
Octrooiraad



⑩ A Terinzagelegging ⑪ 8101843

Nederland

⑲ NL

- ⑤④ Werkwijze voor het verbeteren van de benutting van voer door herkauwers, alsmede hiervoor geschikte samenstellingen.**
- ⑤① Int.Cl.: A23K 1/18.**
- ⑦① Aanvrager: Takeda Chemical Industries Ltd. te Osaka, Japan.**
- ⑦④ Gem.: Ir. G.H. Boelsma c.s.
Octroobureau Polak & Charlouis
Laan Copes van Cattenburch 80
2585 GD 's-Gravenhage.**

-
- ②① Aanvraag Nr. 8101843.**
- ②② Ingediend 14 april 1981.**
- ③② Voorrang vanaf 21 april 1980.**
- ③③ Land van voorrang: Japan (JP).**
- ③① Nummer van de voorrangsaanvraag: 53126/80 .**
- ⑥② - -**

-
- ④③ Ter inzage gelegd 16 november 1981.**

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Werkwijze voor het verbeteren van de benutting van voer door herkauwers, alsmede hiervoor geschikte samenstellingen.

De uitvinding heeft betrekking op het verbeteren van de benutting van voeder door herkauwers.

Een van de kenmerken van herkauwers is dat deze dieren in staat zijn cellulose, hemicellulose en niet uit eiwit afkomstige stikstof doelmatig te gebruiken, welke materialen door dieren met één maag nauwelijks of niet gebruikt kunnen worden. Herkauwers hebben echter het nadeel dat de energie uit eenmaal geconsumeerde concentraten in belangrijke mate verloren gaat als warmte en gassen bij het fermentatieproces in de pens (rumen) (de eerste maag). Herkauwers verkrijgen meer dan de helft van hun energiebehoefte uit de vluchtige vetzuren die door micro-organismen in de pens gevormd worden. Zo worden de oraal opgenomen koolhydraten in de pens ontleed tot pyrodruivezuur en via dit pyrodruivezuur worden verschillende vluchtige vetzuren gevormd. De belangrijkste gevormde vetzuren zijn azijnzuur, propionzuur en boterzuur, terwijl tevens geringe hoeveelheden isovaleriaanzuur en valeriaanzuur gevormd worden. Bij de omzetting uit pyrodruivezuur tot propionzuur treedt geen verlies aan energie op, maar in dit geval vindt een geringe toename in de energieretentie plaats door benutting van de ophoping van waterstofionen. Bij de vorming van azijnzuur of boterzuur gaat echter een deel van de energie verloren in de vorm van methaan, kooldioxide of waterstof. Bij herkauwers kan de benutting van koolhydraten als energiebronnen derhalve verbeterd worden door de fermentatietoestand in de pens zodanig in te stellen dat de relatieve vorming van azijnzuur en boterzuur verlaagd en de relatieve vorming van propionzuur verhoogd wordt.

Het is bekend dat bepaalde antibiotica, waaronder monensine (Amerikaans octrooischrift 3.839.557) en salinomycine (Japanse octrooipublikatie 93578/1977; Belgisch octrooischrift 846.142), het vermogen bezitten de benutting van voeder door herkauwers te verbeteren, maar gezien de grote behoefte van deze dieren aan voedsel en de geringe veiligheidsmarge tussen de werkzame hoeveelheid en de toxische hoeveelheid van deze verbindingen bestaat behoefte aan het ontwikkelen van een veiliger verbinding met een grotere werkzaamheid om de benutting van voer te verbeteren. Daar herkauwers concentraten slecht omzetten in vlees, zou de verbetering van de benutting van voer door het manipuleren van de fermentatie in de pens een belangrijke economische en sociale bijdrage betekenen.

Bij het door aanvraagster uitgevoerde onderzoek naar middelen die een sterkere relatieve vorming van propionzuur bij het fermentatieproces in de pens geven, werd verrassenderwijs gevonden dat carriomycine een bijzon-

der krachtige werkzaamheid vertoont voor wat betreft het verhogen van de vorming van propionzuur, en dat carriomycine een breder werkzaam concentratietraject bezit en een sterker toegenomen vorming van propionzuur bij verhoging van de dosering geeft dan de bovengenoemde bekende middelen die
5 slechts een nauw werkzaam concentratietraject bezitten, waarbij overschrijding van dit traject leidt tot een scherpe afname van de vorming van vluchtige vetzuren ten gevolge van het toxische effect; carriomycine bezit derhalve eigenschappen die van grote praktische bruikbaarheid zijn.

Verder werd gevonden dat bij toevoeging van carriomycine of een zout
10 hiervan aan een volledig dieet voor herkauwers, de voederomzettingsverhouding van deze dieren belangrijk verbeterd wordt en hun lichaamsgewicht eveneens toeneemt zonder dat de eetlust verminderd wordt.

Een andere verrassende ontdekking was dat hoewel de werkzaamheid van de gebruikelijke antibiotische polyethers, zoals monensine en salinomycine,
15 voor wat betreft het verbeteren van de benutting van voer zodanig is dat deze materialen weliswaar het lichaamsgewicht van dieren verhogen wanneer ze worden toegevoegd aan voeder op basis van ruw voer maar hun werkzaamheid niet in belangrijke mate vertonen bij toevoeging aan voer op basis van concentraten wegens een verminderde voerconsumptie, carriomycine een duidelijke
20 toename in het lichaamsgewicht geeft ongeacht of het aan ruw voer of aan voeder op basis van concentraten wordt toegevoegd.

De uitvinding verschaft een werkwijze voor het verbeteren van de benutting van voer door herkauwers, volgens welke werkwijze aan herkauwers
carriomycine of een fysiologisch aanvaardbaar zout hiervan wordt toegediend;
25 tevens verschaft de uitvinding een samenstelling voor het verbeteren van de voerbenutting bij herkauwers, welke samenstelling carriomycine of een zout hiervan bevat. Verdere voordelen van de uitvinding zullen hieronder duidelijk worden.

Carriomycine is een polyether-antibioticum, dat ook bekend staat als
30 antibioticum T-42082, en de eigenschappen van de organismen die dit antibioticum vormen, de wijze voor zijn vorming en zijn fysisch-chemische en biologische eigenschappen zijn nader beschreven in het Amerikaanse octrooi-schrift 4.069.316 en Journal of Antibiotics (Tokyo) 31 (1), 7-14 (1978). Een van de carriomycine producerende stammen, namelijk Streptomyces
35 hygroscopicus, is gedeponeerd bij het Institute for Fermentation, Osaka, Japan en American Type Culture Collection, Verenigde Staten van Amerika, waar het toegankelijk is onder de nummers IFO 13609 resp. ATCC 31080.

Carriomycine kan toegepast worden in de vrije zuurvorm of in de vorm van het zout met een fysiologisch aanvaardbare base, bijvoorbeeld alkali-

metaalzouten (natriumzout, kaliumzout, enz.), aardalkalimetaalzouten (calciumzout, enz.) of dergelijke. In het bijzonder wordt de voorkeur gegeven aan het natriumzout en het kaliumzout.

Volgens de uitvinding behoeft carriomycine of het zout hiervan geen
5 gezuiverd produkt te zijn. Het kan economisch voordeliger zijn de gedroogde fermentatiebouillon te gebruiken, en wel als zodanig of verdund met gebruikelijk voer of drinkwater, afhankelijk van de carriomycineconcentratie van de bouillon.

Het middel voor de verbetering van de voerbenutting volgens de uitvin-
10 ding wordt bereid door carriomycine of een zout hiervan te verdunnen met een vast of vloeibaar verdunningsmiddel en/of dit materiaal te verwerken tot toedieningsvormen zoals poeders, stuifpoeders, korrels, tabletten, dranken of capsules, of door carriomycine of een zout hiervan direkt of na voorafgaande dispergering in een verdunningsmiddel toe te voegen aan voer
15 of drinkwater.

Het verdunningsmiddel kan ieder materiaal zijn dat op zich fysiologisch onschadelijk is; bij voorkeur gebruikt men als verdunningsmiddel een materiaal dat zelf een voeder of voedercomponent kan zijn. Voorbeelden van toe te passen vaste dragers zijn ruw voer zoals hooi, weidegras, kuilvoer,
20 enz., concentraten zoals granen (mais, gerst, tarwe, rogge, haver, enz.), oliehoudende meelsoorten (sojameel, saffloormeel, enz.) en zemelen (rijstzemelen, tarwezemelen, enz.), lactose, saccharose, glucose, gist, vismeel, talk, terra alba-klei, enz. Voorbeelden van toe te passen vloeibare dragers zijn water, fysiologische zoutoplossing en fysiologisch onschadelijke organische oplosmiddelen. Het is ook mogelijk andere hulpmiddelen toe te voegen,
25 zoals emulgeermiddelen, dispergeermiddelen, suspendermiddelen, bevochtigingsmiddelen, verdikkingsmiddelen, geleringsmiddelen, oplosbaarmakende middelen, enz., in geschikte hoeveelheden. Verder kunnen conserveermiddelen, fungiciden, groei bevorderende factoren (synthetisch follikel-stimulerend
30 hormoon, enz.), antibiotica, enzympreparaten, melkzuurbacteriepreparaten, enz., worden opgenomen.

De gemakkelijkste en meest praktische methode voor het toepassen van het onderhavige middel voor het verbeteren van de voerbenutting bij herkauwers, zoals vee, geiten en schapen, is de toediening langs orale weg
35 door dit middel in het voer op te nemen. Desgewenst kan het middel echter direkt in de pens van het dier worden gebracht. Hoewel het onderhavige middel in ieder stadium van de groei aan herkauwers kan worden toegediend, kan het onderhavige middel het best worden toegediend nadat de fermentatiefunctie van de pens is opgetreden (bijvoorbeeld circa 3 maanden na de ge-

boorte in het geval van vee).

Hoewel de dosis carriomycine of fysiologisch aanvaardbare zouten hiervan varieert in afhankelijkheid van de soort en de leeftijd van de dieren, bedraagt de dagelijkse dosis circa 60 µg tot 3 mg en bij voorkeur
5 circa 2 µg tot 1,5 mg per kg lichaamsgewicht van de herkauwer. De voorkeursconcentratie van het actieve middel in voeder bedraagt circa 0,3 - 100 ppm en bij voorkeur circa 1 - 50 ppm.

Zo nodig kan het onderhavige middel toegediend worden in combinatie met geringe hoeveelheden eiwitvoer, mineralen, melasse, enz.

10 Carriomycine kan veiliger worden toegediend aan herkauwers dan de gebruikelijke middelen van het polyethertype voor het verbeteren van de benutting van voer.

Bij herkauwers bedraagt de mate van de verbetering in de voerbenutting die door de toevoeging van gebruikelijke middelen teweeg wordt ge-
15 bracht, circa 10 %, terwijl het volgens de uitvinding toegepaste carriomycine een verbetering van circa 15 - 20 % geeft. Bovendien geeft het laatstgenoemde materiaal een toename van het lichaamsgewicht van circa 10 - 20 % ten opzichte van de controlewaarde. Het onderhavige middel is een voortreffelijk toevoegsel voor voer, in het bijzonder omdat het een toename in het
20 lichaamsgewicht van circa 15 % geeft bij toevoeging aan voeder op basis van concentraten.

De onderstaande voorbeelden lichten de effecten van de toediening van carriomycine of een zout hiervan toe.

VOORBEELD I

25 In vitro uitgevoerde pensfermentatieproef met penssap van vee

De met behulp van een buis verkregen pensinhoud van vee dat was gevoerd met rijststro, hooiblokken en concentraat, dat 73,6 % TDN (totaal verteerbaar voedingsmateriaal) en 10,5 % DCP (verteerbaar ruw eiwit) bevatte, werd gefiltreerd door vier lagen kaasdoek; aan het filtraat werd
30 eenzelfde volume McDougall's bufferoplossing toegevoegd onder verkrijging van een gebufferde oplossing van penssap.

Carriomycine en monensine (Journal of Animal Science 43(3), 657-664 (1976)) werden elk opgelost in 1 ml methanol en toegevoegd aan 29 ml van de bovengenoemde McDougall's gebufferde oplossing van penssap. Het mengsel
35 werd gedurende 8 uren volgens de in Journal of Animal Science 45(2), 385-392 (1977) beschreven methode geïncubeerd met 1 g maiszetmeel. De geïncubeerde cultuur werd gedurende 20 minuten bij 3000 omwentelingen per minuut gecentrifugeerd; een vooraf bepaalde hoeveelheid van de zich boven het neerslag bevindende vloeistof werd onderworpen aan gaschromatografie

(FID detector (vlamionisatiedetector)) voor een kwantitatieve bepaling van vluchtige vetzuren die microbiologisch uit het substraat werden gevormd.

TABEL A

Vorming van vluchtige vetzuren na 8 uren
kweken in vitro

5

	Toevoegsel (µg/ml)	Totale hoeveelheid vluchtige vetzuren (mM/l) ^{a)}	Azijn- zuur Propion- zuur Boter- (mol %) ^{b)}		
10	Controle (geen toevoegsel)	35,4	64,2	18,3	17,5
15	Natrium- carriomycine 1	40,3	59,2	25,9	14,9
	3	42,4	59,6	25,3	15,1
	10	41,9	58,1	28,3	13,6
	30	37,8	56,3	31,2	12,5
20	Natrium- monensine 1	38,5	60,1	23,8	16,1
	3	37,7	60,1	24,1	15,7
	10	35,0	59,6	26,2	14,2
	30	32,1	55,1	29,4	15,5

a) De som van de hoeveelheden azijnzuur, propionzuur en boterzuur.

b) Het molpercentage van elk vetzuur, betrokken op de totale hoeveelheid vluchtige vetzuren.

Uit Tabel A blijkt dat de toevoeging van geschikte hoeveelheden carriomycine de totale produktie van vluchtige vetzuren niet verlaagt maar juist verhoogt en een toename van 42 mol % tot 93 mol % in de hoeveelheid propionzuur met een afname in de hoeveelheden azijnzuur en boterzuur bewerkstelligt. De toename in de vorming van propionzuur door toevoeging van carriomycine is hoog vergeleken met de toename door toevoeging van monensine dat een analoge werkzaamheid bezit.

30

VOORBEELD II

Effect van een carriomycine bevattend voeder op het vetmesten van vee

Men gebruikte 15 Japanse bruine fokstieren in groepen van 5 dieren (gemiddeld lichaamsgewicht: 237 kg). De proefdieren werden gedurende 308 dagen gevoerd met diëten die aangevuld waren met 0, 10 en 30 ppm natrium-carriomycine ten einde het effect van carriomycine als dieetsupplement te onderzoeken. Het voer bevatte 9 gew.dln van een concentraat, bevattende 73,6 % TDN en 10,5 % DCP (Tabel B), en 1 gew.dl rijststro met een lengte van 5 cm; dit voer werd onbeperkt aan de dieren ter beschikking gesteld. Afzonderlijk werd mineraal zout onbeperkt ter beschikking gesteld. Verder

hadden de dieren vrij de beschikking over water uit een reservoir. Tijdens de proef werden de voedselopnamen en de lichaamsgewichten met tussenpozen van twee weken geregistreerd en uit de geregistreeerde gegevens berekende men de omzettingsverhouding.

5

TABEL B

Samenstelling van geconcentreerd voer

10

15

Materialen	Percentage
Gerst	30
Mais	40
Tarwezemelen	16
Rijstzemelen, ontvet	6
Sojameel	6
Natriumchloride	1
Calciumcarbonaat	1
Totaal	100

TABEL C

Effect van een carriomycine bevattend voer op het vetmesten van vee (gemiddeld 65 stuks vee)

20

25

Concentratie natriumcarriomycine in dieet (ppm)	Dagelijkse toename lichaamsgewicht ^{a)} (kg)	Dagelijkse voerconsumptie ^{b)} (kg)	Voeromzettingsverhouding ^{c)}
0	0,91	8,66	9,52
10	1,10	8,59	7,81
30	1,05	8,01	7,63

a) Toename lichaamsgewicht tijdens de proefperiode:

aantal dagen van vetmesten

b) Consumptie van voer tijdens de proefperiode:

aantal dagen van vetmesten

30

c) Consumptie van voer: toename lichaamsgewicht

35

De resultaten zijn in Tabel C gegeven. De toevoeging van carriomycine aan het voer veroorzaakte een verhoging van 15 - 21 % in de toename van het lichaamsgewicht zonder een belangrijke verandering in de consumptie van het voer, zodat de verbetering in de voeromzettingsverhouding 18 tot 25 % bedroeg.

VOORBEELD III

Effect van een carriomycine bevattend voer op schapen

Men gebruikte 30 schapen van het Japanse Corriedale-ras met een ge-

8101843

middeld lichaamsgewicht van 24 kg in groepen van 10 dieren. De dieren werden gedurende 70 dagen op een dieet gehouden dat was aangevuld met resp. 0, 3 en 10 ppm natrium-carriomycine ten einde het effect van het toegevoegde carriomycine te onderzoeken. Het voer bevatte 40 % van een fijngemakt hooi op basis van boomgaardgras en timotheegras, 38 % tarwezemelen en 20 % mais, "versterkt" met 1 % calciumcarbonaat en 1 % natriumchloride. Het voer werd onbeperkt ter beschikking gesteld. Verder werd afzonderlijk mineraal zout vrij ter beschikking gesteld. Ook werd drinkwater uit een reservoir onbeperkt ter beschikking gesteld. Tijdens de proefperiode registreerde men de voerconsumptie en de lichaamsgewichten met tussenpozen van 1 week. De voer-omzettingsverhouding werd uit de geregistreerde gegevens berekend.

TABEL D

Effect van een carriomycine bevattend voer op schapen

15	Concentratie van natrium-carriomycine in dieet (ppm)	Dagelijkse gewichtstoename ^{a)} (g)	Dagelijkse voer-consumptie ^{b)} (kg)	Voer-omzettingsverhouding ^{c)}
	0	159	1,48	9,31
	10	185	1,52	8,23
20	30	181	1,46	8,05

a) Toename lichaamsgewicht tijdens de proefperiode:

aantal voederdagen

b) Consumptie voer tijdens de proefperiode:

aantal voederdagen

25 c) Consumptie voer: toename lichaamsgewicht

De resultaten zijn in Tabel D samengevat. De toevoeging van carriomycine aan het voer veroorzaakte een verhoging van 14 tot 16 % in de toename van het lichaamsgewicht zonder dat een belangrijke verandering in de consumptie van het voer optrad, zodat een verbetering van 12 tot 14 % in de voer-omzettingsverhouding verkregen werd.

VOORBEELD IV

Ter verbetering van de voerbenutting bij herkauwers kan men carriomycine en/of een zout hiervan toepassen, bijvoorbeeld in de onderstaande toedieningsvormen.

35	1) Natrium-carriomycine	20 %
	Sojameel	80 %
	Totaal	100 %

De twee materialen werden fijngemaakt en uniform gemengd onder verkrijging van een poeder met 20 % natrium-carriomycine. Dit poeder met 20 %

natrium-carriomycine werd aan het voer toegevoegd in een hoeveelheid van 1,5 - 500 ppm; het verkregen "versterkte" voer werd aan dieren toegediend.

2) Natrium-carriomycine 5 %

Tarwezemelen 95 %

5 Totaal 100 %

De twee materialen werden fijngemaakt en uniform gemengd onder verkrijging van een poeder met 5 % natrium-carriomycine. Dit poeder met 5 %

natrium-carriomycine werd aan voer toegevoegd in een hoeveelheid van 6 - 2000 ppm; het verkregen "versterkte" voer werd aan dieren toegediend.

10 3) Natrium-carriomycine 5 g

• Ethanol 75 ml

Water Rest

Totaal 100 ml

In 75 ml ethanol loste men 5 g natrium-carriomycine op; de oplossing
15 werd met water tot 100 ml aangevuld. Deze ethanolische waterige oplossing werd als zodanig of na verdere verdunning met water toegediend in een hoeveelheid van 0,06 - 20 ml/dag/dier.

C O N C L U S I E S:

1. Samenstelling voor het verbeteren van de benutting van voer door herkauwers, gekenmerkt door een doelmatige hoeveelheid carriomycine of een fysiologisch aanvaardbaar zout hiervan en een drager of verdunnings-
5 middel hiervoor.
2. Samenstelling volgens conclusie 1, met het kenmerk dat de samenstelling een voeder is.
3. Samenstelling volgens conclusie 2, met het kenmerk dat het voeder het carriomycine of een fysiologisch aanvaardbaar zout hiervan in een ge-
10 wichtsconcentratie van circa 0,3 - 100 ppm bevat.
4. Samenstelling volgens conclusies 1 - 3, met het kenmerk dat het fysiologisch aanvaardbare zout een alkalimetaalzout of een aardalkalimetaalzout is.
5. Samenstelling volgens conclusie 4, met het kenmerk dat het alkali-
15 metaalzout het natriumzout is.
6. Werkwijze voor het verbeteren van de benutting van voeder door herkauwers, met het kenmerk dat men aan herkauwers carriomycine of een fysiologisch aanvaardbaar zout hiervan of een samenstelling volgens conclusies
1 - 5 toedient.
- 20 7. Werkwijze volgens conclusie 6, met het kenmerk dat men het carriomycine of een fysiologisch aanvaardbaar zout hiervan oraal toedient in een dagelijkse dosis van circa 60 µg tot 3 mg per kg lichaamsgewicht.
8. Werkwijze volgens conclusie 6 of 7, met het kenmerk dat men het carriomycine of fysiologisch aanvaardbaar zout hiervan of de samenstelling
25 toedient aan vee.
9. Werkwijze volgens conclusie 6 of 7, met het kenmerk dat men het carriomycine of fysiologisch aanvaardbaar zout hiervan of de samenstelling toedient aan schapen.