

Wieloskładnikowy dodatek paszowy dla zwierząt, zwłaszcza dla prosiąt i jego zastosowania.

Przedmiotem wynalazku jest wieloskładnikowy dodatek paszowy przeznaczony do żywienia świń, w skład którego wchodzi nowe szczepy bakterii fermentacji mlekowej, średnio łańcuchowe kwasy tłuszczowe, biomasa komórkowa drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i regulator kwasowości. Zastosowanie tego wieloskładnikowego dodatku paszowego w żywieniu pozwala na zwiększenie przyrostów masy ciała, lepsze wykorzystanie paszy oraz poprawę bezpieczeństwa biologicznego zwierząt, co jest wynikiem między innymi ograniczenia liczebności chorobotwórczych bakterii, zwłaszcza *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens* oraz pasożytów, szczególnie z rodzaju *Eimeria*.

Przewód pokarmowy wczesnie odsadzanych prosiąt nie jest dojrzały pod względem morfologicznym i nie działa w pełni sprawnie. Żołądek w tym okresie nie wydziela wystarczającej ilości kwasu solnego mogącego utrzymać pH na właściwym poziomie, gwarantującym pełną aktywność pepsyny i chroniącym przed zakażeniem bakteryjnym. Zaburzenia równowagi mikroflory jelitowej są więc główną przyczyną występowania biegunek u młodych zwierząt (Simon i in., 2001). Naturalne zaburzenia w przewodzie pokarmowym są w tym okresie mocno sprzężone z czynnikami środowiskowymi, takimi jak stres. Prosięta reagują na stres odsadzenia głębokimi zmianami w budowie nabłonka jelita. Na powierzchni błony śluzowej jelita występują kosmki zwiększające jego powierzchnię chłonną, tak, więc ich ilość i wielkość warunkuje szybkość wchłaniania składników pokarmowych. Według Mariona i in. (2002) w trzecim dniu po odsadzeniu prosiąt wysokość kosmków ulega obniżeniu o 59% w stosunku do wysokości przed odsadzeniem, a masa nabłonka jelita cienkiego zmniejsza się o 55%. W okresie tym obserwuje się wzmożoną apoptozę enterocytów, komórek charakteryzujących się szybkim metabolizmem i wrażliwością na niedobór tlenu i substancji odżywczych. Wpływa to na upośledzenie procesu trawienia i sprzyja upadkom zwierząt. Zabezpieczenie przed tego typu zmianami stanowią dodatki paszowe. Stosowanie w żywieniu prosiąt krótko (SCFA) lub średnio

łańcuchowych (MCFA) kwasów tłuszczowych wpływa na obniżenie pH treści początkowego odcinka przewodu pokarmowego, co sprzyja rozwojowi bakterii fermentacji mlekowej, obniża efekt buforującego działania niektórych składników paszy, hamując równocześnie rozwój szkodliwych drobnoustrojów (Tsiloyiannis i in. 2001). Korzystne działanie kwasów tłuszczowych, zwłaszcza w żywieniu młodych zwierząt, związane jest także ze zmianami w budowie nabłonka jelita cienkiego. Odbudowa komórek nabłonka wymaga dostarczenia łatwo przyswajalnej energii, której źródłem mogą być właśnie SCFA i MCFA (Topping i Clifton, 2001). Wzrost wysokości kosmków po podaniu tych kwasów stwierdzili Dierick i in. (2002). Ponadto SCFA oraz MCFA wykazują działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze (Ricke, 2003), ograniczając rozwój bakterii z rodzajów *Clostridium* (Dierick i in., 2002), *Salmonella*, *Escherichia coli* (Skrivanova i in., 2006; Marounek i in., 2003; Nakai i Siebers, 2002). Działanie to polega na tzw. efekcie rozszczepienia. Kwasy niskocząsteczkowe w formie niezdysonowanej przenikają przez błony komórkowe patogennych bakterii dysocjując we wnętrzu ich komórki. Ich dysocjacja powoduje zmiany pH komórek mikroorganizmów, które dążą do utrzymania odczynu obojętnego, zużywając znaczne ilości energii. W rezultacie prowadzi to do jej niedoboru, ograniczenia syntezy białek i śmierci komórki bakteryjnej (Ricke, 2003). Bakteriobójcze działanie SCFA i MCFA oraz efektywność ich stosowania w żywieniu prosiąt nie są jednakowe i uzależnione są od długości łańcucha i charakterystyki chemicznej kwasów. Ochronne funkcje spełniać mogą także drożdże, głównie z rodzaju *Saccharomyces cerevisiae*, które dzięki obecności w nich naturalnych beta-glukanów, mannanów, witamin z grupy B, jak też wartościowego białka, stanowią alternatywę dla antybiotykowych stymulatorów wzrostu w żywieniu młodych zwierząt, zwłaszcza prosiąt. Korzystny wpływ zastosowania dodatku drożdży oraz produktów ich frakcjonowania w żywieniu świń stwierdzili w swych badaniach między innymi Zimmermann i in., (2001), Hahn i in., (2006), Li i in., (2006), Fuchs i in., (2005, 2011) Rekiel i in., (2008). Autorzy uzyskiwali poprawę tempa wzrostu i wykorzystania paszy, ograniczenie namnażania się bakterii *E. coli* oraz

Clostridium w treści pokarmowej, ograniczenie występowania biegunek oraz wzrost liczby komórek kubkowych w kryptach i kosmkach jelita cienkiego. Korzystne działanie pojedynczych dodatków paszowych może być jednak w pewnych sytuacjach spotęgowane przez współdziałanie kilku, wzajemnie się uzupełniających dodatków. W praktyce do zwalczania bakterii chorobotwórczych, a przy tym do poprawy efektywności żywienia, wykorzystywane są preparaty zawierające pojedyncze szczepy bakterii probiotycznych lub kompozycje wzbogacone o dodatek fitobiotyków, prebiotyków, kwasów organicznych i innych składników aktywnych. Stosowanie kompozycji wieloskładnikowych wymaga jednak standaryzacji preparatów probiotycznych i fitobiotycznych, co najmniej w taki sposób, aby zapewnić obecność w preparacie probiotycznym wszystkich szczepów należących do danej kompozycji a w dodatku fitobiotycznym zapewnić optymalny udział substancji aktywnych.

Na świecie jest wiele rozwiązań, które przewidują wykorzystanie wieloskładnikowych preparatów dla zwierząt, zwłaszcza dla świń. W wielu przypadkach w ich skład wchodzi specyficzne mikroorganizmy. Jednym ze znanych rozwiązań jest znana z opisu JP2004049174 kompozycja składająca się z 9 ziół, drożdży, bakterii kwasu mlekowego i kwasu organicznego. Preparat przeznaczony jest do stosowania podczas odchowu prosiąt w okresie ssania. Jego działanie polega na efektywnym ograniczaniu biegunek. W opisie patentowym EP1549155 autorzy zaproponowali z kolei preparat czteroszczepowy, zawierający dodatkowo inulinę, przeznaczony do żywienia zwierząt gospodarskich. Dodatek reguluje mikroflorę przewodu pokarmowego, ogranicza kolonizację przez patogeny oraz poprawia wzrost zwierząt i zmniejsza śmiertelność.

W rozwiązaniu znanym z opisu CN102239962 przedstawiono wieloskładnikowy preparat dla zwierząt zawierający kwas organiczny, np. kwas benzoesowy, jego pochodne oraz mieszaninę związków aktywnych wybranych spośród tymolu, eugenolu i piperyny w postaci olejków naniesionych na absorbencie. Kompozycja zapewnia stabilność i jednolitość wzrostu i wysokie spożycie paszy przez zwierzęta. Z kolei w zgłoszeniu CN101810248 autorzy przedstawili czteroszczepowy kompleks mikroorganizmów dla prosiąt

wzbogacony o ekstrakt z oregano. Zadaniem tego dodatku paszowego jest sterylizacja paszy, działalność przeciwtleniająca i przeciwbakteryjna, prowadząca do ograniczenia liczby biegunek, wzmacniająca ich odporność, a zmniejszająca śmiertelność zwierząt i obniżająca koszty żywienia. Innym przykładem może być wieloszczepowy probiotyk wzbogacony o prebiotyk w formie chitosanu, znany z opisu CN104171363. Dodatek ogranicza występowanie biegunek oraz działa stymulująco na wzrost prosiąt. W zgłoszeniu CN104171421 opisano dodatek paszowy składający się z kilku szczepów bakterii, oligosacharydów i polisacharydów roślinnych oraz adsorbenta. Dodatek wpływa korzystnie na mikroflorę przewodu pokarmowego, naprawia system immunologiczny, działa przeciwzapalnie, antywirusowo i absorbuje toksyny. U drobiu ogranicza występowanie biegunek, zwiększa odporność ptaków, poprawia wykorzystanie paszy i przyrosty masy ciała. Rozwiązanie znane z opisu CN104431560 przedstawia produkt przeznaczony dla świń, zawierający glicynian cynku, beta-mannazy, drożdże, bakterie (*Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*) i inne specyficzne dodatki. Produkt wpływa pozytywnie na mikroflorę przewodu pokarmowego, poprawia pobranie paszy, wzrost zwierząt i działa sterylizująco, ograniczając biegunki i zakażenia oraz emisję azotu i amoniaku do środowiska. Patent PL 212061 dotyczy z kolei probiotycznego stymulatora wzrostu przeznaczonego między innymi dla trzody chlewnej, który składa się z mieszaniny szczepów bakterii probiotycznych, drożdży oraz ekstraktu z *Yucca Schidigiera*. W zgłoszeniu PL 386831 przedstawiono preparat wieloskładnikowy przeznaczony m.in. dla trzody chlewnej, który jest kombinacją krótko łańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz ekstraktu z *Yucca Schidigiera*. Celem preparatu jest wspomaganie układu pokarmowego, w szczególności rozwoju i funkcji jelit.

Aktualna, bardzo intensywna produkcja świń ukierunkowana jest przed wszystkim na zmaksymalizowanie dochodu. Ten z kolei osiąga się jedynie wtedy, gdy zwierzęta szybko rosną, dobrze wykorzystują paszę i nie chorują. Większość aktualnie występujących chorób jest bezpośrednio lub pośrednio związana z występowaniem w środowisku patogenów. Bakterie chorobotwórcze

5 mogą być efektywnie zwalczane za pomocą antybiotyków i innych substancji antybakteryjnych, w tym metabolitów bakterii o aktywnościach antagonistycznych. Stosowanie antybiotyków paszowych od 2006 roku jest jednak zakazane. Alternatywą, która z powodzeniem stosowana jest w produkcji 5 zwierzęcej, są bakterie probiotyczne. Ich działanie antagonistyczne w stosunku do patogenów jest jednak cechą szczepozależną. Co gorsza, bakterie chorobotwórcze cechują się dużą zmiennością, a więc zdarza się, że bakterie probiotyczne, które skutecznie zwalczały patogeny, stają się nieskuteczne wskutek zachodzących mutacji. Wynika stąd konieczność nieustannego doboru bakterii probiotycznych 10 do patogenów występujących aktualnie w danym regionie. Szczególnie zagrożenie w warunkach fermowych stanowią bakterie *E. coli* i *C. perfringens*, przyczyniające się do wystąpienia wielu schorzeń u zwierząt oraz do pogorszenia wyników produkcyjnych. Pozytywne działanie bakterii może być wzmocnione przez obecność innych substancji ochronnych lub stymulujących wzrost zwierząt, 15 jak kwasy organiczne, mikroorganizmy i ich pochodne oraz prebiotyki. Sposób połączenia i ochrony tych substancji jest jednak o tyle istotny, że w sprzyjających okolicznościach, wynikających zarówno z ich charakterystyki, mechanizmu działania, jak i koncentracji, wzajemne ich oddziaływanie może być pozytywne lub negatywne. Powszechnie znany jest efekt kwasów organicznych, jako dodatku 20 energetycznego, a jednocześnie substancji bakteriobójczych. Należy jednak pamiętać, że kwasy organiczne mogą wykazywać negatywny wpływ na bakterie probiotyczne. Z kolei drożdże działają głównie poprzez wzbogacenie paszy w składniki aktywne biologicznie, jak: enzymy, witaminy, minerały, mannanooligosacharydy, a te z kolei mogą pełnić funkcje prebiotyczne.

25 W praktyce żywieniowej każdy ze składników jest zwykle stosowany niezależnie, przez co nie uzyskuje się efektu synergii. Także mieszaniny wieloskładnikowe różnych dodatków nie zawsze są skuteczne. Efekt synergii występuje bowiem jedynie wtedy, gdy obecne w dodatku składniki nie wpływają wzajemnie na siebie bójczo lub konkurencyjnie, i działają wielokierunkowo. W 30 praktyce są poszukiwane preparaty o możliwie jak najszerszym działaniu, skomponowane z naturalnych składników.

Mając na uwadze wszystkie powyższe ograniczenia i wymagania można stwierdzić, że hodowcy świń poszukują prostych rozwiązań żywieniowych, dzięki którym poprawią efektywność produkcji, zapewnią lepsze wykorzystanie paszy, zwiększą tempo przyrostu masy ciała zwierząt, obniżą liczebność chorobotwórczych mikroorganizmów. Poszukiwane są zatem preparaty, które poprawią zdrowotność zwierząt i obniżą koszty opieki weterynaryjnej, a także ograniczą skażenie środowiska. Tego typu spektrum działania może być osiągnięte jedynie dzięki zastosowaniu wieloskładnikowych dodatków paszowych, złożonych ze specyficznych, wartościowych i aktywnych komponentów, które dodatkowo zapewnią efekt synergii, czyli rozszerzenie zakresu prozdrowotnego oddziaływania składników. Dotychczas znane rozwiązania obejmują wiele z tych aspektów.

Celem wynalazku jest dostarczenie nowego wieloskładnikowego dodatku do pasz do poprawy efektów hodowlanych oraz zapobiegania infekcjom zwierząt gospodarskich i dzikich przez chorobotwórcze szczepy *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens*. Zastosowanie tej kompozycji może wspomagać przez profilaktykę zdrowotność zwierząt, a także poprawić efekty ekonomiczne przez uzyskanie większej masy ciała zwierząt w krótszym czasie.

Wieloskładnikowy dodatek do pasz dla zwierząt, zwłaszcza dla prosiąt, według wynalazku zawiera w swoim składzie nowe szczepy bakterii fermentacji mlekowej *Leuconostoc mesenteroides* eub1T, *Enterococcus faecium* eub2T, *Carnobacterium divergens* eub3T i *Enterococcus faecium* eub4T, a także krótko- i średnio-łańcuchowe kwasy organiczne, biomasę drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i regulatory kwasowości. Nowe szczepy bakterii fermentacji mlekowej wykazują aktywność antagonistyczną wobec chorobotwórczych szczepów bakterii *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens*, występujących u zwierząt gospodarskich, a zwłaszcza u świń. Nowe szczepy bakterii fermentacji mlekowej zostały zdeponowane w depozycie patentowym Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów we Wrocławiu pod numerami akcesyjnymi:

Leuconostoc mesenteroides eub1T = *L. mesenteroides* PKM B/00096

Enterococcus faecium eub2T = *E. faecium* PKM B/00097

Carnobacterium divergens eub3T = *Carnobacterium divergens* PKM B/00099

Enterococcus faecium eub4T = *Enterococcus faecium* PKM B/00098

- 5 Wieloskładnikowy dodatek paszowy zawiera w suchej masie od 5% do 20% w/w, korzystnie 12-14%, nowych szczepów bakterii fermentacji mlekowej utrwalonych metodą suszenia. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, wchodzące w skład wieloskładnikowego dodatku paszowego, mogą stanowić drożdże gorzelnicze i/lub drożdże browarniane i/lub drożdże piekarskie i/lub drożdże
- 10 paszowe w ilości 5% do 20% w/w w suchej masie, korzystnie 10-15%. Korzystnie, drożdże *Saccharomyces cerevisiae* mają postać suchą. Średnio-łańcuchowe kwasy tłuszczowe, wchodzące w skład wieloskładnikowego dodatku paszowego zostały wybrane spośród kwasu kapronowego (C6) i/lub kaprylowego (C8) i/lub kaprynowego (C10) i/lub laurynowego (C12), korzystnie kaprynowego
- 15 i kaprylowego w ilości 20 do 50% w/w, korzystnie 40%, średnio-łańcuchowych kwasów tłuszczowych w suchej masie. Średnio-łańcuchowe kwasy tłuszczowe, wprowadzane są do kompozycji w formie stałej lub ciekłej, korzystnie ciekłej, w formie czystych kwasów albo triacylogliceroli, albo ich pochodnych, korzystnie czystych kwasów tłuszczowych. Korzystnie, wieloskładnikowy dodatek paszowy
- 20 zawiera również powszechnie stosowane przeciwutleniacze, korzystnie wit. E i/lub wit. A i/lub BHA i/lub BHT. Regulatory kwasowości, zawarte w wieloskładnikowym dodatku paszowy według wynalazku należą do kwasów mineralnych i/lub kwasów organicznych i/lub ich soli. Korzystnie, regulatorem kwasowości jest mieszanina kwasu ortofosforowego, fumarowego, jabłkowego,
- 25 cytrynowego i winowego, w formie otoczkowanej, dodawane w ilości od 5 do 20% w/w w suchej masie, korzystnie 10-15%. Wszystkie składniki wieloskładnikowego dodatku paszowego są mieszane razem i dodatek ma postać sypką, granulowaną lub otoczkowaną, korzystnie otoczkowaną, przy czym otoczek stanowi od 5 do 40% w/w jego suchej masy, korzystnie 20% w/w.
- 30 Wieloskładnikowy dodatek paszowy według wynalazku może być samoistnym produktem, względnie może wchodzić w skład pasz pełnoporcjowych,

uzupełniających, leczniczych i premiksów, a także funkcjonalnych dodatków paszowych.

Zastosowanie wieloskładnikowego dodatku paszowego do zwiększania efektywności żywienia świń według wynalazku polega na podawaniu zwierzętom dodatku paszowego w ilości od 5 do 30g na dzień na zwierzę, korzystnie od 15 do 20g. Wieloskładnikowy dodatek paszowy podaje się zwierzętom młodym w wieku od 3 do 10 tygodni, korzystnie od 4 do 8 tygodni oraz po zmianie paszy.

Zastosowanie wieloskładnikowego dodatku paszowego do zwiększania bezpieczeństwa biologicznego świń według wynalazku polega na podawaniu zwierzętom wieloskładnikowego dodatku paszowego w ilości od 5 do 30g na dzień na zwierzę, korzystnie od 15 do 20g.

Opracowany wieloskładnikowy dodatek do pasz może być wykorzystany do produkcji mieszanek pełnoporcjowych, pasz uzupełniających, premiksów i innych funkcjonalnych dodatków paszowych stosowanych w żywieniu zwierząt.

Po podaniu zwierzętom wieloskładnikowego dodatku paszowego według wynalazku nieoczekiwanie odkryto, że jego składniki działają pozytywnie (synergistycznie) zarówno na mikroflorę przewodu pokarmowego, jak również na wzrost zwierząt, spożycie i wykorzystanie paszy, a także na środowisko.

Dzięki właściwemu połączeniu składników uzyskano nowy efekt synergii, który umożliwił poprawę wielu istotnych obszarów zdrowotności i produktywności zwierząt. Prawidłowy dobór i zabezpieczenie poszczególnych dodatków ograniczyły też możliwość wystąpienia efektu antagonistycznego składników dodatku, przez co poszczególne komponenty mogły lepiej wypełnić wyznaczone im zadanie. Obecność bakterii probiotycznych, pochodnych drożdży oraz kwasów organicznych o różnej długości łańcucha wpłynęła na poprawę procesu trawienia, zarówno przez stworzenie odpowiednich warunków pH w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego, jak i ograniczenie rozwoju patogenów, co z kolei umożliwiło prawidłowy rozwój enterocytów, w wyniku dostępności energii. Obecność enzymów bakteryjnych i drożdżowych wspomagających enzymy gospodarza, wpłynęła na wzrost wykorzystania składników pokarmowych z paszy, która dodatkowo chroniona była pod

względem higienicznym za pomocą kwasów. Dzięki wszystkim tym sprzężonym efektom uzyskano znaczącą poprawę efektów żywieniowych. Nieoczekiwanie odkryto także, że zastosowany dodatek ogranicza występowanie nie tylko bakterii patogennych, ale także pasożytów w odchodach, a także zmniejsza wydalanie do 5 środowiska szkodliwego azotu i jego pochodnych, co wpływa na mniejsze skażenie ściółki tym pierwiastkiem oraz poprawia mikroklimat w chlewni.

Zaletami wieloskładnikowego dodatku do pasz według wynalazku są kompleksowość działania i wysoka skuteczność, wynikająca ze specyficznego i niepowtarzalnego składu jakościowego i ilościowego, jak również wzajemnych 10 proporcji pomiędzy składnikami, Objawia się to w szczególności:

- obniżeniem kosztów żywienia, gdyż nie wymaga zastosowania w paszy dodatkowych prozdrowotnych składników,
- łatwością dozowania i mieszania z paszą,
- zapewnieniem takiego samego lub lepszego wykorzystania paszy jak przy 15 zastosowaniu innych rozwiązań konkurencyjnych, co także obniża koszty produkcji,
- zapewnieniem intensywnego wzrostu zwierząt,
- kształtowaniem prawidłowej mikroflory przewodu pokarmowego, a szczególnie ograniczeniem rozwoju patogennych mikroorganizmów,
- 20 - ograniczeniem liczby chorób i zaburzeń przewodu pokarmowego,-
ograniczeniem występowania pasożytów w kale, szczególnie z rodzaju *Eimeria*,
- poprawą bezpieczeństwa biologicznego, szczególnie przez zmniejszenie stopnia skażenia środowiska przez wydalane mikroorganizmy, pasozyty i azot,
- poprawą mikroklimatu w chlewni, dzięki obniżeniu wydalania amoniaku i azotu.

25

Wynalazek przedstawiono szczegółowo w przykładach wykonania.

Przykład 1. Porównanie efektywności żywieniowej paszy, zawierającej dodatek wieloskładnikowy 1 z paszą bez dodatku.

30

Przygotowano wieloskładnikowy dodatek 1 do pasz, w skład którego weszły (% suchej masy): czteroszczepowy probiotyk w ilości 12,4% (proporcje między szczepami *Leuconostoc mesenteroides* eub1T, *Enterococcus faecium* eub2T, *Carnobacterium divergens* eub3T i *Enterococcus faecium* eub4T, 1:1:1:1);

5 regulator kwasowości w formie mieszanki otoczkowanego kwasu ortofosforowego, fumarowego, cytrynowego i winowego, w ilości łącznie 12,5%; suszone drożdże browarniane 12,5%; mieszanina płynnych średnio łańcuchowych kwasów tłuszczowych, takich jak kaprynowy i kaprylowy, łącznie 37,5%; witamina A 0,05%; środek przeciwzbrylający 0,05% oraz olej palmowy 25%,

10 jako substancja otoczkująca. Po dokładnym wymieszaniu składników całość wysuszono w suszarni rozpyłowej, uzyskując dodatek wieloskładnikowy w formie suchej, zgranulowanej, otoczkowanej. Tak przygotowany dodatek wieloskładnikowy wymieszano z pełnoporcjową mieszanką paszową w proporcji: dodatek 0,80%, mieszanka paszowa 99,2%. W skład mieszanki paszowej

15 wchodziły: poekstrakcyjna śruta sojowa – 18,0%, kukurydza 27,65%, pszenica 25,0%, jęczmień 19,2%, poekstrakcyjna śruta rzepakowa 6,0%, fosforan jednowapniowy 0,9%, kreda 1,1%, lizyna 0,5%, metionina 0,2%, sól 0,35% i premiks 0,3%. Przygotowaną paszę wykorzystano w doświadczeniu wzrostowym, którego celem było porównanie efektywności żywieniowej paszy zawierającej

20 dodatek wieloskładnikowy z paszą bez tego dodatku. Doświadczenie przeprowadzono na dwóch grupach świń o masie początkowej po ok. 8,5 kg, przyporządkowując je według analogów masy ciała do dwóch grup doświadczalnych po 16 osobników w każdej. W okresie doświadczenia zwierzęta przebywały w kojcach indywidualnych i żywione były do woli. Zwierzęta

25 doświadczalne otrzymywały mieszankę pełnoporcjową z dodatkiem wieloskładnikowym, natomiast zwierzęta kontrolne tę samą mieszankę bez dodatku. Średnio zwierzęta spożywające 1,96 kg paszy dziennie pobierały 16g wieloskładnikowego dodatku paszowego. Doświadczenie prowadzono przez 42 dni od 4-9 tygodnia życia zwierząt. Tabela 1 przedstawia wyniki eksperymentu

30 żywieniowego.

Tabela 1. Porównanie efektywności żywieniowej paszy zawierającej dodatek wieloskładnikowy 1 z paszą bez tego dodatku.

5	Parametry	Mieszanka bez dodatku	Mieszanka z dodatkiem 1
	Początkowa masa ciała (kg)	8,5	8,6
	Końcowa masa ciała (kg)	36,9	38,8
	Przyrosty całkowite (kg)	28,4	30,2
10	Przyrosty dobowe (g)	677	720
	Całkowite spożycie paszy (kg)	52,0	54,9
	Dzienne spożycie paszy (kg)	1,86	1,96
	Wykorzystanie paszy (kg/kg przyrostu masy ciała)	1,83	1,82
15	Liczba osobników z biegunkami	3	1
	Kolibakteriozy	3	1

Zwierzęta otrzymujące dodatek wieloskładnikowy 1 w paszy charakteryzowały się wyższą końcową masą ciała, lepszym przyrostem całkowitym i dziennym oraz 20 lepiej wykorzystywały paszę. U zwierząt otrzymujących wieloskładnikowy dodatek do paszy stwierdzono mniejszą liczbę biegunek i kolibakterioz.

Przykład 2. Porównanie efektywności żywieniowej paszy, zawierającej dodatek wieloskładnikowy 2 z paszą bez tego dodatku.

25

Przygotowano wieloskładnikowy dodatek do pasz 2, w skład którego weszły (% suchej masy): probiotyk 20% (*Leuconostoc mesenteroides* eub1T, *Enterococcus faecium* eub2T, *Carnobacterium divergens* eub3T i *Enterococcus faecium* eub4T, 2:2:1:1), regulator kwasowości 20%; suszone drożdże gorzelnicze 30 10%, drożdże piekarskie 5%, drożdże paszowe 5%; mieszanina pochodnych średnio-łańcuchowych kwasów tłuszczowych w formie stałej, w tym kwasów

kaprylowego, kapronowego, laurynowego i kaprynowego, łącznie 20%; witamina E 0,04%; środek przeciwzbrylający 0,06% oraz olej palmowy 19,9%, jako substancja otoczkująca. Po dokładnym wymieszaniu składników całość wysuszono w suszarni rozpyłowej, uzyskując dodatek wieloskładnikowy w formie suchej, zgranulowanej, otoczkowanej. Tak przygotowany dodatek wieloskładnikowy wymieszano z pełnoporcjową mieszanką paszową w proporcji: dodatek 0,85 %, mieszanka paszowa 99,15%. W skład mieszanki paszowej wchodziły: poekstrakcyjna śruta sojowa 25,3%, kukurydza 30%, pszenica 20,3%, jęczmień 20%, olej sojowy 0,3%, fosforan jednowapniowy 0,9%, kreda 1,1%, lizyna 0,4 %, metionina 0,2%, sól 0,35% i premiks 0,3%. Przygotowaną paszę wykorzystano w doświadczeniu wzrostowym, którego celem było porównanie efektywności żywieniowej paszy zawierającej dodatek wieloskładnikowy 2 z paszą bez tego dodatku. W doświadczeniu użyto świń o początkowej masie ciała około 9,5 kg, przyporządkowując je według analogów masy ciała do dwóch grup po 12 osobników w każdej. W okresie doświadczenia zwierzęta przebywały w kojcach indywidualnych i żywione były do woli mieszankami pełnoporcjowymi. Zwierzęta doświadczalne otrzymywały mieszankę z dodatkiem, a zwierzęta z grupy kontrolnej taką samą mieszankę bez dodatku. Średnio zwierzęta spożywające 2,0 kg paszy dziennie pobierały 17g wieloskładnikowego dodatku paszowego. Doświadczenie prowadzono przez 28 dni. Tabela 2 przedstawia wyniki eksperymentu żywieniowego.

25

30

Tabela 2. Porównanie efektywności żywieniowej paszy zawierającej dodatek wieloskładnikowy 2 z paszą bez tego dodatku.

5

Parametry	Mieszanka kontrolna bez dodatku	Mieszanka z dodatkiem 2
Początkowa masa ciała (kg)	9,6	9,7
Końcowa masa ciała (kg)	38,2	39,3
Przyrosty całkowite (kg)	28,7	29,7
Przyrosty dobowe (g)	682	706
Całkowite spożycie paszy (kg)	57,5	56,0
Dobowe spożycie paszy (kg)	2,05	2,00
Wykorzystanie paszy (kg/kg przyrostu masy ciała)	2,01	1,89
Liczba osobników z biegunkami	2	1
Martwicze zapalenie jelit	1	0
Choroba obrzękowa	1	0

Zwierzęta otrzymujące dodatek wieloskładnikowy 2 charakteryzowały się wyższą końcową masą ciała, lepszym przyrostem całkowitym i dziennym oraz spożywały więcej paszy. Zwierzęta otrzymując dodatek wieloskładnikowy 2 wykazywały mniejszą liczbę biegunek oraz nie stwierdzono u nich przypadków martwiczego zapalenia jelit i choroby obrzękowej.

Przykład 3. *Wpływ preparatu wieloskładnikowego 2 na mikroflorę jelit i kału.*

15

Zwierzęta z doświadczenia opisanego w przykładzie 2 po zakończeniu eksperymentu zostały ubite, a próby treści jelita ślepego i kału zostały poddane klasycznej analizie mikrobiologicznej z wykorzystaniem gotowych komercyjnych

podłoży. Próbki 3g treści jelitowej zostały wymieszane z 27 ml buforowanej wody peptonowej (Oxoid, Hampshire, UK) i zhomogenizowane przy użyciu pulsacyjnego homogenizatora mikrobiologicznego. Homogenizację prowadzono w workach z filtrem przez 30 sekund. Próbki do analiz przygotowano zgodnie z normą PN-EN ISO 6887-6. Liczbę mikroorganizmów oznaczano zgodnie z normą PN-EN ISO 4833:2004/Ap1. Całkowitą liczbę bakterii tlenowych oznaczono wykorzystując Columbia Lab-agar + 5% KB agar (Biocorp, Warsaw, Poland) po 48 h inkubacji w temp. 37°C, a liczbę bakterii kwasu mlekowego za pomocą MRS Lab-agar (Biocorp, Warsaw, Poland) po 72 godzinach inkubacji w 37°C. Liczbę drożdży oznaczono na pożywce agar YGC (Oxoid, Hampshire, UK) po inkubacji w 20°C przez 3-5 dni. Bakterie z grupy coli oznaczono na agarze McConkey (Biocorp, Warsaw, Poland) po 24 godzinnej inkubacji w 37°C. Wyniki eksperymentu przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Wpływ preparatu wieloskładnikowego 2 na mikroflorę jelit i kału.

Parametr / Grupa		Grupa kontrolna bez dodatku	Grupa z dodatkiem 2
j. ślepe	Drożdże i pleśnie	$1,1 \times 10^3$	$6,72 \times 10^4$
	Bakterie kwasu mlekowego	$1,57 \times 10^8$	$1,71 \times 10^9$
	Bakterie grupy coli	$3,93 \times 10^6$	$4,92 \times 10^5$
	<i>Clostridium</i>	$5,38 \times 10^6$	$7,29 \times 10^5$
	Ogólna liczba bakterii tlenowych	$3,12 \times 10^9$	$5,66 \times 10^8$
kał	Bakterie grupy coli	$2,00 \times 10^6$	$3,89 \times 10^5$
	Ogólna liczba bakterii tlenowych	$8,65 \times 10^{10}$	$3,13 \times 10^9$

W treści pokarmowej jelita ślepego zwierząt żywionych paszą z wieloskładnikowym dodatkiem stwierdzono wyższą liczebność drożdży i bakterii kwasu mlekowego, a niższą liczebność bakterii z grupy coli oraz ogólną liczbę bakterii tlenowych. Ponadto kał zwierząt doświadczalnych zawierał

mniejszą liczbę bakterii z grupy coli, *Clostridium* oraz mniejszą ogólną liczbą bakterii tlenowych.

5 Przykład 4. *Wpływ preparatu wieloskładnikowego 2 na gospodarkę azotową i wydalanie białka oraz amoniaku*

Kał zwierząt z przykładu 2 poddano analizie chemicznej. Azot i białko ogólne (N x 6,25) w świeżym kale oznaczono metodą Kjeldahla w aparacie Kjelfoss (Danfoss). Amoniak w świeżym kale oznaczono metodą Nesslerera.

10 Wyniki eksperymentu przedstawiono w Tabeli 4.

Tabela 4. Wpływ preparatu wieloskładnikowego 2 na gospodarkę azotową i wydalanie białka oraz amoniaku.

W świeżym kale	Grupa kontrolna bez dodatku	Grupa z dodatkiem 2
Białko ogólne (N x 6,25; %)	7,56	6,60
N (%)	4,68	4,28
NH ₃ (mmol/g)	0,049	0,043

15 Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zwierzęta z grupy doświadczalnej wydalaly w kale mniej azotu i białka ogólnego a także amoniaku, przez co zwiększono bezpieczeństwo biologiczne zwierząt.

20 Przykład 5. *Wpływ preparatu wieloskładnikowego 2 na wydalanie pasożytów*

Kał zwierząt z przykładu 2 poddano analizie na pasożyty wg metody Vetoquinol z fekalyzerem. Wyniki eksperymentu przedstawiono w Tabeli 5.

Tabela 5. Wpływ preparatu wieloskładnikowego 2 na wydalanie parazytów

Gatunek	Grupa kontrolna bez dodatku	Grupa z dodatkiem 2
<i>Eimeria</i> spp.	3	0
<i>Isospora suis</i>	0	0
<i>Balantidium coli</i>	0	0
<i>Trichuris suis</i>	0	0
<i>Oesophagostomum dentatum</i>	0	0
<i>Strongyloides ransomi</i>	0	0
<i>Hyostrongylus rubidus</i>	0	0
Suma	3	0

5

Stwierdzono, że kał zwierząt żywionych paszą z dodatkiem wieloskładnikowym zawierał mniej jaj parazytów z grupy *Eimeria*, niż w grupie kontrolnej, przez co zwiększono biologiczne bezpieczeństwo zwierząt.

10

Literatura

1. Dierick N., Decuypere J., Molly K., Beek E. Van, Vanderbeke E. (2002). The combination use of triacylglycerols containing medium – chain fatty acids and exogenous lipolytic enzymes as an alternative for nutritional antibiotics in piglets nutrition. I. *In vitro* screening of release of MCFAs from selected fat source by selected exogenous lipolytic enzymes under simulated pig gastric conditions and their effects on the gut flora of piglets. *Livest. Prod. Sci.*, 76: 1–1.
2. Fuchs B., Frericks J., Szuba – Trznadel A., Ragaller V., Lira R. (2011). Wpływ preparatów złożonych z mannanów i B-D1-3/1-6-glukanów na wyniki produkcyjne i fizjologiczne prosiąt w okresie okołoodsadzeniowym. *Zeszyty Naukowe UP Wrocław, Biologia i Hodowla Zwierząt*, LXII, 580, 131 – 141.
3. Fuchs B., Preś J., Szuba-Trznadel A., Zawadzki A. (2005). Zastosowanie suszonych drożdży piwnych w żywieniu warchlaków jako substytutu antybiotyku. *Acta Scient. Pol. , Zootechnika*, 4, 2, 51 – 58.

20

4. Hahn T. W., Lohakare J. D., Lee S. L., Moon W. K., Chae B. J., (2006). Effect of supplementation of β -glucan on growth performance, nutrient digestibility and immunity in weaning pigs. *J. Animal Sci.*, 84, 1422 – 1428.
5. Li J., Li D., Xing J.J., Cheng Z. B., Lai C. H. (2006). Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J. of Animal Sci.*, 84, 2374 – 2381.
6. Marion J., Biernat M., Thomas F., Savary G., Breton Y. Le, Zabielski R., Hurou-Luron I. Le, Divisich J. Le. (2002). Small intestine growth and morphometry in piglets weaned at 7 days of age. Effects of level of energy intake. *Reprod. Nutr. Dev.*, 42: 339–354.
7. Marounek M., Skrivanova E., Rada V. (2003). Susceptibility of *Escherichia coli* to C2 – C18 fatty acids. *Folia Microbiol.*, 48: 731–735.
8. Nakai S., Siebert K. (2002). Validation of bacterial growth inhibition models based on molecular properties of organic acids. *J. Food Microbiol.*, 2678: 1–7.
9. Rekiel A., Bielecki W., Cichowicz M., Więcek J., Kulisiewicz J. (2008). Wpływ wybranych dodatków paszowych na stan higieniczny błony śluzowej jelit tuczników. *Med. Wet.*, 64, 3, 339 – 343.
10. Ricke S. (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Polutry Sci.*, 82: 632–639.
11. Simon O., Jadamus A., Wahjen W. (2001). Probiotic feed additives – effectiveness and expected modes of action. *J. Anim. Feed Sci.*, 10, Suppl. 1: 51–67.
12. Skrivanova E., Marounek M., Benda V., Brezina P. (2006). Susceptibility of *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* and *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin. *Vet. Med.*, 51 (3): 81–88.
13. Topping D.L., Clifton P.M. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and non-starch polysaccharides. *Physiol. Rev.*, 81: 1031–1034.

14. Tsiloyiannis V.K., Kyriakis S.C., Vlemmas J., Sarris K. (2001). The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhoea. *Res. Vet. Sci.*, 70: 287–293.

15. Zimmermann B., Bauer E., Mosenthin R. (2001). Pro and prebiotics in
5 pigs nutrition – potential modulators of gut health? *J. Anim. Feed Sci.* 10, 47 – 56.

10

15

20

25

30