

19



Bureau voor de
Industriële Eigendom
Nederland

11 1005352

12 C OCTROOI²⁰

21 Aanvraag om octrooi: 1005352

51 Int.Cl.⁶
C12P1/04, A01K61/00

22 Ingediend: 24.02.97

41 Ingeschreven:
26.08.98

47 Dagtekening:
26.08.98

45 Uitgegeven:
02.11.98 I.E. 98/11

73 Octrooihouder(s):
Araya Corporation te Komatsu, Japan (JP).

72 Uitvinder(s):
Akihisa Matsuura te Komatsu(JP)

74 Gemachtigde:
Mr. G.L. Kooy c.s. te 2514 BB Den Haag.

54 Fysiologisch werkzaam middel voor vissen en voeradditief voor het kweken van vissen.

57 Er wordt een fysiologisch werkzaam middel voor vissen verschaft omvattende de metaboliëten van groene zwavelbacteriën als effectief bestanddeel. Het fysiologisch actieve middel dat eenvoudig kan worden bereid door het in grote hoeveelheden kweken van groene zwavelbacteriën vertoont een uitstekende efficiëntie als voeradditief en kan gedurende een lange tijd worden bewaard en is dus economisch.

NL C 1005352

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekeningen.

Fysiologisch werkzaam middel voor vissen en
voeradditief voor het kweken van vissen

5

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op fysiologisch werkzame middelen voor vissen en voeradditieven voor het kweken van vissen.

10 Groene zwavelbacteriën zijn gebruikt voor de ontwikkeling van voeradditieven voor het kweken van vissen zoals paling, modderkruiper, "sweetfish", bot, rode zeebrasem en garnaal en, in het bijzonder, voor de jongen daarvan. Deze voeradditieven bleken effectief te zijn bij het vergroten van de effectiviteit van het voer.

15 Wanneer de groene zwavelbacteriën zelf worden toegevoegd, kunnen deze voeradditieven echter afgebroken worden door de eiwitten in de groene zwavelbacteriën, wat na 2 of 3 maanden resulteert in achteruitgang van deze additieven. Met het oog op het voorgaande was het gewenst
20 andere fysiologisch werkzame middelen te vinden voor vissen en voeradditieven voor het kweken van vissen die gedurende lange tijd bewaard kunnen blijven door de oorzaak van de afbraak weg te nemen.

Om de hiervoor beschreven problemen te ondervan-
25 gen, heeft de uitvinder van de onderhavige uitvinding intensief onderzoek gedaan naar de metaboliet van groene zwavelbacteriën en gevonden dat de metaboliet van groene zwavelbacteriën een effectief bestanddeel bevat voor het bevorderen van de groei van vissen dat effectiever is dan
30 groene zwavelbacteriën zelf die een effectief bestanddeel bevatten, en tevens een werkwijze gevonden voor het verkrijgen van fysiologisch werkzame middelen voor vissen en voeradditieven voor het kweken van vissen door dit effectieve bestanddeel te extraheren. Volgens de onderhavige
35 uitvinding wordt voorzien in een fysiologisch werkzaam middel voor vissen en een voeradditief voor het kweken van vissen dat gemakkelijk in grote hoeveelheden kan worden

geproduceerd en dat een uitstekende efficiëntie als voeradditief heeft en gedurende zeer lange tijd kan worden bewaard en dus zeer economisch is.

De onderhavige uitvinding voorziet dus in een
5 fysiologisch werkzaam middel voor vissen, dat de metabolië van groene zwavelbacteriën als effectief bestanddeel omvat.

De onderhavige uitvinding voorziet ook in een voeradditief voor het kweken van vissen, omvattende het hiervoor genoemde fysiologisch werkzame middel.

10 Het is daarom een doel van de onderhavige uitvinding te voorzien in een fysiologisch werkzaam middel voor vissen dat de metabolië van groene zwavelbacteriën als effectief bestanddeel omvat.

15 Figuur 1 toont de relatie tussen de gewichtstoename en het aantal testdagen.

De metabolië van groene zwavelbacteriën kan als volgt worden verkregen.

De bacteriën worden verwijderd door de kweekoplossing die de groene zwavelbacteriën bevat, te filtreren,
20 waarbij een filtraat wordt verkregen dat alleen de metabolië van groene zwavelbacteriën en bestanddelen uit het kweekmedium bevat en voorts de bestanddelen van het kweekmedium in de vorm van zouten en dergelijke te verwijderen, waardoor de metabolië kan worden verkregen.

25 Eén van de redenen voor het verwijderen van de bestanddelen van het kweekmedium is dat bij drogen, bijvoorbeeld vriesdrogen, er zouten van de bestanddelen van het kweekmedium ontstaan waardoor de opbrengst aan effectieve bestanddelen laag wordt. Een andere reden is dat de
30 bestanddelen van het kweekmedium geen bestanddelen omvatten die fysiologisch werkzaam zijn voor vissen.

Voorbeelden van de werkwijzen omvatten een werkwijze voor het verwijderen van alleen bestanddelen van het kweekmedium met een laag molecuulgewicht door middel van
35 een omgekeerde-osmosemembraan of ultrafiltratiemembraan. Deze werkwijzen zijn effectief omdat wordt aangenomen dat de bestanddelen van de metabolië die effectief zijn voor

het bevorderen van de groei een gemiddeld molecuulgewicht van 200 of meer hebben. De onderhavige uitvinding is echter niet beperkt tot deze werkwijzen. De tijdsperiode die noodzakelijk is voor het kweken van de groene zwavelbacteriën volgens de onderhavige uitvinding is kort. Kenmerkend vermenigvuldigen de groene zwavelbacteriën zich binnen 24 uur tot een hoge concentratie groter dan 10^9 /ml. Het kweekmedium voor de groene zwavelbacteriën is minder duur en de massaproductie ervan is eenvoudig en goedkoop. De groene zwavelbacteriën kunnen stabiel worden gekweekt zonder dat men bang hoeft te zijn voor de groei van ongewenste micro-organismen zelfs indien voor het kweken de sterilisatie- en ontsmettingsbewerkingen worden weggelaten. De groene zwavelbacteriën veroorzaken voorts geen verslechtering van inname of giftigheid voor de vissen, maar blijken daarentegen een aanzienlijke verbetering van de inname en groei te geven.

Uit het voorgaande blijkt dat het kweekmedium voor de groene zwavelbacteriën het meest geschikt is als voeradditief voor vissen. Zelfs indien de metaboliëten van de groene zwavelbacteriën wordt gescheiden en geëxtraheerd en wordt toegevoegd als voeradditief, is de metaboliëten effectief en kan hij gedurende lange tijd bewaard worden.

In het algemeen zijn de groene zwavelbacteriën groene fotosynthetische bacteriën die anaeroob fotosynthese ondergaan met behulp van waterstofsulfide, colloidaal zwavel, thiosulfaten en moleculaire waterstof als elektronendonoren en die alleen door fotosynthese kunnen leven zonder dat daarbij groeifactor noodzakelijk is. De groene zwavelbacteriën hebben een fotosynthesesysteem in een onafhankelijke blaasjesachtige structuur binnen iedere cel, welk systeem een kleine hoeveelheid bacteriochlorofyl alsmede chlorobiumchlorofyl bevat. Tussen deze twee pigmenten treedt energieoverdracht op. De groene zwavelbacteriën die behoren tot Chlorobium ondergaan onder zodanige omstandigheden assimilatie zodat naast H_2S een kleine hoeveelheid azijnzuur aanwezig is.

Uit de onderhavige uitvinding blijkt dat de
metaboliet van de groene zwavelbacteriën effectiever is dan
de groene zwavelbacteriën zelf, waarbij tegelijkertijd
wordt aangetoond dat de groene zwavelbacteriën, wanneer ze
5 worden gebruikt als fysiologisch werkzaam middel, aanzien-
lijk bijdragen aan de verbetering van de innamecapaciteit
van de vissen waardoor de voerefficiëntie wordt verbeterd.

Voorbeelden van groene zwavelbacteriën volgens de
onderhavige uitvinding omvatten *Chlorobium limicola* (DSM
10 245), *Chlorobium vibrioforme* (DSM 260), *Chlorobium phaeo-*
bacteroides (DSM 266), *Chlorobium phaeovibrioides* (DSM
269), *Prosthecochloris aestualii* (DSM 271), *Chlorobium*
tepidum (ATCC 49652), *Pelodictyon luteolum* (DSM 273),
Pelodictyon phaeum (DSM 728) en andere groene zwavelbacte-
15 riën die kunstmatig kunnen worden gekweekt. Bijzonder de
voorkeur hebben groene zwavelbacteriën die behoren tot het
genus *Chlorobium* omdat zij geschikt zijn om in grote
hoeveelheden gekweekt te worden.

De temperatuur en pH voor het kweekmedium variëren
20 afhankelijk van de soort groene zwavelbacteriën en hun
favoriete groeiomstandigheden. De basisomstandigheden voor
een kweekmedium voor de groene bacteriën dat de voorkeur
heeft, bestaan uit een kweekmedium dat zodanig is bereid
dat de pH ervan enigszins zuur is (kenmerkend een pH gebied
25 van ongeveer 7,5 tot ongeveer 6,3) en de belichting op het
oppervlak van een kweekvat wordt op niet lager dan 2000 Lux
ingesteld. Bij voorkeur wordt het kweken onder perfect
anaerobe omstandigheden uitgevoerd bij een temperatuur
tussen ongeveer 20°C en ongeveer 30°C waarbij het kweekme-
30 dium natriumacetaat als organisch bestanddeel bevat in een
concentratie van ongeveer 0,05%.

Voorbeelden van voer voor het kweken van vissen
omvatten rauw voer, zoals krill en specifiek voer dat
vismeel, zetmeel of iets dergelijks bevat als het belang-
35 rijkste ingrediënt en een verdikkingsmiddel, vitaminen,
mineralen en dergelijke als additieven bevat. Het voer
wordt in het algemeen bij de vissen gevoegd in de vorm van

pasta of tabletten. Wanneer het kweekmedium dat de metabo-
liet van de groene zwavelbacteriën bevat en dat is gefil-
treerd voor het verwijderen van de bacteriën zelf, of
kweekmedia die de bacteriën zelf bevatten of mengsels
5 daarvan, worden toegevoegd aan het voer als voeradditief
voor vissen, wordt het kweekmedium dat de groene zwavelbac-
teriën bevat of de bacteriën zelf, verdund met water of
niet verdund, en vervolgens toegevoegd aan en gemengd met
de voerpasta. De voertabletten kunnen worden geïmpregneerd
10 met de kweekmediumoplossing.

Het toepassen van de groene zwavelbacteriën die
worden gebruikt bij de onderhavige uitvinding is niet
beperkt tot voeradditief voor het kweken van vissen. De
groene zwavelbacteriën of de metaboliet daarvan, die
15 vitaminen, mineralen, aminozuren en dergelijke bevatten,
kunnen ook gebruikt worden als voedingsstof. Kort gezegd
kunnen de groene zwavelbacteriën of de metaboliet daarvan
effectief worden toegepast als fysiologisch werkzaam middel
voor vissen.

20 De hoeveelheid groene zwavelbacteriën die wordt
toegevoegd aan het voer is bij voorkeur ongeveer 0,1 gew.%,
indien deze wordt gebruikt in gedroogde vorm. Indien het
kweekmedium dat de groene zwavelbacteriën bevat, wordt
gebruikt is de hoeveelheid van de mediumoplossing die moet
25 worden toegevoegd aan het voer bij voorkeur ongeveer 1 tot
ongeveer 50%, afhankelijk van de concentratie bacteriën in
de mediumoplossing. Een lager gehalte bacteriën resulteert
in weinig verbetering in de inname. Indien de hoeveelheid
bacteriën groter is dan de bovengenoemde waarde kan geen
30 extra effect worden verwacht.

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een
fysiologisch werkzaam middel voor vissen, omvattende de
groene zwavelbacteriën en de metaboliet daarvan als effec-
tieve bestanddelen. Het voer dat het fysiologisch werkzame
35 middel als voeradditief voor het kweken van vissen bevat,
verbetert de groeiversnelling aanzienlijk. De groene
zwavelbacteriën vermenigvuldigen zich binnen 24 uur tot een

hoge concentratie groter dan 10^9 /ml, wat zeer hoog is vergeleken met andere bacteriën.

De metaboliet van de groene zwavelbacteriën is minder duur en de massaproductie ervan is eenvoudig en economisch. De groene zwavelbacteriën kunnen stabiel worden gekweekt zonder dat er moet worden gevreesd voor de groei van ongewenste microörganismen, zelfs indien tijdens de stap voor het kweken niet wordt gesteriliseerd en ontsmet. Bovendien veroorzaken de groene zwavelbacteriën geen afname van inname of giftigheid voor vissen, maar blijken zij een aanzienlijke verbetering te geven van de inname en de groeiverbetering. Wanneer de groene zwavelbacteriën echter blijven staan, kunnen zij afgebroken worden en binnen 2 of 3 maanden verslechteren, zelfs indien ze zijn bewaard bij 4 °C of lager. Daarom wordt alleen de metaboliet afgescheiden door filtreren met behulp van een membraanfilter van 0,2 μ m waardoor de oorzaak van de afbraak, te weten de bacteriën zelf, wordt weggenomen zodat ze gedurende lange tijd bewaard kunnen blijven.

Met het oog op conservering, hebben een fysiologisch werkzaam middel voor vissen en een voeradditief voor het kweken van vissen die de metaboliet van groene zwavelbacteriën als effectief bestanddeel omvatten, bij de onderhavige uitvinding de voorkeur.

Aan de andere kant kan, zonder conservering te beschouwen, zonder risico gezegd worden dat een fysiologisch werkzaam middel voor vissen en een voeradditief voor het kweken van vissen de bacteriën zelf of een kweekmedium dat de groene zwavelbacteriën bevat als effectief bestanddeel daarvan, kan omvatten, zonder de metaboliet te scheiden van de groene zwavelbacteriën.

Wanneer een fysiologisch werkzaam middel voor vissen en een voeradditief voor het kweken van vissen de metaboliet van groene zwavelbacteriën en de bacteriën zelf bevatten als effectieve bestanddelen kunnen zij de opbrengsten meer verbeteren dan wanneer zij alleen de metaboliet van groene zwavelbacteriën bevatten en kunnen zij een

synergistische werking van de fysiologische activiteit vertonen.

Voorbeeld 1 en 2

Vijf reservoirs van 30 cm x 30 cm werden gevuld
5 met water. Vervolgens werden in elk reservoir 15 goudvissen
geplaatst en gekweekt tot een totaalgewicht van 77,0 g.

Voor een vergelijkingstest werd voer voor goudvis-
sen (ANGEL FLOAT (merknaam) verkrijgbaar bij NIPPON PET
FOODS Co.) in het reservoir gebracht.

10 Voor voorbeeld 1 werden voer en kweekmediumoplos-
sing die gefiltreerd *Chlorobium limicola* (niet de bacteriën
zelf) bevatten elk in een hoeveelheid van ongeveer 5% van
het gewicht van de goudvissen in één dag in het reservoir
gebracht. De concentratie kweekmediumoplossing was ongeveer
15 4 gew.% ten opzichte van het totale gewicht van het goud-
vissenvoer.

Er werden vijf testgroepen bereid:

(a) een groep waaraan werd toegevoegd: voer en
ongeveer 4%, ten opzichte van het totale gewicht van het
20 goudvissenvoer, kweekmediumoplossing die gefiltreerd
Chlorobium libicola (niet de bacteriën zelf) bevatte (voor
voorbeeld 1).

(b) een groep waaraan alleen goudvissenvoer werd
toegevoegd (ter vergelijking).

25 (c) een groep waaraan werd toegevoegd: voer en
ongeveer 4%, ten opzichte van het totale gewicht van het
goudvissenvoer, kweekmediumoplossing die *Chlorobium limico-*
la bevatte (ook de bacteriën zelf) (voor voorbeeld 2).

(d) een groep waaraan werd toegevoegd: voer en de
30 bacteriën zelf die waren gefiltreerd en gereinigd door
middel van een 0,2 μ m membraanfilter uit de zelfde hoeveel-
heid kweekmediumoplossing als voorbeeld 2. (voor vergelij-
kend voorbeeld 1).

(e) een groep waaraan werd toegevoegd: voer en
35 ongeveer 4% kweekmedium voor de groene zwavelbacteriën
zoals hiervoor (voor vergelijkend voorbeeld 2).

De volgende tabel 1 toont het gewicht na de test.

Tabel 1

Totaalgewicht

	Vb. 1	Con- trole	Vb. 2	Verg. Vb. 1	Verg. Vb. 2
Begingewicht	77,0	77,0	77,0	77,0	77,0
5 Gewicht na 5 dagen	89,2	82,1	91,5	84,3	81,6
Gewicht na 10 dagen	100,1	88,9	102,1	91,4	87,4
Gewicht na 15 dagen	110,9	98,7	113,3	100,7	96,9

De groei in vergelijkend voorbeeld 1 was iets
 10 beter dan de groei in de controletest maar de groei in
 zowel voorbeeld 1 als voorbeeld 2 was aanzienlijk verbe-
 terd.

Er werd gevonden dat het cultuurmedium geen effect
 had omdat de groei in vergelijkend voorbeeld 2 slecht was
 15 vergeleken met de groei in de controletest.

De volgende tabel 2 toont het gewichtstoename
 tijdens de test.

Tabel 2

	Vb. 1	Con- trole	Vb. 2	Verg. Vb. 1	Verg. Vb. 1
20 Begin gewichtstoename	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Gewichtstoename na 5 dagen	12,2	5,1	14,5	7,3	4,6
Gewichtstoename na 10 dagen	23,1	11,9	25,1	14,4	10,4
Gewichtstoename na 15 dagen	33,9	21,7	36,3	23,7	19,9

25 Tabel 2 vergelijkt de gewichtstoename [(het totale
 gewicht na n dagen) - (het totale begingewicht 77,0 g)].
 Deze tabel toont de gewichtstoename van voorbeeld 1 en
 voorbeeld 2.

30 Figuur 1 toont de relatie tussen de gewichtstoena-
 me en het aantal testdagen gebaseerd op tabel 2.

Voorbeeld 3 en 4

Vier reservoirs van 75 cm x 45 cm x 45 cm werden
 gevuld met water. Vervolgens werden in elk van de contain-

ers 60 jonge zeebrasems gebracht (gemiddeld gewicht 0,2 g) en één maand gekweekt.

Voor een controletest werd voer voor rode zeebrasem in het reservoir gebracht.

5 Er werden vier testgroepen bereid:

(a) een groep waaraan alleen voer voor rode zeebrasem werd toegevoegd (controle).

(b) een groep waaraan voer werd toegevoegd waaraan 2%, ten opzichte van het totale gewicht van het voer voor rode zeebrasem, kweekmediumoplossing met *Chlorobium limicola* (waaronder de bacteriën zelf) bevatte (voorbeeld 3).

(c) een groep waaraan voer werd toegevoegd dat ongeveer 2%, ten opzichte van het totale gewicht van het voer voor rode zeebrasem, kweekmediumoplossing bevatte, die *Chlorobium limicola* gefiltreerd met een membraanfilter van 0,2 μm (zonder de bacteriën zelf) bevatte (voor voorbeeld 4).

(d) een groep waaraan voer werd toegevoegd dat alleen de bacteriën bevatte die waren gefiltreerd en gereinigd met een membraanfilter van 0,2 μm uit dezelfde hoeveelheid kweekmediumoplossing als voorbeeld 4 (voor vergelijkend voorbeeld 3).

Tabel 3 toont de voerefficiëntie en het overlevingspercentage.

25

Tabel 3

	Con- trole	Vb. 3	Vb. 4	Verg. Vb. 3
Begingewicht (g)	12,0	12,0	12,0	12,0
Gewicht na test (g)	264,0	300,0	289,0	266,0
Gewichtstoename (g)	252,0	288,0	277,0	254,0
30 Hoeveelheid voer (g)	239,0	239,0	239,0	239,0
Voerefficiëntie (%)	105,4	120,5	115,9	106,3
% Gewichtstoename	2200	2500	2408	2217
Aantal overlevende vissen na test	54	59	56	59
35 Overlevingspercentage (%)	90,0	98,3	93,3	98,3

Verklaring tabel 3:

1005352

Begingewicht: het totale gewicht (g) rode zeebrasem bij het begin van de test.

Gewicht na test: het totale gewicht (g) van de rode zeebrasem bij het einde van de test.

5 Gewichtstoename: $[(\text{gewicht na test}) - (\text{begingewicht})] \text{ (g)}.$

Hoeveelheid voer: de totale hoeveelheid (g) voer toegevoegd tijdens de test.

Voerefficiëntie: $[(\text{gewichtstoename})/(\text{hoeveelheid voer}) \times 100] \text{ (\%)}.$

10 Gewichtstoename: $[(\text{gewicht na test})/(\text{begingewicht}) \times 100] \text{ (\%)}.$

Overlevingspercentage: $[(\text{aantal overlevende vissen na test})/60 \times 100] \text{ (\%)}.$

15 Uit de resultaten blijkt dat de groei in voorbeeld 3 en voorbeeld 4 goed was. Het overlevingspercentage tijdens de test was 98,3% (voorbeeld 3), 93,3% (voorbeeld 4) en 98,3% (vergelijkend voorbeeld 3) vergeleken met 90,0% (controle) en de verbetering van het overlevingspercentage werd waargenomen.

20 In de voorbeelden werd *Chlorobium limicola* gebruikt als groene zwavelbacterie. De *Chlorobium limicola* werd gekweekt bij een temperatuur van 30°C met een belichting van 5000 Lux gedurende één dag in een kweekmedium met een pH van $6,8 \pm 0,2$ dat bevatte: 0,5 g dikaliumfosfaat, 25 0,5 g ammoniumsulfaat, 0,2 g magnesiumsulfaat, 0,05 g calciumchloride, 0,1 g natriumchloride, 1,0 g natriumbicarbonaat, 1,0 g natriumsulfide, 1,0 g natriumthiosulfaat, een sporehoeveelheid EDTA, een sporehoeveelheid EDTA-ijzerzout, een sporehoeveelheid EDTA-kobaltzout, een sporehoeveelheid 30 boorzuur, een sporehoeveelheid kopersulfaat, een sporehoeveelheid zinksulfaat, een sporehoeveelheid natriummolybdaat, een sporehoeveelheid nikkelchloride, een sporehoeveelheid mangaanchloride en 1000 ml water.

35 In de voorgaande voorbeelden worden goudvissen en jonge rode zeebrasems gebruikt maar de uitvinding is niet daartoe beperkt. De metaboliën van groene zwavelbacteriën veroorzaakt geen afname van de inname of giftigheid voor de

vissen maar verbetert juist de inname waardoor de groei van de vissen wordt bevorderd. Daarnaast is de tijd die nodig is om de groene zwavelbacteriën onder vantevoren bepaalde omstandigheden te kweken kort. Zelfs gefiltreerde kweekme-
 5 diumoplossing heeft een voldoende efficiëntie voor het bevorderen van de groei van vissen. Bovendien is het kweekmedium voor de groene zwavelbacterie minder duur en is de massaproductie van de bacteriën eenvoudig en economisch. Bovendien kunnen de groene zwavelbacteriën stabiel worden
 10 gekweekt zonder dat men bang hoeft te zijn voor de groei van ongewenste microorganismen zelfs wanneer voor het kweken niet wordt gesteriliseerd of ontsmet. De onderhavige uitvinding heeft dus deze voordelen. De onderhavige uitvin-
 ding is van toepassing op in het algemeen alle soorten
 15 vissen dat wil zeggen niet alleen zoetwatervissen maar ook zoutwatervissen.

De groene zwavelbacterie *Chlorobium limicola* (DSM 254) werd gebruikt in de voorbeelden en verbeterde de voerefficiëntie en de snelheid van gewichtstoename aanzien-
 20 lijk. Dienovereenkomstig kunnen *Chlorobium vibrioforme* (DSM 260), *Chlorobium phaeobacteroides* (DSM 266), *Chlorobium phaeovibrioides* (DSM 269), *Prosthecochloris aestualii* (DSM 271), *Chlorobium tepidum* (ATCC 49652), *Pelodictyon luteolum* (DSM 273) en *Pelodictyon phaeum* (DSM 728) de voereffi-
 25 ciëntie en de snelheid van gewichtstoename verbeteren.

Zoals blijkt uit het voorgaande voorziet de onderhavige uitvinding in een fysiologisch werkzaam middel voor vissen omvattende de metaboliet van groene zwavelbac-
 30 teriën als effectief bestanddeel. Het voer dat het fysiolo-
 gisch actieve middel als voeradditief voor het kweken van vissen bevat, verbetert de conservering en de groeibevorde-
 ring aanzienlijk vergeleken met voer dat alleen de bacteriën zelf bevat. Bovendien is de kweekperiode voor de
 35 groene zwavelbacteriën zeer kort, dat wil zeggen, de groene
 zwavelbacteriën kunnen in korte tijd tot hoge concentratie worden gekweekt en het kweekmedium dat daarvoor nodig is is minder duur. Daarom is het fysiologisch actieve middel dat

de metaboliët van groene zwavelbacteriën bevat bijzonder geschikt voor massaproductie. Bovendien veroorzaakt het fysiologisch actieve middel geen afname van inname of giftigheid voor de vissen maar verbetert het juist de
5 inname van de vissen en voorziet in een zeer grote efficiëntie als voeradditief.

- C O N C L U S I E S -

1. Fysiologisch werkzaam middel voor vissen, **met**
5 **het kenmerk**, dat het de metaboliet van groene zwavelbacteriën als effectief bestanddeel omvat.

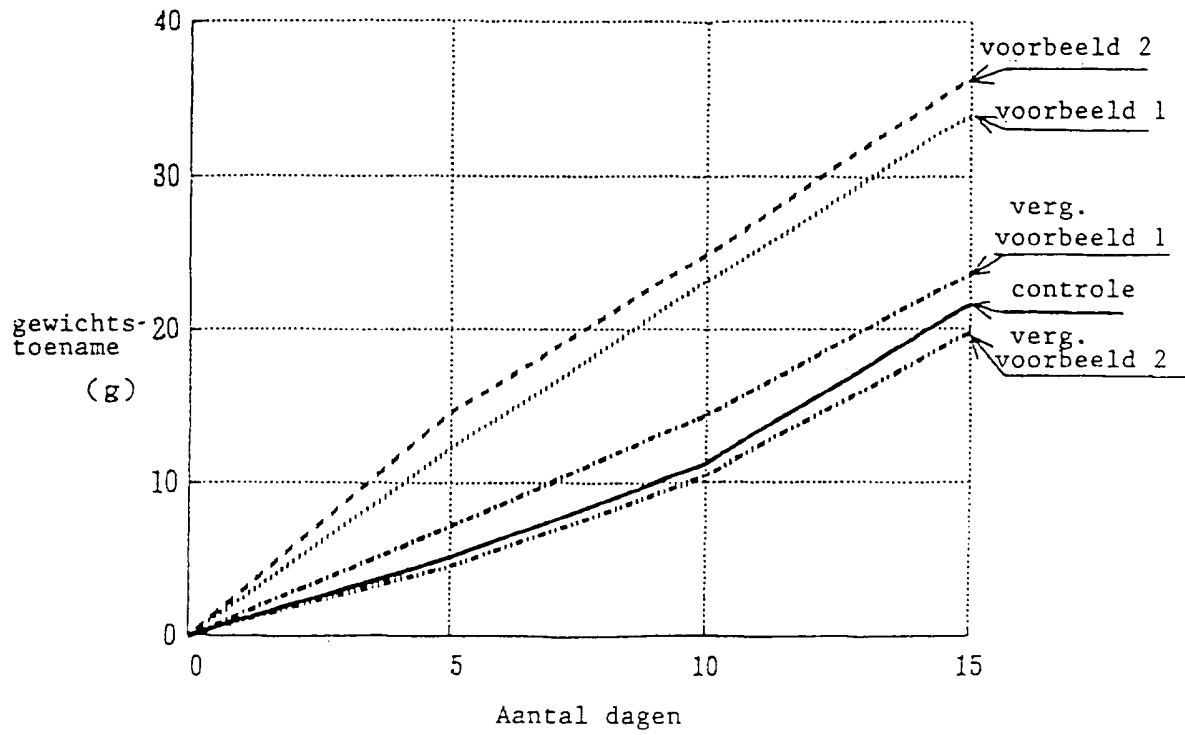
2. Fysiologisch werkzaam middel voor vissen volgens conclusie 1, **met het kenmerk**, dat het een kweek van groene zwavelbacteriën als effectief bestanddeel omvat.

10 3. Fysiologisch werkzaam middel volgens conclusie 2, **met het kenmerk**, dat de groene zwavelbacteriën behoren tot Chlorobiaceae.

4. Fysiologisch werkzaam middel volgens conclusie 3, **met het kenmerk**, dat de groene zwavelbacteriën worden
15 gekozen uit *Chlorobium limicola*, *Chlorobium vibrioforme*, *Chlorobium phaeobacteroides*, *Chlorobium phaeovibrioides*, *Prosthecochloris aestualii*, *Chlorobium tepidum*, *Pelodictyon luteolum* en *Pelodictyon phaeum*.

20 5. Voeradditief voor het kweken van vissen, **met het kenmerk**, dat het een fysiologisch werkzaam middel volgens één der conclusies 1 tot 4 omvat.

Fig.1



1005352



RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK

Octrooiaanvraag Nr.:

NO 133842

NL 1005352

VAN BELANG ZIJNDE LITERATUUR			
Categorie	Vermelding van literatuur met aanduiding voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie(s)Nr.	Internationale classificatie (toegekend door de Octrooiraad)
E	DATABASE WPI Section Ch, Week 9722 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 97-239194 XP002044412 & JP 09 075 010 A (ARAYA KK) , 25 Maart 1997 * samenvatting * ---	1-5	A23K1/16 A23K1/18 C12P1/04
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 096, no. 007, 31 Juli 1996 & JP 08 070785 A (ARAYA:KK), 19 Maart 1996, * samenvatting * ---	1-5	
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 9351 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 93-408320 XP002044413 & JP 05 304 959 A (HAIPPETO KK) , 19 November 1993 * samenvatting * ---	1-3,5	Onderzochte gebieden van de techniek
A	GB 1 502 723 A (FYRTORNET AB) * bladzijde 1, regel 53 - regel 79 * * bladzijde 1, regel 95 - bladzijde 2, regel 15 * -----	1,5	A23K C12P
Indien gewijzigde conclusies zijn ingediend, heeft dit rapport betrekking op de conclusies ingediend op			
Plaats van onderzoek		Datum waarop het onderzoek werd voltooid	Vooronderzoeker (EOB)
'S-GRAVENHAGE		23 Oktober 1997	Dekeirel, M
CATEGORIE VAN DE VERMELDE LITERATUUR X : op zichzelf van bijzonder belang Y : van bijzonder belang in samenhang met andere documenten van dezelfde categorie A : achtergrond van de stand van de techniek O : verwijzend naar niet op schrift gestelde van de techniek P : literatuur gepubliceerd tussen voorrangs- en indieningsdatum T : niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding E : andere octrooipublicatie maar gepubliceerd op of na indieningsdatum D : in de aanvraag genoemd L : om andere redenen vermelde literatuur & : lid van dezelfde octroofamilie, corresponderende literatuur document			

**AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE
HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK,
UITGEVOERD IN DE OCTROOIAANVRAGE NR.**

NO 133842
NL 1005352

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octroofamilie), die overeenkomen met octrooischriften genoemd in het rapport.

De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per
De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooiraad gegarandeerd ;
de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

23-10-1997

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie
GB 1502723 A	01-03-78	DE 2611757 A	07-10-76
		DK 122876 A,B	21-09-76
		SE 7503192 A	21-09-76
