



(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)



1-0031127

(51)⁷ C12N 9/18

(13) B

(21) 1-2016-01783

(22) 24/10/2014

(86) PCT/US2014/062154 24/10/2014

(87) WO2015/061672 30/04/2015

(30) 3173DEL2013 25/10/2013 IN

(45) 25/02/2022 407

(43) 25/08/2016 341A

(73) KEMIN INDUSTRIES, INC. (US)

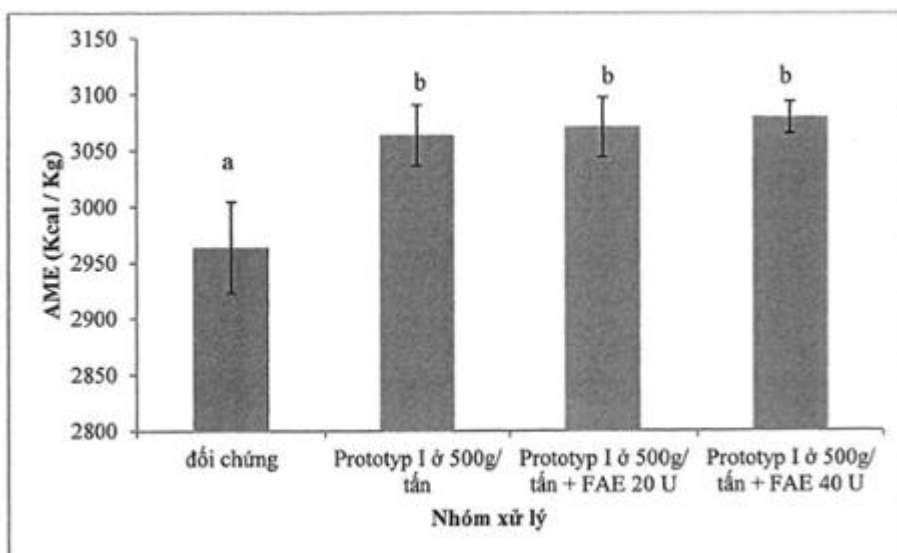
2100 Maury Street, Des Moines, IA 50317, United States of America

(72) JAYARMAN, Sathishkumar (IN); MUKKALIL, Rajalekshmi (IN); CHIRAKKAL, Haridasan (IN).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) PHƯƠNG PHÁP CẢI THIẾN NĂNG LƯỢNG TRAO ĐỔI BIỂU KIẾN VÀ HIỆU SUẤT Ở ĐỘNG VẬT VÀ PHƯƠNG PHÁP GIẢM CÁC ENZYM PHÂN HỦY MẠCH CHÍNH CẦN ĐỂ TRÍCH XUẤT NĂNG LƯỢNG TRAO ĐỔI BIỂU KIẾN

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp cải thiện năng lượng trao đổi biểu kiến từ chế độ ăn và hiệu suất của động vật và phương pháp giảm lượng các enzym phân hủy mạch chính cần thiết để cải thiện năng lượng trao đổi biểu kiến. Sự có mặt của các polysacarit phi tinh bột (NSP) trong thành tế bào thực vật làm giảm khả năng phân giải và hạn chế năng lượng trao đổi biểu kiến (AME) và hiệu suất của động vật. Các enzym phân hủy mạch chính, đặc biệt là xylanaza, xenlulaza và glucanaza đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện khả năng phân giải NSP trong thức ăn. Esteraza của axit ferulic (FAE) bẻ gãy các liên kết ngang ferulat trong thành tế bào thực vật, và hỗ trợ các hydrolaza mạch chính để tiếp tục phân hủy thành tế bào thực vật. Thử nghiệm này nghiên cứu tác dụng hiệp đồng của FAE kết hợp với các enzym phân hủy mạch chính trong việc cải thiện AME của gà được cho ăn chế độ ăn giàu chất xơ. Việc bổ sung FAE cải thiện khả năng tiếp cận của các enzym phân hủy mạch chính, khả năng tiêu hóa chế độ ăn giàu chất xơ, AME ở gà đẻ trứng và gà thịt, khối lượng cơ thể và giảm FCR ở gà thịt.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập chung đến việc cho ăn ở động vật có một dạ dày và, cụ thể hơn là việc sử dụng esteraza của axit ferulic để cải thiện năng lượng trao đổi biểu kiến và hiệu suất.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Việc sử dụng các enzym ngoại sinh trong dinh dưỡng động vật đóng vai trò có ý nghĩa trong việc cải thiện khả năng sử dụng chất dinh dưỡng và hiệu suất sinh trưởng của gia cầm. Khi chim được cho ăn chế độ ăn dựa trên ngũ cốc, sự có mặt của các polysacarit phi tinh bột (non-starch polysacarits - NSP) có trong thành tế bào làm tăng độ nhớt *in vivo* của thức ăn đang tiêu hóa. Điều này dẫn đến giảm năng lượng trao đổi biểu kiến (apparent metabolizable energy - AME) (xem, ví dụ, Annison, G. Relationship between the levels of soluble non-starch polysacarits and the apparent metabolizable energy of wheats assayed in broiler chickens *J. Agric. Food Chem.*, 1991, 39 (7), pp 1252–1256).

Việc sử dụng xylanaza, xenlulaza và glucanaza trong phân hủy NSP đã được đề cập nhiều trong các tài liệu. Tuy nhiên, khả năng phân hủy thành tế bào cũng bị ảnh hưởng bởi sự có mặt của axit ferulic (axit ferulic - FA) mà liên kết ngang các polyme của thành tế bào. Axit ferulic là axit phenolic chính được phát hiện đã este hóa thành carbohydrat trong thành tế bào thực vật. Sự có mặt của các este của axit ferulic trong nguyên liệu thực vật có thể đạt tới tối đa 2,5% (khối lượng/khối lượng) của thành tế bào (Mastihuba, V., L. Kremnický, M. Mastihubov, J.L. Willett, and G. L. Cote. 2002. A spectrophotometric assay for feruloyl esterases. *Analytical Biochemistry* 309: 96–101).

Esteraza của axit ferulic (Ferulic acid esteraza - FAE) là enzym có khả năng thủy phân liên kết este giữa xylan polysacarit và ferulat hoặc diferulat có trong thành tế bào thực vật (Christov, L.P., Prior, B.A., 1993. Esterases of xylan-degrading micro-organisms: production, properties and significance. *Enzyme Microbiol. Technol.* 15: 460–475). Tác dụng hiệp đồng của FAE với xylanaza đã được đề cập nhiều trong tài liệu (Faulds, C. B, Williamson, G. (1995). Release of ferulic acid from wheat bran by

a ferulic acid esterase (FAE-III) from *Aspergillus niger*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 43:1082-1087). Cũng đã cho rằng, bằng cách bẻ gãy các liên kết ferulat trong thành tế bào thực vật, FAE hỗ trợ các hydrolaza mạch chính để phân hủy tiếp thành tế bào thực vật. Điều này làm tăng lượng các đường như D-glucosa, D-xyloza và L-arabinoza được giải phóng sau khi thủy phân một phần hoặc hoàn toàn NSP.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế bao gồm phương pháp cải thiện năng lượng trao đổi biểu kiến và hiệu suất từ chế độ dinh dưỡng ở động vật bằng cách bổ sung lượng hữu hiệu esteraza của axit ferulic vào chế độ ăn và/hoặc được bổ sung cùng với các enzym phân hủy mạch chính. Việc sử dụng esteraza của axit ferulic được thể hiện trong một phương án được ưu tiên để cải thiện AME của gà thịt được cho ăn chế độ ăn giàu chất xơ.

Sáng chế cũng bao gồm phương pháp giảm lượng enzym phân hủy mạch chính cần để cải thiện AME của chế độ ăn bằng cách bổ sung lượng hữu hiệu esteraza của axit ferulic vào chế độ ăn. Việc bổ sung esteraza của axit ferulic có thể làm giảm lượng enzym phân hủy mạch chính từ 20% đến 80%.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là đồ thị thể hiện ảnh hưởng của việc bổ sung enzym đến AME của gà thịt được cho ăn chế độ ăn giàu chất xơ. Các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ thị bằng các chỉ số khác nhau ($n=12$). Các giá trị được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (SE).

Fig. 2 là đồ thị thể hiện ảnh hưởng của việc bổ sung enzym đến AME của gà thịt được cho ăn chế độ ăn giàu chất xơ. Các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ thị bằng các chỉ số khác nhau ($n=12$). Các giá trị được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (SE).

Fig. 3 là đồ thị thể hiện ảnh hưởng của việc bổ sung FAE cùng với các enzym phân hủy mạch chính đến sự giải phóng đường *in vitro* từ cơ chất tự nhiên trong thức ăn. Các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ thị bằng các chỉ số khác nhau ($n=3$). Các giá trị được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (SE).

Fig. 4 là đồ thị thể hiện ảnh hưởng của việc bổ sung FAE đến AME của gà thịt; các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ thị bằng các chỉ số khác nhau ($n=12$). Các giá trị được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (SE).

Fig. 5 là đồ thị thể hiện ảnh hưởng của việc bổ sung các prototyp 3 và 4 đến AME của gà trống thuộc dòng gà đẻ trứng; các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ thị bằng các chỉ số khác nhau ($n=12$). Các giá trị được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (SE).

Fig. 6 là đồ thị thể hiện ảnh hưởng của việc bổ sung Kemzyme XPF đến AME của gà trống thuộc dòng gà đẻ trứng; các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ thị bằng các chỉ số khác nhau ($n=12$). Các giá trị được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (SE).

Fig. 7 là đồ thị thể hiện ảnh hưởng của việc bổ sung Kemzyme XPF đến khối lượng cơ thể của gà thịt ở độ tuổi 42 ngày tuổi; các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ thị bằng các chỉ số khác nhau ($n=9$); các giá trị được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (SE).

Fig. 8 là đồ thị thể hiện ảnh hưởng của việc bổ sung Kemzyme XPF đến FCR của gà thịt ở độ tuổi 42 ngày tuổi; các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ thị bằng các chỉ số khác nhau ($n=9$); các giá trị được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (SE).

Mô tả chi tiết sáng chế

Các khía cạnh trên đây và các khía cạnh khác của sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng các phương án khác được mô tả trong bản mô tả. Cần hiểu rằng sáng chế có thể được thể hiện dưới các dạng khác nhau và không được hiểu là sáng chế bị giới hạn ở các phương án được bộc lộ trong bản mô tả này. Đúng hơn là, các phương án này được đưa ra để giúp bản mô tả trở nên toàn diện và đầy đủ, và sẽ chuyển tải đầy đủ phạm vi của sáng chế đến người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này.

Thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả sáng chế chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể và không dự định để hạn chế sáng chế. Như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế và các yêu cầu bảo hộ kèm theo, các dạng số ít cũng được dự định để bao gồm các dạng số nhiều, trừ khi ngữ cảnh chỉ ra một cách rõ ràng theo cách khác.

Trừ khi được xác định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả có cùng nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực của sáng chế này.

Tất cả các công bố, đơn sáng chế Mỹ, bằng Mỹ và các tài liệu tham khảo khác được viện dẫn trong bản mô tả được kết hợp hoàn toàn bằng cách viện dẫn.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "gia cầm lấy thịt" chỉ loài chim bất kỳ được sản xuất hoặc sử dụng để tiêu thụ thịt như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này. Ví dụ về các loài chim như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, gà, gà tây, vịt, ngỗng, chim cút, gà lôi, đà điểu, và tương tự.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "năng lượng trao đổi biểu kiến" chỉ năng lượng thô của thực ăn được tiêu thụ trừ đi năng lượng thô chứa trong phân, nước tiểu và các sản phẩm tiêu hóa dạng khí. Đối với gia cầm, các sản phẩm dạng khí thường không đáng kể.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "esteraza của axit ferulic" chỉ enzym mà xúc tác phản ứng hóa học phân cắt feruloyl polysacarit thành ferulat và polysacarit. Enzym này thuộc họ hydrolaza, đặc biệt là các enzym hoạt động trên liên kết este carboxylic. Tên hệ thống của enzym này là feruloyl esteraza. Các tên khác thường dùng bao gồm hydroxyxinamoyl esteraza, enzym phụ hemicellulaza, và xinamoyl este hydrolaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "enzym phân hủy chính" chỉ enzym chính có trong thực ăn cho động vật mà xúc tác sự phân hủy các thành phần chính của thức ăn. Các enzym phân hủy chính bao gồm xenlulaza, xylanaza, glucanaza và amylaza.

Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế, liều lượng esteraza của axit ferulic nằm trong khoảng từ 20 U/kg đến 200 U/kg thức ăn và tất cả các giá trị trong giới hạn này, bao gồm 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180 và 190 U/kg.

Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế, việc làm giảm các enzym phân hủy mạch chính cần để trích xuất lượng năng lượng trao đổi biểu kiến nhất định từ chế độ ăn của động vật, bao gồm bước bổ sung lượng hữu hiệu esteraza của axit ferulic vào chế độ ăn sao cho mức độ giảm là từ 20% đến 80% và tất cả các giá trị trong giới hạn này, bao gồm 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, và 75%.

Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế, việc tăng cường năng lượng trao đổi biểu kiến của chế độ ăn, bao gồm bước bổ sung lượng hữu hiệu esteraza của axit ferulic vào chế độ ăn sao cho mức độ tăng cường là từ 0,1% đến 100% và tất cả các giá trị nằm trong giới hạn này, bao gồm 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3,

4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 và 95%.

Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế, việc cải thiện khả năng tiêu hóa chế độ ăn giàu chất xơ, bao gồm bước bổ sung lượng hữu hiệu esteraza của axit ferulic vào chế độ ăn sao cho mức độ cải thiện là từ 0,1% đến 100% và tất cả các giá trị nằm trong giới hạn này, bao gồm 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 và 95%.

Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế, việc cải thiện hiệu suất của động vật được cho ăn chế độ ăn, bao gồm bước bổ sung lượng hữu hiệu esteraza của axit ferulic vào chế độ ăn sao cho mức độ cải thiện là từ 0,1% đến 100% và tất cả các giá trị nằm trong giới hạn này, bao gồm 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 và 95%.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "lấy trứng" chỉ thành viên thuộc loài chim được sử dụng chủ yếu để sản xuất trứng.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "gà thịt" chỉ gà chưa trưởng thành bất kỳ được sản xuất hoặc cuối cùng được sử dụng để tiêu thụ thịt.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "chế độ ăn cho gia cầm" chỉ chế độ ăn có thể được sử dụng cho thành viên thuộc loài chim để thúc đẩy và duy trì sự sinh trưởng của chim. Chế độ ăn cho gia cầm có thể chứa nguồn protein, vitamin, khoáng chất, năng lượng như chất béo, carbohydrat, và protein bổ sung, chất kháng sinh, và các chất hoặc hợp chất khác đã biết là có trong thức ăn động vật, cụ thể là thức ăn cho gia cầm. Chế độ ăn cho gia cầm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chế độ ăn ban đầu, chế độ ăn sinh trưởng, và chế độ ăn kết thúc. "Chế độ ăn khởi đầu" chỉ chế độ ăn mà có thể được sử dụng cho động vật từ khi sinh ra hoặc nở ra đến khi đạt được giai đoạn và/hoặc khối lượng cơ thể mong muốn. "Chế độ ăn sinh trưởng" chỉ chế độ ăn mà có thể được sử dụng cho động vật khi hoàn thành pha sinh trưởng ban đầu. "Chế độ ăn kết thúc" chỉ chế độ ăn mà có thể được sử dụng cho động vật trong suốt gia đoạn phát triển cho đến thời điểm giết mổ.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "sức sinh trưởng" hoặc "hiệu suất sinh trưởng" chỉ sự gia tăng khối lượng hoặc kích thước hoặc cả hai (ví dụ, chiều cao,

bề ngang, đường kính, chu vi, v.v.) cao hơn khối lượng hoặc kích thước mà theo cách khác có được khi không thực hiện các phương pháp và/hoặc sử dụng các chế phẩm theo sáng chế. Sức sinh trưởng có thể tăng về khối lượng (ví dụ, khối lượng hoặc kích thước) của toàn bộ động vật hoặc của mô cụ thể (ví dụ, mô cơ nói chung hoặc cơ cụ thể). Theo cách khác, sức sinh trưởng có thể chỉ thị sự gia tăng tương đối về khối lượng một mô so với mô khác, cụ thể, sự gia tăng mô cơ so với các mô khác (chẳng hạn, mô mỡ). Sức sinh trưởng còn liên quan đến tình trạng dinh dưỡng và khả năng kháng bệnh trong đó sự cải thiện tình trạng dinh dưỡng và/hoặc tăng khả năng kháng bệnh cũng chỉ thị hiệu suất sinh trưởng được cải thiện.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “tỷ lệ chuyển hóa thức ăn” chỉ số đo hiệu lực của động vật trong việc chuyển hóa khối lượng thức ăn thành sự gia tăng sản lượng mong muốn. Đối với các động vật được nuôi lấy thịt, như lợn và gia cầm, sản lượng là khối lượng mà động vật đạt được. Đối với động vật nuôi lấy trứng, như gà đẻ, sản lượng là khối lượng trứng được sản xuất bởi gà đẻ. Cụ thể, tỷ lệ chuyển hóa thức ăn là khối lượng thức ăn được ăn chia cho sản lượng, trong khoảng thời gian nhất định. Các thuật ngữ khác thường dùng là mức chuyển hóa thức ăn và hiệu lực chuyển hoá thức ăn.

Theo những điều trên, các phương án theo sáng chế đề cập đến các phương pháp chăn nuôi động vật có một dạ dày, cụ thể là gia cầm và lợn, bao gồm việc cho động vật ăn chế độ ăn trong đó thức ăn còn chứa esteraza của axit ferulic và được bổ sung vào chế độ ăn với lượng hữu hiệu để tăng cường năng lượng trao đổi biểu kiến của chế độ ăn, và/hoặc giảm liều lượng (các) enzym phân hủy chính trong chế độ ăn, và/hoặc cải thiện khả năng tiêu hóa chế độ ăn giàu chất xơ, và/hoặc cải thiện hiệu suất của động vật được cho ăn chế độ ăn này. Chế độ ăn cho gia cầm có thể là thức ăn động vật bao gồm nguồn protein, ví dụ, bột đậu tương, bột cá, bột huyết, phụ phẩm gia cầm (gia cầm chế nghiền), bột thịt, bột mỳ, hạt cải dầu, cây cải dầu và hỗn hợp của chúng. Thức ăn động vật còn bao gồm các carbohydrat, chẳng hạn, ngô, yến mạch, đại mạch, lúa miến, hoặc hỗn hợp của chúng mà có thể được nghiền thành bột để sử dụng trong thức ăn động vật. Ngoài ra, thức ăn động vật có thể bao gồm vitamin, khoáng chất, chất béo, chất kháng sinh, và các chất hoặc hợp chất khác cần có hoặc muốn có. Các ví dụ không hạn chế về chế độ ăn cho gia cầm loại thức ăn động vật bao gồm thức ăn từ ngũ cốc bao gồm ngũ cốc như đại mạch, ngô, đậu tương, lúa mỳ, tiểu hắc mạch,

và hắc mạch. Ngô-đậu tương, lúa mỳ-đậu tương, và lúa mỳ-ngô-đậu tương, lúa miến-đậu tương, và ngô-lúa miến-đậu tương là các ví dụ không hạn chế khác về thức ăn động vật thích hợp theo sáng chế.

Esteraza của axit ferulic để thực hành sáng chế có thể thu được bằng cách nuôi tế bào chủ chứa trình tự axit nucleic mã hóa esteraza của axit ferulic, trong các điều kiện cho phép biểu hiện esteraza của axit ferulic được mã hóa, tùy ý lọc môi trường để loại bỏ các tế bào và thu hồi và cô đặc dịch nổi còn lại bằng cách siêu lọc để thu được esteraza của axit ferulic. Cũng có thể thu được các yếu tố phối hợp (co-factor) có lợi.

Sáng chế cũng đề xuất enzym esteraza của axit ferulic có thể được tạo ra bằng cách nuôi cấy tế bào chủ như được mô tả trên đây trong các điều kiện mà cho phép biểu hiện esteraza của axit ferulic, thu hồi esteraza của axit ferulic được biểu hiện. Tế bào chủ có thể được nuôi cấy trong các điều kiện trong đó tế bào sinh trưởng, và sau đó được nuôi cấy trong các điều kiện gây ra sự biểu hiện esteraza của axit ferulic được mã hóa, hoặc các tế bào có thể được cho sinh trưởng và biểu hiện esteraza của axit ferulic được mã hóa cùng lúc. Các điều kiện như vậy đã được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này biết rõ và có thể thay đổi theo tế bào chủ và mức biểu hiện enzym mong muốn.

Esteraza của axit ferulic nên có mặt với lượng ít nhất đủ để đạt được tác dụng dự định, nhưng giới hạn trên của lượng esteraza của axit ferulic có thể xác định được dựa trên việc đạt được tác dụng mong muốn. Theo một số phương án, thức ăn động vật chứa từ khoảng 0,01% đến khoảng 20% esteraza của axit ferulic theo khối lượng. Ngoài ra, esteraza của axit ferulic được sử dụng trong việc thực hành sáng chế có thể ở dạng thô hoặc dạng tinh khiết. Esteraza của axit ferulic ở dạng thô có thể được điều chế, ví dụ, bằng cách tách các tế bào vi khuẩn sản xuất esteraza của axit ferulic khỏi môi trường nuôi cấy lỏng của chúng, môi trường nuôi cấy lỏng này chứa esteraza của axit ferulic thô. Theo cách khác, các tế bào có thể được dung giải (theo cách hóa học hoặc vật lý) trong môi trường nuôi cấy lỏng để tạo ra chiết phẩm thô không có tế bào. Các cách khác để điều chế chiết phẩm sẽ được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này biết rõ. Esteraza của axit ferulic thô có thể có trong thức ăn ở dạng bất kỳ tương thích với nó, như dạng nước hoặc dạng đông khô. Theo một số phương án, esteraza của axit ferulic thô ở dạng đông khô.

Esteraza của axit ferulic tinh khiết (hoặc gần như tinh khiết) có thể chu được bằng cách tách esteraza của axit ferulic thô được mô tả trên đây thành các thành phần riêng rẽ của nó bằng các kỹ thuật đã biết. Nhiều quy trình tách thích hợp, như phương pháp sắc ký cột đã được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này biết rõ. Các protein thành phần riêng rẽ có thể được sàng lọc theo khả năng phân hủy vật liệu chứa axit ferulic của chúng, và thành phần mà phân hủy tốt nhất vật liệu chứa axit ferulic chứa esteraza của axit ferulic. Giống như esteraza của axit ferulic thô, esteraza của axit ferulic tinh khiết có thể được sử dụng ở dạng bất kỳ thích hợp, bao gồm dạng lỏng và dạng đông khô.

Các phương án theo sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp cải thiện hiệu quả của việc sử dụng thức ăn động vật bao gồm bước cho ăn bằng thức ăn động vật trong đó thức ăn này chứa thêm esteraza của axit ferulic với lượng hữu hiệu để cải thiện hiệu quả của việc sử dụng thức ăn động vật được cung cấp cho gia cầm lấy thịt. Thức ăn động vật có thể bao gồm các thức ăn động vật được mô tả trên đây và, theo các phương án cụ thể có thể là bột ngô-đậu tương.

Thức ăn động vật theo sáng chế chứa esteraza của axit ferulic với lượng ít nhất đủ để đạt được tác dụng dự định, trong đó giới hạn trên của lượng esteraza của axit ferulic có thể xác định được dựa trên việc đạt được tác dụng mong muốn. Thành phần bổ sung thức ăn động vật được bổ sung vào thức ăn động vật có thể chứa tối đa 100% esteraza của axit ferulic theo khối lượng. Thức ăn động vật chứa thành phần bổ sung bao gồm từ khoảng 5% đến khoảng 25% esteraza của axit ferulic theo khối lượng.

Động vật bất kỳ là đối tượng thích hợp theo sáng chế, tuy nhiên, tốt hơn nếu sáng chế được sử dụng cho các động vật có một dạ dày. Các đối tượng thích hợp có thể ở khoảng độ tuổi bất kỳ bao gồm các động vật mới sinh, động vật đang phát triển, và động vật trưởng thành. Theo một số phương án, đối tượng thích hợp có thể là chim, tốt hơn là gà. Theo các phương án khác, đối tượng thích hợp có thể là gà. Theo các phương án khác nữa, đối tượng thích hợp có thể là chim non, đang phát triển, hoặc trưởng thành. Theo các phương án khác, đối tượng thích hợp có thể là gà ở độ tuổi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, hoặc 65 ngày tuổi, hoặc trong

khoảng bất kỳ trong các độ tuổi này. Do đó, sáng chế đề xuất nhiều thức ăn khác nhau, bao gồm thức ăn cho vật nuôi, thức ăn cho gia cầm, và thức ăn cho lợn.

Thành phần bổ sung thức ăn động vật theo sáng chế cũng có thể làm cho thức ăn động vật thông thường được cải biến bằng cách giảm năng lượng, và/hoặc protein, và/hoặc hàm lượng axit amin của nó trong khi đồng thời duy trì cùng mức dinh dưỡng năng lượng, protein, và axit amin khả dụng cho động vật. Do đó, có thể giảm lượng thành phần bổ sung năng lượng và protein đắt tiền thường được đưa vào thức ăn động vật so với thức ăn thông thường.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1 - FAE tăng cường năng lượng trao đổi biểu kiến trong chế độ ăn

Vật liệu và phương pháp

Enzym và hóa chất. Esteraza của axit ferulic [12,5 U/mg trên cơ chất – (O-{5-O-[(E)-feruloyl]-a-L-arabinofuranosyl}-(133)-O-b-D-xylopyranosyl-(134)-D-xylopyranoza), FAXX]. Các enzym khác được sử dụng trong thử nghiệm AME bao gồm xenlulaza, xylanaza, glucanaza và amylaza thu được từ Kemin Industries South Asia Private limited manufacturing facility, Gummidipoondi.

Các điều kiện và thiết bị HPLC. Cột HPLC được sử dụng là cột C18 (Phenomenex) 250 mm X 4,6 mm với cỡ hạt 5 µm. Pha động là metanol: nước: axit axetic (35:65:1) ở tốc độ dòng 1,0 ml/phút theo phương thức giải hấp đẳng dòng. Nhiệt độ lò được đặt ở 40 °C. Thể tích mẫu 20 µl được sử dụng với thời gian chạy 20 phút. Cảm biến được đặt ở 320 nm.

Thử nghiệm esteraza của axit ferulic. Hoạt tính esteraza của axit ferulic được thử nghiệm bằng cách sử dụng MFA làm cơ chất như được mô tả bởi Shin, và các đồng tác giả. (Shin, H.D., R. R Chen. (2006). Production and characterization of a type B feruloyl esteraza from *Fusarium proliferatum* NRRL 26517. *Enzyme and Microbial Technology* 38: 478–485) với một vài cải biến. Thử nghiệm được tiến hành trong 0,5 mL dung dịch đệm natri phosphat 50 mM (độ pH = 6,5) chứa 1 mM metyl ferulat ở 40 °C trong 30 phút, và sau đó axit ferulic tự do được giải phóng được phân tích bằng HPLC như được mô tả trên đây trong đó thể tích phản ứng cuối được làm thành 1 mL bằng dung dịch đệm. Đối chứng cơ chất được sử dụng trong thử nghiệm chỉ chứa metyl ferulat không có FAE. Một đơn vị hoạt tính FAE được xác định là lượng enzym mà giải phóng 1 µmol axit ferulic /phút trong các điều kiện thử nghiệm trên đây.

Phân tích thống kê. Các phép phân tích được tiến hành ba lần, và giá trị trung bình được tính toán. Dữ liệu được biểu hiện bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). Phép phân tích thống kê được tiến hành bằng cách sử dụng công cụ ANOVA với STATGRAPHICS Plus. Các khác biệt với $P < 0,05$ được coi là đáng kể.

Điều chế các enzym prototyp I. Prototyp I được chuẩn bị bằng cách sử dụng tổ hợp các enzym phân hủy mạch chính amylaza, xylanaza, xenlulaza và glucanaza.

Profin hoạt tính của các enzym prototyp I. Các enzym prototyp I bao gồm xenlulaza, xylanaza, glucanaza và amylaza. Profin hoạt tính của các enzym riêng rẽ trên cơ chất đặc hiệu được thể hiện trên Bảng 1. Tất cả các thử nghiệm được tiến hành theo các quy trình chuẩn. Hoạt tính FAE được xác định bằng cách sử dụng metyl ferulat làm cơ chất như được mô tả trên đây.

Cùng với các enzym prototyp I, FAE được bổ sung với liều lượng 20 U và 40 U trên mỗi kg thức ăn.

Bảng 1. Profin hoạt tính của các enzym prototyp I

Enzym	Hoạt tính enzym/g của prototyp I*
Xenlulaza	6351,84 $\pm$ 48,07
Xylanaza	42358,98 $\pm$ 192,3
Glucanaza	8426,18 $\pm$ 119,04
Amylaza	1394 $\pm$ 3

* Các thử nghiệm enzym được tiến hành trên các cơ chất đặc hiệu, bằng các kỹ thuật chuẩn

Tác dụng hiệp đồng giữa prototyp I và FAE. Tác dụng hiệp đồng giữa các enzym prototyp I và FAE trong giải phóng axit ferulic từ cám lúa mì tách tinh bột (destarched wheat bran - DSWB) được thử nghiệm chủ yếu như được mô tả trong tài liệu của Fualds và các đồng tác giả. (Faulds, C. B, Williamson, G. (1995). Release of ferulic acid from wheat bran by a ferulic acid esterase (FAE-III) from *Aspergillus niger*. Appl Microbiol Biotechnol. 43:1082-1087). Prototyp I (100 mg) được hòa tan trong 100 mL dung dịch đệm natri phosphat (độ pH = 6,5) và 100 uL dung dịch enzym được sử dụng cho thử nghiệm này. Các nhóm bao gồm FAE (20 uL, 25 U/ mg trên FAXX), các enzym prototyp I (100uL) và hỗn hợp FAE và các enzym prototyp I. Lượng nêu trên của các enzym được bổ sung vào 25 mg DSWB và thể tích hỗn hợp phản ứng cuối được làm thành 1 mL bằng cách sử dụng dung dịch đệm natri phosphat (độ pH = 6,5). Hỗn hợp phản ứng được ủ ở 40 °C trong 1 giờ. Sau đó các ống được giữ

trong bể nước sôi trong 10 phút để dừng phản ứng. Các ống được ly tâm ở 10000 vòng/phút trong 10 phút và axit ferulic được giải phóng được đọc bằng cách sử dụng HPLC ở 320 nm. Ống với DSWB, chỉ chứa dung dịch đệm natri phosphat mà không có enzym bất kỳ được sử dụng làm đối chứng.

Chim và thiết kế thử nghiệm. Các thử nghiệm AME được thực hiện ở trang trại Kemin R&D, Gummidipoondi. Các gà thịt Cobb 400 (35 ngày tuổi) được nhốt trong các chuồng trao đổi chất và cho ăn chế độ ăn hoàn chỉnh thương mại dành cho gà thịt trước khi bắt đầu thử nghiệm.

Thành phần dinh dưỡng của thức ăn. Chế độ ăn được xây dựng lại để có hàm lượng chất xơ là 4,2 % tăng so với 3,5 % chất xơ trong thức ăn hoàn chỉnh bình thường dành cho gà thịt với năng lượng giảm còn 80 Kcal / kg. Độ tiêu thụ thức ăn được thể hiện trong Bảng 2 và thành phần dinh dưỡng được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 2. Thành phần thức ăn của chế độ ăn giàu chất xơ được sử dụng trong các thử nghiệm AME

Các thành phần	Nồng độ (Kg/tấn)
Ngô	604,22
Bột đậu tương	278,57
Bột hướng dương ^s	43,13
Canxit/LSP	16,65
DCP	8,95
Dầu cám gạo	35,53
DL-Methionin	2,46
L-Lysin	2,39
Kemzyme PG 5000	0,1
Soda bicarbonat	1
Muối	3
Chất phụ gia (g)	
Hỗn hợp vitamin Provit plus	0,5
Cholin Clorua	1
Superliv	0,5
BMD	0,5

^sBột hướng dương được sử dụng trong chế phẩm để làm tăng hàm lượng chất xơ trong thức ăn.

Bảng 3. Thành phần dinh dưỡng của chế độ ăn được sử dụng trong các thử nghiệm AME

Thành phần dinh dưỡng	Giá trị
ME	3070 Kcal / kg
CP	19%
CF	4,20%
EE	6,08%
Ca	0,92%
Av P	0,42%
Lysin	1,20%
Methionin	0,55%

Các nhóm xử lý – Thử nghiệm I. Các nhóm xử lý có trong thử nghiệm I được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4. Các nhóm xử lý – Thử nghiệm I

Nhóm xử lý	Chế độ ăn	Enzym	Liều lượng	
			FAE ^s	Prototyp I*
Đối chứng	Chế độ ăn giàu chất xơ	Không có enzym	-	-
Xử lý 1	Chế độ ăn giàu chất xơ	Prototyp I	-	500 g/ tấn thức ăn
Xử lý 2	Chế độ ăn giàu chất xơ	Esteraza của axit ferulic + Prototyp I	20 U / kg	500 g/ tấn thức ăn
Xử lý 3	Chế độ ăn giàu chất xơ	Esteraza của axit ferulic + Prototyp I	40 U / kg	500 g/ tấn thức ăn

*Prototyp I chứa xenulaza, amylaza và glucanaza và xylanaza như trong Bảng 1^s hoạt tính FAE được xác định bằng cách sử dụng methyl ferulat làm cơ chất

Các nhóm xử lý - Thử nghiệm II. Trong thử nghiệm II, prototyp I được sử dụng với liều lượng thấp hơn (Bảng 5). Phần còn lại của thiết kế thử nghiệm là tương tự với Thử nghiệm I.

Bảng 5. Các nhóm xử lý - Thử nghiệm II

Nhóm xử lý	Chế độ ăn	Enzym	Liều lượng	
			FAE ^s	Prototyp 1*
Đối chứng	Chế độ ăn giàu chất xơ	Không có enzym	-	-
Xử lý 1	Chế độ ăn giàu chất xơ	Prototyp I	-	250 g/ tấn thức ăn
Xử lý 2	Chế độ ăn giàu chất xơ	Esteraza của axit ferulic + Prototyp I	20 U / kg	250 g/ tấn thức ăn
Xử lý 3	Chế độ ăn giàu chất xơ	Esteraza của axit ferulic + Prototyp I	40 U / kg	250 g/ tấn thức ăn

*Prototyp I chứa xenlulaza, amylaza và glucanaza và xylanaza như trong Bảng

1^s hoạt tính FAE được xác định bằng cách sử dụng metyl ferulat làm cơ chất

Thử nghiệm AME. Các thử nghiệm AME được thực hiện với gà thịt 5 tuần tuổi. Mỗi thử nghiệm được thực hiện với 48 con gà trong 4 nhóm xử lý, gồm 12 con gà mỗi lần lặp trong các chuồng trao đổi chất. Các con gà này được giữ trong các chuồng riêng rẽ trên khay thu gom chất bài tiết. Việc cho thích nghi với chuồng được thực hiện trong 3 ngày với chế độ ăn và nước uống *tùy thích*. Trước khi cho ăn chế độ ăn được xây dựng lại, các con gà được cho nhịn đói trong 24 giờ để làm rỗng các thành phần trong ruột. Sau 24 giờ, các con gà được cho ăn 50 g thức ăn theo các nhóm xử lý như đề cập trong Bảng 4 và Bảng 5. Chất bài tiết được thu gom từ mỗi con gà trong chính xác là 36 giờ sau khi cho ăn và các mẫu chất bài tiết được làm khô ở 50 °C trong 48 giờ. Khối lượng khô của chất bài tiết được xác định và các mẫu được sử dụng để xác định năng lượng thô bằng cách sử dụng nhiệt lượng kế Parr 6300 Bomb (Parr Instrument Company, USA). Năng lượng thô của các mẫu thức ăn được xác định và AME (Kcal/g) được tính toán như thể hiện dưới đây.

$$AME = \frac{\text{Tổng năng lượng thô được tiêu thụ (Kcal)} - \text{Tổng năng lượng thô được bài tiết (Kcal)}}{\text{Tổng lượng thức ăn tiêu thụ (g)}}$$

Kết quả:

Tác dụng hiệp đồng giữa FAE và các enzym prototyp I được thể hiện trong Bảng 7. Việc sử dụng các enzym prototyp I một mình giải phóng lượng axit ferulic từ cơ chất không đáng kể. Tuy nhiên, FAE kết hợp với các enzym prototyp I cải thiện đáng kể sự giải phóng axit ferulic, so với FAE hoặc Prototyp I (Bảng 7). Điều này chứng tỏ tác dụng hiệp đồng của FAE với xylanaza và các enzym phân hủy mạch chính khác.

Bảng 7. Tác dụng hiệp đồng giữa FAE và các enzym prototyp I trong giải phóng axit ferulic từ DSWB

Các nhóm	Lượng axit ferulic được giải phóng từ DSWB (uM)
FAE	35 ± 2
Prototyp I	$3,73 \pm 0,40$
Prototyp I + FAE	$441,54 \pm 3,10$
Đối chứng	$2,44 \pm 0,09$

Dữ liệu AME của thử nghiệm I sử dụng các enzym prototyp với lượng 500 g/tấn thức ăn với FAE ở hai liều lượng khác nhau được thể hiện trên Fig. 1, trong đó các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ ra bằng các chỉ số khác nhau ($n=10$). Các nhóm được bổ sung các enzym prototyp cải thiện AME đáng kể so với đối chứng. Không quan sát được khác biệt về mặt thống kê giữa nhóm được bổ sung enzym prototyp và nhóm được bổ sung enzym prototyp cùng với FAE lần lượt với lượng 20 U /kg và 40 U /kg. Chỉ quan sát được khác biệt về số giữa các nhóm được bổ sung các enzym prototyp và FAE.

Dữ liệu AME của thử nghiệm I sử dụng các enzym prototyp với lượng 250 g/tấn thức ăn với FAE ở hai liều lượng khác nhau được thể hiện trên Fig. 2, trong đó các nhóm khác nhau đáng kể với $P < 0,05$ được chỉ ra bằng các chỉ số khác nhau ($n=10$). Không quan sát được khác biệt đáng kể về AME giữa nhóm đối chứng và nhóm được bổ sung prototyp I. Tuy nhiên, việc bổ sung FAE vào prototyp I cải thiện AME của gà thịt. Việc bổ sung FAE (20U) vào prototyp I cải thiện 40 Kcal/kg AME và FAE (40U) cải thiện ($P < 0,05$) 61 Kcal/kg AME ở gà thịt. Mặc dù sử dụng cùng chế độ ăn ở cả hai thử nghiệm AME, các giá trị AME của các nhóm đối chứng quan

sát được là khác nhau ở hai thử nghiệm. Điều này có thể do chất lượng của hạt thức ăn trong thử nghiệm.

Chất xơ trong chế độ ăn bao gồm các polysacarit không bị phân giải bởi các enzym nội sinh của ống tiêu hóa. Các polysacarit này bao gồm tinh bột bền và các polysacarit phi tinh bột (NSP). NSP thường được phân loại thành tan trong nước (các pectin, glucan và arabinoxylan tan trong nước) và không tan trong nước (lignin, xenloloza, hemixenloloza và các hợp chất pectic). Lignin được liên kết ngang với arabinoxylan bằng các phân tử ferulat. Các ferulat này được este hóa thành các đơn vị arabinoza của arabinoxylan, và một số este ferulat kết hợp với nhau tạo thành diferulat để liên kết ngang các chuỗi arabinoxylan, với một phần của các diferulat này cũng trở nên được liên kết với lignin (Jung, H. G. D. R. Mertens and R. L. Phillips (2011). Effect of reduced ferulate-mediated lignin/arabinoxylan cross-linking in corn silage on feed intake, digestibility, and milk production. *J. Dairy Sci.* 94:5124–5137). Đã có đề xuất rằng liên kết ngang của lignin và arabinoxylan sẽ cản trở khả năng phân giải thành tế bào bằng cách đặt lignin rất gần với các polysacarit và ngăn cản sự tiếp cận vật lý của các enzym thủy phân vi sinh vật.

Việc sử dụng esteraza của axit ferulic có thể hữu dụng trong việc bẻ gãy các liên kết ngang này và tạo ra khả năng tiếp cận cho các enzym thủy phân khác để hoạt động trên các polysacarit, nhờ đó cải thiện chất lượng dinh dưỡng của thức ăn động vật. FAE được sử dụng trong thử nghiệm này là enzym tái tổ hợp từ *Clostridium thermocellum*, với độ tinh khiết >95%. FAE tinh khiết được sử dụng trong thử nghiệm để xác định liều lượng hữu hiệu của FAE trong việc cải thiện AME của gà thịt được cho ăn chế độ ăn giàu chất xơ.

Bột hướng dương được sử dụng trong thử nghiệm này để tăng hàm lượng chất xơ trong thức ăn vì nó chứa hàm lượng NSP cao. Đã có báo cáo rằng các thành phần tan và không tan của NSP lần lượt là 4,5 và 23,1% (Senkoylu N. and N. Dale (2006). Nutritional Evaluation of a High-Oil Sunflower Meal in Broiler Starter Diets. *J. Appl. Poult. Res.* 15:40–47).

Thử nghiệm I với prototyp I với lượng 500 g/ tấn thức ăn và FAE không cải thiện AME so với các nhóm được bổ sung các enzym prototyp (Fig. 1). Điều này có thể do thức tế, prototyp I với lượng 500 g/ tấn bản thân nó bù lại năng lượng bị giảm đi là 80 Kcal trong chế độ ăn và phần đóng góp của năng lượng bổ sung từ FAE là rất

nhỏ. Điều này thúc đẩy các tác giả sáng chế sử dụng các enzym prototyp I với liều lượng giảm để quan sát tác dụng hiệp đồng giữa FAE và các enzym prototyp I. Trong thử nghiệm II, prototyp I được dùng với lượng 250 g / tấn thức ăn (Bảng 5) để xác minh tác dụng hiệp đồng giữa FAE và các enzym phân hủy mạch chính trong việc cải thiện AME của gà thịt. Rõ ràng theo đồ thị (Fig. 2) rằng FAE tạo ra khả năng tiếp cận tốt hơn cho các enzym phân hủy mạch chính và cải thiện năng lượng khả dụng từ thức ăn, khi được sử dụng với nửa liều lượng. Điều này cũng chứng tỏ vai trò của FAE là enzym then chốt trong việc cải thiện chất lượng dinh dưỡng của thức ăn. Điều này cũng cung cấp thông tin rằng việc sử dụng các enzym phân hủy mạch chính có thể giảm, khi sử dụng kết hợp với FAE, để tạo ra các lợi ích kinh tế tốt hơn.

Ví dụ 2 - FAE giải phóng đường từ cơ chất tinh bột

Vật liệu và phương pháp

Chế biến cám lúa mì tách tinh bột (DSWB). Cám lúa mì dùng trong thực phẩm thu được từ hãng M/s Bannari Amman Flour Mill (Chennai, India). Cám lúa mì này được loại bỏ tinh bột bằng cách ủ trong 0,25% (khối lượng/thể tích) kali axetat trong 10 phút ở 95 °C. Sau đó, cám được xử lý được rửa kỹ bằng nước. Sau mỗi lần rửa, mẫu nước được kiểm tra tinh bột bằng cách sử dụng dung dịch iot. Việc rửa được tiếp tục đến khi mẫu nước được kiểm tra âm tính với tinh bột. Mẫu DSWB sau đó được làm khô trong lò không khí nóng ở 50 °C qua đêm để loại bỏ tất cả các lượng nhỏ hơi ẩm. Mẫu khô được nghiền bằng máy trộn và sau đó cho qua sàng cỡ 0,25 đến 0,5 mm. Các hạt DSWB với cỡ hạt 0,25-0,5 mm được sử dụng làm cơ chất cho các thử nghiệm enzym.

Phân giải bằng. Lượng 1g DSWB được cân và chuyển vào bình nón sạch không có dầu mỡ (250 ml). Ban đầu, dung dịch đệm phosphat (20 mL, 50 mM, 6.5 pH) được bổ sung vào đó. Lượng các enzym được xác định và bổ sung theo các nhóm thử nghiệm tương ứng. Hoạt tính enzym của các chế phẩm gốc được thể hiện trong Bảng 8. Sau đó hỗn hợp phản ứng được ủ ở độ pH = 6,5 ở nhiệt độ 40 °C trong 3 giờ. Sau khoảng thời gian này, phản ứng được ngừng bằng cách đun nóng ở 100 °C trong 5 phút. Sau đó hỗn hợp phản ứng được ly tâm ở 10000 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ các hạt DSWB. Đường khử trong dịch nổi được đọc bằng phương pháp Nelson Somogyi.

Bảng 8. Hoạt tính enzym của chế phẩm gốc

Enzym	Chế phẩm gốc (BF) (u/g)
Xenlulaza	14.138 ± 20
α-amylaza	680 ± 8
β-glucanaza	3.413 ± 49
Xylanaza	44.069 ± 1068

*Các giá trị được biểu thị bằng giá trị trung bình ± SD, n=3

Thử nghiệm enzym. Tất cả các thử nghiệm enzym được tiến hành bằng các phương pháp chuẩn. FAE – esteraza của axit ferulic, Depol 740 L thu được từ hãng Biocatalyst Ltd, UK. Hoạt tính FAE được xác định bằng cách sử dụng metyl ferulat làm cơ chất bằng phương pháp HPLC.

Kết quả:

Lượng đường khử được giải phóng từ các nhóm có bổ sung enzym cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng (Fig. 3). Có đáp ứng liều rõ ràng giữa chế phẩm gốc ở 250 và 500 g/tấn. Việc bổ sung FAE 40 U/kg vào BF-250g/t cải thiện mức giải phóng đường đáng kể và tương đương với thành phần bổ sung BF ở 500 g/tấn. Việc bổ sung BF -500g/t cùng với 80 U/kg FAE có lượng đường được giải phóng cao hơn đáng kể so với tất cả cá nhóm xử lý khác. Từ dữ liệu này, rõ ràng là FAE không chỉ cải thiện khả năng tiếp cận của các enzym mạch chính như xenlulaza, glucanaza, và xylanaza, mà còn giảm liều lượng các enzym mạch chính.

Các thử nghiệm trên động vật

Thử nghiệm enzym. Tất cả các thử nghiệm enzym được tiến hành bằng các phương pháp chuẩn. Hoạt tính FAE được xác định bằng cách sử dụng metyl ferulat làm cơ chất bằng phương pháp HPLC.

Các prototyp. Các prototyp 3 và 4 được bào chế cùng với BAN 800 và amylaza giải phóng chậm với tỷ lệ bằng nhau cùng với FAE và các NSPaza khác (Bảng 9a và Bảng 9b). Prototyp 4 khác với prototyp 3 ở nồng độ FAE cao gấp đôi. Các hoạt tính enzym tương ứng được thể hiện trong Bảng 2a và Bảng 2b.

Bảng 9a. Hoạt tính enzym (được phân tích) của các prototyp

	*Hoạt tính enzym (U/g)	
Enzym	Prototyp 3	Prototyp 4
Xenlulaza	13.570 ± 211	14.138 ± 20
α-amylaza	690 ± 7	680 ± 8
β-glucanaza	3.317 ± 99	3.413 ± 49
Xylanaza	39.932 ± 2447	44.069 ± 1068
FAE	85 ± 9	166 ± 17

*Các giá trị được biểu thị bằng giá trị trung bình ± SD, n=3

Bảng 9b. Hoạt tính enzym của các prototyp trong thức ăn được xử lý

	*Hoạt tính enzym (U/g)	
Enzym	#Prototyp 3	#Prototyp 4
Xenlulaza	6785	3534,5
α-amylaza	345	170
β-glucanaza	1658,5	853
Xylanaza	19966	11017
FAE	42,5	41,5

*Được tính toán dựa trên các giá trị được phân tích được thể hiện trong Bảng 9b

#Các prototyp 3 và 4 được cho sử dụng với liều lượng lần lượt là 500 g/tấn và 250 g/tấn

Thử nghiệm chuyển hóa. Thử nghiệm được tiến hành trong trang trại R&D farm, Gummidipoondi, với gà thịt 35 ngày tuổi (giống Vencobb 400). Chi tiết về các nhóm xử lý được đưa ra trong Bảng 10.

Bảng 10. Các nhóm xử lý được sử dụng trong thử nghiệm

Nhóm xử lý	Chế độ ăn	Enzym	Liều lượng (g/tấn thức ăn)
Đối chứng 1	*Chế độ ăn bình thường	-	-
Đối chứng 2	**Chế độ ăn được xây dựng lại (đối chứng âm)	-	-
Xử lý 1	**Chế độ ăn được xây dựng lại	Prototyp 3	500
Xử lý 2	**Chế độ ăn được xây dựng lại	Prototyp 4	250

*Chế độ ăn bình thường: Chế độ ăn được xây dựng dựa trên nhu cầu dinh dưỡng của gà thịt Vencobb 400⁷

**Chế độ ăn được xây dựng lại: Giá trị AME bị giảm 80kcal/kg thức ăn do giảm lượng dầu cám gạo và tăng lượng cám gạo đã tách dầu (de-oiled rice bran - DORB) trong thức ăn

Thành phần thức ăn trong chế độ ăn của gà thịt được sử dụng trong thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 11 và thành phần dinh dưỡng được thể hiện trong Bảng 12.

Bảng 11. Thành phần thức ăn trong chế độ ăn của gà thịt

Các thành phần	Thành phần (kg/100kg)	
	Chế độ ăn bình thường	Chế độ ăn được xây dựng lại
Ngô	58,91	58,469
Bột đậu tương 45%	29,906	29,363
Dầu cám gạo	4,569	3,539
DORB	3,000	5,000
Bột canxit	1,543	1,536
Đicaxi photphat	0,898	0,886
DL-Methionin	0,267	0,262
L-Lysin	0,257	0,260
Muối	0,250	0,250
Natri Bicarbonat	0,150	0,150
Khoáng vi lượng	0,100	0,100
Cholin clorua	0,100	0,100
L-Threonin	0,050	0,050
Hỗn hợp vitamin	0,025	0,025
Kemzyme PG	0,010	0,010
Tổng theo kg	100	100

Bảng 12. Thành phần dinh dưỡng (lý thuyết) của chế độ ăn cho gà thịt

Chất dinh dưỡng	Giá trị dinh dưỡng	
	Bình thường	Xây dựng lại
Năng lượng trao đổi (kcal/kg)	3100	3020
Protein thô %	19	19
Chất xơ thô %	3,92	4,16
Chiết phẩm ete %	7,04	6,03
Canxi %	0,88	0,88
Phospho khả dụng %	0,42	0,42

Trong thử nghiệm này, 48 con gà được chia thành 4 nhóm, với 12 con gà mỗi nhóm. Các con gà ban đầu được cân và nhốt riêng trong các chuồng lưới với máng ăn

và nước uống. Các khay thu chất bài tiết được đặt dưới mỗi chuồng để thu gom chất bài tiết. Trong 5 ngày đầu của thử nghiệm, các con gà được cho ăn thức ăn (thức ăn nghiền bình thường) *tùy thích* để thích nghi. Tiếp theo là khoảng thời gian 24 giờ cho nhịn đói để làm rỗng các thành phần ruột. Mỗi con gà sau đó được cho ăn 50g tăng ăn thử nghiệm tương ứng. Nước uống *tùy thích* được cung cấp trong suốt quá trình thử nghiệm. Chất bài tiết được thu gom riêng rẽ đối với các con gà riêng rẽ trong 36 giờ tiếp theo, sau đó làm khô trong 48 giờ ở 70 °C trong lò, cân và nghiền để qua mắt lưới cỡ 1mm. Năng lượng thô (gross energy - GE) của chất bài tiết được thu gom và các mẫu thức ăn thử nghiệm được xác định bằng nhiệt lượng kế bình đoạn nhiệt (Parr, United States of America). AME được xác định bằng GE của chất bài tiết và thức ăn theo phương trình 1.

Phân tích thống kê. Các giá trị trung bình được tính toán cho mỗi nhóm thử nghiệm. Phép phân tích phương sai một chiều (ANOVA) được thực hiện bằng phần mềm STATGRAPHICS Plus 5.1 để nghiên cứu ý nghĩa giữa các nhóm khác nhau.

Kết quả:

Trong thử nghiệm này, giá trị AME của nhóm đối chứng dương là 3002 kcal/kg. Nhóm đối chứng âm được quan sát là có AME 2917 kcal/kg, tức là thấp hơn 85 kcal/kg so với AME của nhóm đối chứng dương. Sự giảm năng lượng trao đổi quan sát thấy trong chế độ ăn đối chứng âm được phát hiện là phù hợp với giá trị lý thuyết (80 kcal/kg). Các dữ liệu này khẳng định hiệu quả của chế phẩm thức ăn.

Prototyp 3 được sử dụng với lượng 500g/tấn thức ăn cải thiện AME ở mức 72 kcal trên kg thức ăn ở gà thịt, trong khi đó prototyp 4 được bổ sung với liều lượng 250g/tấn cải thiện AME ở mức 69 kcal/kg thức ăn. Cả hai nhóm xử lý thể hiện mức cải thiện AME tương đương mà đáng kể về mặt thống kê so với nhóm đối chứng âm ($P < 0,05$). Các cải thiện về AME quan sát được với các prototyp 3 và 4 phù hợp với AME của nhóm đối chứng dương. Tất cả các kết quả này được thể hiện trong Fig. 4.

Trong thử nghiệm này, đã quan sát thấy rằng thức ăn được xử lý bằng prototyp 4 với liều lượng 250 g/tấn có 11.017 đơn vị xylanaza trên mỗi kg thức ăn; trong khi đó prototyp 3 được sử dụng với lượng 500 g/tấn có 19.966 đơn vị xylanaza trên mỗi kg thức ăn (Bảng 9b). Cũng cần lưu ý rằng nồng độ của các enzym phân hủy mạch chính khác như xenlulaza, glucanaza và amylaza trong thức ăn được xử lý bằng prototyp 4 nhỏ hơn hai lần so với nồng độ trong prototyp 3. Tuy nhiên, cả hai nhóm xử lý có

khoảng 40 U FAE được xử lý trên mỗi kg thức ăn. Mặc dù nồng độ của các enzym phân hủy mạch chính là nhỏ hơn trong thức ăn được xử lý bằng prototyp 4, sự có mặt có các đơn vị FAE bằng nhau đã thể hiện mức cải thiện AME ở cả hai nhóm (Fig. 4). FAE bằng cách tác dụng hiệp đồng với xylanaza, được cho là hỗ trợ các hydrolaza mạch chính trong việc phân hủy thành tế bào thực vật bằng cách bẻ gãy các liên kết ferulat và điều này được báo cáo là cải thiện AME của gà thịt. Từ các dữ liệu này, rõ ràng là có thể giảm liều lượng các enzym phân hủy mạch chính bằng cách sử dụng FAE.

Ví dụ 3 - FAE cải thiện khả năng tiêu hóa chế độ ăn giàu chất xơ

Vật liệu và phương pháp

Các thử nghiệm chuyển hóa. Các thử nghiệm AME được thực hiện ở trang trại R&D, Gummidipoondi, trong hai nhóm để kiểm tra hiệu lực của các prototyp nêu trên.

Thử nghiệm AME. Thử nghiệm này được tiến hành với gà trống thuộc dòng gà đẻ trứng 182 ngày tuổi (giống- BV 300). Trong thử nghiệm này, các prototyp 3 và 4 được đánh giá. Trong các prototyp này, FAE được đưa vào chế phẩm enzym để tăng cường mức phân giải chất xơ và cả để hoạt động hiệp đồng với các enzym thủy phân xylanoza và xenloloza. Để kiểm tra hiệu lực của các prototyp 3 và 4, lượng cơ chất (NSP) cao hơn là cần thiết trong chế độ ăn, vì vậy dòng gà đẻ trứng được sử dụng cho nghiên cứu AME. Trong thử nghiệm này, mức chất xơ thô trong chế độ ăn cho dòng gà đẻ trứng được tăng lên đến 6,2% để cung cấp đủ cơ chất cho các enzym để giải phóng thêm năng lượng (Bảng 14 và Bảng 15). Chi tiết về các nhóm xử lý được đưa ra trong Bảng 13.

Bảng 13. Các nhóm xử lý được sử dụng trong thử nghiệm

Nhóm xử lý	Chế độ ăn	Enzym	Liều lượng (g/tấn thức ăn)
Đối chứng 1	*Chế độ ăn bình thường	-	-
Đối chứng 2	**Chế độ ăn được xây dựng lại (đối chứng âm)	-	-
Xử lý 1	**Chế độ ăn được xây dựng lại	Prototyp 3	500
Xử lý 2	**Chế độ ăn được xây dựng lại	Prototyp 4	250

*Chế độ ăn bình thường: Chế độ ăn được xây dựng dựa trên nhu cầu dinh dưỡng của giống gà đẻ trứng BV 300 layers¹⁴

**Chế độ ăn được xây dựng lại: Giá trị AME bị giảm 80kcal/kg thức ăn do giảm lượng dầu đậu tương và ngô và tăng lượng DORB, bột hướng dương và gạo tấm trong thức ăn

Bảng 14. Thành phần thức ăn trong chế độ ăn của gà đẻ trứng được sử dụng trong thử nghiệm

Thành phần	Thành phần (kg/tấn)	
	Chế độ ăn bình thường	Chế độ ăn được xây dựng lại
Ngô	386	300
Bột đậu tương	117	83
Gạo tấm	200	254
Cám gạo tách dầu (DORB)	80	100
Bột hướng dương	40	80
Bột hạt cải dầu	30	30
Canxit	20	20
Bột đá	50	50
Bột thịt và xương (Meat and Bone meal - MBM)	30	30
Dicaxi phosphat (DCP)	2	2
Bột cá	40	50
Muối (natri clorua)	2	2
DL- Methionin	1	1
L- Lysin	0,5	0,5
Soda Bicarbonat	1	1
Khoáng vi lượng	1	1
Toxfin	1	1
Cholin Clorua	0,5	0,5
Thuốc bổ gan	0,5	0,5
Hỗn hợp vitamin	0,25	0,25

Bảng 15. Thành phần dinh dưỡng (theo tính toán) của chế độ ăn cho gà đẻ trứng được sử dụng trong thử nghiệm

Chất dinh dưỡng	Giá trị dinh dưỡng	
	Chế độ ăn bình thường	Chế độ ăn được xây dựng lại
ME Kcal/Kg	2590	2510
Protein thô %	16,1	16,1
Chất xơ thô %	5,06	6,16
Chiết phẩm ete %	2,20	2,03
Canxi %	3,07	3,00
Phospho khả dụng %	0,52	0,51

Trong thử nghiệm với gà trống thuộc dòng gà đẻ trứng này, 48 con gà được chia thành 4 nhóm, với 12 con gà mỗi nhóm. Các con gà ban đầu được cân và nhốt riêng trong các chuồng lưới với máng ăn và nước uống. Các khay thu chất bài tiết được đặt dưới mỗi chuồng để thu gom chất bài tiết. Trong 5 ngày đầu của thử nghiệm, các con gà được cho ăn thức ăn (thức ăn nghiền bình thường) *tùy thích* để thích nghi. Tiếp theo là khoảng thời gian 24 giờ cho nhịn đói để làm rỗng các thành phần ruột. Mỗi con gà sau đó được cho ăn 50g tăng ăn thử nghiệm tương ứng. Nước uống *tùy thích* được cung cấp trong suốt quá trình thử nghiệm. Chất bài tiết được thu gom riêng rẽ đối với các con gà riêng rẽ trong 36 giờ tiếp theo, sau đó làm khô trong 48 giờ ở 70 °C trong lò, cân và nghiền để qua mắt lưới cỡ 1mm. Năng lượng thô (GE) của chất bài tiết được thu gom và các mẫu thức ăn thử nghiệm được xác định bằng nhiệt lượng kế bình đoạn nhiệt Parr. AME được xác định bằng GE của chất bài tiết và thức ăn theo phương trình 1.

Phân tích thống kê. Các giá trị trung bình được tính toán cho mỗi nhóm thử nghiệm. Phép phân tích phương sai một chiều (ANOVA) được thực hiện bằng phần mềm STATGRAPHICS Plus 5.1 để nghiên cứu ý nghĩa giữa các nhóm khác nhau.

Kết quả:

Prototyp 3 được sử dụng với lượng 500g/tấn thức ăn cải thiện AME ở mức 80 kcal trên kg thức ăn ở gà trống thuộc dòng gà đẻ trứng, trong khi đó prototyp 4 được bổ sung với liều lượng 250g/tấn cải thiện AME ở mức 78 kcal/kg thức ăn. Cả hai nhóm xử lý thể hiện mức cải thiện AME tương đương mà đáng kể về mặt thống kê so với nhóm đối chứng âm ($p < 0,05$). Các cải thiện về AME quan sát được với các prototyp 3 và 4 phù hợp với AME của nhóm đối chứng dương. Tất cả các kết quả này được thể hiện trong Fig. 5.

Ví dụ 4 - FAE cải thiện năng lượng trao đổi biểu kiến của gà mái đẻ trứng

Vật liệu và phương pháp

Kemzyme® XPF là hỗn hợp chứa amylaza, các NSPaza và esteraza của axit ferulic (FAE) (Kemin Industries, Inc., Des Moines, Iowa).

Thử nghiệm chuyển hóa. Thử nghiệm được tiến hành trong trang trại R&D, Gummidipoondi, với gà trống thuộc dòng gà đẻ trứng 182 ngày tuổi (giống VBV 300). Chi tiết về các nhóm xử lý được đưa ra trong Bảng 16.

Bảng 16. Các nhóm xử lý được sử dụng trong thử nghiệm

Nhóm xử lý	Chế độ ăn	Enzym	Liều lượng (g/tấn thức ăn)
Đối chứng 1	*Chế độ ăn bình thường	-	-
Đối chứng 2	**Chế độ ăn được xây dựng lại (đối chứng âm)	-	-
Xử lý 1	**Chế độ ăn được xây dựng lại	Kemzyme® XPF	250

*Chế độ ăn bình thường: Chế độ ăn được xây dựng dựa trên nhu cầu dinh dưỡng của giống BV 300

**Chế độ ăn được xây dựng lại: Giá trị AME giảm 74 kcal/kg thức ăn và lượng chất xơ thô tăng 1% bằng cách giảm lượng ngô, bột thịt và xương (MBM) & bột đậu tương và tăng lượng cám gạo tách dầu (DORB), bột hướng dương & bột hạt cải dầu trong thức ăn

Thành phần thức ăn trong chế độ ăn của gà đẻ trứng được sử dụng trong thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 17 và thành phần dinh dưỡng được thể hiện trong Bảng 18.

Bảng 17. Thành phần thức ăn của chế độ ăn cho gà đẻ trứng

Các thành phần	Thành phần (g/kg)	
	Thức ăn bình thường	Thức ăn được chế biến lại
Ngô	300	250
Bột đậu tương 45%	97	86
Gạo tấm	264	278
DORB	110	136
Bột hướng dương	80	100
Bột hạt cải dầu	30	40
Canxit/LSP	17,75	20,6
Bột đá	30	30
MBM	20	8
Đicanxi photphat	4	4
Bột cá 40%	40	40
Muối	2	2
DL- Methionin	0,5	0,44
L- Lysin	0,5	0,75
Soda Bicarbonat	1	1
Khoáng vi lượng	1	1
Toxin	1	1
Cholin Clorua	0,5	0,5
Thuốc bổ gan	0,5	0,5
Hỗn hợp vitamin	0,25	0,25
Tổng	1000	1000

Bảng 18. Thành phần dinh dưỡng (lý thuyết) của chế độ ăn cho gà đẻ trứng

Chất dinh dưỡng	Giá trị dinh dưỡng	
	Chế độ ăn bình thường	Chế độ ăn được xây dựng lại
Năng lượng trao đổi (kcal/kg)	2598	2524
Protein thô %	16,5	16,5
Chất xơ thô %	6,4	7,3
Chất béo %	1,95	1,76
Canxi %	2,3	2,3
Phospho khả dụng %	0,35	0,35

Trong thử nghiệm này, 48 con gà được chia thành 4 nhóm, với 12 con gà mỗi nhóm. Các con gà ban đầu được cân và nhốt riêng trong các chuồng lưới với máng ăn và nước uống. Các khay thu chất bài tiết được đặt dưới mỗi chuồng để thu gom chất bài tiết. Trong 5 ngày đầu của thử nghiệm, các con gà được cho ăn thức ăn (thức ăn nghiền bình thường) *tùy thích* để thích nghi. Tiếp theo là khoảng thời gian 24 giờ cho nhịn đói để làm rỗng các thành phần ruột. Mỗi con gà sau đó được cho ăn 50g tăng ăn thử nghiệm tương ứng. Nước uống *tùy thích* được cung cấp trong suốt quá trình thử nghiệm. Chất bài tiết được thu gom riêng rẽ đối với các con gà riêng rẽ trong 36 giờ tiếp theo, sau đó làm khô trong 48 giờ ở 70 °C trong lò, cân và nghiền để qua mắt lưới cỡ 1mm. Năng lượng thô (GE) của chất bài tiết được thu gom và các mẫu thức ăn thử nghiệm được xác định bằng nhiệt lượng kế bình đoạn nhiệt (Parr, United States of America). AME được xác định bằng GE của chất bài tiết và thức ăn theo phương trình 1.

Phân tích thống kê. Các giá trị trung bình được tính toán cho mỗi nhóm thử nghiệm. Phép phân tích phương sai một chiều (ANOVA) được thực hiện bằng phần mềm STATGRAPHICS Plus 5.1 để nghiên cứu ý nghĩa giữa các nhóm khác nhau.

Kết quả:

Trong thử nghiệm này, giá trị AME của nhóm đối chứng dương là 2493 kcal/kg; trong khi đó, nhóm đối chứng âm được quan sát thấy là có AME 2380 kcal/kg, thấp hơn 113 kcal/kg so với AME của nhóm đối chứng dương. Sự giảm năng lượng trao đổi trong chế độ ăn đối chứng âm quan sát được là cao hơn so với giá trị lý thuyết (74 kcal/kg). Điều này có thể do sự thay đổi giá trị dinh dưỡng thực tế so với giá trị lý thuyết của nguyên liệu thô được sử dụng.

Kemzyme® XPF được sử dụng với lượng 250g/tấn thức ăn cải thiện AME đáng kể ($P < 0,01$) so với đối chứng âm và so sánh được với AME của đối chứng dương (Fig. 6). Kemzyme® XPF cải thiện AME với mức 77 kcal/kg thức ăn gà trống thuộc dòng gà đẻ trứng. Sự có mặt các liên kết ngang của axit ferulic (FA) trong thành tế bào, hạn chế khả năng phân hủy sinh học của chế độ ăn dựa trên ngũ cốc. FAE có khả năng thủy phân liên kết este giữa xylan polysacarit và ferulat hoặc diferulat có trong thành tế bào thực vật. FAE bằng cách tác dụng hiệp đồng với xylanaza, được cho là hỗ trợ các hydrolaza mạch chính trong việc phân hủy thành tế bào thực vật bằng cách bẻ gãy các liên kết ferulat.

Ví dụ 5 - FAE cải thiện hiệu suất của gà thịt

Vật liệu và phương pháp

Thiết kế thử nghiệm. Thử nghiệm được tiến hành ở Tropical Institute of Livestock Management and Animal Husbandry (TILMAH), Gurgaon. Thử nghiệm này bao gồm một nhóm đối chứng và hai nhóm xử lý khác nhau. Thiết kế thử nghiệm và lúc liều lượng của sản phẩm thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 19.

Bảng 19. Chi tiết về các nhóm thử nghiệm và liều lượng các mẫu thử nghiệm

Các nhóm	Sản phẩm	Nhà cung cấp	Liều lượng (g/tấn)
Đối chứng	-	-	-
^{\$} Xử lý 1	Kemzyme® XPF	Kemin Agrifoods India	250
^{\$} Xử lý 2	Kemzyme® XPF	Kemin Agrifoods India	500

^{\$} Tất cả các nhóm xử lý được cho ăn chế độ ăn được xây dựng lại với năng lượng trao đổi (ME) giảm 70 kcal/kg

Thử nghiệm ở trang trại này được tiến hành với gà thịt lai thương phẩm (chủng VenCobb 400) trong khoảng thời gian sáu tuần. Gà một ngày tuổi mua được từ trang trại nhân giống gà thịt Choice, Jind, Haryana, India. Tất cả các con gà đều thu được từ cùng đàn gà giống cho thử nghiệm. Sau đó chúng được chia thành 3 nhóm với 180 con gà mỗi nhóm. Mỗi nhóm được chia tiếp thành 9 lần lặp và mỗi lần lặp có 20 con gà. Các thử nghiệm được tiến hành trong in các ngăn kích thước 1,52m x 1,52m (5ft x5ft) (2,31 m² (1.25sq.ft) mỗi con gà). Thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn được chọn để tối thiểu hóa ảnh hưởng của môi trường và việc quản lý trên các nhóm khác nhau. Tất cả các gà thịt được nuôi trong các điều kiện quản lý tương tự nhau trong hệ thống ổ sâu (ổ mùn cưa) trong thời gian thử nghiệm. Mùn cưa được xử lý bằng cách trải vật liệu này dưới ánh mặt trời trong khoảng 4 ngày, sau đó bột tẩy rửa, bột vôi và Omnicide (chất diệt khuẩn) được rải và sử dụng để làm ổ.

Chế độ ăn thử nghiệm. Trong thử nghiệm này, giai đoạn sinh trưởng của gà thịt được chia thành ba pha: pha tiền khởi đầu (0-7 ngày), pha khởi đầu (8-21 ngày) và pha kết thúc (22-42 ngày) mà thường được thực hành trong các trang trại gà thịt thương mại ở Ấn Độ. Thức ăn được sản xuất tại Ami Chand Makhan Lal Feeds Pvt Ltd., Gurgaon. Thức ăn được chế biến dựa trên nhu cầu dinh dưỡng của gà thịt Vencobb 400. Tất cả các thành phần được nghiền bằng cách sử dụng máy nghiền búa và cho qua rây cỡ 3mm đối với các chế độ ăn tiền khởi đầu, khởi đầu và kết thúc. Tất cả các thành

phần theo công thức được trộn kỹ đến đồng nhất trong máy trộn 1 tấn. Thức ăn được chế biến lại bằng cách giảm dầu cám gạo, bánh tách dầu (De-Oiled Cake - DOC) của ngô & đậu tương và tăng lượng cám mịn trong chế phẩm với tỷ lệ khác nhau trong các pha khác nhau của thử nghiệm. Thức ăn xử lý được chế biến bằng cách trộn các hóa chất thử nghiệm tương ứng trong thức ăn được chế biến lại, dán nhãn và vận chuyển đến trang trại để thử nghiệm. Chi tiết về thức ăn và thành phần dinh dưỡng của các chế độ ăn thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 20 và Bảng 21.

Bảng 20. Thành phần thức ăn của các chế độ ăn trong thử nghiệm

	Thành phần (g/kg)					
	Chế độ ăn bình thường			Chế độ ăn được xây dựng lại		
Các thành phần	Tiền khởi đầu	Khởi đầu	Kết thúc	Tiền khởi đầu	Khởi đầu	Kết thúc
Ngô 10% M/W	534	544	623	528	559	598
DOC đậu tương 45%	321	263	200	317	260	194
Cám gạo mịn 12%	30	50	-	50	50	42
Bột đá vôi	11,847	10,132	3,777	11,198	9,632	3,251
Dicanxi Phosphat	4,985	0,113	-	5,112	0,068	-
DL-Methionin	2,798	2,52	2,232	2,793	2,512	2,229
L-lysin	3,43	2,504	2,526	3,464	2,563	2,563
DOC hạt cải dầu	20	20	30	20	20	30
Dầu cám gạo	22	39	50	13	27	39
Chuẩn MBM 45%	20	30	40	19	30	40
Bột cá 44%	20	30	40	20	30	40
L-threonin	0,565	0,312	0,504	0,566	0,318	0,507
Muối	2,025	1,769	1,511	2,017	1,757	1,5
Natri Bicarbonat	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
Cholin clorua 60%	1,5	1,3	1,1	1,5	1,3	1,1
Ultra TM	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Hỗn hợp vitamin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Baxitraxin Metylen Disalixylat (BMD)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Thuốc bổ gan	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Salinomycin 12%		0,5	0,5		0,5	0,5
CMP	1	-	-	1	-	-
Kemzyme PG 5000 (Phytase)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Chất hấp thụ độc tố	1	1	1	1	1	1
Tổng	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00

*Kemzyme XPF được bổ sung vào thức ăn với lượng 250 g/ tấn hoặc 500 g/tấn tùy thuộc vào các nhóm điều trị tương ứng

Bảng 21. Thành phần dinh dưỡng (lý thuyết) của chế độ ăn được sử dụng trong thử nghiệm

	Giá trị dinh dưỡng					
	Chế độ ăn bình thường			Chế độ được xây dựng lại		
Chất dinh dưỡng	Tiền khởi đầu	Khởi đầu	Kết thúc	Tiền khởi đầu	Khởi đầu	Kết thúc
Protein thô %	22,5	21	19,5	22,5	21	19,5
Năng lượng trao đổi (kcal/kg)	3000	3125	3250	2930	3055	3180
Canxi %	0,94	0,92	0,88	0,94	0,92	0,88
Độ khả dụng Phospho %	0,45	0,42	0,4	0,45	0,42	0,4
Chiết phẩm ete %	5,28	7,21	7,98	4,5	6,1	7,55

Quản lý trang trại. Tất cả các con gà thử nghiệm được cung cấp thức ăn tương ứng và nước tùy thích trong suốt giai đoạn thử nghiệm. Ánh sáng được cung cấp 24 giờ một ngày trong suốt giai đoạn thử nghiệm, bao gồm 12 giờ ánh sáng tự nhiên và 12 giờ ánh sáng đèn sợi đốt. Thử nghiệm được tiến hành trong mùa hè (tháng tư đến tháng năm) và nhiệt độ chuồng nuôi nằm trong khoảng 38-40 °C và độ ẩm tương đối nằm trong khoảng 70-75% trong suốt giai đoạn thử nghiệm.

Tất cả các con gà được cho dùng chữa các bệnh phổ biến trong khu vực theo phương pháp thực hành chuẩn: Tylosin - ngày thứ 2, 3, 4, 21 và 22 (trong nước uống); vacxin New Castle (chủng F) + IV - ngày thứ 5 (đường trong nhãn cầu); vacxin Georgia, bệnh Gumboro - ngày thứ 14 (đường trong nhãn cầu); và vacxin Lasota - ngày thứ 23 (trong nước uống).

Các thông số được xác định. Các thông số được xác định trong suốt thử nghiệm là khối lượng hơi hằng tuần, độ tăng khối lượng hằng tuần, mức độ tiêu thụ thức ăn hằng tuần, và tỷ lệ chuyển hóa thức ăn (feed conversion ratio - FCR).

Các thông số hiệu suất. Các con gà từ mỗi nhóm xử lý được cân riêng rẽ hằng tuần. Khối lượng trung bình của gà được tính toán có lặp lại mẫu và cuối cùng khối lượng trung bình của gà trong mỗi nhóm xử lý được tính toán. Độ tiêu thụ thức ăn được xác định hằng tuần trong mỗi mẫu lặp và cuối cùng độ tiêu thụ thức ăn trung bình trong mỗi nhóm xử lý được tính toán. Tỷ lệ tiêu thụ thức ăn được tính toán bằng độ tăng trọng gà trung bình và độ tiêu thụ thức ăn của nhóm tương ứng (độ tiêu thụ thực ăn/độ tăng trọng).

Phân tích thống kê. Các giá trị trung bình được tính toán cho mỗi nhóm thử nghiệm. Phép phân tích phương sai một chiều (ANOVA) được thực hiện bằng phần mềm STATGRAPHICS Plus 5.1 để nghiên cứu ý nghĩa giữa các nhóm khác nhau. Dữ liệu được phân tích bằng phương pháp khác biệt tối thiểu có nghĩa (Least Significant Difference - LSD) và các khác biệt với $P < 0,05$ được coi là có nghĩa.

Kết quả:

Các hạt ngũ cốc là nguồn năng lượng quan trọng trong chế độ ăn cho gia cầm và giàu NSP. Có các nhóm đại phân tử phức tạp và khác nhau, chứa nhiều polysacarit làm khối kết cấu. Gia cầm không có các enzym để bẻ gãy các NSP này, điều này hạn chế khả năng phân giải thức ăn động vật. Do đó, việc bổ sung từ các enzym phân hủy NSP từ bên ngoài là cần thiết để cải thiện khả năng phân giải NSP.

Trong thử nghiệm này, chế độ ăn cho gà thịt thông thường được xây dựng với ngô, dầu cám gạo, DOC hạt cải dầu và cám gạo mịn làm nguồn ME, và bột đậu tương làm nguồn protein chính. Trong chế độ ăn được xây dựng lại này, giá trị AME bị giảm 70kcal/kg thức ăn do giảm lượng dầu cám gạo & ngô và tăng lượng cám gạo mịn trong thức ăn. Trong thử nghiệm trước của các tác giả sáng chế, đã báo cáo rằng Kemzyme® XPF cải thiện AME của chế độ ăn cho gia cầm ở mức 70-80 Kcal/kg. Sản phẩm này được phát hiện là cải thiện đáng kể AME của chế độ ăn cho gà đẻ ($P < 0,05$) so với nhóm đối chứng âm.

Trong thử nghiệm này, việc bổ sung Kemzyme XPF với lượng 250g/tấn và 500g/tấn thể hiện đáp ứng liều lên khối lượng cơ thể và FCR của gà ở 42 ngày tuổi. Cũng lưu ý rằng, các nhóm được xử lý bằng Kemzyme XPF có ME giảm 70 Kcal/kg so với nhóm đối chứng. Nhóm bổ sung Kemzyme XPF vào chế độ ăn được xây dựng lại với năng lượng giảm thể hiện khối lượng cơ thể cao hơn so với đối chứng. Nhóm bổ sung Kemzyme XPF với lượng 500 g/t có khối lượng cơ thể cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng. Việc bổ sung Kemzyme XPF làm giảm FCR của gà, so với đối chứng ở 42 ngày tuổi. Các nhóm có bổ sung Kemzyme XPF với lượng 250 g/tấn và 500 g/tấn làm giảm FCR lần lượt là 7 điểm và 13 điểm, so với nhóm đối chứng. Kết quả của thử nghiệm này chứng tỏ rằng, việc bổ sung FAE cùng với các enzym phân hủy mạch chính cải thiện hiệu suất của gà thịt.

Phần mô tả trên đây và các hình vẽ bao gồm các phương án minh họa của sáng chế. Các phương án trên đây và các phương pháp được mô tả trong bản mô tả có thể

thay đổi dựa trên khả năng, kinh nghiệm, và ưu tiên của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này. Việc đơn thuần liệt kê các bước của phương pháp theo trật tự nhất định không tạo ra giới hạn về trật tự các bước trong phương pháp này. Phần mô tả trên đây và các hình vẽ chỉ nhằm giải thích và minh họa sáng chế, và sáng chế không chỉ giới hạn ở đó, không kể mức độ mà các yêu cầu bảo hộ bị giới hạn. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này với bản mô tả sẽ có thể tạo ra các cải biến và thay đổi trong đó mà không vượt ra khỏi phạm vi của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp cải thiện năng lượng trao đổi biểu kiến từ chế độ ăn và hiệu suất của động vật, bao gồm bước bổ sung từ 20 U/kg đến 200 U/kg esteraza của axit ferulic được tạo ra từ vi khuẩn vào chế độ ăn của động vật có một dạ dày được bổ sung các enzym phân hủy mạch chính, trong đó các enzym phân hủy mạch chính này là xenlulaza, xylanaza, glucanaza và amylaza, và còn với điều kiện là các enzym phân hủy mạch chính này cần để trích xuất lượng năng lượng trao đổi biểu kiến nhất định từ chế độ ăn ở động vật được giảm đi từ 20% đến 80%.
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó động vật có một dạ dày được chọn từ nhóm gồm gia cầm và lợn.
3. Phương pháp làm giảm khoảng 20% đến 80% các enzym phân hủy mạch chính cần thiết để trích xuất lượng năng lượng trao đổi biểu kiến nhất định từ chế độ ăn ở động vật, trong đó các enzym phân hủy mạch chính này là xenlulaza, xylanaza, glucanaza và amylaza, phương pháp này bao gồm bước bổ sung từ 20 U/kg đến 200 U/kg esteraza của axit ferulic được tạo ra từ vi khuẩn vào chế độ ăn của động vật có một dạ dày.

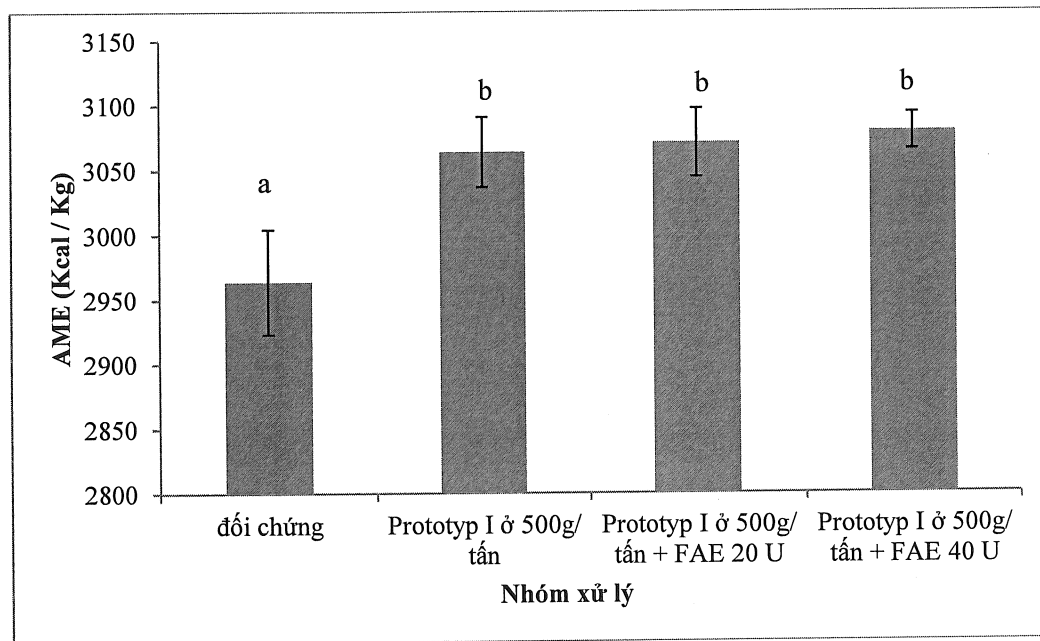


Fig. 1

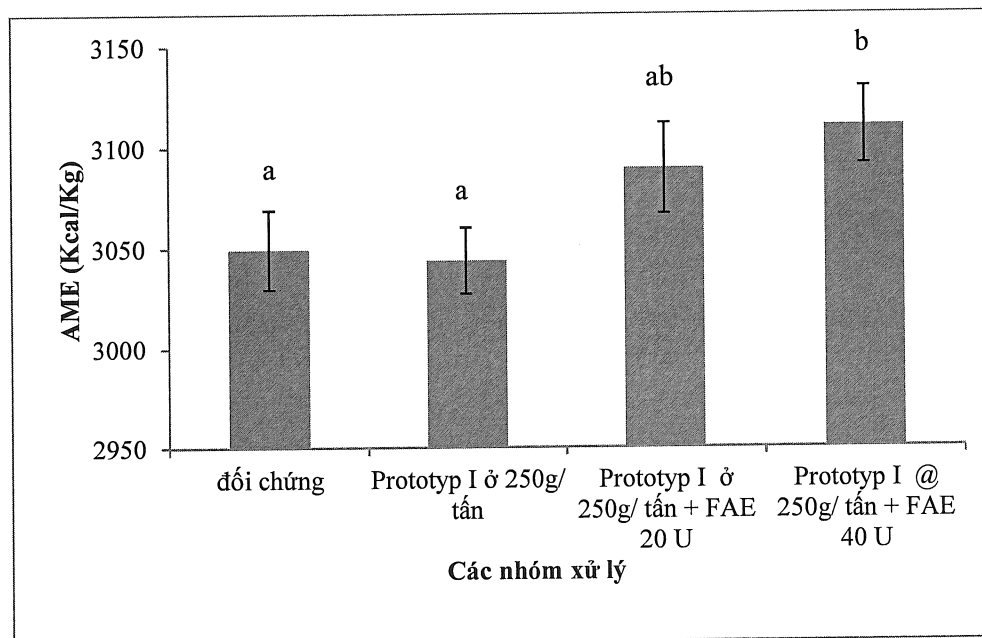


Fig. 2

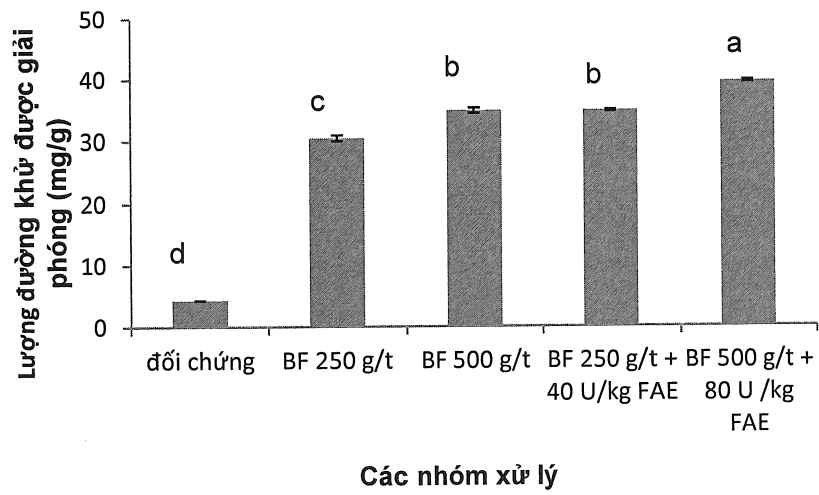


Fig. 3

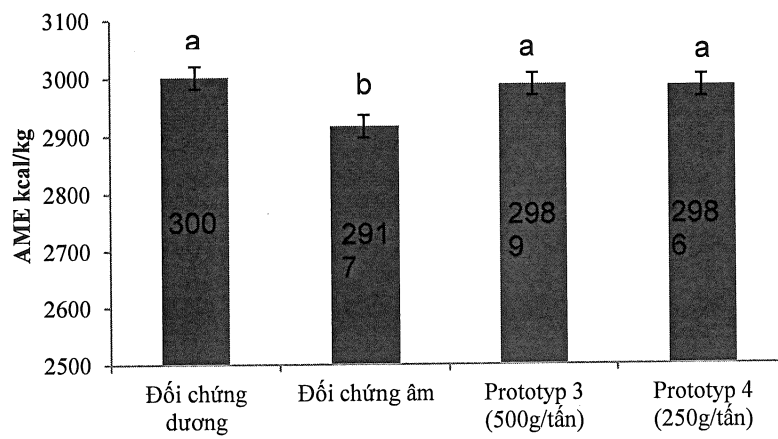


Fig. 4

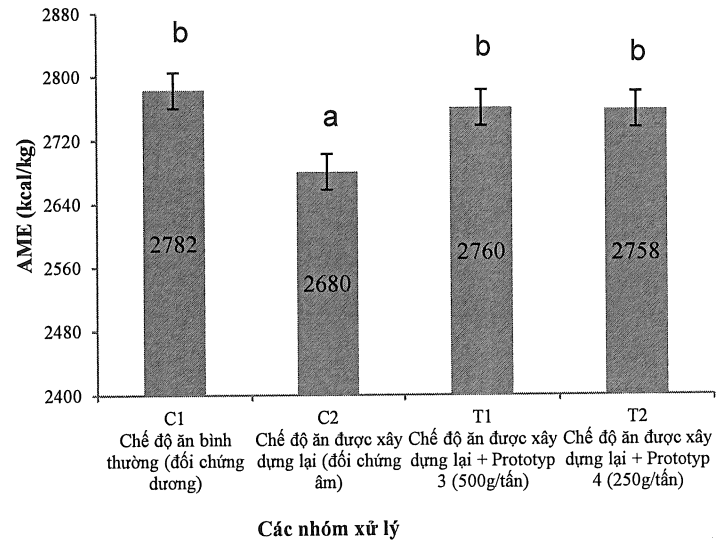


Fig. 5

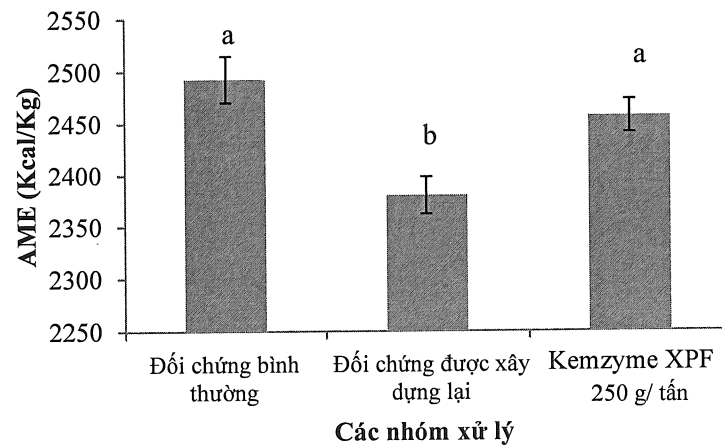


Fig. 6

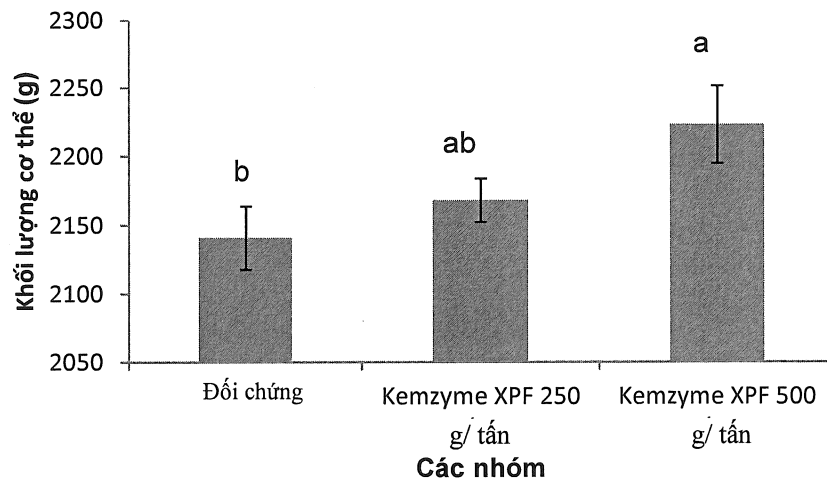


Fig. 7

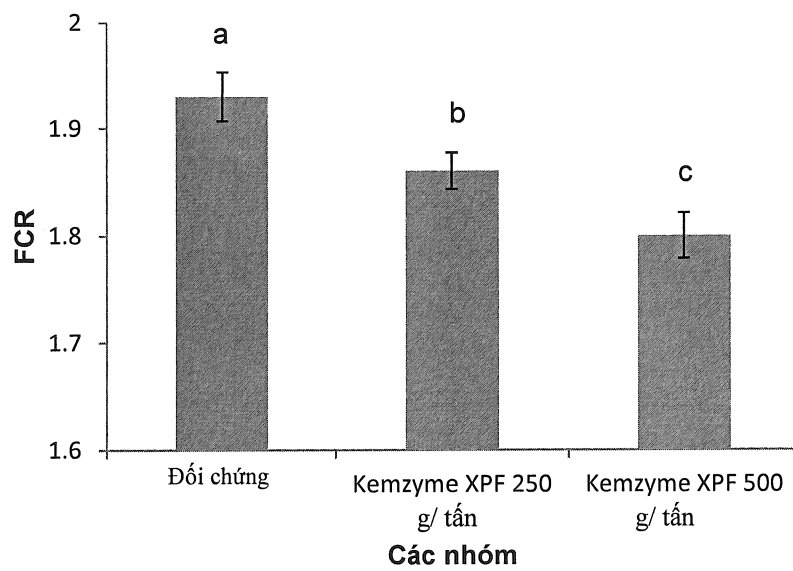


Fig. 8