

(19) **DANMARK**

(10)

DK 177743 B1



(12)

PATENTSKRIFT

Patent- og
Varemærkestyrelsen

-
- (51) Int.Cl.: **A 23 K 1/16 (2006.01)** **A 23 K 1/18 (2006.01)**
- (21) Ansøgningsnummer: **PA 2008 01228**
- (22) Indleveringsdato: **2008-09-04**
- (24) Løbedag: **2007-01-16**
- (41) Alm. tilgængelig: **2008-09-05**
- (45) Patentets meddelelse bkg. den: **2014-05-19**
- (86) International ansøgning nr: **PCT/EP2007/050393**
- (86) International indleveringsdag: **2007-01-16**
- (85) Videreførelsesdag: **2008-09-04**
- (30) Prioritet: **2006-02-07 GB 0602426.9**
- (73) Patenthaver: **Trouw International B.V., Veerstraat 38, NL-5831 JN BOXMEER, Holland**
- (72) Opfinder: **Wolfgang M. Koppe, Balders Gate 12, N-4011 Stavanger, Norge**
Alex Obach, Helands Gate 39, N-4012 Stavanger, Norge
Ramon Fontanillas, Røskvas Gate 9, N-4011 Stavanger, Norge
- (74) Fuldmægtig: **Chas. Hude A/S, H.C. Andersens Boulevard 33, 1780 København V, Danmark**
- (54) Benævnelse: **Anvendelse af salvieekstrakt evt. sammen med carvacrol til fremme af fisks vækst**
- (56) Fremdragne publikationer:
EP 1314358 A1
WO 2005023019 A1
WO 2004091307 A2
JP 2004254712 A
EP 1208751 A1
Heil, Timothy P. et al., "SENSORY PROPERTIES OF THIOPHENOLS AND ALKYLPHENOLS CAUSING FLAVOR TAINING IN FISH FROM THE UPPER WISCONSIN RIVER", J. Environ. Sci. Health, B24(4), 361-388 (1989).
- (57) Sammendrag:
Anvendelse af salvieekstrakt evt. sammen med carvacrol til fremme af fisks vækst, hvor væksten fremmes ved at forbedre lipid- og/eller proteinfoerdøjeligheden i fisk. Salvieekstraktet kan være valgt blandt ekstrakter af Salvia officinalis og ekstrakter af Salvia lavandulifolia. Carvacrolet kan være syntetisk eller være ekstraheret fra Origanum vulgare.

Titel: Anvendelse af salvieekstrakt evt. sammen med carvacrol til fremme af fisks vækst

Den foreliggende opfindelse angår anvendelse af salvieekstrakt evt. sammen
5 med carvacrol til fremme af fisks vækst.

Fisk er en vigtig proteinkilde for verdens befolkning. Det erkendes, at indtagelse af fisk per capita skal forøges på grund af deres positive sundhedseffekter.

10 Det er dog ikke længere muligt at forøge mængden af fisk, som fanges vildt, på grund af effekten på fiskebestandene. Nogle bestande af vilde fisk er allerede kollapset, og for andre bestande skal fangsten reduceres, for at bestandene skal være vedvarende.

15 Akvakultur (fiskeopdræt) er derfor af stigende betydning for forsyningen af fisk til verdens befolkning.

Fisk behøver protein, fedt, mineraler og vitaminer for at vokse og for at være i god sundhedstilstand. Rovfisks diæt er særlig vigtig.

20

Oprindeligt blev der anvendt hele fisk eller formalede fisk ved opdræt af rovfisk for at opfylde de opdrættede fisks ernæringsbehov. Formalede fisk blandet med tørre råmaterialer af forskellig type, såsom fiskemel og stivelse, blev betegnet blødt eller halvfugtigt foder. Efterhånden som opdræt blev industrialiseret, blev
25 blødt eller halvfugtigt foder erstattet af presset tørfoder. Dette blev i sig selv gradvist erstattet af ekstruderet tørfoder.

I dag er ekstruderet foder næsten almindeligt udbredt ved opdræt af et antal fiskearter, såsom forskellige typer salmonid, torsk, havaborre og spidstandet
30 blankesten.

Den fremherskende proteinkilde i tørfoder til fisk har været fiskemel af forskellige kvaliteter. Fiskemel og fiskeolie opnås fra såkaldt "industrifisk". Fangsten af industrifisk kan ikke forøges af de ovenfor anførte årsager.

- 5 Industrifisk kan f.eks. være af nordeuropæisk oprindelse eller af sydamerikansk oprindelse, især fisk, som er fanget ud for Perus og Chiles kyster. Disse landes udbytter fluktuerer noget fra det ene år til det næste. Ved intervaller på ca. 7 år forekommer vejrfænomenet El Niño og reducerer udbyttet af industrifisk betydeligt. Dette påvirker tilgængeligheden til fiskemel og fiskeolie på
- 10 verdensmarkedet, og priserne stiger betydeligt på disse råmaterialer.

- Akvakulturindustrien, og især fiskefoderindustrien, har i adskillige år forudsagt, at der ville blive mangel på både fiskemel og fiskeolie i fremtiden. Der anvendes også andre animalske proteinkilder til tørfiskefoder. Det er således kendt at
- 15 anvende blodmel, benmel, fjermel og andre typer mel, som er fremstillet ud fra slagteriaffald, f.eks. kyllingemel. Disse er typisk billigere end fiskemel og fiskeolie. I visse geografiske regioner, såsom Europa, har der dog været et forbud mod anvendelse af sådanne råmaterialer ved fremstilling af foder til levnedsmiddel-producerende dyr og fisk.

20

- Det er også kendt at anvende vegetabilsk protein, såsom hvedegluten, majs gluten, sojaprotein, lupinmel, ærtemel, bønnemel, rapsmel, solsikkemel og rismel. Soja er et lavprisråmateriale med højt proteinindhold og er tilgængelig i meget store mængder på verdensbasis. Derfor er sojabønner blevet anvendt i
- 25 fiskefoder i mange år.

Der er således et pres for at minimere mængden af råmateriale, som anvendes i fiskefoder til akvakultur.

- 30 Derudover er akvakultur kapitalkrævende. Der er investeringer i bure, aflukker eller damme, foderautomater, lagerfaciliteter og anden infrastruktur. Fisken selv har associerede omkostninger, da de købes som småfisk (f.eks. ørred- og

laksearter, havaborre, spidstandet blankesten, pighvar, helleflynder, torsk) eller fanges vilde (f.eks. australsk ravfisk, torsk, sej, tunarter).

Den vigtigste enkeltomkostning inden for akvakultur er omkostningen på
5 foderet. Arbejdsomkostninger er også vigtige.

Salgsprisen for fisken og det antal fisk, som høstes, bestemmer driftens rentabilitet.

10 En hurtigere omsætning har adskillige positive resultater. For det første hjælper det på cash flow. For det andet forbedrer det risikostyringen. Fiskesygdomme er almindelige, og sandsynligheden for et udbud er højere over en lang vækstperiode. Der er også en risiko for, at fisk vil flygte på grund af uheld, f.eks. når der skiftes net, eller på grund af dårligt vejr, der forårsager ødelagte
15 fiskeindelukker.

Omsætningshastigheden bestemmes af, hvor hurtigt fisken vokser til høstbar størrelse. Som et eksempel tager det fra 12 til 18 måneder at opdrætte atlantisk laks fra unglaks. Det fysiologiske stadie, når atlantiske laks først kan overføres
20 fra ferskvand til havvand) til høstbar størrelse. Høstbar størrelse afhænger af fiskearten og af markedet. Nogle markeder for atlantisk laks foretrækker fisk, som er større end 6 kg. Regnbueørred sælges på nogle markeder som portionsstørrelser, og vægten er 300 g.

25 Væksthastigheden udtrykkes som procent stigning i legemsmasse fra dag til dag (specifik væksthastighed, SGR). Denne beregnes som:

$$SGR = \left(\left(\frac{FinalW}{InitW} \right)^{1/dage} - 1 \right) \cdot 100$$

30 FinalW = slutvægt

InitW = initialvægt

dage = tid fra måling af initialvægt til slutvægt

SGR tager ikke mængden af fiskefoder, som skal tilføres for at opnå vækst, i betragtning. Den er kun et mål for væksthastigheden. En høj SGR er afhængig af råmaterialernes fordøjelighed og af, hvor optimal en fodersammensætning er med hensyn til protein- og fedtforhold, aminosyresammensætning og sammensætning af fedtsyrer. Mikrobestanddele, såsom vitaminer og mineraler, skal også være til stede i tilstrækkelige mængder.

En anden vigtig økonomisk faktor er, hvor effektivt fisken vokser på foderet. Fiskevækst udtrykkes i praksis som proteinaflejring i musklerne (vækst af muskelmasse).

Den almene enhed til at beskrive dette er foderstofomdannelsesforholdet (FCR), der defineres som:

$$\text{FCR} = \text{mængden af tilført foderstof (kg)} / \text{fiskens (kg) nettovægt}$$

FCR varierer mellem fiskearter og også med fiskens størrelse. I atlantisk laks kan FCR typisk være fra 0,7 til 2. Industrifiskefoder i form af presset foder og ekstruderet foder indeholder lave mængder vand, typisk fra 5 til 10%. Fiskelegemet har et meget højere vandindhold. Dette forklarer, hvorfor FCR kan være lavere end 1. En akkurat sammenligning mellem FCR fra forskellige foderblandinger skulle tage foderets vandindhold i betragtning, da vand ikke bidrager til vækst. Mest præcist skulle FCR beregnes på tørstofbasis. Da vandindholdet dog er inden for et snævert område, og da det er besværligt for fiskeopdrætteren at beregne tørstofgrad af FCR, beregnes FCR almindeligvist på foderet omfattende vandindholdet.

Der er også en skelnen mellem "biologisk FCR" og "økonomisk FCR". Den biologiske FCR er på individuelt fiske-niveau. Den tager det aktuelle foder, som er indtaget af den individuelle fisk samt dens vægtforøgelse over den observerede periode, i betragtning atlantisk laks. Dette er foderets sande ydelse. Som med SGR er biologisk FCR en funktion af næringsstofferne

fordøjelighed, balancen mellem protein og energi (f.eks. fedt), balancen mellem de forskellige aminosyrer og tilstedeværelsen af tilstrækkelige mikrobiestanddele (såsom vitaminer og mineraler).

- 5 Inden for kommerciel drift er der dog adskillige individuelle fisk i hvert indelukke eller dam (f.eks. 10.000 til 30.000 individer i hvert indelukke). Fodringen kan ikke observeres på det individuelle niveau. Fiskeopdrætteren bekymrer sig derfor mere om den økonomiske FCR. Denne er på burniveau og defineres som den mængde indtaget fiskefoder til buret samt stigningen i burets
- 10 fiskebiomasse over den observerede periode.

Den økonomiske FCR er af forskellige årsager større, end den biologiske FCR. For det første tabes der noget foder på grund af, at foderpiller går i stykker i fodringssystemet, og de brudte stykker er for små til at blive spist eller er så

15 små, at de erkendes at være støv. For det andet spises nogle fiskepiller ikke af fiskene, men synker bare ned gennem vandsøjlen. For det tredje tabes der noget foder, da fisken fodres til mæthed, mens den fodres kontinuerligt. Dette er kendt som overfodring. For det fjerde kan der forekomme underfodring, i hvilket tilfælde FCR stiger, da der blev anvendt en højere andel af proteinet i foderet til

20 metaboliske formål i modsætning til muskelaflejring. For det femte kan der undslippe fisk gennem huller i nettet. Den initiale biomasse bestemmes ved at tælle individerne og ved at bestemme den initiale vægt ved vejning af underprøveudtagninger af populationen. Forkerte tal har en enkelt på den økonomiske FCR.

25

Det er således ønskeligt at fremstille et fiskefoder, som fører til god (høj) SGR og god (lav) biologisk og/eller økonomisk FCR.

For at opnå de ovenstående formål, kan tilsætningsstoffer, som kan forøge

30 fordøjeligheden af fedt og/eller protein, være af værdi. Dette kan måles ved "den tilsyneladende fordøjelighedskoefficient", beregnet som:

$$ADC(\%) = 100 - \left(100 \cdot \left(\frac{\text{Yttrium i diæt}}{\text{Yttrium i fæces}} \cdot \frac{\text{Næring i fæces}}{\text{Næring i diæt}} \right) \right)$$

Yttrium sættes til diæten med det formål at beregne ADC, men ikke på anden vis en nødvendig bestanddel i fiskefoderet.

- 5 I JP2-207758 beskrives der et fiskefoder med lavt fedtindhold, der omfatter én eller flere forskellige essentielle planteolier eller bestanddele, som er ekstraheret derfra, herunder carvacrol. Fiskefoderet tænkes at beskytte fisk mod infektionssygdomme.
- 10 Den kendte teknik er også beskrevet i EP 1314358, som relaterer sig til en formulering omfattende MCFA (medium-chain fatty acid) og ekstrakt fra oregano til at stimulere væksten af bl.a. fisk som f.eks laks. Den nærværende opfindelse afviger fra EP 1314358 ved formuleringer, der indeholder salvieekstrakt evt. sammen med carvacrol til fremme af fisks vækst, hvor
- 15 væksten fremmes ved at forbedre lipid- og/eller proteinfordøjeligheden i fisk.

De nærværende opfindere har overraskende fundet ud af, at inkludering i fiskefoderet, enten separat eller sammen, af visse tilsætningsstoffer, som kan ekstraheres fra planter eller syntetiseres kemisk, hjælper med at opnå højt SGR

- 20 og lavt FCR, hvilket således giver en høj fiskeomsætningshastighed for et lavt foderindtag.

Tilsætningsstofferne er carvacrol og salvieekstrakt.

- 25 Uden at ønske at blive bundet af denne teori, antager opfinderne, at fiskevækst fremmes af tilsætningsstofferne, da fiskens fordøjelighed af fedt forøges. Det antages, at de to tilsætningsstoffer har lignende effekter.

Således relaterer opfindelsen sig til anvendelse af salvieekstrakt evt. sammen

- 30 med carvacrol til fremme af fisks vækst.

Betegnelsen "fiskefoder" omfatter som anvendt heri sammensætninger som beskrevet nedenfor. Typisk omfatter fiskefoderet fiskemel som en bestanddel. Fiskefoderet er passende i form af flager eller piller, f.eks. ekstruderede piller.

5

Betegnelsen "ekstrakt" omfatter som anvendt heri sammensætninger, som er opnået ved opløsningsmiddelekstraktion (hvilket også er kendt som "ekstraherede olier"), dampdestillation (hvilket også er kendt som "essentielle olier") eller andre fremgangsmåder, som er kendt af fagmanden. Passende ekstraktionsopløsningsmidler omfatter alkoholer, såsom ethanol.

Fortrinsvist er salvieekstraktet et koncentrat. Betegnelsen "salvie" omfatter som anvendt heri planter af *Salvia*-slægten af *Lamiaceae*-familien. Foretrukne arter af salvie er *Dalmatian sage* (*Salvia officinalis*), f.eks. *Salvia officinalis* L. (essentiell olie, som er beskrevet i ISO 9909:1997 (E)) og spansk salvie (*Salvia lavandulifolia*), f.eks. *Salvia lavandulifolia* Vahl (essentiell olie, som er beskrevet i ISO 3526:2005 (E)).

Salvieekstrakt vides at indeholde mindst 4 aktive forbindelser. En typisk kromatografisk profil for *Salvia officinalis* L. viser α -pinen, kamfer, limonen, 1,8-cineol, α -thujon, β -thujon, kamfer, linalol og linalylacetat, bornylacetat og α -humulen. En typisk kromatografisk profil for *Salvia lavandulifolia* Vahl viser α -pinen, sabinen, limolen, 1,8-cineol, linalool, kamfer, borneol, trpinen-4-ol, linalylacetat, α -terpinylacetat og sabinylacetat.

25

Salvieekstrakter er kommercielt tilgængelige.

Betegnelsen "carvacrol" henviser som anvendt heri til 2-methyl-5(1-methylethyl)-phenol (CAS 499-75-2). Denne forbindelse kan opnås fra oregano (*Origanum vulgare*) og andre planter. En naturidentisk forbindelse kan syntetiseres og er kommercielt tilgængelig.

30

Da fordøjeligheden af lipid antages at forøges af opfindelsen, er det ønskeligt at have et højt lipidindhold i foderet, således at fiskevæksten fremmes så meget som muligt. Visse fisk (herunder salmonider) kræver foder med højt lipidindhold for at forblive sunde. Fortrinsvist indeholder fiskefoderet mindst 15 vægt% lipid, 5 mere foretrukket mindst 20% lipid, stadig mere foretrukket mindst 25 vægt% lipid, f.eks. 25 til 35 vægt% lipid.

Fiskefoderet omfatter salvieekstrakt evt. sammen med carvacrol i en mængde på 0,005 – 0,5 vægt% og salvieekstrakt i en mængde på fra mindst 0,005 – 0,5 10 vægt%. Mere foretrukket omfatter fiskefoderet carvacrol i en mængde på 0,1 – 0,25 vægt% og salvieekstrakt i en mængde på 0,01 – 0,25 vægt%. Fiskefoderet omfatter passende carvacrol i en mængde på 0,01 – 0,05 vægt%, f.eks. 0,02 – 0,04 vægt%, og salvieekstrakt i en mængde på fra 0,01 – 0,05 vægt%, f.eks. 0,02 – 0,04 vægt%.

15

Fortrinsvist har fiskefoderet en umiddelbar sammensætning på 30 – 50 vægt% protein, 3 – 15 vægt% fugt og lipid som beskrevet ovenfor.

Fortrinsvist omfatter fiskefoderet én eller flere af:

20

- kilder til protein, carbohydrat og lipid (f.eks. fiskemel, fiskeolie, animalsk mel (f.eks. blodmel, fjermel, fjerkræsmel, kyllingemel og/eller andre typer mel, som er fremstillet fra andet slagteriaffald), animalsk fedt (f.eks. fjerkræsolie), vegetabilsk mel (f.eks. sojamel, lupinmel, ærtemel, 25 bønnemel, rapsmel og/eller solsikkemel), vegetabilsk olie (f.eks. rapsfrøolie, sojaolie), gluten (f.eks. hvedegluten eller majs gluten) og tilsat aminosyrer (f.eks. lysin));
- vitaminpræmik;
- mineralpræmik; og
- 30 - pigment (f.eks. canthaxanthin, astaxanthin).

Eksempel på fremgangsmåden til fremstilling af fiskefoder kan have følgende trin:

- blanding af bestanddele i en blander;
5 ekstrudering eller presning af piller; og
coating af pillerne med olie.

Salvieekstraktet evt. sammen med carvacrol sættes enten passende til blanderen eller inkluderes i coatingolie.

- 10 Carvacrol tilvejebringes passende i form af en blanding af carvacrol med en tør bærer, såsom silica (f.eks. en 50:50-vægtblanding) eller i form af rent carvacrol.

På lignende vis tilvejebringes salvieekstrakt passende i form af en blanding af salvieekstrakt med en tør bærer, såsom silica (f.eks. en 50:50-vægtblanding)

- 15 eller i form af ren salvieekstrakt.

Foderet er især egnet til fodring af salmonider, herunder atlantisk laks (*Salmo salar*), andre laksearter og ørred samt ikke-salmonider, såsom torsk, havaborre, spidstandet blankesten og ål. Det kan dog gives til alle typer fisk, f.eks. pighvar,

- 20 helleflynder, australsk ravfisk, sej og tun.

Opfindelsen vil yderligere blive beskrevet med henvisning til eksemplerne. Det skal bemærkes at formuleringer og fiskefoder der ikke indeholder salvie
25 ekstrakter, ikke angår den foreliggende opfindelse.

Almen fremgangsmåde til fremstilling af presset fiskefoder

- Hovedråmaterialerne formales og blandes. Der sættes mikrobestanddele til
30 blanderen. Den homogene blanding konditioneres ved tilsætning af vand og damp til massen i et konditioneringsapparat. Dette initierer en kogningsproces i stivelsesfraktionen (bindingsbestanddelen). Massen ledes ind i en pillemølle. Massen ledes gennem møllens dyse, og strengene nedbrydes til piller på

ydersiden af dysen. Fugtindholdet er lavt, og tørring af foderet er ikke nødvendigt. Der kan eventuelt sprøjtes yderligere olie på pillernes overflade, men da pillerne er ret kompakte, overskrider det samlede lipidindhold sjældent 24%. Den tilsatte olie kan være fiskeolie eller vegetabilske olier, f.eks. rapsfrøolie eller sojaolie, eller en blanding af vegetabilske olier eller en blanding af fiskeolie og vegetabilsk olie. Efter oliecoating afkøles pillerne i en køler og fyldes i poser.

Almen fremgangsmåde til fremstilling af ekstruderet fiskefoder

10

Hovedråmaterialerne formales og blandes. Der sættes mikrobestanddele til blanderen. Den homogene blanding konditioneres ved tilsætning af vand og damp til massen i et konditioneringsapparat. På dette trin kan der også sættes yderligere olie til massen. Dette initierer en kogningsproces i stivelsesfraktionen (bindingsbestanddelen). Massen ledes ind i en ekstrudermaskine. Ekstrudermaskinen kan være af enkeltsnække- eller dobbeltsnækketypen. På grund af massens rotationsbevægelse i ekstrudermaskinen, blandes massen yderligere. Der kan sættes yderligere olie, vand og damp til massen i ekstrudermaskinen. I enden af ekstrudermaskinen har massen en temperatur på over 100°C og et tryk over omgivelsestrykket. Massen ledes gennem åbningerne i ekstrudermaskinens dyseplade. På grund af lettelsen i temperatur og tryk vil noget af fugten afdampe øjeblikkeligt ("flash off") og den ekstruderede masse blive porøs. Strengene skæres i piller ved hjælp af en roterende kniv. Vandindholdet er ret højt (18 – 28%), og pillerne tørres derefter øjeblikkeligt til et vandindhold på ca. 10% i en tørrer. Efter tørreren kan der sættes mere olie til foderet ved at sprøjte olie på foderets overflade eller ved at dyppe foderet i olie. Det er fordelagtigt at sætte olie til foderet i en lukket beholder, hvor lufttrykket er under omgivelsestrykket (vakuumcoating), således at de porøse foderpiller absorberer mere olie. Foder, som indeholder mere end 40% lipid, kan fremstilles på denne måde. Efter coateren afkøles foderet og fyldes på poser. Olie kan tilsættes på forskellige trin i processen som forklaret ovenfor og kan være fiskeolie eller vegetabilske olier, f.eks. rapsfrøolie eller sojaolie, eller en blanding af vegetabilske olier eller en blanding af fiskeolie og vegetabilske olier.

Eksempel 1

Det i eksempel 1 anvendte foder har en umiddelbar sammensætning af protein
5 på (45,6 – 47,4 vægt%), lipid (30,2 – 32,2 vægt%), fugt (5,2 – 6,2 vægt%) og
aske (5,4 – 5,8 vægt%).

Der blev fremstillet et kontrolfoder ud fra fiskemel (407,4 g), sojabønne-
mel (55,8 g), majs gluten (196,1 g), hvede (88,0 g), fiskeolie (247,3 g), mineral- og vitamin-
10 præblandinger (3,8 g), yttriumpræblanding (1,0 g, der blev anvendt til måling af
lipidfordøjeligheden som diskuteret nedenfor) og astaxanthinpræparat (0,6 g).
Der blev ekstruderet piller ved anvendelse af den ovenfor beskrevne proces, og
de blev coatet med fiskeolien.

15 Testfoderet, som indeholdt 0,1 vægt% og 0,2 vægt% carvacrol-formulering (der
indeholdt 50 vægt% carvacrol og 50 vægt% silicabærer), blev fremstillet.
Mængden af aktivt stof var henholdsvis 500 og 1.000 mg pr. kg. foder. I
sammenligningsfoderet blev mængden af hvede reduceret til henholdsvis 87,0
g og 86,0 g. Carvacrolformuleringen blev tilsat med de andre mikrobielle bestanddele
20 til blanderen førend prækonditionering.

Pillestørrelsen var 4 mm.

På lignende måde blev der fremstillet testfoder, som indeholdt 0,1 vægt% og
25 0,2 vægt% formulering af *Salvia officinalis*-salvieekstrakt (der indeholdt 50
vægt% salvieekstrakt og 50 vægt% silicabærer).

Atlantisk laks (*Salmo salar*), som vejede 169 g ($\pm$ 3 g) ved påbegyndelsen af
undersøgelsen, blev fodret med foderet. Fisken blev holdt i tanke (1 m x 1 m).
30 Der var 30 fisk i hver tank. Havvandstemperaturen var 11,8°C ($\pm$ 0,5°C). Fisken
blev fodret i 67 dage. Undersøgelsen blev kørt i triplikat.

Resultaterne er vist i tabel 1 (Det skal bemærkes at formuleringer uden salvie
ekstrakter ikke angår den foreliggende opfindelse.)

TABEL 1

Foder	Initialvægt (g)	Slutvægt (g)	Specifik væksthastighed	Foderomdannelsesforhold
Kontrol	170 ± 2,77	330 ± 13	0,99 ± 0,08	0,91 ± 0,05
Carvacrol 0,05 vægt%	169 ± 3,54	339 ± 18	1,04 ± 0,05	0,91 ± 0,05
Carvacrol 0,1 vægt%	171 ± 0,63	354 ± 6	1,09 ± 0,03	0,87 ± 0,03
Salvie 0,05 vægt%	170 ± 2,89	339 ± 5	1,03 ± 0,03	0,88 ± 0,03
Salvie 0,1 vægt%	171 ± 1,18	354 ± 11	1,09 ± 0,04	0,83 ± 0,04

- 5 Det kan ses, at stigende mængder carvacrol og stigende mængder salvieekstrakt hver førte til forøget fiskevækst og forbedret foderudnyttelse.

Eksempel 2

- 10 Det i eksempel 2 anvendte foder havde en umiddelbar sammensætning af protein (46,0 – 46,9 vægt%), lipid (30,8 – 31,9 vægt%), fugt (4,9 – 5,6 vægt%) og aske (7,4 – 7,7 vægt%).

- Der blev fremstillet kontrol- og sammenligningsfoder som i eksempel 1. Der blev
15 anvendt *Salvia lavandulifolia*-salvieekstrakt (CAS 8016-65-7).

Pillestørrelsen var 4 mm.

- Atlantisk laks (*Salmo salar*), som vejede 199 g (± 2,4 g) ved påbegyndelse af
20 undersøgelsen, blev fodret med foderet. Fisken gik i tanke (1 m x 1 m). Der var 35 fisk i hver tank. Havvandstemperaturen var 12°C. Fisken blev fodret i 82 dage. Undersøgelsen blev kørt i triplikat.

Resultaterne er vist i tabel 2 (SE betyder "standardfejl". Det skal bemærkes at formuleringer uden salvie ekstrakter ikke angår den foreliggende opfindelse.)

TABEL 2

Foder	Initialvægt (g)		Slutvægt (g)		Specifik væksthastighed		Foderomdannelsesforhold	
	(g)	SE	(g)	SE		SE		SE
Kontrol	198	0,95	488	5,50	1,10	0,08	0,74	0,03
Carvacrol 0,05 vægt%	199	1,29	512	6,81	1,16	0,01	0,68	0,02
Carvacrol 0,1 vægt%	200	1,19	503	6,89	1,13	0,01	0,70	0,01
Salvie 0,05 vægt%	199	1,23	490	6,18	1,10	0,01	0,73	0,00
Salvie 0,1 vægt%	198	1,18	505	6,57	1,15	0,02	0,70	0,02

- 5 Det kan ses, at stigende mængder carvacrol og stigende mængder salvieekstrakt hver fører til forøget fiskevækst og forbedret foderudnyttelse.

Lipidfordøjeligheden blev bestemt ved anvendelse af en standardfremgangsmåde, og resultaterne er vist i tabel 3. (Det skal bemærkes

- 10 at formuleringer uden salvie ekstrakter ikke angår den foreliggende opfindelse.)

TABEL 3

Foder	ADC (%) lipid	
	(%)	SE
Kontrol	96,39	0,35
Carvacrol 0,05 vægt%	95,78	0,07
Carvacrol 0,1 vægt%	97,65	0,02
Salvie 0,05 vægt%	98,19	0,16
Salvie 0,1 vægt%	98,20	0,19

Det kan ses, at stigende mængder carvacrol og stigende mængder salvieekstrakt hver førte til stigende lipidfordøjelighed. Lipidfordøjeligheden for de grupper, som blev fodret med salvieekstrakt ved 0,05 vægt%, såvel som ved 0,1 vægt%-niveauet, var signifikant højere end for kontrolgruppen.

5

Eksempel 3

Det i eksempel 3 anvendte foder havde en umiddelbar sammensætning af protein (44,3 – 46,2 vægt%), lipid (28,2 – 31,4 vægt%) og fugt (6,0 – 6,5
10 vægt%).

Der blev fremstillet kontrolfoder ud fra sydamerikansk fiskemel (526,2 g), sojabønneemel (40,0 g), majs gluten (79,0 g), hvede (120,4 g), sydamerikansk fiskeolie (230,3 g), mineral- og vitaminpræblandinger (2,5 g),
15 yttriumpræblanding (1,0 g) og astaxanthinpræparat (0,6 g). Der blev ekstruderet piller ved anvendelse af den ovenfor forklarede fremgangsmåde, og de blev coatet med fiskeolien.

Der blev fremstillet testfoder, som indeholdt carvacrol og/eller salvieekstrakt
20 (*Salvia lavandulifolia*). Carvacrol og/eller salvieekstrakt blev hver tilsat som 100% olie. Der blev testet to forskellige inklusionsniveauer af separat carvacrol og salvieekstrakt (0,5 g/kg og 1,0 g/kg).

Der blev fremstillet to testfodere med en kombination af carvacrol og
25 salvieekstrakt. Inklusionsniveauerne var henholdsvis 1,0 g carvacrol og 0,2 g/kg salvieekstrakt samt 0,5 g/kg carvacrol og 0,5 g/kg salvieekstrakt. Carvacrololien og/eller salvieekstraktet blev blandet med fiskeolie og coatet på overfladen af pillerne ved anvendelse af vakuumcoating efter tørring af pillerne.

30 Pillestørrelsen var 3 mm for alt foder.

Atlantiske laks (*Salmo salar*), der vejede 156 g ($\pm$ 13 g) ved påbegyndelse af undersøgelsen, blev fodret med foderet. Fisken gik i tanke, som indeholdt 100 l

vand. Der var 25 fisk i hver tank. Havvandstemperaturen var $8,9^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Fisken blev fodret i 96 dage. Undersøgelsen blev kørt med fire kontrolgrupper og én tank hver for de forskellige inklusionsniveauer af carvacrol, salvieekstrakt eller kombineret af carvacrol og salvie.

5

Den tilsyneladende fordøjelighed blev bestemt for protein, den mættede fedtsyre C16:0, summen af alle mættede fedtsyrer samt den samlede mængde lipid. Resultaterne er vist i tabel 4. (Det skal bemærkes at formuleringer uden salvie ekstrakter ikke angår den foreliggende opfindelse.)

10

TABEL 4

Foder	ADC protein (%)	ADC C16:0 (%)	ADC mættede fedtsyrer (%)	ADC samlet mæng- de lipid (%)
	(g)	(g)		
Kontrol	86,8	69,2	69,8	87,8
Carvacrol 0,05 vægt%	88,8	75,3	75,5	89,2
Carvacrol 0,10 vægt%	87,6	74,0	74,4	89,2
Salvie 0,05 vægt%	87,7	73,0	73,1	89,1
Salvie 0,10 vægt%	88,8	76,9	77,0	90,6
Carvacrol 0,10 vægt%/ Salvie 0,02 vægt%	86,8	75,1	75,3	89,9
Carvacrol 0,05 vægt%/ Salvie 0,05 vægt%	87,8	75,3	75,6	89,4

Det kan ses, at stigende mængder carvacrol og stigende mængder salvieekstrakt hver fører til forøget lipidfordøjelighed og proteinfordøjelighed.

15

Patentkrav

1. Anvendelse af salvieekstrakt evt. sammen med carvacrol til fremme af fisks vækst.

5

2. Anvendelse ifølge krav 1, hvor væksten fremmes ved at forbedre lipid- og/eller proteinfordøjeligheden i fisk.

10

15

20

25

30