

(19)



(10) **LT 5317 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **5317** (51) Int. Cl. (2006): **A23K 1/16**

(21) Paraiškos numeris: **2004 041**

(22) Paraiškos padavimo data: **2004 04 29**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2005 11 25**

(45) Patent paskelbimo data: **2006 03 27**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —

(30) Prioritetas: —

(72) Išradėjas:

Antanas GRŪNOVAS, LT
Kazimieras LUKAUSKAS, LT
Antanas SEDEREVIČIUS, LT
Gediminas Arvydas BIZIULEVIČIUS, LT
Marija TUMIENĖ, LT

(73) Patent savininkas:

Uždaroji akcinė bendrovė „NEOSOMATAS“, Raseinių r. sav., Dievogalos k., LT

(74) Patentinis patikėtinis:

Aušra PAKĖNIENĖ, AAA Baltic Service Company, Jasinskio g. 16B, Biurų centras Victoria, LT-01112 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Pieno kokybę gerinantis karvių pašaras

(57) Referatas:

Išradime pateikiama karvių pašaro kompozicija, skirta pieno kokybei gerinti, sumažinant somatinių ląstelių kiekį piene. Kompozicija apima fermentinį priedą, turintį 100-500 mg/kg gyvulio masės preparato lizocimo G3x, arba 10-50 mg/kg gyvulio masės preparato lizosubtilino G10x, arba 200 mg/kg gyvulio masės preparato lizocimo G3x ir 20 mg/kg gyvulio masės preparato lizosubtilino G10x. Šeriant karves minėta kompozicija bent 10 dienų, somatinių ląstelių kiekis piene sumažėja daugiau nei 3 kartus.

Išradimas yra susijęs su karvių pašaro kompozicija, gerinančia pieno kokybę sumažinant somatinių ląstelių kiekį piene, taip pat su lizocimo ir kitų lizuojančių fermentų preparatu, tokių kaip lizocimas G3x ir lizosubtilinas G10x panaudojimu pašarų kompozicijos gamyboje.

Pieno kokybė ir sudėtis priklauso nuo daugelio faktorių: pašarų kokybės ir šėrimo technikos, melžimo, karvių veislės, gyvulių fiziologinės būklės ir kt. Somatinių ląstelių kiekis (SLK) yra vienas iš pagrindinių karvių pieno kokybės rodiklių. Somatinių ląstelių piene yra visada. Kai SLK viršija 300.000 ląstelių/ml, pieno kokybė mažėja. SLK, didesnis nei 300.000 ląstelių/ml, nurodo, kad karvės tešmuo yra sudirgintas arba nesveikas. Pagal 2000 m. reikalavimus, taikomus Lietuvoje, aukščiausios rūšies piene SLK negali būti didesnis nei 400.000 ląstelių/ml, pirmos rūšies piene – iki 500.000 ląstelių/ml, o antros rūšies piene – iki 700.000 ląstelių/ml. Pagal ES pastarųjų metų reikalavimus SLK piene, skirtam žmonių maistui, negali būti didesnis nei 300.000 ląstelių/ml.

Žvelgiant iš kito taško, SLK yra karvių imuninės būklės rodiklis. Kai SLK piene viršija 300.000 ląstelių/ml, galima teigti, kad karvių imuninė sistema nesugeba pasipriešinti išorės poveikiams/infekcijai. Todėl karvių organizmo rezistentiškumo aplinkos faktoriams padidinimas yra kartu ir vienas iš galimų SLK piene sumažinimo bei pieno kokybės pagerinimo būdų. Tam gali būti naudojamos įvairios medžiagos, kurios gyvuliui skiriamos kartu su pašaru. Tai galėtų būti mikroelementai ir/arba vitaminai, kurių teigiamas poveikis imuninei sistemai yra neabejotinas, tačiau galima vartoti ir kitas medžiagas. Taip, pavyzdžiui, SLK piene sumažinti vartojami pašarų priedai, kuriuose veikia medžiaga yra kininio arbatmedžio milteliai ir/arba ekstraktas (JP 7 075 506); augalo *Quillaja saponaria* ekstrakto milteliai (EP 1 219 178). Šių būdų efektyvumas nėra didelis.

Mes gi siūlome kaip pašarų priedus naudoti fermentinius preparatus. Žinoma, kad fermentai, kaip pašarų priedai, naudojami: pašaro konservavimui (karbohidratus skaidantys fermentai) (EP 0 346 909); pieno sekrecijos bei neriebalinės sausų medžiagų dalies padidinimui (celiuliazė, ksilanazė,

dekstranazė, amilazė, pektinazė, proteazė) (US 4 144 354). Patentinėje publikacijoje EP 1 043 028 A1 aprašytas fitazės panaudojimas mastito, kaip somatinių ląstelių piene priežasties, gydymui.

Tačiau nė vienas iš čia paminėtų fermentų neturi ryškaus poveikio gyvulių imuninei sistemai.

Siūlome naudoti tokius fermentus, kurie įgalintų ženkliai padidinti karvių organizmo rezistentiškumą, o ir tuo pačiu turėtų ryškų poveikį SLK piene sumažinti ir pieno kokybei pagerinti. Tai galėtų būti lizuojantys fermentai, tokie kaip lizocimas, kurie, ardydami virškinimo trakte esančių mikrobinių ląstelių sienelės, atpalaiduoja imuninę sistemą stimuliuojančias medžiagas – muropeptidus, lipopolisacharidus, β-gliukanus ir kt.

Šiame išradime siūloma lizuojančių fermentų šaltiniu naudoti preparatus lizocimas G3x ir lizosubtilinas G10x. Tai yra baltyminiai preparatai, todėl jie po įvedimo *per os* ir savo funkcijos įvykdymo, yra suvirškinami kaip ir kiti baltymai. Jie yra netoksiški, nesikaupia organizme, neturi šalutinio poveikio, jų poveikyje nesusidaro rezistenciškos antimikrobiniai veiksniai mikroorganizmų formos.

Lizocimas G3x yra fermentinis preparatas, gaunamas išdžiovinus purkštuvinėje džiovykloje išaugintų giluminiu būdu bakterijų *Bacillus subtilis* kultūrinį skystį. Tai yra šviesiai pilkos spalvos gerai tirpstantys vandenyje milteliai. Preparato lizociminis aktyvumas yra 300 ± 30 vnt/g.

Lizosubtilinas G10x yra kompleksinis fermentinis preparatas, gaunamas nusodinus giluminiu būdu išaugintų bakterijų *Bacillus subtilis* kultūrinio skysčio filtrate esantį baltymą acetonu. Tai yra smulkūs, šviesiai pilkos arba smėlio spalvos tirpūs vandenyje milteliai. Preparato lizuojantis aktyvumas yra ne mažesnis nei 1000000 vnt/g. Preparato sudėtyje yra ir amilolizinių bei proteolizinių fermentų.

Pagal šį išradimą į įprastinius karvių pašarus įmaišoma 100-500 mg/kg gyvulio masės, geriausia, 200 mg/kg gyvulio masės lizocimo G3x, ir sušeriama kartą dienoje. Karvės šeriamos tokiu mišiniu bent 5-30 dienų.

Pagal kitą išradimo atvejį į įprastinius karvių pašarus įmaišoma 10-50 mg/kg gyvulio masės, geriausia, 20 mg/kg gyvulio masės lizosubtilino G10x, ir sušeriama kartą dienoje. Karvės šeriamos tokiu mišiniu bent 5-30 dienų.

Pagal dar vieną išradimo atvejį į įprastinius karvių pašarus įmaišoma 200 mg/kg gyvulio masės lizocimo G3x ir 20 mg/kg gyvulio masės lizosubtilino G10x ir sušeriama kartą dienoje. Karvės šeriamos tokiu mišiniu bent 5-30 dienų.

Įprastinis karvių pašaras yra toks, kuris gerai žinomas šios srities specialistui. Tai gali būti racionas, susidedantis iš šienainio, siloso, šieno, šiaudų, saladino, cukrinių runkelių, kombinuotųjų pašarų, mineralinių vitamininių priedų, laišomosios druskos. Ganykliniu laikotarpiu karvių racioną gali sudaryti ganyklų žolė, saladinas, kombinuotasis pašaras, laišomoji druska.

Pieno tyrimai atliekami žinomais šioje srityje metodais. SLK nustatomas kiekvienai karvei individualiai, naudojant, pavyzdžiui, prietaisą "Somascope". Pašarų priedo pagal šį išradimą teigiamas efektas, sumažinant SLK piene, įvertinamas SLK po bandymo, lyginant su pradiniu kiekiu, procentais.

Siūlomos pašarų kompozicijos naudojimas bent 10 dienų sumažina SLK karvių piene daugiau nei tris kartus ir tuo pačiu reikšmingai pagerina pieno kokybę.

Toliau išradimas iliustruojamas pavyzdžiais.

Pavyzdys 1.

Bandymui panaudotos keturios Lietuvos juodmargių karvių grupės, po penkias karves grupėje. Karvės laikomos, šeriamos ir melžiamos kaip įprasta, išskyrus tai, kad trijų grupių karvėms dešimties dienų laikotarpyje papildomai duodamas lizosubtilinas G10x kartu su pašaru kartą dienoje. Kontrolinė karvių grupė lizosubtilino G10x negauna; pirma bandomoji grupė gauna lizosubtilino G10x 5 mg/kg gyvulio masės; antra bandomoji grupė gauna lizosubtilino G10x 10 mg/kg gyvulio masės; trečia bandomoji grupė gauna lizosubtilino G10x 20 mg/kg gyvulio masės. SLK karvių piene nustatomas prieš bandymą ir jį baigus. Rezultatai pateikti lentelėje.

Lizosubtilino G10x dienos dozė (vnt/kg gyvulio masės)	SLK piene (ląstelių/ml; 5-ių karvių vidurkis)		SLK piene po bandymo, lyginant su pradiniu kiekiu, %
	prieš bandymą	po bandymo	
0(kontrolė)	830.000	840.000	101,2
5	820.000	810.000	98,8
10	800.000	660.000	82,5
20	820.000	460.000	56,1

Pavyzdys 2.

Bandymui panaudotos keturios Lietuvos juodmargių karvių grupės, po penkias karves grupėje. Karvės laikomos, šeriamos ir melžiamos kaip įprasta, išskyrus tai, kad trijų grupių karvėms dešimties dienų laikotarpyje papildomai duodamas lizocimas G3x kartu su pašaru kartą dienoje. Kontrolinė karvių grupė lizocimo G3x negauna; pirma bandomoji grupė gauna lizocimo G3x 50 mg/kg gyvulio masės; antra bandomoji grupė gauna lizocimo G3x 100 mg/kg gyvulio masės; trečia bandomoji grupė gauna lizocimo G3x 200 mg/kg gyvulio masės. SLK karvių piene nustatomas prieš bandymą ir jį baigus. Rezultatai pateikti lentelėje.

Lizocimo G3x dienos dozė (vnt/kg gyvulio masės)	SLK piene (ląstelių/ml; 5-ių karvių vidurkis)		SLK piene po bandymo, lyginant su pradiniu kiekiu, %
	prieš bandymą	po bandymo	
0(kontrolė)	610.000	720.000	118,0
50	640.000	580.000	90,6
100	620.000	440.000	71,0
200	605.000	300.000	49,6

Pavyzdys 3.

Bandymui panaudotos trys Lietuvos juodmargių karvių grupės, po devynias karves grupėje. Karvės laikomos, šeriamos ir melžiamos kaip įprasta, išskyrus tai, kad dviejų grupių karvėms penkiolikos dienų laikotarpyje papildomai duodami fermentiniai preparatai (su vitaminais arba be jų) kartu su pašaru kartą dienoje. Kontrolinė karvių grupė fermentų negauna; pirma bandomoji grupė gauna lizosubtilino G10x 20 mg/kg gyvulio masės + lizocimo G3x 200 mg/kg gyvulio masės ; antra bandomoji grupė gauna lizocimo G3x

200 mg/kg gyvulio masės + vitaminų C, A, E. SLK karvių piene nustatomas prieš bandymą ir jį baigus. Rezultatai pateikti lentelėje.

Karvių grupė	SLK piene (ląstelių/ml; 9-ių karvių vidurkis)		SLK piene po bandymo, lyginant su pradinio kiekiu, %
	prieš bandymą	po bandymo	
kontrolinė	740.000	1.270.000	171,6
bandomoji 1	760.000	309.000	40,7
bandomoji 2	730.000	205.000	28,1

Apibrėžtis

1. Karvių pašaro kompozicija, apimanti įprastinę vienkartinę pašarų dozę ir fermentinį priedą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad fermentinis priedas yra lizuojantys fermentai.
2. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad lizuojančių fermentų preparatai yra lizocimas arba kiti lizuojančių fermentų preparatai, tokie kaip lizocimas G3x, lizosubtilinas G10x, arba jų deriniai.
3. Kompozicija pagal 1 ir 2 punktus, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad fermentinis priedas vienkartinėje pašarų dozėje apima 100-500 mg/kg gyvulio masės, geriausia, 200 mg/kg gyvulio masės, lizocimo G3x.
4. Kompozicija pagal 1 ir 2 punktus, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad fermentinis priedas vienkartinėje pašarų dozėje apima 10-50 mg/kg gyvulio masės, geriausia, 20 mg/kg gyvulio masės, lizosubtilino G10x.
5. Kompozicija pagal 1 ir 2 punktus, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad fermentinis priedas vienkartinėje pašarų dozėje apima 200 mg/kg gyvulio masės lizocimo G3x ir 20 mg/kg gyvulio masės lizosubtilino G10x.
6. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-5 punktų, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji duodama karvėms kartą dienoje bent 5-30 dienų, geriausia, bent 10 dienų laikotarpyje.
7. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-6 punktų, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji dar apima vitaminus, tokius kaip A, C, E, mikroelementus ir kalcio preparatus.
8. Kompozicija pagal 1-7 punktus, skirta somatinių ląstelių kiekio karvių piene sumažinimui.

9. Lizocimo bei kitų lizuojančių fermentų preparatų, tokių kaip lizocimas G3x, lizosubtilinas G10x panaudojimas pašarų kompozicijoms pagal bet kurį iš 1-8 punktų gamyboje.