



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0029346

(51)⁷ A23K 1/00; A23K 1/16; A23K 1/18;
A23K 1/14

(13) B

(21) 1-2014-04168

(22) 14/05/2013

(86) PCT/EP2013/059903 14/05/2013

(87) WO 2013/171194 A1 21/11/2013

(30) 2008812 14/05/2012 NL

(45) 25/09/2021 402

(43) 25/09/2015 330A

(73) SSIPFEED B.V. (NL)

Heymansstraat 35, NL-5927 NP Venlo, Netherlands

(72) VAN DEN ELSHOUT, Wilhelmus, Hubertus, Henricus, Antonius (NL);

GRAMMARE, Pierre, Michel (FR).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT NGUYÊN LIỆU THỨC ĂN CHO GIA CẦM

(57) Sáng chế đề cập đến việc sử dụng nguyên liệu thức ăn chứa hạt ngũ cốc và nấm *Agaricus Blazei*, gồm các loài nấm *Agaricus* với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 50% trọng lượng tính theo chất khô, và nguyên liệu thức ăn có hàm lượng ẩm thấp hơn 10% (so với chất khô), để sử dụng cho gà nhằm tăng cường sự đẻ trứng, tốt hơn là để nâng cao chất lượng vỏ trứng và/hoặc để kéo dài thời gian đẻ trứng. Sáng chế cũng đề cập đến quy trình sản xuất nguyên liệu thức ăn, và thức ăn cho gà mái để chứa nguyên liệu thức ăn này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến nguyên liệu thức ăn cho gà và gia cầm khác, và cụ thể hơn là đến việc sử dụng nguyên liệu thức ăn này để gia tăng chất lượng vỏ trứng trong thời gian dài, và kéo dài thời gian đẻ trứng của gà mái đẻ.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gà và trứng được sử dụng rộng rãi làm thực phẩm cho người. Lượng lớn gà được phát triển để sản sinh trứng. Nói chung, gà mái (gà mái đẻ) phát triển trong 17 tuần, sau khoảng thời gian này, gà mái được cho đẻ trứng. Sự phát triển và duy trì gà mái đẻ được tối ưu hóa cao, và hiện nay, gà mái đẻ trứng trong khoảng 60 tuần. Ban đầu, tỷ lệ đẻ đạt khoảng 95% (> 93%) sau khoảng 10 tuần, trong thời gian khoảng 10 tuần, nhưng sau đó tỷ lệ đẻ trứng giảm xuống. Chất lượng vỏ trứng trung bình cũng giảm.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất thức ăn, hoặc nguyên liệu thức ăn, mà cho phép gia tăng chất lượng vỏ trứng và/hoặc kéo dài thời gian đẻ trứng cho gà mái đẻ.

Mục đích của sáng chế đạt được bằng cách cho gà ăn thức ăn hoặc nguyên liệu thức ăn chứa nấm *Agaricus Blazei*, trong đó loài nấm *Agaricus* được cho lên men trên hạt ngũ cốc, hạt ngũ cốc đã lên men được làm khô, và tùy ý được nghiền thành bột, và sử dụng làm nguyên liệu thức ăn. Do đó, sáng chế đề cập đến nguyên liệu thức ăn chứa hạt ngũ cốc và nấm *Agaricus Blazei*, gồm loài nấm *Agaricus* với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 50% trọng lượng chất khô, và nguyên liệu thức ăn có hàm lượng ẩm nhỏ hơn 10% (so với chất khô), cho gà dùng để tăng cường sự đẻ trứng, tốt hơn là để nâng cao chất lượng vỏ trứng và/hoặc để kéo dài thời gian đẻ trứng.

Các loài nấm theo sáng chế là nấm *Agaricus Blazei*, tốt hơn là nấm *Agaricus Blazei* Murill (cũng được gọi là *A. Blazei Brasiliensis*, hoặc *Agaricus*

subrufescens, hoặc *Agaricus rufotegulis*). Hiện nay, cho rằng nấm *Agaricus subrufescens* là tên chính xác; tuy nhiên, trong đơn này, tên thông dụng hơn *Agaricus Blazei Murill* sẽ được sử dụng. Dưới đây, chữ viết tắt ABM chỉ nấm *Agaricus Blazei Murill* được sử dụng thay thế cho nhau. Loài nấm *Agaricus* được ưu tiên là *Agaricus Blazei Murill*.

Việc sử dụng chất chiết ra từ nấm *Agaricus Blazei* dùng cho gà mái đẻ, ví dụ chất chiết trong nước, làm dung dịch hoặc hấp thụ trên các zeolit, được mô tả trong JP2004/321033. Một số cải tiến được thấy ở sự tăng cường hệ miễn dịch theo tài liệu này. Tuy nhiên, JP2004/321033 không thể hiện các hiệu quả cải thiện của sáng chế. Ngoài ra, Ikeya và các đồng tác giả (Bulletin of the Shizuoka swine and poultry experiment station, the agriculture, forestry and fishery research information technology center – Affrit, Japan, No 14, 1 Jan 2003 pp 29-32 (XP008159889, ISSN 0914-6520)) mô tả việc sử dụng nấm *Agaricus Blazei Murill* mọc ở đất dùng cho gà mái đẻ. Tuy nhiên, các cải tiến được thể hiện trong sáng chế không được mô tả và cũng không được gọi ý trong tài liệu này.

Sự lên men của các loài nấm *Agaricus Blazei* trên hạt ngũ cốc là đã biết, cũng như các ứng dụng thức ăn nói chung, giống như ví dụ được mô tả trong CN101371683. Tuy nhiên, các hiệu quả cải thiện của sáng chế không được mô tả và cũng không được gọi ý trong tài liệu này. US2008/187574 mô tả sự lên men của nhiều vi sinh vật trên hạt ngũ cốc. Tuy nhiên, các hiệu quả cải thiện trong sáng chế không được mô tả và cũng không được gọi ý trong tài liệu này.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các loài nấm theo sáng chế, mà cho các kết quả rất tốt, là nấm *Agaricus Blazei*, tốt hơn là nấm *Agaricus Blazei Murill* (cũng được gọi là nấm *A. Blazei Brasiliensis*). Dưới đây, từ viết tắt ABM để chỉ nấm *Agaricus Blazei Murill* sẽ được sử dụng thay thế.

Nấm *Agaricus Blazei* được phát triển dưới dạng sợi nấm trên nguồn hạt ngũ cốc, và được thu hoạch theo cách thông thường. Do đó, không cần làm cho sợi nấm phát triển cho đến khi các thân cây đâm chồi, không cần thiết phải tách môi

trường phát triển khỏi sợi nấm. Do vậy, sáng chế cho phép tạo ra thức ăn cho gà một cách có hiệu quả về mặt kinh tế, làm gia tăng khả năng đẻ trứng. Sự gia tăng này không chỉ được thấy rõ trong suốt thời gian đẻ trứng bình thường, mà còn thấy rõ ở sự gia tăng chất lượng vỏ trứng, và kéo dài thời gian đẻ trứng.

Để làm nguồn hạt ngũ cốc, một vài loại hạt ngũ cốc đã biết nói chung là hữu dụng, ví dụ như bắp, cám lúa mỳ, yến mạch, lúa miến, đại mạch, lúa mỳ chung, lúa mạch đen, đậu tương, ngô và tương tự. Các hỗn hợp cũng có thể được sử dụng. Ngoài ra, việc bổ sung nguồn cacbon, nguồn amoniac hoặc tương tự có thể là hữu ích để gia tăng sự phát triển của sợi nấm. Các hợp chất canxi như đá phấn có thể được bổ sung. Lúa mạch hoặc yến mạch đen được đặc biệt ưu tiên do ABM phát triển đặc biệt tốt trên các nền này.

Để đạt được ABM lên men phù hợp, tốt hơn là nguồn hạt ngũ cốc chứa lượng ẩm đủ cao. Lượng ẩm thích hợp nằm trong khoảng từ 10 đến 80% độ ẩm (được đo dưới dạng trọng lượng của sản phẩm ẩm trừ đi sản phẩm khô, chia cho trọng lượng sản phẩm ẩm). Tốt hơn là, hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 30 đến 70%, ví dụ như khoảng 50%.

Nguồn hạt ngũ cốc được tiệt trùng trước khi ủ với sợi nấm ABM. Việc ủ và chuẩn bị ủ theo các kỹ thuật tiêu chuẩn, ví dụ như được mô tả trong US4204364.

Sự lên men nói chung xảy ra trong thùng có kích cỡ từ 20 đến 50 lít, như trong các túi hoặc các khay, ví dụ như các túi 25 hoặc 30 lít. Sự lên men tốt hơn xảy ra ở môi trường điều hòa. Nói chung, thời gian lên men nằm trong khoảng từ 15 đến 75 ngày, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 15 đến 55 ngày, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 20 đến 45 ngày. Thời gian lên men quá ngắn sẽ gây ra lượng sợi nấm tương đối thấp; thời gian lên men quá dài làm gia tăng chi phí. Nhiệt độ trong khi lên men tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20 đến 35°C, và tốt nhất là nằm trong khoảng từ 28 đến 30°C. Độ ẩm tốt hơn là nằm trong khoảng từ 40% đến 90% RH (độ ẩm tương đối), ví dụ như 50 hoặc 60% RH.

Sau thời khoảng lên men phù hợp, lượng sợi nấm nằm trong khoảng từ 10 đến 50% (tính theo trọng lượng khô của hỗn hợp của hạt ngũ cốc và sợi nấm),

tốt hơn nữa nằm trong khoảng từ 20 đến 30%. Lượng sợi nấm có thể được đo một cách gián tiếp, ví dụ, tính theo hàm lượng ergosterol, sẽ được giải thích chi tiết hơn trong các ví dụ. Phương pháp xác định lượng sợi nấm bất kỳ có thể được sử dụng. Ví dụ, cũng có thể đo lượng sợi nấm dựa vào lượng chất chitin.

Sau khi lên men, hạt ngũ cốc đã lên men được làm khô. Hàm lượng ẩm của hạt ngũ cốc đã lên men khô tốt hơn là khoảng 10% hoặc thấp hơn, tốt hơn là khoảng 8% hoặc thấp hơn và tốt hơn nữa là khoảng 6% hoặc thấp hơn. Hàm lượng ẩm càng thấp giúp cho việc đạt được tính ổn định khi bảo quản tốt. Nói chung, hàm lượng ẩm sẽ là khoảng 2% hoặc cao hơn, và tốt hơn là khoảng 3% hoặc cao hơn. Như vậy, thức ăn với hàm lượng ẩm rất thấp không có bất lợi về khía cạnh kỹ thuật, nhưng chi phí sản xuất cao hơn.

Kỹ thuật làm khô bất kỳ có thể là phù hợp. Thiết bị thích hợp bao gồm thiết bị làm khô kiểu đai truyền, thiết bị làm khô bằng bóng đèn, thiết bị làm khô kiểu máy sấy hoặc thiết bị làm khô kiểu tầng sôi. Tốt hơn là, thiết bị là sao cho có thể thực hiện việc làm khô ở áp suất giảm. Nói chung, tốt hơn là nhiệt độ duy trì dưới 100°C. Tốt hơn là, hạt ngũ cốc đã lên men được làm khô bằng cách làm khô trong không khí ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 5 đến 100°C, tốt hơn nằm trong khoảng từ 25 đến 90°C, tốt hơn nữa là thấp hơn 63°C, và thậm chí tốt hơn nữa là thấp hơn 50°C. Việc làm khô ở nhiệt độ thấp khoảng 50°C có ưu điểm là các enzym ngoại bào như các xenulaza giữ nguyên hoạt tính của chúng. Trong trường hợp các enzym được quan tâm đã được cải biến để chịu được các nhiệt độ cao hơn, nhiệt độ cao cho quá trình làm khô được ưu tiên do tốc độ làm khô được gia tăng. Nếu nhiệt độ được chọn thấp hơn 63°C, 45°C, hoặc cụ thể là ở khoảng 35°C hoặc thấp hơn, tốt hơn là áp dụng áp suất giảm. Nhiệt độ thấp được áp dụng trong bước làm khô có ưu điểm nữa là các hợp chất nhạy nhiệt được tạo ra trong quá trình lên men duy trì được dạng hoạt tính trong thức ăn.

Hạt ngũ cốc đã lên men khô có tính ổn định khi bảo quản trong vài tháng tới ít nhất là một năm (ví dụ, trong hai năm), với sự giảm không đáng kể giá trị dinh dưỡng của nguyên liệu thức ăn.

Hạt ngũ cốc khô đã lên men (nguyên liệu thức ăn) có thể được sử dụng làm

thức ăn hoặc được sử dụng trong thức ăn dành cho gà.

Để gia tăng các tính chất trộn với nguyên liệu cơ bản chung, và để cho gà mái dễ sử dụng được, tốt hơn là nghiền hoặc xay hạt ngũ cốc khô đã lên men thành hạt có cỡ hạt (d50) nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10mm, tốt hơn là nhỏ hơn 5mm, và thậm chí tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3mm. Khoảng kích cỡ hạt tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0mm đối với khoảng 90% nguyên liệu thức ăn hoặc cao hơn, tốt hơn là khoảng 95% nguyên liệu thức ăn hoặc cao hơn, và tốt hơn nữa là khoảng 98% nguyên liệu thức ăn hoặc cao hơn. Để làm thức ăn cho gà, các cỡ hạt ngũ cốc thích hợp (d50) là, ví dụ, khoảng 1,0mm, khoảng 1,2 hoặc khoảng 1,4mm. Tốt hơn là, cỡ hạt ngũ cốc (tuyệt đối) là nhỏ hơn 10mm. Theo phương án này, cỡ hạt ngũ cốc tốt hơn là nhỏ hơn 5mm, đặc biệt tốt đối với sự phát triển của gà, và thậm chí tốt hơn nữa là nhỏ hơn 3mm, khi kích cỡ này là khoảng kích cỡ lớn nhất đối với gà mái bắt đầu đẻ.

Nguyên liệu thức ăn được sản xuất theo cách này là rất phù hợp làm nguyên liệu thức ăn cho gà và các thức ăn cho gia cầm khác có điều. Bởi vì nhiệt độ thấp được ưu tiên trong khi làm khô, các enzym ngoại bào như các xenulaza và các amylaza duy trì được hoạt tính. Nhờ các enzym hoạt tính này, thức ăn trong điều gà được chuyển hóa khi gà ăn.

Sáng chế cũng đề cập đến quy trình sản xuất nguyên liệu thức ăn, bao gồm các bước:

(a) cho lên men sợi nấm *Agaricus Blazei* trên hạt ngũ cốc với hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 10 đến 90%, cho tới khi lượng sợi nấm nằm trong khoảng từ 10 đến 50%, tốt hơn là trên lúa mạch đen hoặc yến mạch;

(b) làm khô hạt ngũ cốc đã lên men tới hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 2 đến 8% trọng lượng (so với chất khô) ở nhiệt độ thấp hơn 50°C, và tốt hơn nằm trong khoảng từ 20 đến 45°C trong khi áp dụng áp suất giảm; và

(c) nghiền vật liệu đã lên men và làm khô thu được thành hạt với cỡ hạt D50 nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10mm.

Hạt ngũ cốc lên men nghiền tùy ý, làm khô, lên men (nguyên liệu thức ăn) có thể được sử dụng làm thức ăn, làm nguồn thức ăn riêng, hoặc có thể được trộn với nguyên liệu thông thường khác dành cho gà. Tốt hơn là, nguyên liệu thức ăn được trộn với nguyên liệu chung, để cho phép quá trình định chuẩn và/hoặc khả năng tái chế tốt hơn.

Nguyên liệu thức ăn nói chung sẽ chứa sợi nấm với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 50% trọng lượng (tính theo trọng lượng khô), tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20 đến 30% trọng lượng. Lượng sợi nấm có thể được đo tính theo hàm lượng ergosterol.

Quá trình lên men sẽ khiến cho một số hợp chất hữu ích có mặt trong các hạt ngũ cốc đã lên men. Các loài nấm *Agaricus Blazei* tạo ra, ví dụ, ergosterol, các enzym ngoại bào như xenlulaza và amylaza, và 1,3- và 1,6- β -glucan.

Ergosterol là sterol mà từ đó vitamin D được tạo ra bởi gà. Do vậy, ergosterol – trong khi vitamin D là thành phần quan trọng cho sự tái hấp thụ canxi từ ruột – được cho là phương thức gia tăng chất lượng vỏ trứng. Lượng ergosterol trong nguyên liệu thức ăn nói chung sẽ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,5g ergosterol/kg nguyên liệu thức ăn. Ergosterol có thể được đo bằng các kỹ thuật chuẩn, như HPLC hoặc GC. Tốt hơn là, sự chiết định lượng được tiến hành ở hạt lên men khô đã nghiền bột, mà có thể được tiến hành với etanol nóng 80%.

Tốt hơn là, sử dụng lượng nguyên liệu thức ăn theo sáng chế, mà thức ăn hỗn hợp chứa từ 50 đến 1000 microgam ergosterol trên kg nguyên liệu thức ăn, tốt hơn là từ 100 đến 600 microgam ergosterol trên kg nguyên liệu thức ăn.

Các enzym ngoại bào, mà giữ nguyên hoạt tính với quy trình làm khô được ưu tiên hiện hành, có thể giúp cho việc chuyển hóa thức ăn gia tăng. Nguyên liệu thức ăn theo sáng chế tốt hơn chứa các xenlulaza ngoại bào hoạt hóa. Sự có mặt của xenlulaza ngoại bào có thể được xác định theo các phương pháp được mô tả trong Mycobiology 39(2) : 103-108 (2011). Theo phương án được ưu tiên, hoạt tính xenlulaza nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,8 đơn vị/ml khi 10 gam nguyên liệu được chiết bằng 20ml nước. Trong dịch chiết này, 10 gam thức ăn

khô được ngâm với 20ml nước ở nhiệt độ 20°C trong thời gian hai giờ, và sau đó nước được vắt ra khỏi hỗn hợp trong máy nén, và hoạt tính enzym trong nước chiết được đo.

1,3- và 1,6- β -glucan được biết là để cải thiện hệ miễn dịch. Các glucan có thể tan được trong nước. Lượng các glucan này nói chung nằm trong khoảng từ 3 đến 100 gam, tốt hơn là từ 6 đến 60 gam và tốt nhất là nằm trong khoảng từ 10 đến 40 gam trên mỗi kg nguyên liệu thức ăn (tức là, hạt ngũ cốc đã lên men).

Lượng 1,3- và 1,6- β -glucan trong toàn bộ thức ăn cho gà sẽ nằm trong khoảng từ 20 đến 200 mg/kg thức ăn, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 50 đến 100 mg/kg thức ăn. 1,3- và 1,6- β -glucan có thể được đo bằng các kit tiêu chuẩn. Tuy nhiên, người ta cho rằng phép đo trong hạt ngũ cốc đã lên men dẫn đến các kết quả không tin cậy. Do vậy, lượng 1,3- và 1,6- β -glucan trong các hạt ngũ cốc đã lên men có thể được xác định một cách gián tiếp, bằng cách xác định các hợp chất này trong ABM đã lên men tinh khiết, và tính toán từ % chuyển hóa lượng 1,3- và 1,6- β -glucan (được đo thông qua lượng ergosterol).

Một số quá trình phân tích ở hạt ngũ cốc đã lên men là rất phức tạp do các thành phần của các hạt ngũ cốc. Sự phân tích này có thể là hữu ích để xác định khả năng tạo thành các thành phần hữu ích trong sợi nấm tinh khiết. Sự phân tích có thể được tiến hành bằng cách cho sợi nấm phát triển trong thiết bị lên men dưới các điều kiện không giới hạn, loại bỏ môi trường, và đo các thành phần của sợi nấm. Hiển nhiên là, chỉ các thành phần nội bào được đo theo cách này. ABM được sử dụng bởi các tác giả sáng chế tạo ra khoảng 10,7g/kg chất tiết GlcNac, như đo cho chitin, khoảng 0,65g/kg sợi nấm ergosterol, khoảng 120g/kg sợi nấm 1,3- β -glucan và 1,6- β -glucan.

Lượng sợi nấm có thể được đo tính theo hàm lượng chitin, mà còn, ví dụ, tính theo lượng ergosterol. Sự xác định trong khi sử dụng chitin là được ưu tiên, vì nó là hợp chất ổn định (trong khi ergosterol là nhạy UV). Khi thực hiện một cách chính xác, cả hai phương pháp phải cho ra kết quả gần như giống nhau.

Phương pháp được sử dụng để xác định sự chuyển hóa qua việc xác định

lượng chitin được mô tả trong Nature protocols (2007) 1:2995-3000. Tóm lại, chitin trước tiên được giải phóng từ các thành tế bào, và trong lúc sử dụng chitinaza, chitin được thủy phân và N-axetylglucosamin được tạo thành, mà có thể được xác định một cách định lượng với tetraborat và chất phản ứng Reissig. Lượng được phát hiện trong hạt ngũ cốc đã lên men được so sánh với đường hiệu chuẩn được tạo ra từ sợi nấm tinh khiết.

Lượng sợi nấm (dưới dạng chất khô tinh khiết) để cho gà mái đẻ dùng mỗi ngày, thường nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,0kg/tấn thức ăn, tốt hơn nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,8kg/tấn thức ăn. Lượng nguyên liệu thức ăn cần được bổ sung vào nguyên liệu thức ăn thông thường có thể được điều chỉnh sau khi đánh giá lượng sợi nấm. Lượng thức ăn nói chung khoảng 0,2kg/tấn hoặc cao hơn, tốt hơn là khoảng 0,5kg hoặc cao hơn, và tốt hơn nữa là khoảng 1kg/tấn thức ăn hoặc cao hơn. Nói chung, lượng này sẽ là khoảng 10 kg/tấn thức ăn hoặc thấp hơn, tốt hơn là khoảng 5kg/tấn thức ăn hoặc thấp hơn. Các ví dụ thích hợp bao gồm 2, 3 hoặc 5kg/tấn thức ăn.

Gà mái tiêu thụ khoảng 70g thức ăn hoặc cao hơn một ngày trên kg trọng lượng cơ thể, và sau vài tuần là khoảng từ 100 lên đến 125g thức ăn mỗi ngày.

Lượng thức ăn (chuyển hóa 25% đối với lúa mạch đen) theo sáng chế cho mỗi gà mái đẻ nằm trong khoảng từ 20 đến 500mg trên kg trọng lượng con gà một ngày, tốt hơn nữa nằm trong khoảng từ 50 đến 300mg trên kg trọng lượng con gà một ngày, ví dụ như khoảng 100, khoảng 150, hoặc khoảng 200mg/thể trọng của gà/ngày.

Xét đến các lượng nhỏ, thức ăn theo sáng chế tốt hơn được trộn với các thành phần thức ăn khác. Thức ăn thông thường cho gà là các hạt ngũ cốc, bột đậu tương, thức ăn là vừng, bột cá, thức ăn là hạt bông và tương tự. Tốt hơn là, nguyên liệu chứa protein với lượng cao hơn 15% trọng lượng, ví dụ như nằm trong khoảng từ 15 đến 23% trọng lượng và lượng năng lượng đầy đủ. Hơn nữa, tốt hơn là nguyên liệu chứa canxi với lượng khoảng 2% trọng lượng hoặc cao hơn, tốt hơn là khoảng 3% trọng lượng hoặc cao hơn, và tốt hơn nữa là khoảng 4% trọng lượng hoặc cao hơn. Nguyên liệu thức ăn tốt hơn cũng chứa axit

linoleic với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 2% trọng lượng (tốt hơn là glyxerol este). Ngoài ra, thức ăn tốt hơn là chứa các vitamin như vitamin A (tốt hơn là cao hơn 10000 IU), vitamin D (tốt hơn là cao hơn 2000 IU) và lượng đầy đủ của biotin, cholin, các chất chống oxi hóa, mangan, kẽm, và các nguyên tố vi lượng. Nếu nguyên liệu thức ăn theo sáng chế được sử dụng, lượng vitamin D có thể thấp hơn. Nói chung, thức ăn cho gà thay đổi theo thời gian đẻ trứng. Thức ăn, tốt hơn là, thường chứa protein với lượng cao hơn 15% trọng lượng, canxi với lượng cao hơn 2% trọng lượng và axit linoleic với lượng cao hơn 1% trọng lượng.

Cần sử dụng nguyên liệu thức ăn theo sáng chế hàng ngày. Việc sử dụng gián đoạn, ví dụ như sử dụng cách nhật như cứ ba ngày một lần, hoặc một tuần một lần cũng có thể là thích hợp. Thấy rằng việc sử dụng hàng ngày, hoặc cách nhật là hiệu quả nhất.

Theo phương án này của sáng chế, nguyên liệu thức ăn được sử dụng trong suốt quá trình phát triển và quá trình đẻ trứng. Việc sử dụng nguyên liệu thức ăn trong toàn bộ quá trình có ưu điểm là số lượng gà tử vong trong giai đoạn phát triển ban đầu giảm, điều đó dẫn đến sự gia tăng năng suất trứng đối với mỗi nhóm gà mái đã cho.

Theo một phương án khác, nguyên liệu thức ăn được sử dụng chỉ trong nửa sau của thời kỳ đẻ của gà mái đẻ. Theo phương án này, nguyên liệu thức ăn chỉ được sử dụng (hoặc chủ yếu chỉ; việc sử dụng ngẫu nhiên trước khoảng thời gian này tất nhiên là không quan trọng) từ khoảng tuần 30 trở đi của khoảng thời gian đẻ trứng hoặc lâu hơn, và tốt hơn là từ khoảng tuần 40 trở đi, và tốt nhất là từ tuần 45 trở đi của khoảng thời gian đẻ trứng. Tuy nhiên, nguyên liệu thức ăn ít nhất cần được sử dụng từ khoảng tuần 50 trở đi, nếu không sẽ làm giảm hiệu quả cải thiện. Phương án này có ưu điểm là nguyên liệu thức ăn sử dụng giảm, trong khi vẫn kéo dài thời gian đẻ trứng một cách rất hiệu quả với chất lượng vỏ trứng tốt.

Sáng chế sẽ được minh họa dựa vào các ví dụ sau đây, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Nguyên liệu thức ăn

Nguyên liệu thức ăn được sản xuất như sau. Các túi 15 L với 3kg lúa mạch đen ướt (độ ẩm 50%) được ủ với khoảng 80mg sợi nấm ABM và cấy trong thời gian 42 ngày ở nhiệt độ 28°C ở độ ẩm 50%. Sản phẩm được làm khô (tới hàm lượng ẩm nhỏ hơn 5%) bằng trống hơi quay trong chân không ở nhiệt độ 35°C ở áp suất 20mmHg. Nguyên liệu khô được nghiền thô ở cỡ hạt d50 1000 micron (1mm).

Sự chuyển hóa sinh học được đo một cách gián tiếp qua lượng ergosterol. Phương pháp là như sau: Các mẫu được làm khô lạnh trong thời gian 48 giờ trước khi chiết. Ergosterol được chiết trong bóng tối từ 100mg vật liệu sinh học (hỗn hợp của nấm hoặc rau) trong 15ml KOH/MeOH (1:10, trọng lượng/thể tích) trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 80°C và sau đó làm nguội nhanh trong nước đá. 30µg chất chuẩn trong (cholesterol: 1mg/l trong hexan) được bổ sung trước khi chiết. Sau khi bổ sung 2ml nước, việc chiết được tiến hành hai lần bằng 4ml hexan. Các lớp hữu cơ được gom và làm bay hơi dưới dòng khí nitơ. Ergosterol được phân tích bằng sắc ký khí (bộ phát hiện FID, cột DB-5). Đối với chủng này, lượng ergosterol trong ABM 100% là 0,65g/kg.

Lượng ergosterol và glucan của nguyên liệu thức ăn được ghi trong bảng 1; các lượng đó là các giá trị của nguyên liệu thức ăn (hạt ngũ cốc đã lên men và làm khô). Lượng glucan được đo trong ABM được lên men chìm, và đo theo phương pháp AACC 32-23 (phương pháp McCleary), như được mô tả bởi Megazyme (Wicklow, Ireland) chẳng hạn. Lượng trong nguyên liệu thức ăn được tính theo sự chuyển hóa được xác định thông qua hàm lượng ergosterol.

Bảng 1

Loại	% lên men (mức chuyển hóa sinh học)	Ergosterol	1,3- 1,6-β-glucan
1 (yến mạch)	25% trong 42 ngày	0,16g/kg	30,2g/kg
2 (yến mạch)	18% trong 35 ngày	0,12g/kg	21,8g/kg
3 (lúa mạch đen)	35% trong 35 ngày	0,23g/kg	42,4g/kg

Thử nghiệm với gà mái đẻ

Thử nghiệm quy mô lớn được thiết lập, với hai nhóm gà mái đẻ (Lohmann Bruin Lite) 17 tuần tuổi chính xác trong cùng xưởng chăn nuôi gà. Các nhóm lần lượt gồm 10000 và 11000 gà mái đẻ. Nhóm 11000 gà mái đẻ được xử lý, trong khi đó nhóm kia được sử dụng làm nhóm đối chứng. Việc quản lý hai nhóm là như nhau (nhiệt độ, nước, thức ăn, xử lý không khí, v.v.). Đối với nhóm xử lý, 3kg yến mạch lên men (mức chuyển hóa sinh học 20%; tức là, 20% trọng lượng sợi nấm) trên mỗi tấn thức ăn được bổ sung bởi một bộ định liều tự động (WAM Holland). Tất cả thức ăn cho nhóm xử lý được làm giàu bằng nguyên liệu thức ăn ABM. Thức ăn tiêu chuẩn gồm thức ăn tối ưu chuẩn cho gà mái đẻ. Loại thức ăn này là phù hợp với gà mái đẻ trong thời gian đẻ trứng.

Kết quả

Mặc dù có một số thay đổi được quan sát trong thử nghiệm liên quan đến năng suất đẻ trứng, toàn bộ nhóm xử lý sản sinh nhiều hơn khoảng 3% số lượng trứng so với cùng lượng thức ăn (theo g/trứng). Khoảng thời gian đẻ trứng tối đa (>93%) là khoảng 12 tuần ở nhóm đối chứng. Trong nhóm xử lý, > 93% trứng có chất lượng tốt đạt được từ tuần 31 đến ít nhất 60 tuần; vậy là nhiều hơn 30 tuần.

Thông số năng suất 75% (ở đó 75 trong số 100 gà mái đẻ trung bình 1 quả trứng mỗi ngày) đạt được sau 60 tuần đẻ trứng (toàn bộ thời gian là 77 tuần) đối với nhóm đối chứng. Đánh giá là 75% đối với nhóm xử lý ở 67 tuần (toàn bộ thời gian là 84 tuần). Nên tăng tiếp 3% trong khoảng thời gian “bình thường”, gà mái đẻ đã xử lý sản sinh nhiều hơn 350.000 quả trứng trong 7 tuần tiếp trước khi giết thịt (tức là nhiều hơn 30 trứng một con gà mái đẻ, dẫn đến sự gia tăng trung bình khoảng 20% số trứng do mỗi gà mái đẻ sản sinh). Toàn bộ tỷ lệ tử vong là thấp khoảng 1/4 trong nhóm xử lý hơn trong các nhóm kiểm soát.

Nguyên liệu thức ăn ABM được bổ sung theo khoảng thời gian hoàn chỉnh, tức là 165g nguyên liệu thức ăn ABM cho nhóm xử lý trong thời gian 67 tuần.

Tổng năng suất trứng trong thời gian đẻ trứng 60 tuần được thể hiện trong bảng 2:

Bảng 2

Chuồng	Số chim bắt đầu	Số chim trung bình	Số trứng	Số trứng trung bình của mỗi con chim
1 (đối chứng)	10000 chim	9800 chim	3498600	357
2 (xử lý)	11000 chim	10835 chim	4225650	390

Chất lượng và trọng lượng trung bình của trứng cơ bản là giống như hai nhóm qua phần lớn thử nghiệm. Các vỏ trứng ở nhóm xử lý xuất hiện là dày hơn ở cuối thời kỳ đẻ. Chất lượng của trứng ở nhóm xử lý cho phép sản sinh trứng đến 67 tuần, cũng do vỏ trứng có đủ chất lượng.

Nguyên liệu thức ăn khác

Nguyên liệu thức ăn khác được sản xuất theo cách so sánh. Sự chuyển hóa sinh học được đo một cách gián tiếp qua lượng chất chitin như được mô tả trong Nature protocols 1, 2995-3000, 2007. Hạt ngũ cốc sử dụng không chứa chitin, nên tất cả chitin đo được có nguồn gốc từ sợi nấm. Sự chuyển hóa có thể được tính toán nhờ lượng GlcNac tạo thành, và sự hấp thụ của nó ở bước sóng 585nm. Theo mỗi mg khối lượng nấm khô, lượng GlcNac là 1,06% (độ lệch chuẩn, 0,2%). Do vậy, OD đo được đối với lượng GlcNac thu được từ 10mg sợi nấm khô tinh khiết là 0,93. Do vậy, đối với OD đo được (ODm), chia ODm cho 0,093, thu được lượng sợi nấm. Lượng này được nhân với 100, và chia cho lượng sợi nấm ban đầu đối với mẫu đã cho thu được phần trăm chuyển hóa sinh học. Nguyên liệu thức ăn, được tạo ra trên lúa mạch đen thể hiện mức chuyển hóa sinh học là 26% trong thời gian 70 ngày. Lượng ergosterol là 0,17g/kg và lượng β -glucan là 31g/kg.

Thử nghiệm với gà mái đẻ trong thời gian đẻ trứng

Trong thử nghiệm tiếp theo, nguyên liệu thức ăn được sử dụng chỉ từ tuần 41 trở đi, do vậy trong suốt 20 tuần sau của thời gian đẻ trứng của gà mái không xử lý. Lượng sử dụng gấp đôi lượng đã cho trong thử nghiệm trước đây (do vậy, 5kg sản phẩm với mức chuyển hóa sinh học là 26%) được trộn với thức ăn bình thường cho gà mái đẻ như được mô tả trong ví dụ trên. Khoảng thời gian đẻ trứng được kéo dài 5 tuần đến khi đạt được giá trị ngưỡng 75%, với trứng có chất lượng vỏ trứng đầy đủ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất nguyên liệu thức ăn bao gồm các bước:

a) lên men sợi nấm *Agaricus blazei* trên một lượng hạt ngũ cốc, trong đó hàm lượng ẩm tính theo trọng lượng của hạt ngũ cốc nằm trong khoảng từ 10% trọng lượng đến 90% trọng lượng, cho đến khi hạt đã lên men chứa sợi nấm với hàm lượng nằm trong khoảng từ 15% trọng lượng đến 50% trọng lượng tính theo trọng lượng khô,

b) làm khô hạt ngũ cốc đã lên men ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 90°C và làm giảm hàm lượng ẩm của hạt đến nhỏ hơn 10% trọng lượng, và

c) nghiền nguyên liệu đã lên men và làm khô thu được thành cỡ hạt với d_{50} nằm trong khoảng từ 0,01mm đến 10mm, bằng cách đó sản xuất nguyên liệu thức ăn.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó hạt ngũ cốc là lúa mạch đen hoặc yến mạch.

3. Quy trình theo điểm 1, trong đó nguyên liệu đã làm khô có cỡ hạt với d_{50} nằm trong khoảng từ 0,01mm đến 3mm.

4. Quy trình theo điểm 1, trong đó nhiệt độ làm khô thấp hơn 50°C.

5. Quy trình theo điểm 1, trong đó nguyên liệu thức ăn có hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 2% trọng lượng đến 8% trọng lượng.

6. Quy trình theo điểm 1, trong đó nguyên liệu thức ăn có cỡ hạt với d_{50} nằm trong khoảng từ 0,01mm đến 3mm.

7. Quy trình theo điểm 1, trong đó nguyên liệu thức ăn chứa ergosterol với lượng nằm trong khoảng từ 100mg đến 600mg trên mỗi kg nguyên liệu thức ăn.

8. Quy trình theo điểm 1, trong đó nguyên liệu thức ăn chứa xenlulaza hoạt tính có hoạt tính nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,8 đơn vị/ml trong phần chiết thu được nếu 10g nguyên liệu thức ăn được chiết với 20ml nước.

9. Quy trình theo điểm 1, trong đó nguyên liệu thức ăn chứa 1,3- và 1,6- β -glucan với lượng nằm trong khoảng từ 3g đến 100g trên mỗi kg nguyên liệu thức ăn.

10. Quy trình theo điểm 1, trong đó trên mỗi kg nguyên liệu thức ăn chứa:

ergosterol với lượng nằm trong khoảng từ 100mg đến 600mg, và 1,3- và 1,6- β -glucan với lượng nằm trong khoảng từ 3g đến 100g trên mỗi kg nguyên

liệu thức ăn.

11. Quy trình theo điểm 1, trong đó hạt ngũ cốc là lúa mạch đen hoặc yến mạch, trong đó nguyên liệu đã làm khô có cỡ hạt với d_{50} nằm trong khoảng từ 0,01mm đến 3mm, và trong đó nguyên liệu thức ăn có hàm lượng ẩm nằm trong khoảng từ 2% trọng lượng đến 8% trọng lượng.