

(19)



(10)

LT 4656 B

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patent numeris: **4656** (51) Int. Cl.⁷ **A23K 1/00**
A23L 1/09

(21) Paraiškos numeris: **99-077**

(22) Paraiškos padavimo data: **1999 06 22**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2000 02 25**

(45) Patent paskelbimo data: **2000 05 25**

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/FI 97/00831**

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **1997 12 22**

(85) Nacionalinės procedūros pradžia: **1999 06 22**

(31, 32, 33) Prioritetas: **965192, 1996 12 23, FI**

(72) Išradėjas:

Juhani Vuorenmaa, FI
Markku Virkki, FI
Elias Jukola, FI
Marko Laureus, FI
Hanna Jatila, FI
Juha Apajalahti, FI
Paeivi Nurminen, FI

(73) Patent savininkas:

Suomen Rehu Oy, Soernaeisten rantatie 23, FIN-00500 Helsinki, FI

(74) Patentinis patikėtinis:

Reda Žabolienė, 7, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Maistinis priedas, jo gamybos ir vartojimo būdas

(57) Referatas:

Išradimas skirtas maistinio priedo paruošimo būdui, kurio metu žaliava iš daržovių, gyvūnų ir/arba mikroorganizmų produktų, turinti oligosacharidų ir/arba polisacharidų, apdorojama hidroliziškai, atidarant ląstelės sienelę.

Toliau išradimas skirtas maistiniam priedui, gautam hidroliziškai apdorojus žaliavą iš daržovių, gyvūnų ar mikroorganizmų produktų, turinčią oligosacharidų ir/arba polisacharidų, atidarant ląstelės sienelę. Be to, išradimas skirtas maistiniam priedui, skirtam apsaugoti nuo skrandžio ir žarnyno ligų, ir preparatui su šiuo priedu.

Išradimas skirtas maistinio priedo, apibūdinto išradimo apibrėžties 1 punkto bendrojoje dalyje, gamybos būdai. Be to, išradimas skirtas maistiniam priedui, jo vartojimui ir preparatui, turinčiam šio priedo.

Tinkamas žarnyno mikroorganizmų balansas yra gyvūnų sveikatos, gerovės ir produktyvumo sąlyga. Šio balanso išderinimas pasireiškia diarėja ir kitais žarnyno veiklos sutrikimais ir gali net pasireikšti gyvūno žūtimi.

EP 0549478, GB 1032687, GB 1569300 patentuose atskleisti gyvūnų maitinimo būdai, naudojami, siekiant išvengti žalingų mikroorganizmų poveikio vienskrandžių gyvūnų sveikatai. Vienas iš būdų yra pridėti įvairių antibiotikų ir chemoterapinių medžiagų, slopinančių mikroorganizmų augimą, į gyvūnų pašarą. Taip pat, norint išsaugoti žarnyno balansą ir nenaudoti antibiotikų, galima vartoti pašarus su probiotiniais produktais, tokiais kaip įvairūs mikroorganizmai, rūgštys ir mielės.

Kitas būdas išvengti žarnyno ligų, taip pat aprašytas aukščiau minėtuose patentuose, yra inhibuoti žalingų mikroorganizmų prikibimą prie žarnų sienelių. Tai pasiekama pridedant į pašarą įvairių oligosacharidų, kurie prilimpa prie žarnų sienelių ar mikroorganizmų receptorių ir, tokiu būdu, neleidžia žalingiems mikroorganizmams prikibti prie žarnų sienelių. Ir dar buvo pastebėta, kad tam tikri oligosacharidai, pavyzdžiui, fruktooligosacharidai, skatina difidobakterijų, naudingų gyvūnams, augimą.

Antibiotikų naudojimas yra problematiškas dėl to, kad jis stiprina mikroorganizmo štamų imunitetą antibiotikams ir, tuo pačiu, sukelia pavojų žmonių sveikatai. Probiotiniai produktai yra problematiški dėl to, kad jų veiksmingumas yra kintamas ir paprastai žemas, o naudojimas - gana brangus. Panašiai ir pašarai, kurių sudėtyje yra gryųjų oligosacharidų, yra problematiški dėl to, kad jų veiksmingumas, saugant nuo žarnyno ligų, yra kintamas ir paprastai žemas. Be to, gryni oligosacharidai yra brangūs.

Šio išradimo tikslas yra pašalinti aukščiau minėtas problemas.

Ypatingas šio išradimo tikslas yra atskleisti maistinio priedo, turinčio poveikį žarnyno mikroorganizmams, kuris stiprina gyvūnų sveikatą ir/arba skatina augimą, paruošimo būdą.

Kitas šio išradimo tikslas yra atskleisti maistinį priedą, inhibuojantį žarnynų ligas gyvūnuose.

Dar kitas šio išradimo tikslas yra atskleisti naujojo priedo, paruošto išradime aprašytuoju būdu, vartojimo pobūdį ir preparatą su šiuo priedu.

Skiriamosios išradimo ypatybės apibūdintos apibrėžtyje.

Ruošiant maistinį priedą, žaliava, turinti oligosacharidų ir/arba polisacharidų, apdorojama, atveriant jos ląsteles ir padidinant laisvųjų oligosacharidų ir/arba laisvųjų polisacharidų ir/arba oligosacharidų ir/arba polisacharidų kiekį ląstelių sienelių paviršiuje, t.y., pavyzdžiui, ląstelės struktūra suardoma, išskiriant oligosacharidus ir/arba polisacharidus, skirtus apsaugoti nuo žarnyno ligų. Šis būdas taip pat gali būti panaudotas išskirti šiuos komponentus.

Išradime taip pat aprašyti produktai, paruošti išradime atskleistu būdu, jų panaudojimas ir preparatai su priedais, apibūdintais apibrėžtyje.

Žaliavose iš daržovių, gyvūnų ir/arba mikroorganizmų produktų, turinčių oligosacharidų ir/arba polisacharidų, pastarieji yra fiksuotai pririšami prie ląstelės sienelių ir kitų žaliavos netirpių struktūrų. Atlikti tyrimai parodė, kad, pridėdant šias žaliavas tiesiogiai į pašarą, nėra palankaus oligosacharidų poveikio; gyvūno (ir žmogaus) virškinimo sistema paprastai negali suardyti, pavyzdžiui, mielių ląstelės sienelės ir išskirti pageidaujamus oligosacharidus ir/arba polisacharidus. Dar buvo tyrimais nustatyta, kad, apdorojant žaliavas taip, kad didėtų laisvųjų oligosacharidų ir/arba laisvųjų polisacharidų ir/arba oligosacharidų ir/arba polisacharidų kiekis ląstelių sienelių paviršiuje, suardant, pavyzdžiui, žaliavos ląstelių struktūrą, gaunamas produktas, kuris, paduotas gyvūnams kartu su pašaru, žymiai apsaugo nuo žarnyno ligų.

Atlikto tyrimo metu produkto, saugančio nuo žarnyno ligų, veikimo mechanizmas nebuvo pilnai išaiškintas, todėl jis yra pagrįstas įvairiomis prielaidomis. Pagal vieną modelį gautų šio išradimo būdu produktų pateikimas kartu su pašaru inhibuoja mikroorganizmų prikibimą prie žarnų, kitais žodžiais

tariant, – manoma, kad oligosacharidai ir/arba polisacharidai ir/arba kitos medžiagos, išskirtos, suskaldant žaliavos ląstelių struktūrą, veikia žarnyne kaip žalingų mikroorganizmų, tokių, kaip *E. coli*, receptorių analogai ir inhibuoja mikroorganizmų gebą prisitvirtinti prie žarnų sienelių.

Pagal kitą modelį produktai, gauti, suardžius žaliavos ląstelių struktūrą, veikia žalingų mikroorganizmų augimą tiek mažajame, tiek didžiajame žarnynuose, kitais žodžiais – naudingieji žarnyno mikroorganizmai, tokie kaip pieno rūgšties bakterijos ir bifidobakterijos, sugeba panaudoti oligosacharidus ir/arba polisacharidus savo maistui, kai, tuo tarpu, žalingieji mikroorganizmai, tokie kaip *E. coli* ir salmonelės, nesugeba. Tai skatina naudingųjų mikroorganizmų augimą žalingųjų sąskaita.

Pagal trečią modelį yra manoma, kad skilimo produktai, gauti žaliavos hidrolizinio apdorojimo metu, veikia gyvūnų imuninę reakciją, t.y. tam tikri žaliavos komponentai, pavyzdžiui, sacharino struktūros, turinčios fosforo mielėse, gali pagerinti gyvūno imuninę reakciją, tokiu būdu inhibuojant žarnyno ligas.

Be to, komponentai, suformuoti apdorojant žaliavą hidrolize, gali turėti įtakos toksinų adsorbcijai; t.y. komponentai gali surišti ir neutralizuoti mikroorganizmų toksinus, taip slopinant žarnyno ligas. Šie aukščiau aprašytieji numanomieji veikimo mechanizmai gali veikti derinyje vienas su kitu, inhibuojant žarnyno ligas gyvūnuose.

Žaliava, naudojama išradimo būdo realizavimo metu, gali būti bet kokia ląstelinė medžiaga iš daržovių, gyvūnų mėsos ir/arba mikroorganizmų produktų, turinčių, geriausiu atveju, daug oligosacharidų ir/arba polisacharidų. Žaliava gali būti, pavyzdžiui, toks daržovių produktas kaip augalas, turintis lignino, arba žaliava gali būti gauta iš produktų, turinčių oligosacharidų ir/arba polisacharidų, arba tai gali būti, pavyzdžiui, mediena, galiausiai – tarpinis ar antrinis cheminės medienos masės pramonės produktas. Be to, žaliava gali būti cukraus pramonės produktas ar šalutinis produktas, toks kaip cukrinių runkelių atliekos, turinčios daugybę oligosacharidų ir/arba polisacharidų. Ypatingai naudinga žaliava yra įvairūs mielių grybai, ypač – kepimo mielių, alaus mielių ir/arba

maistinių mielių, tokie kaip *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces sp* arba *Candida utilis* ir kiti mielių grybai, kurie gali būti pagaminti.

Šioje žaliavoje oligosacharidai ir/arba polisacharidai pririšami prie žaliavos ląstelių. Oligosacharidai ir polisacharidai gali būti išskirti iš žaliavos, suardant hidroliziškai ląstelių struktūrą rūgštimi ir/arba šarmu, ir/arba fermentiškai. Rūgštys, naudojamos hidrolizėje, yra, pavyzdžiui, paprastos mineralinės rūgštys, tokios kaip druskos rūgštis, sulfato rūgštis, fosforo rūgštis, azoto rūgštis ir t.t., o taip pat stipriosios organinės rūgštys, tokios kaip skruzdžių rūgštis, acto rūgštis, propiono rūgštis ir t.t. Rūgščių hidrolizės metu pH gali būti žemiau 4, pavyzdžiui, apie 2. Šarminėje hidrolizėje naudojami, pavyzdžiui, paprastieji šarminiai hidroksidai, tokie kaip natrio hidroksidas, kalio šarmas ir t.t., amonio hidroksidas ar kiti šarmai, išskiriantys oligosacharidus ir/arba polisacharidus.

Fermentinėje hidrolizėje naudojami įvairūs celiuliolitiniai ir proteolitiniai fermentai, pavyzdžiui, celiuliozės, rūgščių ar šarmų proteazės, kurie gali būti parinkti pagal numatomos naudoti žaliavos savybes. Mielių, pavyzdžiui, *Torula* mielių, hidrolizėje gali būti panaudotas *Trametes sanguinea* darinio kultūros tirpalas. Be to, hidrolizėje gali būti panaudoti kiti fermentai, proteazės, ribonukleazės ir deaminazės. Fermentinis apdorojimas gali būti taip pat atliktas, naudojant įvairių fermentų derinį, lygiagrečiai ar nuosekliai; pavyzdžiui, proteazinis apdorojimas ar proteazinis apdorojimas su po to sekančiu ribonukleaziniu ir deaminaziniu apdorojimu, kurio metu proteazė suskaido RNA, ir, kuomet išskiriamos amino rūgštys, ribonukleazė suskaido RNA į įvairius nukleotidus, o deaminazė paverčia adenozino mononukleotidą į inozino mononukleotidą. Apdoroti proteaze galima naudojant bet kurią žinomą proteazę. Paprastai tai gali būti atlikta, naudojant fermentus, paminėtus žemiau esančiuose dokumentuose, ir/arba kitus žinomus fermentus, sugebančius suardyti ląstelę, kartu ir/arba atskirai, pavyzdžiui, kaip tai aprašyta žemiau nurodytuose dokumentuose.

Hidrolizacijos laipsnis yra apie 50 svorio %, pavyzdžiui, 60 – 20 svorio %, geriau – 55 - 25 svorio %. Kuomet žaliava naudojamos kepimo mielės, jų ekstraktas gali sudaryti apie 45 svorio % sausos medžiagos. Atitinkamai, kuomet naudojamos alaus mielės, ekstrakto yra mažiau, pavyzdžiui, apie 28 svorio %.

Tiek tirpiosiose, tiek netirpiosiose frakcijose, gautose hidrolizės metu, yra tam tikri kiekiai pageidaujamų oligosacharidų ir/arba polisacharidų. Iš vienos pusės, tirpioji frakcija gali būti panaudota pašarų ar maisto produktų gamyboje; iš kitos pusės, tirpioji frakcija gali būti išimta panaudoti kitiems tikslams.

Mielių hidrolizinis skaidymas yra aprašytas sekančiuose patentuose ir paraiškose: US 3914450, US 3443969, US 5288509, EP 299078, JP 57-219695 ir PCT/FI/96/00326. Šie ir kiti žinomi būdai gali būti panaudoti šiame išradime, kur naudojama frakcija yra frakcija, turinti oligasacharidų ir/arba polisacharidų arba nefrakcionuoto produkto. Tuo būdu, išradime PCT/FI96/00326 aprašytas aromatinių medžiagų, tokių kaip nukleotidai, peptidai ir amino rūgštys, regeneravimas, pavyzdžiui, iš alaus ir kepimo mielių, kai, tuo tarpu, šiame išradime pirmiausia regeneruojami kiti komponentai ir, pageidaujant, aromatinės medžiagos gali būti atskirtos, kaip tai aprašyta, pavyzdžiui, nurodytame dokumente. Iš kitos pusės, aromatinės medžiagos gali būti ir neatskiriamos; kitais žodžiais – dalis ar visos aromatinės medžiagos gali būti produkte, paruoštame pagal šį išradimą.

Žaliavą galima apdoroti ne tik hidroliziniu būdu, bet ir plovikliu, arba apdoroti, suardant žaliavos ląstelių struktūrą, t.y. suardant ląsteles mechanine, hidrostatine ir/arba pneumatine jėga, ir/arba šiluma. Be to, galima taikyti aukščiau išvardintųjų būdų derinius, t.y. žaliavos ląstelių struktūros suardymą ir/arba apdorojimą šiluma derinant su fermentiniu ar kitu hidroliziniu apdorojimu. Pageidaujant, produktas, gautasis hidrolizinio apdorojimo ir/arba apdorojimo, suardant ląstelę, ir/arba apdorojimo šiluma metu, gali būti praplautas plovikliu.

Pageidaujant, pagamintas šio išradimo būdu maistinis priedas gali būti apdorotas toliau, t.y. frakcionuojant ar koncentruojant gautąsias apdorojimo metu sacharino struktūras. Tolesnis apdorojimas, t.y. frakcionavimas ar koncentravimas, gali būti atliktas bet koku žinomu būdu. Gautieji frakcionuoti ir/arba koncentruoti produktai gali būti panaudoti pašarui ar maistui, arba gali būti sumaišyti su žinomais pašarais ar maisto produktais.

Paruoštas išradime aprašytuoju būdu produktas gali būti pridėtas į pašarą bet kokiame pavidale, sudrėkintas ar sušlapintas, ir gali būti, pageidaujant, tiesiog apdorotas.

Paruoštas šio išradimo būdu maistinis priedas gali būti naudojamas vienskrandžių gyvūnų, pavyzdžiui, kiaulių, naminių paukščių, raguočių, kailinių žvėrelių, tokių kaip lapės ir audinės, naminių gyvūnų, tokių kaip šunys ir katės, arkliai, ypač – asiliukai, ir t.t., pašarui, apsaugant nuo žarnyno ligų. Maistinio priedo vienskrandžiams gyvūnams kiekis pašare sudaro 0,05-1,5 svorio %, geriau – 0,1-1 svorio % viso pašaro kiekio, skaičiuojant sausai medžiagai ir priklausomai nuo hidrolizacijos laipsnio; procentai apskaičiuoti pagal 50 % hidrolizacijos laipsnį. Priedai gali būti paduoti atskirai arba kartu su pašaru/maistu. Geriausiu atveju priedo kiekis dienos racione siekia 0,1-0,6 g sausos medžiagos/kg gyvūno gyvo svorio.

Šio išradimo maistinis priedas gali būti naudojamas žmonių maistui, pavyzdžiui, vaikų ar suaugusiųjų maisto produktuose ar kaip atskiras stiprinantis sveikatą preparatas, skirtas subalansuoti žarnyno mikroorganizmų kiekį ir inhibuoti žarnyno ligas.

Paruoštas šio išradimo būdu ir pridėtas į gyvūnams skirtą pašarą priedas efektyviai inhibuoja žalingų ir skatina naudingųjų mikroorganizmų augimą. Tuo pat metu pagerėja gyvūnų prieaugis, pašaro suvartojimas ir bendra produkcijos ekonomija. Be to, sumažėja aplinkos teršimas, nes gyvūnai įsisavina pašarą žymiai efektyviau. Naudojant gyvūnų pašarui šio išradimo produktus, t.y. organinius pašaro produktus, nebereikia pridėti į pašarą antibiotikų. Sumažėja mikroorganizmų štamų imuniteto antibiotikams išvystymo rizika, o taip pat ir jų sukeliama poveikio žmonėms tikimybė.

Toliau išradimas bus aprašytas detaliau pagal pridedamus brėžinius, kuriuose:

Fig.1 iliustruojamas bakterijų prikibimas žarnyno gleivėse, vartojant produktus, paruoštus iš mielių šio išradimo būdu.

1 PAVYZDYS

Laboratorinio bandymo metu buvo naudojamas priedas, paruoštas šio išradimo būdu iš kepimo mielių (PCT/FI96/00326). Buvo įvertintas apdorotos mielių frakcijos poveikis *E. coli* bakterijų prikibimui prie kiaulių žarnyno gleivinės membranų, naudojant mikrotitrų plokšteles; bandymas aprašytas Conway, P.L.,

(1990) Infection of Immunity, 58, psl. 3178-3182. K88 specifinių receptorių buvimas žarnų gleivėse priklauso nuo amžiaus.

Buvo nustatyta, kad šio išradimo 1 % priedo tirpalas inhibuoja mikroorganizmų prikibimą 70-90 %, priklausomai nuo coli štamų. Rezultatai pateikti 1 lentelėje.

1 LENTELĖ

E. coli štamai	Inhibavimas
1 štamai	77 %
2 štamai	83 %
3 štamai	70 %
4 štamai	82 %
5 štamai	74 %
6 štamai	90 %
7 štamai	80 %

2 PAVYZDYS

Laboratorinio bandymo metu buvo naudojamas priedas, paruoštas šio išradimo būdu iš džiovinto kraujo, apdorojant jį fermentiniu plovikliu.

Buvo nustatyta, kad paruoštas šio išradimo būdu priedas inhibuoja bakterijų prikibimą 90-95 %, priklausomai nuo coli štamų. Rezultatai pateikti 2 lentelėje.

2 LENTELĖ

E. coli štamai	Inhibavimas
1 štamai	83 %
2 štamai	
3 štamai	89 %
4 štamai	94 %
5 štamai	
6 štamai	96 %
7 štamai	90 %

3 PAVYZDYS

Laboratorinio bandymo metu buvo naudojamas priedas, paruoštas pagal šį išradimą rūgščių hidrolizės būdu iš cukrinių runkelių. Bakterinio prikibimo inhibavimas buvo nustatytas kaip ir 1 pavyzdyje. Rezultatai pateikti 3 lentelėje.

Buvo nustatyta, kad priedas, paruoštas pagal šį išradimą, inhibuoja bakterinį prikibimą 92-96 % (3 lentelė).

3 LENTELĖ

E. coli štamai	Inhibavimas
1 štamai	92 %
2 štamai	96 %

4 PAVYZDYS

Priedas buvo paruoštas iš maumedžio hidrostatiškai šiluminiu apdorojimu. Bakterinio prikibimo inhibavimas buvo nustatytas kaip ir aukščiau. Rezultatai pateikti 4 lentelėje.

Buvo nustatyta, kad šio išradimo priedas inhibuoja bakterinį prikibimą 96-98 %.

4 LENTELĖ

E. coli štamai	Inhibavimas
1 štamai	96 %
2 štamai	98 %

5 PAVYZDYS

Šio bandymo metu keturios vienodos kiaulių grupės buvo šeriamos sekanciais pašarais:

1 grupė: bazinis pašaras (kontrolinė grupė)

2 grupė: bazinis pašaras + 40 ppm Avilamizino

3 grupė: bazinis pašaras + šio išradimo produktas, paruoštas iš mielių, kiekis – 0,5 svorio % (sausos medžiagos)

4 grupė: bazinis pašaras + šio išradimo produktas, paruoštas iš mielių, kiekis – 1,0 svorio % (sausos medžiagos).

Rezultatai pateikti 5 lentelėje.

5 LENTELĖ. Mielų poveikis kiaulių prieaugiui

Grupė	1	2	3	4
Mielės %	0	0	0	0

Avilamizinas	-	+	-	+
Kiaulių skaičius	72	72	72	72
Pradinis svoris, kg	9,5	10,6	10,7	9,0
Galutinis svoris, kg	23,0	24,1	24,2	22,4
Prieaugis, g/diena	456	502	512	433
kg pašaro/kg svorio prieaugio	1,97	1,81	1,77	1,96

Analizuotoji pašaro sudėtis nesiskyrė nuo apskaičiuotosios nei vienai grupei. Tiek Avilamizino, tiek 0,5 svorio % mielių preparato pridėjimas efektyviau pagerino prieaugį ir pašaro suvartojimą, lyginant su kontroline grupe (1 grupė, 5 lentelė). Mielių preparato ir Avilamizino efektyvumas buvo iš esmės vienodas. Pridėjus 1 svorio % mielių preparato, buvo pastebėtas nežymus neigiamas poveikis kiaulių prieaugiui; jis akivaizdžiai sumažino pašaro suvartojimą, kas atsiliepė rezultatams. Bandymo rezultatai parodo, kad šio išradimo produkto kiekis pašare/maisto produkte gali palankiausiai atveju būti mažiau nei 1 svorio %, t.y. iki 0,9 svorio %. Melių, pavyzdžiui, alaus mielių, panaudojimas kaip baltymo žaliava jau yra žinomas. Mielės sudaro 2-10 svorio % viso pašaro, ir jos yra naudojamos pakeisti kitas baltymo žaliavas, tokias kaip susmulkinta soja, nesukeliant jokio neigiamo poveikio prieaugiui.

6 PAVYZDYS

I kiaulių pašarą buvo pridėta produkto, gauto iš kepimo mielių ir paruošto šio išradimo būdu. I kontrolinės grupės pašarą buvo pridėta Olaqvindox chemoterapinės medžiagos (50 mg/kg). Mielų grupės pašare vietoje Olaqvindox buvo pridėta 0,5 svorio % mielių frakcijos. Rezultatai pateikti 6 lentelėje.

Pridėjus mielių frakcijos, žymiai sumažėjo kiaulių diarėja; vidutinis diarėjos indeksas buvo 1,5 mielių grupėje ir 2,5 Olaqvindox grupėje. Be to, visa Olaqvindox grupės paršiukų vada turėjo būti gydoma antibiotikais ar cinko oksidu nuo diarėjos. Mielų grupėje šis kiekis tesudarė 12,5 %.

6 LENTELE

Grupė	Olaqvindox 50 ppm	0,5 % mielių frakcija
-------	-------------------	-----------------------

Kiaulės	79	87
Pradinis svoris, kg	7,1	7,5
Galutinis svoris, kg	12,47	12,96
Prieaugis, g/diena	255	261
Pašaro efektyvumas kg/kg	1,61	1,60
Diarėjos indeksas	2,5	1,5
Gydymas nuo diarėjos, % nuo paršiukų vados	100	12,5

Diarėjos indekso gradacija: 1 – normalios išmatos, 2 – skystos išmatos, 3 – vandeningos išmatos.

7 PAVYZDYS

Produkto, gauto iš kepimo mielių ir paruošto šio išradimo būdu, buvo pridėta į auginamų kiaulių pašarą. Matavimai atlikti kaip ir ankstesniame pavyzdyje. Rezultatai pateikti 7 lentelėje.

7 LENTELĖ

Grupė	Olaqvinox 50 ppm	0,5 % mielių frakcija
Kiaulių skaičius	150	140
Pradinis svoris, kg	21,7	21,3
Bandymų dienų skaičius	33	33
Prieaugis, g/diena	777 ^a	847 ^a
Pašaro efektyvumas kg/kg	2,07	1,87

8 PAVYZDYS

Produkto, gauto iš kepimo mielių ir paruošto šio išradimo būdu, buvo pridėta į auginamų kiaulių pašarą, siekiant išsiaiškinti jo poveikį kiaulių sveikatai ir prieaugiui, o taip pat ir pašaro suvartojimą. Kiekvieną bandymų grupę sudarė 6x4 kiaulės. Bandymų grupės buvo perskirtos, kaip tai parodyta 8 lentelėje.

8 LENTELĖ

Priedas	0		Olaqvinox 50 ppm		Avilamizinas 40 ppm	
Mielių frakcija	+	-	+	-	+	-

Į mielių grupės pašarą buvo pridėta 0,5 % priedo, t.y. mielių frakcijos, paruošto iš mielių šio išradimo būdu. Rezultatai pateikti 9 lentelėje.

Pridėjus mielių frakcijos, šiek tiek padidėjo kiaulių prieaugis ir pašaro suvartojimas (9 lentelė). Mielių poveikis ypač išryškėja, pridėjus jų į pašarą be priedų, šiuo atveju mielių frakcijos pridėjimas padidino kiaulių prieaugį iki to paties lygio, kaip ir šeriant jas pašaru su priedais.

9 LENTELĖ. Mielių frakcijos poveikis kiaulių prieaugiui ir pašaro suvartojimui

Mielių frakcijos pridėjimas	-	+	be priedų -	be priedų +
Kiaulių skaičius	72	72	24	24
Pradinis svoris, kg	13,42	13,62	13,50	13,50
Galutinis svoris, kg	23,73	24,80	22,38	24,55
Prieaugis, g/diena	493	535	429 ^a	526 ^b
Pašaro efektyvumas, kg pašaro/kg prieaugio				

a, b ($p < 0,05$)

9 PAVYZDYS

Šio bandymo metu mielių frakcijos buvo paruoštos mikrobiologiniams tyrimams. Žaliavos buvo kepimo mielės ir alaus mielės, kurios buvo apdorotos rūgštimi, fermentiškai ar autolizuotos druska.

Rūgščių hidrolizės metu mielių suspensijų pH buvo išlaikomas ties 4,0 reikšme, naudojant stiprų HCl tirpalą (10 val), temperatūra buvo išlaikoma ties 60°C. Sekančią dieną pH buvo sumažintas iki 2,0 (11 val). Ir, galiausiai, temperatūra buvo pakelta iki 68°C (12 val). Gautasis reakcijos mišinys buvo neutralizuotas (pH 6,2) ir centrifuguotas (4000 aps/min, 20 min). Iš tirpios (supernatanto) frakcijos ir ląstelių netirpmenų kaip ir 1 pavyzdyje buvo nustatytas sausos medžiagos kiekis ir sukibimas. 10 lentelėje pateiktos sausos medžiagos kiekybinės reikšmės.

Fermentinės hidrolizės metu mielių suspensijos buvo apdorotos šiluma (95°C temperatūra, apie 10 min), po to jos buvo perkeltos į fermentatorių, pH 5,8, temperatūra 65°C. Proteaze buvo naudojamas papainas (Promod 144 L). Galutinio fermentinio apdorojimo ribonukleaze metu RNA nukleotidai buvo suskaldyti ir deamizimas GMP buvo paverstas IMP. Reakcijų mišiniai buvo centrifuguoti (4000 aps/min, 20 min). Iš tirpios frakcijos ir ląstelių netirpmenų

buvo nustatytas sausos medžiagos kiekis ir sukibimas, kaip aprašyta aukščiau. 10 lentelėje pateiktos sausos medžiagos kiekybinės reikšmės.

Autolizės metu mielės buvo autolizuotos fermentatoriuje 50°C temperatūroje, pridedant 0,5 % NaCl, maišymo greitis 100 aps/min, reakcijos laikas – 24 val. Reakcijos mišinys buvo centrifuguotas (4000 aps/min, 20 min). Iš tirpios frakcijos ir ląstelių netirpmenų buvo nustatytas sausos medžiagos kiekis ir sukibimas, kaip aprašyta aukščiau. 10 lentelėje pateiktos sausos medžiagos kiekybinės reikšmės.

Šiame pavyzdyje naudotos alaus mielės buvo apdorotos taip pat kaip ir kepimo mielės (aukščiau), išskyrus, kad jos buvo centrifuguotos (4000 aps/min, 20 min) prieš apdorojimą, siekiant pašalinti iš jų didžiąją tirpių alaus komponentų dalį. Po to aukščiau aprašytu būdu buvo atliktos hidrolizė ir autolizė.

10 LENTELĖ.

Bandinys	Sausa medžiaga, svorio %
Alaus mielės	12,0
Kepimo mielės	19,3
Alaus mielės	19,0
Kepimo mielės, autol., supernatantas	19,3
Alaus mielės, autol., supernatantas	9,4
Alaus mielės, autol., visa frakcija	20,9
Kepimo mielės, autol., supernatantas	18,1
Alaus mielės, autol., ląstelės	25,7
Kepimo mielės, autol., ląstelės	30,0
kepimo mielės, rūgščių hidrolizė, visa frakcija	17,8
Alaus mielės, rūgščių hidrolizė, visa frakcija	18,7
Kepimo mielės, rūgščių hidrolizė, ląstelės	32,7
Alaus mielės, rūgščių hidrolizė, ląstelės	24,4
Alaus mielės, rūgščių hidrolizė, supernatantas	19,1
Kepimo mielės, rūgščių hidrolizė, supernatantas	10,9
Kepimo mielės, ferm., ląstelės	20,3
Alaus mielės, ferm., ląstelės	18,5
Kepimo mielės, ferm., supernatantas	14,4
Alaus mielės, ferm., supernatantas	10,6

Kalbant apie mielių ekstraktų sausąją medžiagą (supernatantą), galima matyti, kad, lyginant skirtingas proceso rūšis, fermentiškai apdorotos ekstraktų frakcijos turi didesnę sausos medžiagos kiekybinę reikšmę. Tuo būdu, galima daryti prielaidą, kad sausos medžiagos išeiga į mielių ekstraktą yra didžiausia

diskutuojamame procese ir, atvirkščiai, žemiausia - ląstelių frakcijoje. Kiekvienoje hidrolizės reakcijoje ekstraktai, gauti iš kepimo mielių, turėjo daugiau sausos medžiagos, nei gauti iš alaus mielių (sausos medžiagos kiekis žaliavoje buvo taip pat 0,5 % didesnis kepimo mielėse, nei alaus mielėse). Žymaus skirtumo tarp autolizato ir rūgštimi hidrolizuotos ekstrakto frakcijos nebuvo. Ląstelių frakcijų, priklausančių mielių ekstraktui, sausos medžiagos kiekybinės reikšmės patvirtino, kad fermentiškai apdorotų frakcijų sausos medžiagos pasiskirstymas atitinka mielių ekstrakto sausos medžiagos pasiskirstymą, kitaip tariant – ląstelių netirpmenų sausos medžiagos visos kiekybinės reikšmės buvo atitinkamai mažiausios fermentiniame procese.

Kuomet sausos medžiagos pasiskirstymas yra apskaičiuojamas iš ekstrakto (supernatanto), kuris nepilnai atspindi situaciją, nes ląstelių netirpmenyse vis dar lieka šiek tiek neekstrahuotos sausos medžiagos, apie 46 % sausos medžiagos, dalyvaujančios fermentinio proceso sausos medžiagos pasiskirstyme, buvo mielių ekstrakto, apdorojant kepimo mieles. Kepimo mielėms ši reikšmė buvo atitinkamai apie 28 %. Vadinas, ekstrakto išeiga bus apie 50 % visos sausos medžiagos. Išeiga alaus mielėse buvo žymiai mažesnė.

Rūgščių hidrolizėje kepimo mielių ekstrakto išeiga sudarė apie 44 % sausos medžiagos, o autolizėje – apie 34 % sausos medžiagos. Alaus mielėms šie skaičiai sudarė atitinkamai 32 % (rūgštis) ir 38 % (autolizė).

10 PAVYZDYS

Buvo atliktas laboratorinis bandymas, siekiant nustatyti apdorotų kepimo mielių frakcijų gebą inhibuoti *E. coli* K88 bakterijų prikibimą prie kiaulių mažojo žarnyno gleivių. Bandymo eiga aprašyta 1 pavyzdyje. Šio bandymo metu mikrotitro plokštelės duobutės padengiamos gleivėmis, išskirtomis iš kiaulių žarnyno. Radioaktyviai pažymėtos bakterijos uždedamos ant gleivių arba atskirai, arba kartu su tiriamąja medžiaga. Bakterijos inkubuojamos mikrotitro duobutėse ir neprikibusios pašalinamos, išplaunant jas. Prikibusios bakterijos išretinamos, naudojant ploviklį, ir apskaičiuojamas jų kiekis pagal jų radioaktyvumą.

Mielės buvo hidrolizuotos fermentu ir druskos rūgštimi. Fermentinėje hidrolizėje buvo panaudotas papaino fermentas (Promod 144 L), pH 5,8, temperatūra 65°C. Galutinio fermentinio apdorojimo ribonukleaze metu RNA nukleotidai buvo suskaldyti ir GMP deamizinas buvo paverstas IMP. Reakcijų mišiniai buvo centrifuguoti (1400 aps/min, 20 min). Apie 48 % sausos medžiagos buvo mielių ekstrakte.

Rūgščių hidrolizėje (pH 2, temperatūra 68°C) reakcijos mišinys buvo centrifuguotas (4000 aps/min, 20 min), bendra ekstrakto išeiga sudarė apie 50 % visos sausos medžiagos.

Šiame bandyme buvo naudojamos šviežios kepimo mielės ir išdžiovintos purškiant kepimo mielių frakcijos kaip prikibimo inhibitoriai: fermentiškai suskaldytų mielių tirpi ir kieta frakcija, rūgštimi hidrolizuotų mielių tirpi ir kieta frakcija. Visų mielių frakcijų ir šviežių mielių koncentracija reakcijos mišinyje bandymo metu buvo 0,16 % (sausa medžiaga). Rezultatai patekti fig.1. Bakterijų, pridėtų į gleives be mielių frakcijos, prikibimas prie gleivių atvaizduotas 100 % reikšme.

Išradimas nėra apribotas aukščiau pateiktais jo realizavimo pavyzdžiais, įmanomos įvairios jo variacijos išradimo idėjos, nustatytos apibrėžtimi, rėmuose.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Maistinio priedo, skirto apsaugoti nuo skrandžio ir žarnyno ligų ir/arba prieaugio padidinimui, gamybos būdas, besiskiriantis tuo, kad apdoroja mielių žaliavą hidroliziškai rūgštimi, atidaro ląstelės sienelę ir padidina laisvųjų oligosacharidų ir/arba laisvųjų polisacharidų ir/arba oligosacharidų ir/arba polisacharidų kiekį ląstelės sienelės paviršiuje.
2. Būdas pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad naudoja gautąjį hidrolizės metu produktą kaip nefrakcionuotą.
3. Būdas pagal 1 ar 2 punktą, besiskiriantis tuo, kad apdoroja žaliavą mechaniškai, hidrostatiskai ar pneumatiškai ir/arba šiluma ir taip suardo ląstelės struktūrą.
4. Būdas pagal bet kurį vieną iš 1-3 punktų, besiskiriantis tuo, kad apdoroja gautąjį produktą plovikliu.
5. Būdas pagal bet kurį vieną iš 1-4 punktų, besiskiriantis tuo, kad naudoja kaip žaliavą kepimo mieles, alaus mieles ir/arba maistines mieles.
6. Būdas pagal bet kurį vieną iš 1-5 punktų, besiskiriantis tuo, kad prideda 0,05-1,5 svorio %, skaičiuojant sausai medžiagai, gautojo oligosacharido ir/arba polisacharido produkto į pašarą.
7. Būdas pagal 6 punktą, besiskiriantis tuo, kad prideda 0,1-1,0 svorio %, skaičiuojant sausai medžiagai, gautojo oligosacharido ir/arba polisacharido produkto į pašarą.
8. Maistinis priedas, skirtas apsaugoti nuo skrandžio ir žarnyno ligų ir/arba prieaugio padidinimui, besiskiriantis tuo, kad maistinis priedas yra priedas, gautas apdorojus hidroliziškai mielių žaliavą rūgštimi, atidarius

- ląstelės sienelę ir padidinus laisvųjų oligosacharidų ir/arba laisvųjų polisacharidų ir/arba oligosacharidų ir/arba polisacharidų kiekį ląstelės sienelės paviršiuje.
9. Priedas pagal 8 punktą, besiskiriantis tuo, kad priedo sudėtyje yra nefrakcionuoto produkto.
 10. Priedas pagal 8 ar 9 punktą, besiskiriantis tuo, kad žaliava yra apdorota mechaniškai, hidrostatiskai ar pneumatiškai ir/arba šiluma, taip suardant ląstelės struktūrą.
 11. Priedas pagal bet kurį vieną iš 8-10 punktų, besiskiriantis tuo, kad gautasis produktas yra apdorotas plovikliu.
 12. Priedas pagal bet kurį vieną iš 8-11 punktų, skirtas naudoti gyvūnų pašarui, siekiant apsaugoti juos nuo skrandžio ligų, žarnyno ligų ir/arba padidinti prieaugį.
 13. Preparatas, turintis maistinio priedo, skirtas šerti gyvūnus, siekiant apsaugoti juos nuo žarnyno ligų ir/arba padidinti prieaugį, besiskiriantis tuo, kad preparato sudėtyje yra priedo pagal bet kurį vieną iš 8-11 punktų, kurio kiekis dienos racione yra 0,01-0,6 g sausos medžiagos/kg gyvojo svorio.
 14. Preparatas pagal 13 punktą, besiskiriantis tuo, kad priedo kiekis pašare yra 0,05-1,5 svorio % dienos raciono.

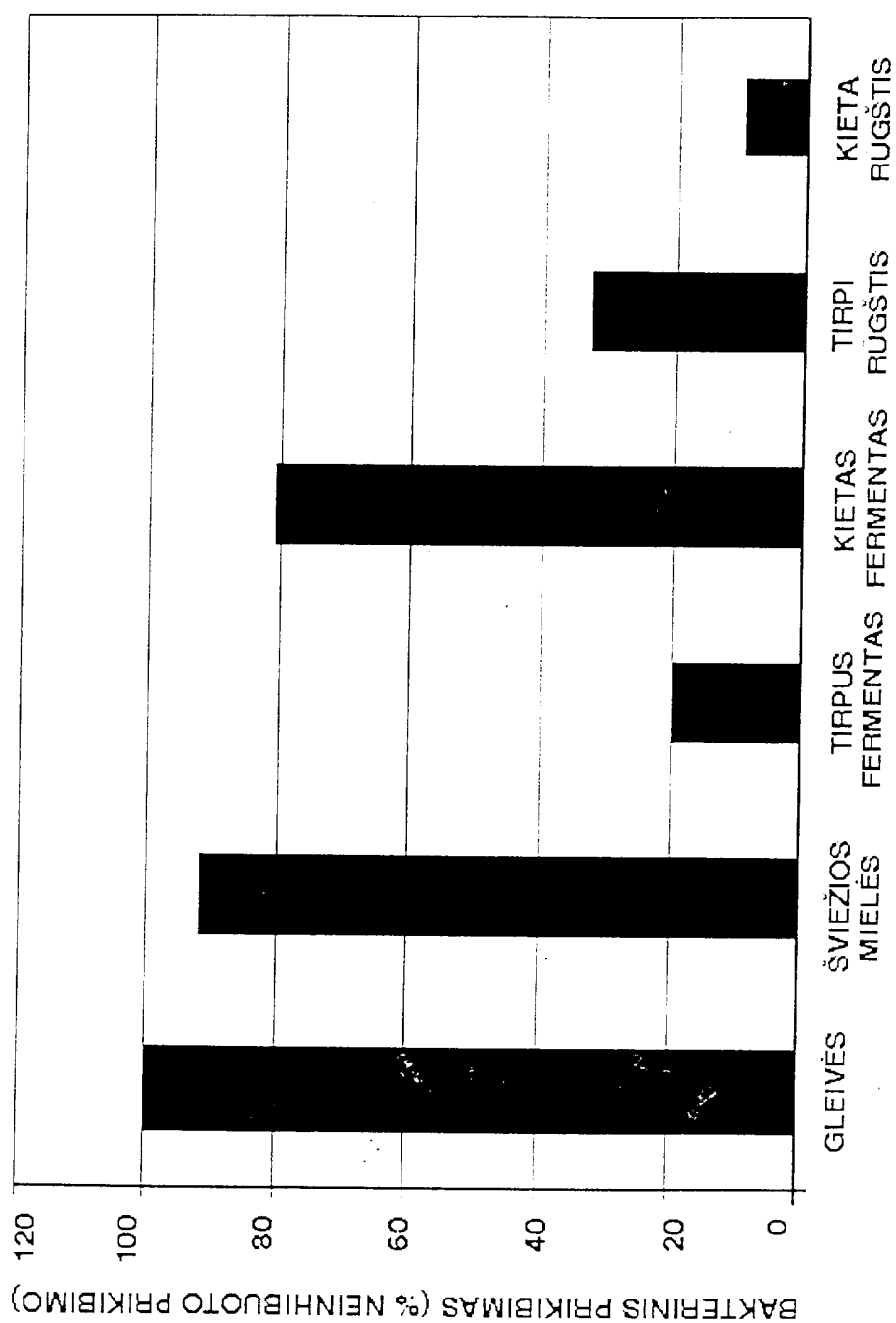


Fig.1