

NORGE



STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

Utlegnings-skrift nr. 121528

Int. Cl. A 23 k 1/16 Kl. 53g-4/04

Patentsøknad nr. 1465/68 Inngitt 18.IV 1968
Løpedag -
Søknaden alment tilgjengelig fra 20.X 1969
Søknaden utlagt og utlegningsskrift utgitt 8.III 1971
Prioritet begjært fra: -

John Labatt Limited,
150 Simcoe Street, London, Ontario, Canada.

Oppfinnere: Ian Ramsay Sibbald, 587 Chiddington Place,
Thomas Crossley Loughheed, 67 Garden Wood
Drive og John Herbert Linton, 182 Elworthy Avenue,
alle London, Ontario, Canada.

Fullmektig: Siv.ing. Erling Quande.

Fórtílsetning med forsinket frigjørelse for drøvtyggere.

Foreliggende oppfinnelse angår innkapslede biologisk aktive materialer for fóring til drøvtyggere.

Det er alminnelig fastslått at meget betraktelige økninger i dyrefóringseffektiviteter kan oppnåes ved anvendelse av visse fórtílsetninger. Dette har spesielt vært tilfelle ved fóring av enmavede dyr hvor det nu er vanlig praksis å supplementere dieten med slike materialer som aminosyrer. Anvendelsen av aminosyrer i dyrefór er beskrevet i kanadisk patent nr. 429.111, mens kanadisk patent nr. 561.699 beskriver anvendelsen av aminosyren methionin. I norsk patentansøkning nr. 165.967 beskrives anvendelse av fórstoff for drøvtyggere hvor fórstoffet har et overtrekk av et aminopolyamid-harpiks, mens U.S. patent nr. 3.295.984 viser at triglycerider og vokser kan benyttes for å forsinke frigjørelse av urea. Aminosyrene

representerer en spesielt nyttig gruppe av tilsetninger, da de er enhetene av hvilke proteinmolekyler er oppbygget. Skjønt mange biologisk aktive materialer anvendes som drøvtyggerfórtilsetninger, er man oppmerksom på at mange av disse fórtilsetninger, f.eks. aminosyrer og vitamin A, kan utnyttes ineffektivt på grunn av nedbygning av dem i vommen.

Under praktiske forhold inneholder fóret som inntaes av drøvtyggere, en rekke nitrogenforbindelser. Fóret, blandet med spytt, går inn i vommen som hovedsakelig er en kontinuerlig fermenteringsbeholder. Noe av fóret som kommer inn i vommen, kan senere bli oppstøtt og drøvtygget for å redusere partikkelstørrelsen. I vommen angriper en microflora fóret og reduserer noen av nitrogenforbindelsene til ammoniakk. En del av ammoniakken passerer gjennom vomveggen inn i portåreblodet som fører den til leveren. I leveren omdannes noe av ammoniakken til urea, hvorav noe igjen føres inn i vommen via spyttet. Meget av den gjenværende urea utskilles i urinen. Vommicrofloraen utnytter vomammoniakk og andre nitrogenforbindelser til å syntetisere mikrobielle celleproteiner. En strøm av nedsvelget materiale, rikt på mikrobielle celler, føres ut av vommen inn i blad-maven hvis funksjon kan sammenlignes med den hos en presse. Meget av væsken går tilbake til vommen, mens resten av materialet går inn i løpemaven eller den egentlige mave. Nitrogenfordøyelse og absorpsjon foregår så på lignende måte som hos enmavede. Enzymer utskilt i tarmåpningen fordøyer mange av de nitrogenholdige forbindelser innbefattende noe av dem som inneholdes i de mikrobielle celler. Fordøyelsesproduktene utskilles enten som faeces eller absorberes. De absorberte nitrogenholdige forbindelser kan blant annet anvendes for å reparere utslitt vev, og bygge opp nytt vev eller å gi energi. Overskudd av absorbert nitrogen utskilles via urinen eller spyttet. I tillegg til det foregående blir noe av cellene som fórer fordøyelseskanalen løsnet fra under passeringen av det inntatte. De nitrogenholdige bestanddeler av cellene fra fordøyelseskanalen kan omdannes på lignende måte til de mikrobielle celler.

Vommen har den store fordel at den er istand til ved mikrobiell virkning å omdanne mange fórbestanddeler som ikke har noen direkte næringsverdi for dyret til produkter som kan assimileres og utnyttes av dyret. Eksempelvis kan urea omdannes til mikrobielt protein som så kan fordøyas og utnyttes av vertsdyret, og cellulose kan omdannes til en blanding av flyktige fettsyrer som kan tjene som kilde til energi hos verten.

Denne mikrobielle virkning byr også på visse ulemper. Eksempelvis kan oppløselige proteiner av høy næringsverdi bli deaminert i vommen og delvis bli gjensyntetisert til mikrobielt protein av lavere næringsverdi. Aminosyrer, enhetene fra hvilke proteinmolekyler er oppbygget, er også utsatt for kjemisk forandring av vom-mikroorganismene som man har funnet overfører aminosyrer til carbon-dioxyd, flyktige fettsyrer og ammoniakk.

Det har også vist seg at spektret av aminosyrer som er tilgjengelig for absorpsjon av drøvtyggere, er ubalansert med hensyn til behovene for maksimal effektivitet og produktivitet. Under visse betingelser er det blitt påvist at methionin og lysin var de mest begrensende aminosyrer i voksende okser. Direkte infusjon av methionin- og/eller lysinoppløsninger i løpemaven på voksende okser frembrakte tydelige forbedringer i vektøkning, føreffektivitet og nitrogenretensjon.

Infusjon av en aminosyre i løpemaven hos en okse var også tilbøyelig til å føre til en økning i mengden av denne aminosyre i blodplasmaet.

Meget bemerkelsesverdige økninger i føringseffektiviteter kan således oppnåes hos drøvtyggere hvis ytterligere aminosyrer kan gjøres tilgjengelige for absorpsjon av dyret. På grunn av den mikrobielle virkning i vommen har imidlertid aminosyretilsetninger til drøvtyggerfôr sjelden vist seg å ha gunstige virkninger.

I henhold til foreliggende oppfinnelse har det vist seg at biologisk aktive materialer, som aminosyrer, kan føres gjennom vommen slik at de utøver sin biologiske virkning efter bladmaven hvis materialene mates i form av partikler, f.eks. kapsler, hagl, granuler eller lignende, hvori de aktive materialer er helt innkapslet i en kontinuerlig film av beskyttende materiale som er i det vesentlige immunt overfor nedbygning i vommen, men som frigjør de aktive materialer efter bladmaven. Partiklene, som er særpreget ved at de har en tetthet mellom 0,8 og 2,0 g/ml og en partikkelstørrelse mellom 200 og 2000 micron, kan således passere gjennom vommen stort sett uforandret til et sted efter bladmaven hvor det biologisk aktive materiale gjøres tilgjengelig for utnyttelse av dyret. Disse partikler vil i det efterfølgende bli betegnet som "kapsler".

Noen aktive materialer, som aminosyrer, kan absorberes fra fordøyelseskanalen og utnyttes inne i selve legemet hos vertsdyret, mens andre aktive materialer kan vise sin aktivitet i hulrommet i

tarmen.

Kapslene kan fremstilles ved en lang rekke kjente innkapslingsmetoder, f.eks. sveveskiktsmetoder, sentrifugalekstruderingsinnkapslingsanordninger, hagldannelse, etc., og et hvilket som helst beskyttende materiale kan anvendes som ikke vil frigjøre det aktive materiale i vomvæsken, men vil frigjøre det aktive materiale etter bladmaven og tåles av dyret. Kapslene kan således formes med et kontinuerlig ytre skall av beskyttende materiale eller de kan formes uten et bestemt ytre skall hvis det aktive materiale innkapsles i lommer i en matrix av beskyttende materiale. Det er imidlertid viktig at det aktive materiale er fullstendig omgitt av beskyttende materiale, da kapslene må være istand til å utstå lange perioder i vommen uten at store mengder av aktivt materiale utlutes av kapslene av vomvæsken.

Tettheten av kapslene må være tilstrekkelig til å sikre at de ikke forblir flytende på overflaten av vominnholdet i en for lang tid, og samtidig må tettheten ikke være så stor at kapslene faller til bunnen av vommen og forblir der i ubestemt tid. Kapslene har i alminnelighet en tetthet på ca. 0,8 - 2,0, og fortrinnsvis ca. 1,0 - 1,4. Kapseltettheten kan bekvemt reguleres ved å variere bestanddelene som danner kjernen av kapselen, f.eks. ved tilsetning av kaolin.

Det beskyttende materiale må være i det vesentlige uoppløselig og ugjennomtrengelig i vommen og må også ha et smeltepunkt som er høyere enn temperaturen av vomvæsken. Videre må det være i det vesentlige ikke-nedbrytbart av vom-mikroorganismene i den tid det oppholder seg i vommen.

Da det aktive materiale i kapslene bør frigjøres etter bladmaven, f.eks. i løpemaven eller begynnelsen av tynntarmen, kan det beskyttende materiale være et materiale som blir permeabelt eller oppløses i løpemaven, duodenum eller jejunum. Det beskyttende materiale kan modifiseres ved den lave pH av løpemaven eller kan ødelegges av gallesyresalter eller av enzymer eller en kombinasjon av disse faktorer. Blant tilfredsstillende beskyttende materialer kan nevnes triglycerider, som hydrogenerte vegetabiliske eller animalske fett, og, som risklivoks, og harpiksvoksblandinger som kan emulgeres eller brytes opp av gallesyresalter og/eller oppløses av lipaser i fordøyelseskanalen.

Kapslene kan bekvemt mates til dyrene som en del av et fór-

konsentrat eller sammen med mineral, som salt. Å gi kapslene blandet med mineral har den viktige fordel å tillate fóring av regulerte mengder av kapsler til gressende dyr beregnet på deres inntagelse av mineral.

Av de mange aminosyrer som er kjent, finnes ca. 22 i dyrevev. En response på en tilleggsaminosyre vil bare fåes hvis angjeldende syre er den mest mangelfulle i forhold til andre syremangler, forutsatt at det ikke er en alminnelig mangel på uspesifisert aminonitrogen. En mangel på visse aminosyrer kan begrense veksten og/eller produktiviteten av dyret, og en akutt mangel kan i virkeligheten føre til døden.

En sammenligning av beregnet aminosyrebehovdata med iaktatte verdier av frie aminosyrer i blodplasmaet hos en voksende okse er vist i tabell I nedenfor, hvor vektmengder er angitt som deler pr. million.

Tabell I

Aminosyre	Behov (A)	Blodplasma		(C) som % av (A)	Begrens- nings- rekke- følge
		<u>d.p.m.</u> (B)	<u>forhold</u> (C)		
Lysin	1,00	15,1	1,00	100	2
Arginin	0,60	16,6	1,10	183	9
Histidin	0,33	11,0	0,73	221	11
Threonin	0,60	9,3	0,62	103	3
Methionin	0,45	6,0	0,33	73	1
Cystin	0,25	6,4	0,42	168	6
Valin	0,80	30,2	2,00	250	12
Leucin	0,90	17,2	1,14	127	5
Isoleucin	0,60	15,8	1,05	175	8
Fenylalanin	0,70	11,5	0,76	108	4
Tyrosin	0,35	9,2	0,61	174	7
Tryptofan	0,20	6,7	0,44	220	10

Av ovenstående data vil det sees at methionin viste seg å være først begrensende fulgt av lysin og threonin. På basis av disse opplysninger ble det satt opp et forsøksprogram for å studere virkningen av både løpemaveinfusjon og oral administrasjon av methionin og lysin i voksende okser.

Skjønt ovenstående data gjelder voksende okser, vil det inn-

sees at tilsvarende data kan beregnes for andre drøvtyggere under forskjellige betingelser, f.eks. for melkekuer, sauer, etc.

Oppfinnelsen vil nu bli belyst av noen eksempler.

Eksempel 1

Hensikten med dette forsøk var å studere virkningen av løpemaveinfusjoner av methionin og/eller lysin på voksende okser som ble tilbudt en høy:konsentratdiæt i en mengde efter valg.

En gruppe på 8 oksekalver av Holsteintypen ble avvennet til en diæt av grovt høy, og da de var ca. 13 uker gamle, ble hvert dyr forsynt med en løpemave-kanyle konstruert og fremstilt av Dr. G. D. Phillips ved the University of Manitoba. To uker senere ble kalvene kastret og avhornet.

Forsøket var efter et tilfeldig blokkskjema med to grupper og 4 behandlinger. De siste, som ble ordnet som et 2 x 2 fakultet, innbefattet løpemaveinfusjon av oppløsninger av lysin og/eller methionin.

Oksene ble anbrakt i individuelle stoffskiftekasser og ble tilbudt så mye høy som de kunne spise. Deres diæt innbefattet også et førkonsentrat som ble delt i to måltider pr. dag og svarte til 20% av høyinntagelsen på den forutgående dag. Gjenværende fór ble fjernet en gang pr. dag, veiet og prøvetatt.

Urin ble oppsamlet på en daglig basis i plastkanner (jerry-cans) til hvilke ble tilsatt 500 ml 4%-ig borsyreoppløsning. Urinen ble fortynnet med burvaskinger og ledningsvann til et volum på 8 liter, blandet omhyggelig og derpå prøvetatt.

En faeces-sele og oppsamlingspose ble forbundet til hvert dyr, og oppsamlingsposene ble skiftet 3 ganger daglig. Vekten av faeces uttømt ble notert og en representativ prøve beholdt.

Tørrstoffinnholdet av høyet, høyresten og faeces-prøvene ble bestemt ved metoden i henhold til A.O.A.C. A.O.A.C. mikro-Kjeldahl-metoden ble anvendt for å bestemme nitrogeninnholdet av høy, høyrester, faeces, urin og forsøksoppløsninger.

Fire løpemaveinfusjonsforsøksoppløsninger ble fremstilt med følgende sammensetning:

1. 1,5% benzylalkohol
2. 2,5% L-lysin-HCl + 1,5% benzylalkohol
3. 2,0% DL-methionin + 1,5% benzylalkohol
4. 2,5% L-lysin-HCl + 2,0% DL-methionin + 1,5% benzylalkohol

Oppløsningene ble infusert ved hjelp av en Harvardpumpe i en mengde på 750 ml pr. hode pr. dag på en kontinuerlig basis, beregnet på å tilføre 15 g lysin og/eller methionin, og forsøket ble fortsatt i 14 dager.

Efter avslutningen av infusjonsdelen av forsøket ble en prøve venøst blod tatt fra en halsåre på hvert dyr. Det sitrerte blod ble sentrifugert, og prøver av plasmaet ble deproteinisert. Plasmaet ble så analysert på frie aminosyrer under anvendelse av en Technicon Autoanalyzer.

Vektforandring, fórinntagelse, fóreffektivitet og nitrogenretensjonsdata for ovenstående forsøk er angitt i tabell II.

T a b e l l II

Vektforandring, fórinntagelse og nitrogenretensjonsdata

Behand- ling	Gruppe	Gjennomsnitt		Vekt- for- andr. kg	Fórinntagelse		Fóreffektivitet		Vekt- Totale		Nitro- gen beholdt g	Samlet nitro- gen be- holdt %
		legemsvekt ¹	Slutt kg		Høy	Fórtil- setning	Høy	Kon- sen- trat	for- andr. som % av kon- troll	fóref- ektiv- itet som % av kon- troll		
Kon- troll	A	179,94	189,44	9,50	61,915	12,317	6,52	1,30	100	100	160,94	13,31
	B	181,19	188,94	7,75	57,675	11,487	7,44	1,48	100	100	69,83	6,22
	Gj.sn.	180,56	189,19	8,62	59,795	11,902	6,93	1,38	100	100	115,16	9,89
Lysin	A	173,88	183,56	9,68	55,525	11,105	5,74	1,15	102	88	89,08	7,94
	B	172,69	181,75	9,06	58,605	11,527	6,47	1,27	117	87	177,74	15,06
	Gj.sn.	173,28	182,66	9,37	57,065	11,316	6,09	1,21	109	88	133,41	11,58
Methio- nin	A	158,19	169,75	11,56	46,480	9,419	4,02	0,81	122	62	108,77	11,72
	B	178,69	189,75	11,06	63,535	11,494	5,74	1,04	143	76	210,89	17,09
	Gj.sn.	168,44	179,75	11,31	55,008	10,456	4,86	0,92	131	70	159,83	14,78
Methio- nin + lysin	A	179,94	190,88	10,94	64,550	12,832	5,90	1,17	115	90	222,16	16,80
	B	170,31	180,25	9,94	56,745	11,399	5,71	1,15	128	77	160,86	13,75
	Gj.sn.	175,12	185,56	10,44	60,648	12,116	5,81	1,16	121	84	191,51	15,36

¹ Hver verdi basert på 4 på hverandre følgende daglige veiinger.

Av tabell II vil det sees at de aminosyreinfuserte okser stadig øket mere i vekt enn sine kontroller idet dyrene som fikk methionin hadde de største økninger. Data for føreffektiviteten var parallelle med vektøkingsdata. Det vil således sees at meget betraktelige økninger i føreffektivitet og vektøkning kan fåes hvis ytterligere aminosyrer kan gjøres tilgjengelig efter bladmaven hos voksende okser.

Gjennomsnittsverdier for noen av de frie aminosyrer i blodplasma-prøvene tatt av okser ved slutten av forsøket er gitt i tabell III.

Tabell III

	Kontroll dpm	Lysin dpm	Methionin dpm	Lysin + methionin dpm
Lysin	15,1	33,8	15,0	27,3
Methionin	5,0	5,1	114,2	96,0
Cystin	6,4	7,0	8,0	6,2

Det er åpenbart av ovenstående data at infusjonen av lysin, enten alene eller i nærvær av methionin, hever innholdet av fri lysin i plasmaet med ca. 100%. Methionininfusjonene hevet det frie methioninninnhold med ca. 2000%. Mengden av fri cystin ble imidlertid ikke forandret. Disse data antyder at forandringen i innholdet av de frie aminosyrer i blodplasmaet kan anvendes som en biobestemmelse for å undersøke oralt administrerte aminosyrepreparater.

Eksempel 2

DL-methionin, kaolin og stearinsyre ble overført til en suspensjon som ble innkapslet i et hydrogenert vegetabilsk fett ("Setsquick") under anvendelse av en sentrifugalekstruderingsanordning fra Southwest Research Institute, San Antonio, Texas. Det erholdte materiale besto i det vesentlige av stort sett sfæriske partikler med et størrelsesområde fra 1000 til 1200 micron og en tetthet på 1,1 til 1,2 g/ml. Sammensetningen av det ferdige produkt var:

DL-methionin	39,1%
Kaolin	14,7%
Stearinsyre	44,0%
"Setsquick"	2,2%

Eksempel 3

6 sunne voksende okser av Holstein-typen som fikk en høy:fórtilsetningsdiæt i form av to mål pr. dag, ble delt i tre par. Det første par dyr tjente som negativ kontroll og fikk intet tillegg. Det annet par okser var den positive kontroll. Under forsøksperioden fikk hvert av de positive kontrolldyr 5 g DL-methionin til hvert mål. Det tredje par dyr fikk 5 g DL-methionin i form av det materiale som er beskrevet i eksempel 2, til hvert mål under forsøket. Kapslene ble administrert i vann direkte i spiserøret ved hjelp av en slange. Prøver av blodplasma ble tatt av hvert dyr like før begynnelsen av forsøket (dag 0) og straks etter fóringprøven den 4. dag (dag 4). Det deproteiniserte blodplasma ble analysert på methionin og valin. Resultatene av forsøket er angitt i tabell IV.

Tabell IV

Dag	Methionin		Valin		Methionin:Valinforh.	
	0	4	0	4	0	4
Behandling Gruppe						
Negativ kontroll a	3,0	3,0	25,7	24,9	0,117	0,120
b	3,3	3,2	27,9	24,6	0,118	0,130
Gj.sn.	3,15	3,10	26,80	24,75	0,118	0,125
Positiv kontroll a	3,4	2,1	24,5	22,4	0,139	0,094
b	4,0	3,1	31,0	26,4	0,129	0,117
Gj.sn.	3,70	2,60	27,75	24,40	0,133	0,106
Eksempel 2 a	3,0	8,1	26,4	21,0	0,114	0,386
b	2,6	6,3	25,5	22,6	0,102	0,279
Gj.sn.	2,80	7,20	25,95	21,80	0,107	0,330

Data i tabell IV viser at methionin alene hadde liten virkning på det frie methionininnhold av blodplasmaet mens methionin som beskrevet i eksempel 2, bevirket en stigning i plasmamethionininnholdet. Dette viser at det modifiserte innkapslede methionin var tilgjengelig for absorpsjon. Da mengden av methionin som er istand til å bevege seg gjennom vomveggen er meget liten, må det antas at det innkapslede methionin ble absorbert fra fordøyelseskanalen lengst fra vommen. Methionin:valinforholdene er et mere følsomt mål på methioninabsorpsjonen og bekrefter at det innkapslede methionin ble utnyttet av verten mens det frie methionin ikke ble det.

En stigning i dette forhold viser at methionin administrert i

konsentratet er blitt absorbert i blodstrømmen. M/V-forholdet er mere følsomt enn forandringen i plasmamethionininnhold, da absorbert methionin kan anvendes meget hurtig hvis det er den første begrensende aminosyre. Under slike betingelser kan den iaktatte forandring i det absolutte methionininnhold være meget liten, men ved å anvende det absorberte methionin er det sannsynlig at endel av det frie valin, som vanligvis er tilstede i overskudd, også vil bli utnyttet. Absorpsjon av methionin kan følgelig føre til senkning av valininnholdene og ingen forandringer i methionininnholdene.

En annen grunn for å anvende M/V-forholdet er at det er tilbøyelig til å eliminere meget av den variasjon som bevirkes av faktorer som en forandring i blodvolum. Det har ofte vært iaktatt at plasmamethionininnholdene hos kontrolldyr kan oppvise markerte variasjoner under en bestemmelse mens deres M/V-forhold viser liten eller ingen variasjon.

Eksempel 4

Innkapslingsmetoden i eksempel 2 ble gjentatt for å fremstille kapsler med følgende sammensetning:

DL-methionin (%)	36,4
Stearinsyre (%)	39,5
Kaolin (%)	13,7
Hydrogenert vegetabilsk fett (%)	10,4

Det hydrogenerte vegetabilske fett ("Setsquick") dannet skallet eller det ytre belegg på kapslene og de øvrige bestanddeler dannet kjernen. Kapslene hadde partikkelstørrelse på under 1190 micron og en tetthet på 1,13 g/ml.

Eksempel 5

Et forsøk ble utført for å måle responsene av okser som ble sluttført, på fórtilsetninger av innkapslet methionin fremstilt ifølge eksempel 4.

Forsøkene innbefattet tre innhegninger hver på 8 Hereford-okser. Dyrene ble fordelt tilfeldig på innhegningene med påfølgende omgruppering for å sikre like gjennomsnittsvekter i hver innhegning. Forsøket varte i 10 uker i løpet av hvilken tid fórrinntagelsen pr. innhegning og individuelle dyrevvekter ble notert med 7 dagers mellomrom. Ved slutten av forsøket ble dyrene slaktet og skrottene bedømt. Tverrsnittstracinger av nyrestekene ble gjort da skrottene ble delt opp.

121528

12

Oksene ble føret med høy og en fórtilsetning idet høyet til å begynne med ble matet etter dyrenes ønske, men etter som inntagelsen av fórkonsentratet øket, ble høyinntagelsen begrenset. I løpet av de første 8 uker var sammensetningen av fórtilsetningsporsjonen av dieten:

Valset bygg	47,79%
Valset havre	50,33%
Mineral	1,88%

Ved utløpet av 8 uker ble sammensetningen av fórtilsetningen forandret til:

Valset bygg	74,1%
Valset havre	24,7%
Mineral	1,2%

Methioninkapslene ble forblandet med endel av fórtilsetningen og gitt to ganger daglig i mengder på 7,2 og 14,4 g pr. hode pr. dag. Resultatene av dette forsøk er angitt i tabell V nedenfor:

T a b e l l v

Methioninkapsler(g/hd/dag) O				7,2	14,4				
Uke	Gj.sn. daglig økn. pr. okse (kg)	Fórtíl- setnings- effektiv- itet	Høy- eff- ektiv- itet	Gj.sn. daglig økn. pr. okse (kg)	Fórtíl- setnings- effektiv- itet	Høy- eff- ektiv- itet	Gj.sn. daglig økn. pr. okse (kg)	Fórtíl- setnings- effektiv- itet	Høy- eff- ektiv- itet
1	1,16	2,74	4,85	1,58	2,01	3,43	1,30	2,45	4,04
2	1,22	3,13	4,31	1,39	2,73	3,78	1,59	2,42	3,11
3	1,24	3,43	3,92	1,41	3,04	3,54	1,45	2,94	3,10
4	1,27	3,71	3,56	1,37	3,44	3,47	1,37	3,45	3,16
5	1,17	4,28	3,58	1,34	3,74	3,39	1,37	3,64	2,99
6	1,12	4,40	3,79	1,27	4,06	3,54	1,22	4,03	3,23
7	0,92	5,30	4,44	1,12	4,57	3,97	1,10	4,52	3,59
8	1,03	4,82	3,96	1,26	4,12	3,54	1,12	4,46	3,45
9	1,14	4,40	3,58	1,27	4,12	3,52	1,19	4,26	3,26
10	1,12	4,62	3,68	1,31	4,08	3,39	1,18	4,40	3,30

13

Ovenstående data er kumulative over 10-ukers perioden

121528

I ovenstående tabell er fórtílsetningseffektiviteten beregnet ved å dividere vekten av inntatt fórtílsetning pr. innhegning med vektøkningen av dyrene i denne, mens høyeffektiviteten er beregnet ved å dividere vekten av det inntatte høy pr. innhegning med vektøkningen av dyrene deri. Av denne tabell vil det sees at oksene som fikk innkapslet methionin vokste hurtigere enn kontrolldyrene gjorde. De inntok også mindre fórtílsetning pr. kg økning og deres høyinntagelse pr. pund økning var også lavere enn for kontrolldyrene.

Data erholdt fra skrottene av dyrene efter slakting er angitt i tabell VI nedenfor:

T a b e l l VI

Methioninkapsler (g/hd/dag)	0	7,2	14,4
Antall dyr	8	7	8
Levendevekt (kg)	408,2	417,3	408,7
Varm slaktevekt (kg)	232,2	237,7	234,5
Varm slaktevekt (%)	57	57	57
Kold slaktevekt (kg)	225,4	230,9	227,3
Kold slaktevekt (%)	55	55	56
Nyrestykke-areal (cm ²)	64,4	71,5	73,9
Magert/fett-forhold	2,59	2,70	3,09

Ovenstående tabell viser at oksene som fikk innkapslet methionin, viste øket nyrestykkearealer og forbedret magert/fett-forhold.

Eksempel 6

Dette forsøk ble utført for å måle responsen av voksende fetende okser på innkapslet methionin fremstilt ifølge eksempel 4.

Forsøket innbefattet to innhegninger av 225 okser. En innhegning av dyr tjente som den negative kontroll mens den annen fikk det innkapslede methionin strødd på toppen av fóret i en mengde beregnet på å gi 4,0 g methionin pr. hode pr. dag.

Til å begynne med besto dieten av silofór, maisensilasje, mask og 90 g fórtílsetning pr. hode pr. dag. Fórtílsetningen var i det vesentlige en vitamin-mineralblanding. Kort efter at forsøket begynte, ble dieten forandret til poteter, malte maiskolber, havrehalm, mask, silofór og søt maisensilasje.

Dyrene ble veiet ved begynnelsen av forsøket og ved slutten

121528

15

etter 30 dager, og de erholdte resultater er angitt i tabell VII
nedenfor:

T a b e l l VII

	Kontroll	Methionin- kapsler
Antall okser pr. innhegning	225	225
Begynnelsesvekt pr. innhegning (kg)	80300	78195
Vekt pr. innhegning etter 30 dager (kg)	86745	85525
Økning pr. innhegning (kg)	6445	7330
Gj.sn. daglig økning pr. hode (kg)	0,953	1,084

Av ovenstående data vil det sees at dyrene som fikk innkapslet methionin, øket 14% mere i vekt pr. hode pr. dag enn kontrolldyrene.

Eksempel 7

Hensikten med dette forsøk var å bestemme stabiliteten av forskjellige kapsler i vommen på et levende dyr.

Fremstilling av kapsler

De forskjellige kapsler som ble anvendt, var som følger:

Kapsel A

DL-methionin (%)	40,3
Kaolin (%)	15,1
Risklivoks (%)	44,6

Disse kapsler ble fremstilt på en sentrifugalekstruderingsanordning fra Southwest Research Institute, San Antonio, Texas, og hadde en partikkelstørrelse i området 354 - 707 micron. Risklivokset ble anvendt i både kjernen og skallet med ca. 10% i skallet.

Kapsel B

DL-methionin (%)	32,8
Hydrogenert animalsk fett (kjerne) (%)	40,6
Kaolin (%)	12,3
Hydrogenert animalsk fett (skall) (%)	13,9

Disse kapsler ble også fremstilt på en sentrifugalekstruderingsanordning og hadde en partikkelstørrelse i området 300 -

121528

16

1000 micron og en tetthet på 1,18 g/ml.

Kapsel C

Disse ble fremstilt på samme måte som kapsel B og hadde følgende sammensetning:

DL-methionin (%)	36,2
Hydrogenert animalsk fett (kjerne) (%)	45,2
Kaolin (%)	13,6
Hydrogenert animalsk fett (skall) (%)	5,0
Partikkelstørrelse (micron) 300 - 1000	
Tetthet (g/ml)	1,26

Kapsel D

Disse ble fremstilt på samme måte som kapsel B, men uten et ytre skall. Sammensetningen var som følger:

DL-methionin (%)	38,1
Hydrogenert animalsk fett (kjerne) (%)	47,6
Kaolin (%)	14,3
Partikkelstørrelse (micron) 300 - 1000	
Tetthet (g/ml)	1,26

Kapsel E

Disse kapsler ble fremstilt ved en svevende skiktmetode og hadde følgende sammensetning:

Kjerner

DL-methionin (%)	40
Kaolin (%)	15
Stearinsyre (%)	45

Ytre skall

Det ytre skall var et hydrogenert vegetabilsk fett og ble påført ved svevende skiktmetoden. Det ytre skall utgjorde 35 vekt% av sluttproduktet, og partikkelstørrelsen var i området 595 - 1005 micron.

Nylonposeprøven

Ca. 1 g av hver av ovenstående prøver av kapsler ble veiet nøyaktig i en 25 x 38 mm hvit nylon seildukspose som så ble varmeformet. Posen pluss kapslene ble så veiet før innføring i vominn-

holdet av den levende okse. Innføringen ble utført ved å feste posen til en bærer som ble innført gjennom en vom-fistula i vominnholdet. Bevegelsen av bæreren var begrenset av en nylonsnor festet til vom-kanylen.

Efter en bestemt neddykningstid ble posen fjernet fra vommen, vasket med rennende vann for å fjerne vedheftende materiale og fine partikler som kan ha trengt inn i posen, og lufttørret. Den tørrede pose pluss gjenværende innhold ble veiet. Vektforandringen ble anvendt for å beregne det prosentvise vekttap av kapslene i løpet av neddykningen i vominnholdet.

Prøver av kapsler anbrakt i posene, sammen med prøver av de gjenvundne kapsler ble analysert på nitrogeninnhold. Nitrogentapet av kapslene efter neddykningen i vommen, ble så beregnet som følger:

Begynnelsesvekt av nitrogen = vekt av kapsler anbrakt i pose
x % nitrogen inneholdt i kapslene.

Gjenvunnet vekt av nitrogen = vekt av kapsler gjenvunnet fra
pose x % nitrogen i gjenvundne
kapsler.

% nitrogentap under neddykning =

$$\frac{(\text{Begynnelsesvekt av nitrogen} - \text{Gjenvunnet vekt av nitrogen}) \times 100}{\text{Begynnelsesvekt av nitrogen}}$$

Da det meste av nitrogenet i kapslene er i form av methionin, avspeiler nitrogentapet kapslenes evne til å beskytte methionin under utsettelsen for vominnholdet i en levende okse.

Ved bedømmelse av en prøve ble 9 poser med kapsler fremstilt. 3 poser ble festet til hver av tre bærere, og alle bærere ble neddykket i innholdet av en vom. Bærere med tilfestede poser ble fjernet 6, 12 og 24 timer efter anbringelsen i vommen. Dette tillot tre observasjoner i tre forskjellige tider.

Gjennomsnittsdata erholdt fra nylonposeundersøkelsene er angitt i tabell VIII:

T a b e l l VIII

Kapsel- prøve	<u>Kapselvekttap (%)</u> Neddykningstid i vom (timer)			<u>Kapselnitrogentap (%)</u> Neddykningstid i vom (timer)		
	6	12	24	6	12	24
A	6	12	20	-	-	-
B	2	9	18	3	28	55
C	3	9	22	5	23	54
D	4	15	24	-	-	-
E	3	7	15	10	17	42

Ovenstående data viser at alle disse kapsler var istand til å beskytte en stor del av methioninet i inntil 12 timer i vommen.

Eksempel 8

Kapsler B, C og D fra eksempel 7 ble matet til voksende okser for å bestemme deres virkning på blodplasma.

Oksene ble akklimatisert til en høy-fórtilsetningsdiæt, hvor vekten av fórtilsetning som ble gitt, svarte til 20 vekt% av høyforbruket den foregående dag. Den daglige forsyning av fórtilsetning ble delt i to like store deler, som ble gitt dyrene henholdsvis kl. 8.00 og 16.00. Negative kontrolldyr ble holdt på standarddieten. Positive kontrolldyr fikk en liten mengde (5 eller 6 g) DL-methionin tilsatt til hvert måltid fórtilsetning. Forsøksdyrene ble behandlet på samme måte som de positive kontroller, med den unntagelse at methioninet tilsatt til fórtilsetningen var i form av kapsler B, C og D.

Venøse blodprøver ble tatt av hvert dyr straks før matingen av fórtilsetning kl. 8.00 på dag 0 og 77 timer senere. Plasma erholdt fra blodet ble deproteinisert og analysert på forskjellige aminosyrer innbefattende methionin og valin.

Ved beregning av responsdata tjener hvert dyr som sin egen kontroll. De negative kontrolldyr ble innbefattet i hver analyse for å avspeile variasjoner bevirket av andre faktorer enn dem som ble undersøkt.

De erholdte resultater er vist i tabell IX nedenfor.

T a b e l l IX

Kapsel- prøve	<u>Methionin (d.p.m.)</u>			<u>Methionin:Valinforhold</u>		
	Begyn.	Slutt	Endring	Begyn.	Slutt	Endring
Ingen	3,58	3,25	-0,32	0,135	0,136	+0,001
B	2,82	5,00	2,18	0,112	0,187	+0,075
C	2,90	4,13	1,23	0,111	0,173	0,063
D	3,33	4,03	1,03	0,133	0,178	0,045

Ovenstående data viser viktigheten av det beskyttende materiale. Skjønt alle tre kapsler B, C og D viste positive responser, vil det sees at kapslene D, som ikke hadde et tydelig ytre skall, ga de dårligste resultater, mens kapslene B med det tykkeste ytre skall, viste de beste resultater.

P a t e n t k r a v

1. Partikkelformig fórtilsetningspreparat med forsinket frigjørelse for drøvtyggere, hvor hver partikkel inneholder aminosyrer som helt er innkapslet i en kontinuerlig beskyttende film av et materiale som ikke nedbrytes særlig i vommen, men som frigjør den innkapslede aminosyre efter bladmaven, k a r a k t e r i s e r t v e d at kapslene har en tetthet på 0,8 - 2,0 g/ml og en partikkelstørrelse på 200 - 2000 micron.

2. Preparat ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at partiklene har en tetthet på 1,0 - 1,4 g/ml.

Anførte publikasjoner:

Norsk utl. skrift nr. 120.058 (søknad 165.967)
U.S. patent nr. 3.295.984