotor disk. Stearic acid is preferably used as fatty acid. Probiotic is added at dose 0.23-9 kg/t food. EFFECT: improved method of stimulation. 10 cl, 5 dwg, 10 tbl



Стимуляторы роста, содержащие антибиотики, широко используют для выращивания домашней птицы, в частности цыплят и индеек. Стимуляторы роста, такие как Stafak^R и БМД (бацитрацина метилен-дисалицилат), представляют собой известные антибиотики и используются на суб-терапевтических уровнях, например 10 и 25 г на тонну корма в виде добавок для того, чтобы стимулировать желаемые показатели роста домашней птицы. Однако в последнее время использование антибиотиков для этих целей встречает некоторую критику. Одно из критических отношений связано с вероятностью развития в конечном счете толерантности к домашней птицы к антибиотикам, и в результате этого антибиотик далее перестает хорошо работать как стимулятор роста. Другие недостатки связаны с влиянием на здоровье неприродных примесей антибиотиков и с вредными воздействиями, которые они могут оказывать. Тем не менее из-за преимуществ использования антибиотиков их все же обычно используют для улучшения усвоения корма, улучшения строения тушки и усиления роста.

Известно, что определенные бактерии обладают потенциально благоприятным воздействием при добавлении в корм животных. Эти бактерии оказывают благоприятное действие тем, что они поддерживают природную кишечную микрофлору. Некоторые компании предлагают для продажи пробиотики, которые содержат необходимые бактерии. Пробиотики, однако, все же создают некоторые проблемы поддержания стабильности продукта. Обычно пробиотик используют на достаточно низком уровне и добавляют в корм примерно в количестве 0,1%. Однако корм или пищевая добавка, содержащие неиспользуемый пробиотик, часто хранятся ферментами в течение продолжительного периода времени. Во время этого хранения неоднократно возникают условия, когда имеются некоторая влажность и высокая температура. Во многих случаях возникает влажность, достаточная для того, чтобы бактерии активировались или начали расти, но не достаточная для того, чтобы поддерживать процесс. В результате бактерии погибают. Таким образом, активность пробиотика снижается. В других случаях добавка антибиотиков в корм или в кормовую добавку, содержащие пробиотик, отрицательно влияет на бактерии, особенно, если имеется некоторое количество влаги, и при этом бактерии также погибают. Таким образом, существует важная проблема сохранения стабильности пробиотиков в течение длительного периода времени.

В другой среде, когда пробиотик добавляют, например, в корм цыплят, обычно необходимо гранулировать вещество с пробиотиком, добавляемым до гранулирования. Влага из пара, используемого во время гранулирования, частично активирует бактерии, но может и убить их при недостатке влаги для поддержания их жизнедеятельности. Их может убить также тепло при гранулировании. Существует также проблема кислотной среды в желудке, потенциально инактивирующей бактерии до того, как они действительно

достигнут кишечника. Таким образом, существует проблема в пробиотиках, которые бы освобождали живые организмы только в надлежащий момент в кишечнике, без преждевременного их освобождения во влажных условиях или во вредных pH условиях, таких, которые имеются в части пищеварительного тракта, предшествующей тонкой кишке.

По возможности у домашней птицы особенно желательно достичь определенных показателей. К ним относятся повышенные привесы, повышенное усвоение корма, строение тушки и в конечном счете однородность веса отдельных птиц. Повышенная скорость прироста веса (привесы) и повышенное усвоение корма, конечно, желательны с точки зрения экономии, которая сопровождает эти желательные результаты. Строение тушки важно постольку, поскольку наиболее желательной областью накопления мышечной ткани является грудная область, что позволяет получить большое количество мяса отборной категории. Таким образом, важен не только прирост веса, но также важно и то, в каком месте тушки происходит этот прирост. Однородность веса птиц важна, потому что чем больше птиц, однородных по весу, тем меньше требуется ручного труда, и производство может более интенсивно опираться на машинную переработку. С другой стороны, если птицы существенно различаются от очень малых до очень больших птиц, даже если их общий вес тот же самый, более маленькие птицы и более крупные требуют затрат большего количества ручного труда, и из-за недостатка однородности по размеру. Машинная переработка таких птиц затруднительна. Таким образом, однородность веса птиц с высоким процентом птиц, находящихся внутри интервала с нормальным размером, таким, что цыплят можно обрабатывать с помощью стандартизированного машинного оборудования, является желательной характеристикой особенностью.

Главная задача данного изобретения заключается в разработке пробиотика для домашней птицы, который не содержит антибиотика и содержит только природные микроорганизмы, микроинкапсулированные жирной кислотой.

Другой основной задачей данного изобретения является разработка пробиотика, который содержит два микроорганизма, а именно *Enterococcus faecium* 301, DSM N DSM-Nr. 4789, и *Enterococcus faecium* 202, DSM N DSM-Nr. 4788, DSM, это германский депозитарий бактериальных культур (*Deutsche Sammlung von Mikroorganismen*), расположенный в Брауншвейге. Заявитель предполагает депонировать их также в ATCC со всеми ограничениями, предусматриваемыми формулой изобретения. (Уже депонированы, см. формулу).

Другой задачей данного изобретения является разработка пробиотика домашней птицы, обеспечивающего повышенную скорость прироста веса, улучшенное усвоение корма, более высокий выход "белого" (грудинного мяса), и который обеспечивает однородность веса птиц в интервале нормального размера.

Следующая задача данного изобретения состоит в разработке пробиотиков, пригодных для добавки в рацион домашней птицы и которые содержат бактерии внутри микросфер, получаемых с помощью специальной роторной техники, использующей матрицу из свободной жирной кислоты.

Другой основной задачей данного изобретения является разработка пробиотика, который сохраняет стабильность в течение 3 6 месяцев без какого-либо существенного уменьшения количества жизнеспособных организмов.

Еще одной задачей данного изобретения является разработка способа роторного образования сфер высушенных бактерий, обеспечивающего их однородный размер.

Другой задачей данного изобретения является разработка роторных дисковых сфер высушенных бактерий, свободно пересыпаемых и легко перерабатываемых с кормовыми рационами домашней птицы.

Рис. 1, 2 и 3 показывают графически стабильность штаммов с использованием матрицы из стеариновой кислоты.

Рис. 4 представляет собой график, показывающий распределение выхода грудинной части полученного при кормовом испытании композиции пробиотика по изобретению.

Рис. 5 представляет собой график, показывающий распределение веса тела, полученного при кормовом испытании композиции пробиотика по изобретению.

Рис. 4 и 5 показывают контроль; применение антибиотика и применение пробиотика по изобретению.

Сущность изобретения

Данное изобретение раскрывает сущность и композицию стимулирования роста домашней птицы и предусматривает добавление к обычному кормовому рациону домашней птицы небольшого, но эффективного для ускорения роста количества пробиотика, который содержит высушенные микросферы из жирных кислот, содержащие *Enterococcus faecium* 301, DSM N.DS M-Nr. 4789, и высушенные микросферы из жирных кислот, содержащие *Enterococcus faecium* 202, DSM N.DS M-Nr. 4788, причем микросферы жирных кислот предпочтительно получают путем сушки на роторном диске.

Неожиданно было обнаружено, что ускорение роста домашней птицы можно достичь добавлением к обычному кормовому рациону домашней птицы некоторого количества микросфер из жирных кислот, содержащих *Enterococcus faecium* 301, DSM N. DSM-Nr. 4789, а также микросфер из жирных кислот, содержащих *Enterococcus faecium* 202, DSM N. DSM-Nr. 4788. Применяемая жирная кислота может быть любой C₁₂-C₂₄ свободной жирной кислотой, но предпочтительно стеариновой кислотой. Эти два организма вида микроорганизмов предпочтительно присутствуют в приблизительно равных количествах, но могут варьировать количества в пределах от около 30% до около 70% одного из организмов с остатком, приходящимся на другой микроорганизм.

Точно неизвестно, почему именно эти два организма обеспечивают достижение положительного эффекта, а именно

повышенную скорость прироста веса, улучшение усвоения корма, повышение выхода грудинного мяса и улучшение однородности веса птиц. Факт заключается в том, что они обладают таким действием при условии, что их используют в комбинации так, чтобы они могли каким-то образом взаимодействовать друг с другом, а также при условии, что их используют согласно нижеприведенной формуле изобретения, содержащей совокупность взаимосвязанных признаков, которые совместно обеспечивают достижение эффекта изобретения, позволяющего получить значительно улучшенную структуру тушки домашней птицы, более высокое качество мяса и облегчить переработку птицы.

Количество пробиотика, добавляемого к кормовому рациону, можно варьировать значительно, но обычно в пределах от примерно 1200 г до примерно 1 кг на тонну корма, обычно от около 350 г до около 550 г на тонну корма, и типично около 450 г на тонну корма. Количество организма, которое представляет собой число колониеобразующих единиц на грамм, присутствующих в пробиотике, может также варьироваться в пределах от около $1 \cdot 10^6$ КОЕ/г до около $2 \cdot 10^9$ КОЕ/г.

В случае, когда пробиотик, описанный выше, вводят по выбору в корма домашней птицы, комбинация двух штаммов микроорганизмов, упомянутых здесь, ведет себя как стимулятор роста. Используемые сейчас стимуляторы роста включают антибиотики, такие как Stafac R и БМД. Преимущества суб-терапевтических уровней антибиотиков, как добавок, ускоряющих рост, могут быть достигнуты с помощью встречающихся в природе микроорганизмов по изобретению, при условии, что пробиотик получают в соответствии с данным изобретением и добавляют в соответствии с описанным здесь способом. Фактически имеется несколько опытов, подтверждающих, что комбинация пробиотика и стимулятора роста вместе превышает преимущества любого из них, и таким образом при необходимости их можно использовать вместе. Однако в большинстве случаев предпочтительно использовать пробиотик один, поскольку одна из целей изобретения заключается в том, чтобы полностью избежать использования стимуляторов роста.

Способ переработки микроорганизмов несущественен, пока они поддерживаются живыми для доставки животному и могут помещаться в форму, такую, которая хорошо сочетается с кормом животного, и которая является однородной по размеру, так что можно контролировать дозу.

Предпочтительный способ достижения этих требований заключается в сохранении организмов в микросфере жирно-кислотной матрицы. Этот способ описан в более ранней заявке соавторов Rutherford с сотр. Согласно этому способу бактерии объединяют с нагретой жирной кислотой. Температуру жирной кислоты и время экспозиции бактерии с жирной кислотой контролируют, чтобы поддержать бактерии живыми, однако допуская смешение с жирной кислотой. Смесь помещают на вращающийся диск, в результате чего получают микросферу бактерий с жирной кислотой, действующей как

матрица. При использовании этого способа достигается несколько важных преимуществ. Первое, бактерии остаются живыми при переработке; второе, способ в комбинации с техникой вращающегося диска дает возможность получить однородный размер микросфер для улучшения дозирования. Третье, природа матрицы, жирная кислота, обеспечивает образование уникальных микросфер. Комбинация факторов обеспечивает высокостабильный пробиотик с максимальной эффективностью.

В способе родственной заявки важно отметить, что образуются микросферы, в которых каждая сфера состоит из множества бактерий в свободной жирно-кислотной матрице, а не представляет собой индивидуальный микроинкапсулятор каждой бактерии, покрытой жирной кислотой, или слоем, похожим на пленку жирной кислоты. Это обеспечивает преимущества в стабильности и более эффективное дозирование при обработке бактериями.

Предпочтительным инкапсулирующим агентом является свободная жирная кислота от C₁₂ до C₂₄. Хотя могут быть использованы смеси жирных кислот, предпочтительно, чтобы применяли одну чистую свободную кислоту. Также предпочтительно, чтобы свободная жирная кислота была ненасыщенной жирной кислотой, причем наиболее предпочтительной является стеариновая кислота.

Вообще говоря важно, чтобы жирная кислота имела точку плавления менее чем 75 °C, предпочтительно в пределах от 40 °C до 75 °C. Чтобы быть эффективной матрицей, она должна быть, конечно, твердой при комнатной температуре. Все свободные жирные кислоты, попадающие внутрь определенного здесь диапазона химического описания, будут отвечать этим требованиям.

Для того, чтобы повысить стабильность продукта, в продукт помещают бактерии, полученные обычно путем лиофильной сушки бактерий. Таким образом, они могут быть оживлены при добавлении влаги.

В микросфере, изготовленной согласно способу, обсуждаемому ниже, микросферы обычно включают от около 50% до свыше 90% по весу компонента жирной кислоты с балансом, приходящимся на бактериальную культуру. Предпочтительная область находится от около 60% до около 75% жирной кислоты. Если используют слишком мало жирной кислоты, то матрица не способна защитить. С другой стороны, если используют слишком много жирной кислоты, матрица будет слишком толстой, и это приведет к неадекватному освобождению в кишке.

Используемый в этом изобретении способ представляет собой способ получения микросфер с помощью вращающегося диска. Вообще говоря, в технологии вращающегося диска суспензию бактерий и жирно-кислотные компоненты тщательно перемешивают, причем смесь добавляют с равномерной скоростью в центр вращающегося диска из нержавеющей стали. В результате центробежных сил смесь отбрасывается наружу и образуется микросфера. Затем микросферы собирают в охлаждаемую камеру, поддерживаемую при условиях окружающей среды или слегка более низких температурах, сортируют и готовят для

упаковки.

Хотя инкапсулирование с помощью вращающегося диска известно, неизвестно получение микросферы, сохраняемой в матрице, без окружающей оболочки, и неизвестны ни способ использования микросфер, ни капсулирование с лиофилизированными бактериями. Вообще говоря, описание инкапсулирования с помощью вращающегося диска смотри в работе Johnson, et al. of the Southwest Research Institute of San Antonio, in the Journal of Gas Chromatography, October, 1965, pages 345 347. Кроме того, роторный дисковый инкапсулятор, пригодный для использования данного изобретения, подробно описан в United States Letters Patent, Sparks, 4675140, выданный 23 июня 1987 г и озаглавленный "Method For Coating Particles For Liquid Droplets", описание которого приведено здесь в качестве уровня техники. Однако способ, описанный в родственном патенте, наиболее предпочтителен.

Важно отметить, что получение микросфер с помощью ротора обеспечивает четко отличный продукт, чем продукт, полученный либо с помощью обычной сушки башенным распылением, либо путем микроинкапсулирования. При обычной сушке башенным распылением существует тенденция к объединению частиц, ибо покрытие неоднородно, и поэтому стабильность продукта, подвергаемого воздействию, будет сохраняться от дней до недель.

Микроинкапсулирование обеспечивает покрытие оболочкой вокруг объекта, и как оказывается, бактерии становятся слишком маленькими, слишком твердыми, чтобы поддерживать жизнеспособность или обеспечить однородность по размеру, что необходимо для практического использования. При образовании микросфер, в частности при использовании агентов данного изобретения, стабильность образующихся бактерий, даже когда они подвергаются воздействию небольшого количества влаги и антибиотиков, сохраняется от трех до шести месяцев с сохранением жизнеспособности бактерий, содержащихся в равномерно распределенных частицах.

В том случае, когда используют микросферы со свободными жирными кислотами в пределах областей, здесь ранее формулированных, роторный диск, обычно применяемый 4" 6" роторный диск, может вращаться со скоростью от 2000 об/мин до 4000 об/мин, предпочтительно от 2500 об/мин до 3200 об/мин при скорости подачи от 50 г до 200 г в минуту. К предпочтительным условиям, известным в настоящее время, относится использование стеариновой кислоты, использование двух описанных выше организмов, четырехдюймовый роторный диск, 3000 об/мин и скорость подачи 100 г в минуту суспензии бактерии/стеариновая кислота, состоящей из 35% бактерий, 65% стеариновой кислоты. При выполнении этих условий можно получить продукт, имеющий размер частиц от 75 мкм до 300 мкм, с предпочтительным размером менее чем 250 мкм.

Следующие примеры иллюстрируют, но не

ограничивают способ данного изобретения. Примеры иллюстрируются рис. 1,2 и 3. Примеры с 1 по 4 и рис. 1,2 и 3 относятся к более раннему моему изобретению. Пример 5, табл. 2 10 относятся к способу данного изобретения для пробиотика для домашней птицы.

Пример 1

Пример 1 иллюстрирован рис. 1. Он демонстрирует стабильность продукта двух различных штаммов *Enterococcus faecium* при температурах 4°C и 27°C. На рис. 1 показана стабильность инкапсулированных штаммов *Enterococcus faecium*, причем инкапсулирование выполнено с помощью роторного дискового устройства с использованием стеариновой кислоты при 35% содержании от веса культуры. Условия образования микросфер были описаны здесь ранее, а именно 35/65 суспензия бактерии/стеариновая кислота при температуре 60°C, использование четырехдюймового роторного диска, работа при 3000 об/мин и скорость подачи 100 г в минуту. Получают сферы, помещают в запаиваемые тепло мешки с тепловым барьером и деструктивно анализируют еженедельно на КОЕ определение. Можно видеть, что продукт изобретения прекрасно сохраняет количество колоние-образующих единиц (КОЕ) организма при временах хранения от 70 дней.

Пример 2

Пример 2 следует интерпретировать совместно с рис. 2. Рисунок показывает стабильность индивидуальных сферических штаммов при подмешивании в типичный кормовой рацион в присутствии трех антибиотиков для домашней птицы. Рацион состоит из следующего

- 54% пять дробленых зерен
- 26% соевая мука
- 2% рыбная мука
- 1,5% дикальций фосфат
- 1% известняк
- 5,5% соевое масло
- 12% содержание влаги

Три антибиотика добавляют при следующих весовых процентах включения: декозиноат 6% (454 ppm), салиномицин (50 ppm) и моненсин натрия (120 ppm).

Культуру добавляют к смеси в количестве, таком, чтобы поставить приблизительно $1 \cdot 10^6$ КОЕ/г корма. Корм упаковывают в заплавленные тепло мешки и инкубируют при комнатной температуре. Образцы берут еженедельно на КОЕ определение. График на рис. 2 иллюстрирует превосходную стабильность.

Пример 3.

Пример 3 следует интерпретировать совместно с рис. 3. Он показывает стабильность *Enterococcus faecium* микросфер в корме в присутствии различных антибиотиков. Рацион состоит из 60% тонко размолотого зерна, 38% соевой муки и 2% известняка с содержанием влаги около 14%. Культуру добавляют на уровне приблизительно 10^6 КОЕ/г корма и перемешивают. Десятифунтовые аликвоты хранят в запаянных мешках при 20 °C и исследуют еженедельно в течение 16 недель. Антибиотики включают в рацион при следующих содержаниях:

Баситрацин метилен дисалицилат 50 г/тонна

- Карбадокс 50 г/тонна
- Хлортетрациклин 200 г/тонна
- Лазалоцид 30 г/тонна
- Линкомицин 100 г/тонна
- Неомицин 140 г/тонна
- Окситетрациклин 150 г/тонна
- Сульфаметазин 100 г/тонна
- Тилозин 100 г/тонна
- Виргиниамин 20 г/тонна
- ASP250 100 г/тонна
- Фурадокс 10 г/тонна

Табл. 1 представляет собой перечень минимальных времен для 1 log потерь в колоние-образующих единицах (КОЕ).

Пример 4.

В примере 4 определяют стабильность продукта после гранулирования при использовании его в качестве кормового продукта для цыплят. Условия образования микросфер были такими, как описано ранее. Условия, используемые в этом исследовании, были следующими:

- Сырой протеин, не менее чем 18,0%
- Сырой жир, не менее чем 5,0%
- Сырое волокно, не более чем 6,0%

Гранулы, содержащие и не содержащие антибиотик (СТС 50 г/тонна), изготавливают со следующими ингредиентами и при следующих условиях.

Зерно, SBM, сыворотка, соевое масло, дикальций фосфат, известняк, следы минерального премикса, витаминный премикс, селен, сульфат меди. Культуру добавляют при приблизительно $5 \cdot 10^5$ КОЕ/г корма.

Температура кондиционирования составляла 70 °C, и гранулы вынимали из красителя при температуре 78 °C.

Гранулы хранили в незаплавленных мешках и анализировали еженедельно на КОЕ определение.

В каждом примере на стабильность гранулированного продукта не сказывалось вредного воздействия условий гранулирования. В частности, гранулированный продукт показывает стабильность, равную стабильности негранулированного продукта.

Пример 5.

Четыре тысячи пятьсот шестьдесят одностеблевых Peterson x Arbor Acres бройлерных цыплят произвольно размещают в загон с полом (табл. 2) со сменяемой подстилкой и кормят в течение 45 дней. Всех птиц, погибающих в течение 5 дней, заменяют птицами того же самого пола из той же самой партии и той же самой обработки. Композиции рационов начального рациона (стартер), ростового рациона (гроуер) и рациона на стадии отбора (забор) представлены в табл. 3. Рационы стартера, гроуера и забора формулируют так, что они содержат 1425, 1450 и 1475 ккал МЭ/фунт, соответственно 90 г/тонна монесина. Рационы стартера вводят в возрасте с 1 по 21 день, рационы гроуера вводят в возрасте с 21 по 42 день, рационы отбора вводят в возрасте с 42 по 49 день. Обработки представляли собой отрицательный контроль, кормовая смесь (мешанка) (контроль, М); выбранные, инкапсулированные культуры пробиотика, содержащие *Enterococcus faecium* 301, DSM N DSM-Nr. 4789 и *Enterococcus faecium* 202,

DSM N DSM-Nr. 4788, каждая инкапсулирована с жирной кислотой с помощью роторного диска, как описано в примере 1, и каждая присутствует в виде 50% пробиотика, применяемого при $1 \cdot 10^5$ КОЕ/г корма-мешанки (пробиотик, М); отрицательный контроль, гранулированный (контроль, Р); пробиотик, применяемый при $1 \cdot 10^6$ КОЕ/г мешанки, гранулированный (пробиотик, Р); и положительный контроль, применяемый при 10 г/тонна виргиниамидина, гранулированный (Stafac^R 10). Рацион стартера дробят перед гранулированием. Двенадцать одинаковых загонов с 35 самцами и 35 самками используют для каждого экспериментального рациона.

После первых 5 дней регистрируют все тела, расход корма, смертность на загон. Для каждого загона рассчитывают превращение корма, стандартизированное превращение корма и превращение корма, отнесенное к весу тела.

Все результаты подвергают дисперсионному анализу и разности определяют, используя Fisher LSD.

До исследования в концентрат культуры пробиотика вводят карбонат кальция. Теоретические количества для пробиотика, М и пробиотика, Р составляют $1 \cdot 10^8$ и $2 \cdot 10^9$ КОЕ/г продукта, соответственно 11 г пробы каждого продукта анализируют дважды, чтобы определить действительное количество продукта. Каждую пробу высевают на чашке, используя стандартную Pioneer технику посева на чашках для инкапсулированных бактерий молочной кислоты.

Смешанный тест проводят для каждой фазы производства. Испытание осуществляют так, чтобы гарантировать равномерное распределение пробиотика при соответствующих уровнях в корме, и так, чтобы он не потерял жизнеспособность при гранулировании. На каждой партии отбирают образцы во время упаковки в пакеты, 4 равномерно расположенных образца для обработок мешанкой и 10 равномерно расположенных образцов для обработок гранулированным (т.е. мешки 1,3,5, 35,37 и 39).

Альтернативно из этажных кормушек для птиц во время обработки отбирают пробы незагрязненного корма в течение недель 1 и 4; из остающихся загонов отбирают пробы на 2 и 6 неделе во время изучения кормления.

Одинаковое число птиц разного пола забивают для индивидуального определения грудинной части, веса тела, веса и длины тонкой кишки. Для каждой птицы рассчитывают выход грудинной части и отношение веса и длины кишечника.

Все данные подвергают split plot анализу варiances, и разности определяют, используя контраст и оценку состояния для требуемых результатов.

Шестьдесят птиц на обработку отсылают в университет для органолептической оценки.

Пробиотик независимо от обработки повышает ($P < 0,05$) превращение корма по сравнению с существующим контролем при увеличении ($P < 0,05$) прироста веса по сравнению с контролем только в случае корма-мешанки (табл. 4). Пробиотик Р повышает ($P > 0,05$) превращение корма по

сравнению с Stafac^R 10, который действует аналогично ($P > 0,05$) контролю, Р.

Продукт имеет необходимый уровень и состав штаммов (табл. 5).

5 Пробиотик равномерно распределен в корме. Пробиотик, М имеет необходимый уровень, в то время как пробиотик, Р имеет уровень на 1 до 1-1/2 log выше, чем необходимо для рационов стартера и гроуера (табл. 6). Высокие количества для 10 пробиотика, Р являются результатом перестройки продукта, которая обеспечивает достаточное регенерирование организмов после гранулирования.

15 Образцы пробиотика, Р для загона с полом близко соответствуют по количествам образцам из смешанных тестов. Однако пробиотик, М падает на 1 log через 4 и 6 недель в смесях гроуера и отбора.

20 Пробиотик, М увеличивает ($P < 0,05$) как вес, так и выход грудинной части по сравнению с контролем, М (табл. 8), в то время как пробиотик, Р демонстрирует повышение ($P > 0,05$) по сравнению с контролем, Р. Повышение при корме мешанкой согласуется с результатами, обнаруженными в более раннем испытании. Пробиотик, Р не показывает аналогичной величины 25 повышения выхода грудинной части, которое наблюдается для пробиотика, М. Эта неудача может быть обусловлена повышенной утилизацией энергии при гранулировании, приводящей в результате к меньшим 30 возможностям улучшения.

Гранулирование увеличивает средний вес 35 птиц на 96 г по сравнению с мешанкой. Пробиотик повышает однородность веса птиц (рис. 5), причем наибольшее повышение получают при кормлении мешанкой.

35 Гранулирование повышает средний вес грудинной части на 15 г по сравнению с мешанкой. Пробиотик увеличивает средний вес и однородность грудинной части (рис. 4) по сравнению с контролем, причем 40 наибольшее повышение найдено в случае мешанки. Stafac^R 10 демонстрирует наибольшее повышение однородности для гранулированных кормов.

45 Гранулирование увеличивает выход грудинной части на 0,53% по сравнению с мешанкой. Пробиотик, М демонстрирует 0,84%-ное увеличение по сравнению с контролем М, которое аналогично по величине реакции на гранулирование.

50 Обработки пробиотиками приводят к более короткой ($P > 0,05$) длине тонкой кишки, чем в любом из контролей и stafac^R при выражении в виде действительной длины, отношения либо веса тела, либо веса грудинной части (табл. 9). Пробиотик, М имеет более легкий ($P > 0,05$) вес тонкой кишки, чем контроль, М при выражении в виде действительного веса либо 55 процента от либо веса тела, либо веса грудинной части. Уменьшение веса и длины кишечника при обработках пробиотиком наводит на мысль, что требуется меньше энергии для содержания и больше энергии, доступной для роста, как показано с помощью 60 повышенного выхода грудинной части (табл. 7 8).

Птицы, обработанные пробиотиком, Р, не имеют запаха по сравнению с птицами, обработанными stafac^R 10 (табл. 10). Во втором испытании, как было замечено,

пробиотик, Р придает повышенный запах бедро/ноге по сравнению с контролем, Р. Однако, это усиление запаха не наблюдают в первом испытании.

Формула изобретения:

1. Способ стимулирования роста домашней птицы, предусматривающий добавление к нормальному рациону пищи пробиотика, отличающийся тем, что пробиотик представляет собой смесь из жирнокислотных микросфер жизнеспособных бактерий штаммов *Enterococcus faecium* 301, ATCC N 55059 и *Enterococcus faecium* 202, ATCC N 53519, сформированных с помощью роторного диска.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная жирная кислота представляет собой стеариновую кислоту.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что пробиотик, состоит из около 30 - 70% одной из указанных жирнокислотных микросфер с балансом, приходящимся на другую.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что каждый из указанных энтерококков присутствует в приблизительно равных количествах.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что количество пробиотика, добавляемого к кормовому рациону, составляет около 0,23 9 кг на тонну корма.

5 6. Способ по п.5, отличающийся тем, что количество пробиотика, добавляемого к кормовому рациону, составляет около 0,36 0,54 кг на тонну корма.

10 7. Препарат на основе пробиотика, отличающийся тем, что пробиотик представляет собой жирнокислотную микросферу жизнеспособных бактерий штаммов *Enterococcus faecium* 301, ATCC N 55059 и *Enterococcus faecium* 202, ATCC N 53519.

15 8. Препарат по п.7, отличающийся тем, что пробиотик содержит около 30 - 70% одной из указанных жирнокислотных микросфер с балансом, приходящимся на другую.

20 9. Препарат по п.8, отличающийся тем, что каждый из указанных энтерококков присутствует в приблизительно равных количествах.

10. Препарат по п.7, отличающийся тем, что микросфера содержит около 60

75% стеариновой кислоты с балластом, приходящимся на энтерококк.

25

30

35

40

45

50

55

60

Т а б л и ц а 1

Время в неделях для потери 1 Iod КОЕ количества при 20 С
в кормовой смеси при 14% влаги.

Антибиотик	Время хранения (дни)
Контроль	103
Баситрацин	88
Карбадокс	54
Хлортетрациклин	60
Лазалоцид	57
Линкомицин	75
Неомицин	53
Окситетрациклин	59
Сульфаметазин	62
Типозин	52
Виргиниамицин	112
ASP250	67
Фурадокс	53

Т а б л и ц а 2

Предназначение загонов

Обработки	Номера загонов
Контроль, Р	2, 6, 15, 17, 22, 26, 104, 109, 113, 117, 122, 126
Пробиотик, Р	4, 8, 12, 16, 21, 28, 105, 106, 112, 118, 125, 130
Stafac [®] 10	5, 7, 11, 18, 23, 27, 101, 107, 111, 116, 123, 129
Контроль, М	3, 9, 13, 20, 24, 30, 102, 108, 114, 119, 121, 127
Пробиотик, М	1, 10, 14, 19, 25, 29, 103, 110, 115, 120, 124, 128

* Размер загона 4,2' × 15,5', одна трубчатая кормушка, одна подвесная поилка, сосновая стружка для грязи, электричество и охлаждающая система испарительного типа и хорошо изолированный, вентиляторный воздухонагреватель, фартук на задней стороне строения.

Таблица 3

Состав основных рационов

Ингредиенты	Фазы производства		
	Стартер	Гроуер	Забор
	%		
Размельченное зерно	65,37	67,89	74,29
Соевая мука	25,58	23,53	17,83
Мясная и костная мука	3,00	3,00	3,00
Жир	3,36	3,32	2,59
Дефторированный фосфат	,95	,79	,73
Карбонат кальция	,51	,62	,63
Соль	,35	,31	,32
Следы минерала	,05	,05	,05
Метионин	,39	,28	,33
Лизин	,19	,06	,18
Витаминный премикс	,05	,05	,05

Таблица 4

Данные производства для газона с полом

	Гранула			Мешанка	
	Контроль	Innv*Из. Р	Stafac® 10	Контроль	Innv*Из. Р
Вес, фунт	4,79 ^a	4,81 ^a	4,79 ^a	4,54 ^b	4,68 ^a
Превращение корма	1,871 ^b	1,827 ^a	1,855 ^{ab}	1,917 ^c	1,856 ^{ab}
Стандарт. превращ. корма ¹	1,832 ^b	1,789 ^a	1,807 ^{ab}	1,887 ^c	1,812 ^{ab}
Вес, станд. превр. корма ²	1,801 ^b	1,755 ^a	1,775 ^{ab}	1,897 ^c	1,798 ^b
Смертность, %	4,40	4,64	5,95	3,33	5,60

¹ Станд. превращение корма = общий корм/(живой + мертвый вес).

² Весовое станд. превращение корма = Станд. превращение корма - ((вес-4,60)/6).

^{abc} P < 0,05

* Из. = Изобретение

Таблица 5

Продукт ОСи QA

Обработки	ОС ¹ Количество	QA ² колич.	Отношение штаммов
	кое/г продукта		SF202 : SF301
Пробиотик, Р	$5,75 \times 10^8$	$1,01 \times 10^8$	50 : 50
Пробиотик, М	$9,54 \times 10^7$	$9,60 \times 10^7$	57 : 43

1. гарантированный контроль

2. гарантированное качество

Т а б л и ц а 6

Смеси, полученные на кормодробилке; испытание и регенерация

Фазы производства и обработки	Мешанка	Гранула	Регенерация ¹
	КОЕ/г корма		% мешанки
Стартер	Na ²	$1,06 \times 10^3$	-
Контроль, Р	$2,02 \times 10^5$	$1,67 \times 10^6$	98,69
Пробиотик, Р	Na	$6,46 \times 10^3$	-
Stafac ^R 10	$2,51 \times 10^3$		
Контроль, М	$1,34 \times 10^5$		
Пробиотик, М			
Гроуер	Na	$4,86 \times 10^2$	-
Контроль, Р	$3,89 \times 10^6$	$1,09 \times 10^6$	91,62
Пробиотик, Р	$5,25 \times 10^4$	$6,42 \times 10^3$	-
Stafac ^R 10	$1,00 \times 10^7$		
Контроль, М	$1,48 \times 10^5$		
Пробиотик, М			
Забор	$8,50 \times 10^2$	$1,11 \times 10^3$	-
Контроль, Р	$7,04 \times 10^4$	$4,91 \times 10^5$	117,40
Пробиотик, Р	$8,80 \times 10^3$	$1,79 \times 10^4$	-
Stafac ^R 10	$8,92 \times 10^2$		
Контроль, М	$1,33 \times 10^5$		
Пробиотик, М			
Среднее	$8,50 \times 10^2$	$8,28 \times 10^2$	-
Контроль, Р	$8,21 \times 10^5$	$9,64 \times 10^6$	118,09
Пробиотик, Р	$2,15 \times 10^4$	$9,05 \times 10^3$	-
Stafac ^R 10	$8,72 \times 10^2$		
Контроль, М	$1,38 \times 10^5$		
Пробиотик, М			

¹ Регенерация рассчитана из $\log_{10}$ трансформированных данных² НП означает не пригодный

Т а б л и ц а 7

Загон с полос, ГК

Обработки	Недели				Среднее
	1	2	4	6	
	КОЕ/г корма				
Контроль, Р	$3,78 \times 10^2$	$3,83 \times 10^2$	$8,60 \times 10^2$	$2,21 \times 10^2$	$4,08 \times 10^2$
Пробиотик, Р	$9,23 \times 10^5$	$9,37 \times 10^5$	$8,77 \times 10^5$	$8,48 \times 10^5$	$8,96 \times 10^5$
Stafac ^R 10	$8,73 \times 10^2$	$1,29 \times 10^2$	$6,46 \times 10^2$	$8,63 \times 10^2$	$8,89 \times 10^2$
Контроль, М	$3,46 \times 10^2$	$1,26 \times 10^2$	$2,79 \times 10^3$	$2,00 \times 10^2$	$5,08 \times 10^2$
Пробиотик, М	$1,43 \times 10^5$	$1,25 \times 10^5$	$1,75 \times 10^3$	$1,00 \times 10^3$	$2,32 \times 10^4$

Таблица 8

Оценка выхода грудинки

	Гранула			Мешанка	
	Контроль	Innv *Из. Р	Stafac [®] 10	Контроль	Innv *Из. Р
Вес тела, г	2240,7	2230,1	2195,9	2143,8	2149,9
Вес грудинки, г	234,4 ^a	239,6 ^a	232,0 ^a	213,3 ^b	229,6 ^a
Выход грудинки, % веса тела	10,51 ^a	10,68 ^a	10,58 ^a	9,93 ^b	10,67 ^a

^{ab} P < 0,05

* Из. = Изобретение

Таблица 9

Вес и длина кишечника

	Гранула			Мешанка	
	Контроль	Innv *Из. Р	Stafac [®] 10	Контроль	Innv *Из. Р
Вес тела, г	2240,7	2230,1	2195,9	2143,8	2149,9
Вес грудинки, г	234,4 ^a	239,6 ^a	232,0 ^a	213,3 ^b	229,6 ^a
ТК вес, г	92,6	93,3	93,4	91,4	87,4
ТК длина, дюйм	76,3	75,3	76,6	76,1	75,3
ТК, г/дюйм	1,21	1,23	1,22	1,20	1,16
ТК вес, г/100 г веса тела	4,17	4,18	4,27	4,29	4,08
ТК длина, дюйм/100 г веса тела	3,47	3,40	3,53	3,61	3,53
ТК вес, г/100 г веса грудинки	40,19	39,70	40,97	43,96	38,69
ТК длина, дюйм/100 г веса грудинки	33,41 ^a	32,27 ^a	33,72 ^a	39,89 ^b	33,41 ^a

^{ab} P < 0,05

*Из. = Изобретение

ТК = тонкая кишка

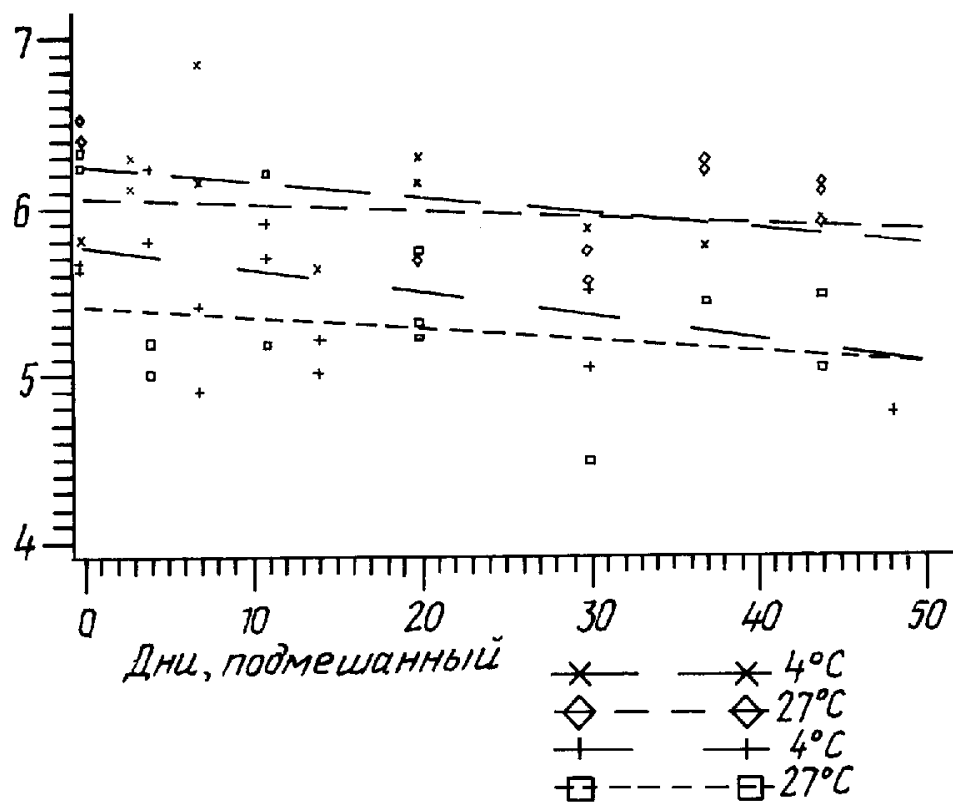
Таблица 10

Органолептическая оценка

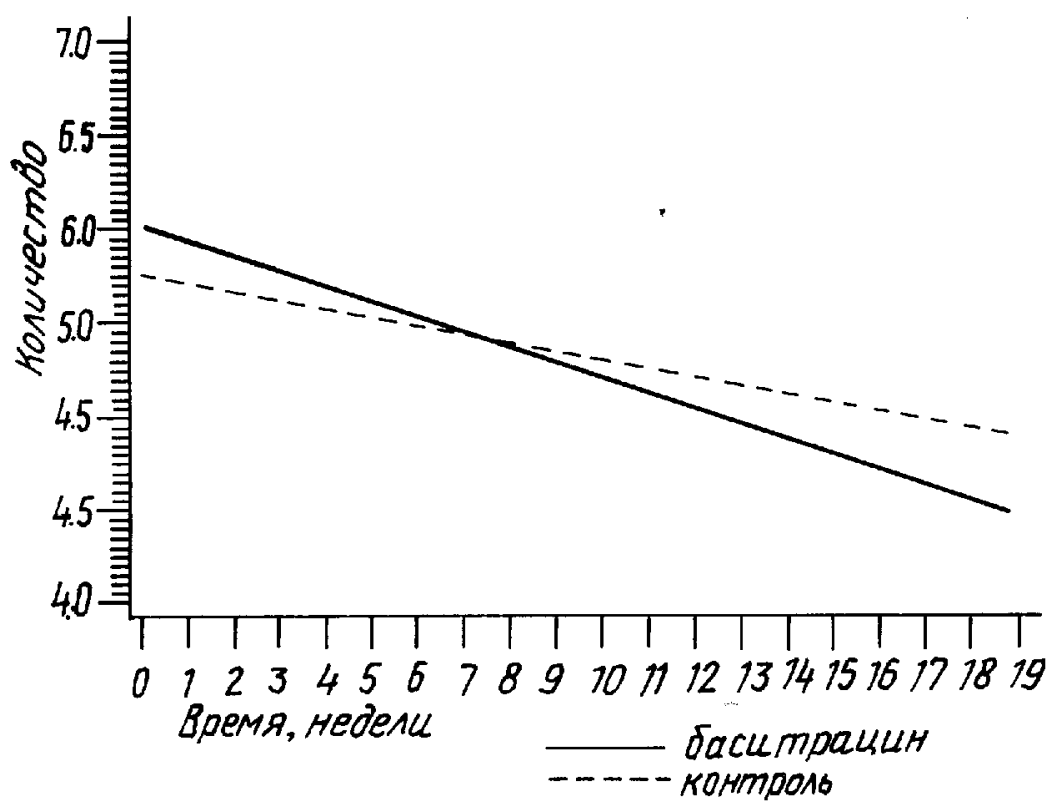
Ткань	Группа сравнения	Число правильных идентификаций ¹		
		Опыт 1	Опыт 2	Комбинирован.
бедро/нога	Stafac [®] 10 против Контроль, Р	6	3	9
	Stafac [®] 10 против X1NOC, Р	3	4	7
	Пробиотик, Р против Контроль, Р	2	8*	10
грудинка	Stafac [®] 10 против Контроль, Р	2	6	8
	Stafac [®] 10 против X1NOC, Р	1	3	4
	Пробиотик, Р против Контроль, Р	5	4	9

* Оценщики способны определять разрозненную выборку со статическим значения (P < 0,05) число раз.

¹ Число правильных идентификаций разрозненной выборки, требуемой для достоверности при 5% уровне, составляло 7 для n = 10 и 11 для n = 20.



Фиг.2



Фиг.3

