



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 296 406 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1

Patentgesetz der DDR

vom 27.10.1983

in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) A 23 K 1/165

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 23 K / 342 643 5	(22)	10.07.90	(44)	05.12.91
(71)	Industrieforschungszentrum Biotechnologie GmbH, Alt-Stralau 52/54, O - 1017 Berlin, DE				
(72)	Echtermann, Klaus-Werner, Dr. Dipl.-Chem.; Kirste, Karl-Heinz, Dr. Dipl.-Ing.; Tischler, Michael, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Schreiber, Birgit, Dipl.-Ing.; Flamme, Wilhelm, Prof. Dr. sc. Dipl.-Chem.; Stölken, Bodo, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Robowsky, Klaus-Dieter, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem., DE				
(73)	Industrieforschungszentrum Biotechnologie, O - 1017 Berlin; Institut für Pflanzenzüchtung Gülzow – Güstrow, O - 2601 Gülzow; Institut für Futterproduktion, O - 1551 Paulinenaue, DE				

(54) Verfahren zur Verbesserung der Futterverwertung

(55) Verfahren; Erhöhung; Futterverwertung; Enzymkomplex; Senkung; Viskosität; Triticale; Cellulase; Hemicellulase; Pectinase; β -1,3-Glucanase; Cellobiase; Amylase; Protease

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Verbesserung der Futterverwertung von Grün- und Kraftfuttermischungen. Es bestand die Aufgabe, ein einfaches, kostengünstiges Verfahren zu finden. Durch den Einsatz eines spezifischen, auf die Futterzusammensetzung abgestimmten Enzymkomplexes und/oder spezieller Formen des Roggen-Weizen-Bastards Triticale entsprechend der dargelegten Erfindung erfolgt eine schnelle Senkung der Viskosität des Futtergemisches und eine Erhöhung der Resorbierbarkeit durch Bildung von monomeren Kohlehydraten, die eine erhöhte Lebendmasse-Zunahme der Tiere zur Folge hat. Es wird ein einziger Enzymkomplex verwendet, der über Cellulase, Hemicellulase, Pectinase, β -1,3-Glucanase, Cellobiase; Amylase und Protease verfügt und aus Mikroorganismen-Kulturen, vorzugsweise der Gattung Penicillium, insbesondere P. janthinellum oder Pflanzen, wie Enzymtriticale gewonnen wird. Das Verfahren wird in der Landwirtschaft und Futtermittelindustrie angewendet.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Verbesserung der Futterverwertung von Grün- und Kraftfuttermischungen durch qualitative Strukturveränderungen mit dem Ziel einer Viskositätssenkung sowie zur Hydrolyse von Inhaltsstoffen der Futtermittel, wie β -Glucan, Cellulose, Pentosane zu Monomeren, woraus eine erhöhte Resorbierbarkeit resultiert bei Temperaturen von 279K bis 333K, **gekennzeichnet dadurch**, daß ein einziger auf die Futterzusammensetzung abgestimmter spezifischer Enzymkomplex zur Anwendung kommt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß der spezifische Enzymkomplex Cellulasen mit hohem Cellobiase- bzw. β -Glucanase-Anteil, Hemicellulasen mit Wirkung auf verzweigte und unverzweigte Pentosane, Amylasen mit hohem Glucoamylase-Anteil, Pektinasen, β -1,3-Glucanase und Protease enthält.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß der spezifische Enzymkomplex in festem (pulvrigen oder granuliertem) oder flüssigem (Kulturfiltrat, -konzentrat, Ultrafiltrat) Zustand bei natürlichem pH-Wert des Grünfutters oder Kraftfutters durch Einsprühen, Einstreuen, Berieseln appliziert wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß der spezifische Enzymkomplex als Produkt der Kultivierung von Mikroorganismen oder Pflanzen in Form von oder extrahiert aus Enzymtriticale oder an gemahlenem geschrotetem Enzymtriticale, Getreide oder Malz natürlich oder synthetisch chemisch und/oder physikalisch gebunden eingesetzt wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1 und 4, **gekennzeichnet dadurch**, daß der Zusatz des Schrotes in einer Menge von 5 bis 60 Ma.-%, vorzugsweise 7,5 bis 30 Ma.-%, mit einer Fallzahl ≤ 200 sec, einer amylolytischen Aktivität von ≥ 50 SKB-Einheiten, einer Alpha-Amylase-Aktivität ≥ 7 ICC-Einheiten, einem Stärkegehalt von $\geq 50\%$, einem Proteingehalt von $\geq 13\%$ und einer Katalaseaktivität von ≥ 45 ml O₂/g zu konventionellem Futter eingesetzt wird. Die Korngröße des Schrotes beträgt $50\% < 1$ mm, vorzugsweise $75\% < 1$ mm.
6. Verfahren nach Anspruch 1, 4 und 5, **gekennzeichnet dadurch**, daß das Wasser-Getreide-Mischverhältnis vorzugsweise im Bereich zwischen 0,33:1 und 2,7:1 liegt und die Vorhydrolyse des Futtergemisches zwischen 288 und 333K erfolgt.
7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, **gekennzeichnet dadurch**, daß der spezifische Enzymkomplex als Produkt der Kultivierung von Mikroorganismen der Gattung Penicillium, vorzugsweise P.janthinellem, insbesondere IMET 43905 eingesetzt wird.
8. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, **gekennzeichnet dadurch**, daß beide Applikationsformen wie mikrobielles Verzuckerungsmittel und Zusatz enzymreicher Getreideprodukte kombiniert werden.

Anwendungsgebiet

Die Erfindung bezieht sich darauf, bei der Verfütterung von Grün- und Kraftfuttermischungen in der Tierernährung den Futterwert zu erhöhen.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Zur Verbesserung des Futterwertes von Grün- und Kraftfuttermischungen werden in der Literatur vielfältige Verfahren beschrieben. Dabei wird durch

- den direkten Zusatz von Enzymen
- den Zusatz von gemälztem Getreide zur Futtermittelration
- eine mit (mikrobiellen) Enzymen erfolgende Vorbehandlung der Futtermittel
- die Kombination der angeführten Lösungen

eine partielle Hydrolyse des Futters erreicht. Dadurch wird die Viskosität des Futters verringert sowie seine Resorbierbarkeit verbessert. Im Ergebnis solcher Maßnahmen werden über eine verbesserte Futteraufnahme und einen erhöhten Futterdurchsatz bessere Mastergebnisse bzw. eine verbesserte Futterökonomie erzielt.

Für Grün- und Kraftfuttermischungen sind die genannten Varianten zur Verbesserung des Futterwertes aus der Literatur bekannt.

1. Bei der kostengünstigen Herstellung von Grünfutter aus pflanzlichen Materialien (vor allem Obst und Gemüse) werden enthaltene Hemicellulosen und Pektine enzymatisch abgebaut, aber nicht vollständig hydrolysiert. Die verwendeten Enzyme besitzen vor allem Hemicellulase- oder Pektinaseaktivität und werden in einem Bereich von 0,03–10 Ma.-% dosiert.
(DE-PS 300535; DE-OS 2525879)

2. Die Erhöhung des Proteingehaltes eines Sojakonzentrates und eine Verbesserung seiner ernährungsphysiologischen Bedeutung für die menschliche und tierische Ernährung wird durch die enzymatische Hydrolyse der im Soja enthaltenen Polysaccharide und die sofortige Trocknung der verwendeten Soja- und Enzymsuspension erzielt. Die im Enzymkomplex enthaltenen Aktivitäten sind Cellulase, Hemicellulase, Pektinase und Amylase. (DE-PS 2261177)
Das gleiche Prinzip liegt der Gewinnung von eiweißhaltigen Futtermitteln aus ungeschrotetem und geschrotetem Getreide (Gerste, Weizen) (CH-PS 597770), Haferschalen (US-PS 3.395) und Feuchtfutter (CH-PS 595049) zugrunde. Zur Hydrolyse der Polysaccharide werden Amylase, thermostabile Amylase und Amylase-Cellulase-Präparate verwendet.
3. Die Gewinnung von enzymatisch hydrolysierten Futterstärke für Wiederkäuer erfolgt durch die Zugabe von Amylase, Cellulase oder Protease oder deren Kombinationen (DE-OS 28244830), die durch eine Xylanase, Dextrinase, Laminarinase und eine Pektinase, z. B. aus *Irpex lacteus*, zu einem Beifuttermittel ergänzt wird, das die Milchsekretion der Wiederkäuer erhöht (DE-AS 2705878). Außer Alpha-Amylase oder Cellulase finden Hemicellulase, Glucoamylase, β -Glucanase oder deren Kombinationen Anwendung beim Aufschluß von Weizenstärke (EP 001470).
4. Ein Voraufschluß von Futtergetreide wird durch den Zusatz eines Dispersionsmediums mit fermentativer und enzymatischer Wirkung und/oder Zugabe von Mikroorganismen glucidolytischer Stämme und Hefen, lactischen Streptokokken, Lactobazillen und Nährhefen erreicht. Die Reaktionstemperatur für den Quellungsvorgang lag bei 25–30°C und für die Fermentation zwischen 30–37°C (DE-OS 2145158).
Der Abbau unverdaulicher Polysaccharide in Futtermitteln mit Gerstenanteil für Wiederkäuer erfolgt durch eine thermostabile β -Glucanase aus *P. emersonii* oder einer Mutante (DE-OS 2308596).
5. Die Veredlung von hochgradig cellulosehaltigen Ersatzfuttermitteln (Torf, Holz, Holzstoff, Stroh) wird im Patent DE-PS 873492 dargestellt. Die zerkleinerten Substrate werden mit Natursäften von Pflanzen und mit Cellulose spaltenden Enzymen, wie Phyalin, Pankrean, Pepsin usw. versetzt.
6. Die Verwendung eines enzymreichen pflanzlichen Substratzusatzes, wie Malz oder Malzextrakt, in einer Menge von 10–200 g/kg lufttrockene Substanz der Ration für die Aufzucht von Jungtieren wird im Patent CH-PS 557643 beschrieben. Das im Malz enthaltene Enzymspektrum führt zur Hydrolyse einiger Inhaltsstoffe der in der Rezeptur enthaltenen Rohstoffe.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Verbesserung des Futterwertes von Grün- und Kraftfuttermischungen durch Enzyme eine bekannte Variante ist, aber eine ausreichende Produktveredelung nicht erreicht wird, da keine spezifischen, substratadaptierten Enzymkomplexe zur Anwendung gelangen, welche durch ihre Komplexität der vorhandenen Enzymaktivitäten sowohl eine Viskositätssenkung als auch eine Hydrolyse von Inhaltsstoffen der Futtermittel ermöglichen.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, ein einfaches, kostengünstiges Verfahren zur Erhöhung des Futterwertes von Grün- und Kraftfuttermischungen durch den Einsatz von geeigneten Enzymkomplexen zu finden.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein einfaches, kostengünstiges Verfahren zur Erhöhung des Futterwertes von Grün- und Kraftfuttermischungen vorzulegen. Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch die Anwendung eines einzigen, auf die Futterzusammensetzung abgestimmten, spezifischen Enzymkomplexes zur qualitativen Produktveränderung mit dem Ziel einer Viskositätssenkung sowie zur Hydrolyse von Inhaltsstoffen der Futtermittel (wie β -Glucan, Cellulose, Pentosane) bei Temperaturen von 311–331 K erreicht. Die Hydrolyse führt zur Erhöhung der Resorbierbarkeit durch Bildung von monomeren Kohlehydraten. Der spezifische Enzymkomplex enthält Cellulasen mit hohem Cellobiase- und β -Glucanaseanteil, Hemicellulasen mit Wirkung auf verzweigte und unverzweigte Pentosane, Amylasen mit hohem Glucoamylaseanteil, Pectinasen, β -1,3-Glucanase und Protease.

Der spezifische Enzymkomplex wird in flüssigem (Kulturfiltrat; -konzentrat) und in festem (pulvrigem, granuliertem) Zustand durch Einsprühen, Einstreuen (Berieseln) appliziert. Der Enzymkomplex kann als Produkt der Kultivierung von Mikroorganismen oder aus Pflanzen in Form von oder extrahiert aus Enzymtriticale oder an gemahlenem oder geschrotetem Enzymtriticale, Getreide, Malz natürlich oder synthetisch chemisch und/oder physikalisch an Träger gebunden eingesetzt werden.

Der spezifische Enzymkomplex kann als Produkt der Kultivierung von Mikroorganismen der Gattung *Penicillium*, vorzugsweise *P. janthinellum*, insbesondere des Stammes IMET 43905 eingesetzt werden. Bei Verwendung des Roggen-Weizen-Bastards Triticale als Enzymquelle sind nachfolgend aufgeführte Verfahrensparameter einzuhalten:

1. Rohstoffeigenschaften der Triticale
 - Fallzahl: kleiner oder gleich 200 Sekunden
 - amylolytische Aktivität: größer oder gleich 50 SKB-Einheiten
 - Aktivität der Alpha-Amylase größer oder gleich 7 ICC-Einheiten
 - Proteingehalt: größer oder gleich 13%
 - Stärkegehalt: größer oder gleich 50%
2. Einsatz als Schrot mit einer Korngröße 50% kleiner oder gleich 1 mm
3. Zusatz des Schrotes in einer Menge von 10 bis 60 Ma.-%, vorzugsweise 10 bis 30 Ma.-% zu konventionellen Futtermischungen
4. Das Wasser-Futtermittelgemisch-Verhältnis beträgt 0,2:1 bis 4:1, vorzugsweise 0,33:1 bis 2,7:1.
5. Die partielle Hydrolyse erfolgt bei Temperaturen im Bereich zwischen 283 K und 343 K, vorzugsweise 288 K bis 331 K. Die Verweilzeit beträgt 0,5 bis 20 Stunden, vorzugsweise 3 bis 8 Stunden.

Die genannten Applikationsformen, d. h. der Einsatz eines mikrobiellen Enzymkomplexes für die Viskositätserniedrigung und Bildung monomerer Kohlenhydrate und der Einsatz von enzymreichen Getreideprodukten, können kombiniert werden.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Der Getreideanteil des Futtergemisches bestand aus 85% Roggen (Fallzahl 208 Sekunden, Katalaseaktivität 5,7 ml O₂/g, Stärkegehalt 53%) und 15% Triticale (Fallzahl 133 Sekunden, gesamt-amylolytische Aktivität 53 SKB-Einheiten, Aktivität der Alpha-Amylase 8 ICC-Einheiten, Proteingehalt 13,3%, Katalaseaktivität 57 ml O₂/g, Stärkegehalt 52,7%). Das Getreide wurde geschrotet (Teilchengröße 80% ≤ 1 mm) und mit Wasser im Verhältnis 1:1,7 eingeteigt. Diese Mischung wurde für 450 Minuten auf 331 K erwärmt.

Mit der auf dieser Basis erhaltenen Futtermischung wurden 40 Mastschweine gefüttert. Eine gleichgroße Gruppe Schweine wurde mit herkömmlichen Futtermischungen gemästet. Nach zehnwöchiger Mast konnte bei der Gruppe mit Triticalezusatz im Mittel eine um 8,5% größere Gewichtszunahme als bei der Vergleichstiergruppe festgestellt werden.

Beispiel 2

Die Getreidebasis des Futters war wieder Roggen (Anteil 70%, Fallzahl 193 Sekunden, Katalaseaktivität 53,9 ml O₂/g, Stärkegehalt 53,3%) und Triticale (30% des Getreidezusatzes, Fallzahl 121 Sekunden, gesamtamylolytische Aktivität 55 SKB-Einheiten, Alpha-Amylaseaktivität 10 ICC-Einheiten, Proteingehalt 13,1%, Katalaseaktivität 63,1 ml O₂/g, Stärkegehalt 52,1%). Das Getreide wurde geschrotet (Teilchengröße 85% ≤ 1 mm) und mit Wasser im Verhältnis 1:1,5 eingeteigt. Diese Mischung wurde zunächst für 60 Minuten auf 321 K und anschließend für weitere 135 Minuten auf 333 K erwärmt.

Das auf dieser Grundlage hergestellte Mischfutter wurde an 50 Mastschweine verfüttert. Als Kontrollgruppe diente eine Schweinegruppe von 50 Tieren. Diese Gruppe wurde mit herkömmlichem Mischfutter gemästet.

Nach zehnwöchiger Mast zeigte die Gruppe mit dem Triticalefutter ein um 9% höheres Gewicht als die Vergleichstiergruppe.

Beispiel 3

Bei der 4monatigen Ernährung von 2 Monate alten Kälbern kam ein Futter zum Einsatz, das 8,5 kg Grünfutter, 1,5 kg Getreideschrot und 0,5 kg Heu enthielt. Das Grünfutter setzte sich aus Klee, Gras, Mais zusammen. Es wurde eine Trichoderma-Cellulase bei einer Dosierung von 10 ml pro Tag und Kalb auf das Futter gesprüht. Nach abgeschlossener Mastdauer war gegenüber der Kontrollgruppe (ohne Enzym) eine um 7% höhere Lebendmasse zu verzeichnen. Das Ergebnis wurde sowohl im Kleinst- (20 Tiere), Klein- (150 Tiere) und Großmaßstab (500 Tiere) bestätigt.

Beispiel 4

Es wurde das gleiche Fütterungsregime angewandt wie in Beispiel 3 und als Enzymquelle eine Penicillium janthinellum-Cellulase auf das Futter durch Aufsprühen appliziert.

Es wurden ähnliche Gewichtszunahmen wie in Beispiel 3 erzielt. Als Vergleich diente eine Tiergruppe, die mit herkömmlichem Futter gemästet wurde.

Beispiel 5

Das Futtergemisch bestand aus 8,5 kg Grünfutter, 0,5 kg Triticale und 1,0 kg; 0,5 kg Heu und wurde durch aufgesprühte (5 ml/Tag, Tier) P.j.-Cellulase ergänzt. Die Enzymaktivitäten des eingesetzten spezifischen Komplexes sind:

FPS	U/g:	313,8
Xylanase	U/g:	1386,0
β-Glucanase	IE/g:	1731,7
Glucoamylase	U/g:	0,22

Es wurden ähnliche Gewichtszunahmen wie in Beispiel 3 erzielt. Als Vergleich diente eine Tiergruppe, die mit herkömmlichem Futter gemästet wurde.