



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115916955 A

(43) 申请公布日 2023. 04. 04

(21) 申请号 202180039495.7

(22) 申请日 2021.04.12

(30) 优先权数据

63/008,348 2020.04.10 US
63/008,352 2020.04.10 US
63/008,356 2020.04.10 US
63/008,357 2020.04.10 US
63/008,363 2020.04.10 US
63/008,373 2020.04.10 US
17/102,287 2020.11.23 US
63/117,390 2020.11.23 US
63/124,383 2020.12.11 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.12.01

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2021/053022 2021.04.12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/205420 EN 2021.10.14

(71) 申请人 蓝色海洋巴恩斯公司

地址 美国夏威夷州

(72) 发明人 维维恩·海 马修·罗特

约安·萨尔文 迈克尔·布拉科

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

专利代理师 张珊珊 陈九洲

(51) Int.Cl.

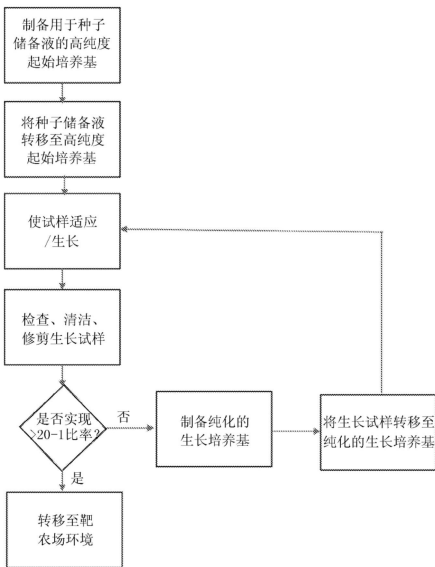
C12N 1/12 (2006.01)

(54) 发明名称

包含藻类的组合物及使用其用于提高动物产品产生的方法

(57) 摘要

本技术一般性地涉及用于确定红藻在牲畜饲料和牲畜补充剂中的包含率的方法。



1. 来源于紫杉状海门冬 (*Asparagopsis taxiformis*) 的生物质, 所述生物质包含等于或小于约700:1的卤代代谢物与碘之比。

2. 权利要求1所述的生物质, 其中所述紫杉状海门冬是紫杉状海门冬四分孢子体。

3. 权利要求1或2所述的生物质, 其中所述卤代代谢物选自图1的结构1至78中的任一种或其任意组合。

4. 权利要求1或2所述的生物质, 其中所述卤代代谢物包含溴仿。

5. 权利要求3所述的生物质, 其中所述生物质中存在的溴仿的量为每克所述生物质的总重量中等于或大于约8mg。

6. 权利要求4所述的生物质, 其中所述生物质在非连续天内维持溴仿浓度为等于或大于约8mg/g的溴仿。

7. 权利要求4所述的生物质, 其中所述生物质包含浓度为每微克冻干生物质中约3000至约20000 μ g的溴仿。

8. 权利要求1至7中任一项所述的生物质, 其中所述紫杉状海门冬是非丝状的。

9. 权利要求8所述的生物质, 其中所述紫杉状海门冬保持非丝状至少约12个月。

10. 权利要求9所述的生物质, 其中所述紫杉状海门冬保持非丝状至少约24个月。

11. 权利要求1所述的生物质, 其中所述生物质不是配子体来源的。

12. 用于培养权利要求1至7中任一项所述的生物质的方法, 所述方法包括:

i) 收集亲本紫杉状海门冬植株;

ii) 对i)的所述植株进行操作以获得基本上不含污染物的海门冬属 (*Asparagopsis*) 的丝状体; 以及

iii) 选择表现出增大的腺细胞的紫杉状海门冬。

13. 用于在反刍动物中降低甲烷产生的方法, 所述方法包括向所述反刍动物施用药10g/天至约60g/天的权利要求1至11中任一项所述的生物质。

14. 用于在反刍动物中降低甲烷产生的方法, 所述方法包括向所述反刍动物施用药10g/天至约30g/天的权利要求1至11中任一项所述的生物质。

15. 用于在反刍动物中降低甲烷产生的方法, 所述方法包括向所述反刍动物施用药5g/天至约25g/天的权利要求1至11中任一项所述的生物质。

16. 权利要求12至15中任一项所述的方法, 其中所述生物质在非连续天内施用。

17. 权利要求12至16中任一项所述的方法, 其中所述紫杉状海门冬不是配子体也不是丝状四分孢子体。

18. 权利要求12至17中任一项所述的方法, 其中所述施用每1.5天、每2天、每3天或每4.5天进行一次。

19. 权利要求12至17中任一项所述的方法, 其中所述施用每7天进行一次。

20. 包含藻类饲料补充剂的试剂盒, 其包含:

- 按所述藻类饲料补充剂的干重计至少约20%的中性膳食纤维 (NDF);

- 按所述藻类饲料补充剂的干重计至少约16%的蛋白质;

- 按所述藻类饲料补充剂的干重计少于约3000ppm的碘; 以及

- 按所述藻类饲料补充剂的干重计至少约2.5%的卤代代谢物。

21. 权利要求20所述的试剂盒, 其中所述藻类饲料来源于紫杉状海门冬生物质。

22. 权利要求21所述的试剂盒,其中所述紫杉状海门冬是紫杉状海门冬四分孢子体。
23. 权利要求20至22中任一项所述的试剂盒,其中所述卤代代谢物选自图1的结构1至78中的任一种或其任意组合。
24. 权利要求20至23中任一项所述的试剂盒,其中所述卤代代谢物包含溴仿。
25. 权利要求20至24中任一项所述的试剂盒,其还包含用于饲喂时用所述藻类饲料补充剂替换至多约0.5%的全混合日粮(TMR)的说明。

包含藻类的组合物及使用其用于提高动物产品产生的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年4月10日提交的美国临时专利申请No.63/008,348;2020年4月10日提交的美国临时专利申请No.63/008,352;2020年4月10日提交的美国临时专利申请No.63/008,357;2020年4月10日提交的美国临时专利申请No.63/008,356;2020年4月10日提交的美国临时专利申请No.63/008,363;2020年4月10日提交的美国临时专利申请No.63/008,373;2020年11月23日提交的美国植物专利申请No.17/102,287;以及2020年11月23日提交的美国临时专利申请No.63/117,390;以及2020年12月11日提交的美国临时专利申请No.63/124,383的权益和优先权,其全部内容通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 本技术一般性地涉及藻类来源的生物物质和包含其的组合物。本技术还一般性地涉及这样的藻类来源的生物物质和包含其的组合物在用于饲喂动物的方法中、在用于提高动物产品产生的方法中、以及在降低来自动物的甲烷排放的方法中的用途。

背景技术

[0004] 产甲烷(即,由反刍动物产生甲烷)是全球温室气体排放的主要贡献因素。科学文献已表明,当卤代化合物作为饮食的一部分来饲喂时,肉牛(beef cattle)和乳牛(dairy cow)的甲烷(CH_4)产生降低。参见,例如Roque et al.,2020:“一些卤代烷是 CH_4 的结构类似物,并且因此竞争性地抑制 CH_4 生物合成中所必需的甲基转移反应。 CH_4 类似物包括溴氯甲烷(bromochloromethane,BCM)、溴仿和氯仿,并且已被证明是用于降低 CH_4 产生的最有效的饲料添加剂”。卤代化合物有两种潜在来源:人工合成和天然产生。发现通过补充海门冬属(*Asparagopsis* spp.)来施用的天然合成的溴仿比合成的甲烷类似物更有效(Machado et.al.2018)。已经发现补充按干重计每克包含7.8mg溴仿的紫杉状海门冬(*Asparagopsis taxiformis*)配子体在147天的时间内在饲喂补充0.5%海藻的低牧草全混合日粮(low forage total mixed ration,LF-TMR)的阉牛中减少80%的甲烷气体产生的降低(Roque, 2020)。

[0005] 尽管紫杉状海门冬(*Asparagopsis taxiformis*,AT)具有效力,但其作为饲料添加剂在反刍动物中抑制产甲烷的潜力受到数个因素的限制。这些包括其令人不愉快的气味、高碘含量、附生性质以及缺乏合成卤代化合物的物质浓度的能力(特别是在雄性AT试样中)。

[0006] CSIRO、澳大利亚肉类与畜牧业协会(Meat and Livestock Australia)和詹姆斯·库克大学(James Cook University)也是美国专利9,980,995:Method for reducing total gas production and/or methane production in a ruminant animal的持有者,该专利通过引用并入本文。该专利描述了有效量的红色海洋大型藻类作为饲料补充剂的施用,结果是甲烷产生降低。该物种的红色大型藻类形式紫杉状海门冬被特别鉴定为该物种的在该方法中有效的一种生命阶段(lifestage)形态类型。该专利还提到了海门冬属的丝

状四分孢子体生命阶段。

[0007] 美国专利申请2019/0174793, Growth performance improvements in pasture and feedlot systems, 公开了用于在多种农业系统 (farming system) 中改善牲畜动物生长性能的方法, 包括向农业系统提供红色海洋大型藻类以使该红色海洋大型藻类能够被消耗; 该专利通过引用并入本文。

[0008] 美国专利申请2019/0174793描述了这样的制剂: 该制剂使得对于以牧草维持的动物, 每天向所述动物提供红色海洋大型藻类; 并说明了每天在干物质基础上约1%至5%的藻类的量或在有机物质基础上1%至3%的量。美国专利申请2019/0174793还公开了: 对于畜牧场 (feedlot) 中处于肥育饮食 (finishing diet) 中的动物, 向动物提供约200至600g/天的藻类。在一个实例中, 该申请公开了作为饲料预混合物的潜在原料的海门冬属丝状四分孢子体生命阶段。

[0009] 本技术克服了具有本领域中观察到的缺点的观察到的那些挑战中的至少一些。

[0010] 附图简述

[0011] 并入本文并形成本说明书一部分的附图举例说明了本公开内容, 并与本说明书一起进一步用于解释其原理, 并使相关领域的技术人员能够制备和使用它们。

[0012] 图1示出了包含卤代代谢物和碘的靶代谢物。

[0013] 图2示出了四分孢子体物质在苗圃 (nursery) 中作为“丝状”形式 (锥形瓶中的均匀红色物质), 以及作为深红色漂浮球体的“膨化球 (puffball)”形式的生长。

[0014] 图3示出了非丝状四分孢子体形式的近景照片 (closeup)。

[0015] 图4示出了非丝状四分孢子体形式的另一张近景照片。

[0016] 图5示出了以下的流程图: 根据本技术的一个实施方案的用于培养增强周期的方法, 所述培养增强周期能够逐步改善卤代代谢物的合成, 其在四分孢子体生命阶段中迫使靶生物物质内的碘浓度较低。

[0017] 图6示出了天然存在的配子体 (亲本植株) 以及四分孢子体与配子体之间的一些解剖学差异, 例如在植株的尺寸和形状方面。

[0018] 图7示出了在实验室中生长的四分孢子体物质的显微照片。注意异常大的腺细胞 (橙色/黑色点)。腺细胞包含活性成分 (溴仿)。大的腺细胞指示异常高浓度的溴仿。

[0019] 图8是产生不期望的孢子的四分孢子体的显微照片。孢子使来自生长和溴仿合成的能量降低。

[0020] 图9是用作育种和培养程序的起始物质的野生四分孢子体的照片。

[0021] 图10示出了举例说明根据本技术的一个实施方案的计算牲畜饲料和补充剂中红藻的精确包含率的系统的图。

[0022] 图11示出了举例说明根据本技术的一个实施方案的其中生物学方法用于合成和包封溴仿的系统的图。

[0023] 图12示出了显示计划的间歇性饲喂对乳的影响的图。

[0024] 图13示出了显示计划的间歇性饲喂对牛肉影响的图。

[0025] 技术概述

[0026] 本技术试图解决上述问题或限制中的一个或更多个。以下对本技术实施方案的描述并非旨在将本技术限制于这些实施方案, 而是使本领域技术人员能够制备和使用本技

术。

[0027] 在一些方面中,本技术涉及来源于紫杉状海门冬的生物质,所述生物质包含等于或小于约700:1的卤代代谢物与碘之比。在一些方面中,本技术涉及来源于紫杉状海门冬的生物质,所述生物质包含约5:1至约700:1的卤代代谢物与碘之比。在一些方面中,本技术涉及来源于紫杉状海门冬的生物质,所述生物质包含等于或大于约700:1的卤代代谢物与碘之比。在一些情况下,紫杉状海门冬是紫杉状海门冬四分孢子体。在一些情况下,卤代代谢物选自图1的结构1至78中的任一种或其任意组合。

[0028] 在一些方面中,本技术涉及用于培养如本文中所限定的生物质的方法,所述方法包括:i)收集亲本紫杉状海门冬植株;ii)对i)的植株进行操作以获得基本上不含污染物的海门冬属的丝状体;以及选择表现出增大的腺细胞的紫杉状海门冬。

[0029] 在一些方面中,本技术涉及用于在反刍动物中降低甲烷产生的方法,所述方法包括向反刍动物施用约10g/天至约60g/天的如本文中所所述的生物质。

[0030] 在一些方面中,本技术涉及用于在反刍动物中降低甲烷产生的方法,所述方法包括向反刍动物施用约10g/天至约30g/天的如本文中所限定的生物质。

[0031] 在一些方面中,本技术涉及用于在反刍动物中降低甲烷产生的方法,所述方法包括向反刍动物施用约5g/天至约25g/天的如本文中所限定的生物质。

[0032] 在一些方面中,本技术涉及包含藻类饲料补充剂的试剂盒,其包含:按藻类饲料补充剂的干重计至少约20%的中性膳食纤维(neutral dietary fiber,NDF);按藻类饲料补充剂的干重计至少约16%的蛋白质;按藻类饲料补充剂的干重计少于约3000ppm的碘;以及按藻类饲料补充剂的干重计至少约2.5%的卤代代谢物。

具体实施方式

[0033] 下面更详细地说明本技术。该描述不旨在成为可以实施本技术的所有不同方式或可以添加到本技术中的所有特征的详细目录。例如,关于一个实施方案举例说明的特征可以被并入到另一些实施方案中,以及关于一个具体实施方案举例说明的特征可以从该实施方案中删除。另外,根据本公开内容,本文中提出的多种实施方案的许多变型方案和添加方案对于本领域技术人员将是明显的,所述变型方案和添加方案不脱离本技术。因此,以下描述旨在举例说明本技术的一些具体实施方案,而不是详尽地说明其所有排列、组合和变型。

[0034] 除非上下文另外清楚地指出,否则本文中使用的单数形式包括复数指代物。

[0035] 本文中通过端点记载的数值范围旨在包括该范围内包含的所有数字(例如,1至5的记载包括1、1.5、2、2.75、3、3.80、4、4.32和5)。

[0036] 无论术语“约”在本文中是否明确使用,本文中给出的每个量都意在是指实际的给定值,并且其还意在是指这样的给定值基于本领域普通技术人员合理推断的近似值,包括对于这样的给定值由于实验和/或测量条件而导致的等效值和近似值。例如,术语“约”在给定值或范围的上下文中是指在给定值或范围的20%以内,优选地15%以内,更优选地10%以内,更优选地9%以内,更优选地8%以内,更优选地7%以内,更优选地6%以内,并且更优选地5%以内的值或范围。

[0037] 本文中所使用的表述“和/或”应被视为具体公开了两个指定特征或组件中的每一者,两者兼具或者单独具有。例如“A和/或B”被认为具体公开了以下中的每一者:(i)A、(ii)

B、以及 (iii) A和B,就如同每一者在本文中单独陈述一样。

[0038] 当量词例如“小于/少于”、“多于”或“大于”修饰以逗号分隔的数字或数量或比例的列表,例如“1、2.5、3、…”或“一、二、三…”时,其目的是量词适用于列表中的每个成员。例如,“ α 大于约1、2、或3、或4”意指“ α 大于约1,或 α 大于约2,或 α 大于约3”。

[0039] 仅雌性紫杉状海门冬品种合成了大于标称量的溴仿,这意味着百分之五十(50%)的生物质对整体产生效率没有有意义的贡献。在本技术的情况下,不仅百分之一百(100%)的生物质合成了溴仿,从而使产生效率几乎加倍,而且本技术的生物质本身累积了比先前用雌配子体可达到的更高水平的溴仿。本技术的进一步益处包括减少气味、降低碘含量以及拒绝附生植物,这有利于成本有效地大量产生高品质添加剂。本技术的紫杉状海门冬品种在解剖学上以多种方式与亲本植株区分开来,并在新的培养环境下通过营养性育种程序来提高溴仿浓度来实现。最初进行了测试以测试典型的野生紫杉状海门冬配子体的溴仿,并且发现典型样品的每克冻干物质包含6.63mg溴仿,与Machado报道的值紧密匹配。接下来,收获了野生紫杉状海门冬四分孢子体,如图9中所示,并且发现其仅包含1.1mg/g的溴仿。即使在培养容易性提高的情况下,该溴仿水平也将使牛的市售补充剂昂贵。出乎意料的是,本研究者发现,在受控条件下,可开发出针对通常包含9.4mg/g或更多溴仿的紫杉状海门冬四分孢子体提供的独特品种和培养条件。例如,使用这些方法已经获得了培养的具有18.5mg/g HCBBr_3 的紫杉状海门冬四分孢子体样品。同样地,另一些紫杉状海门冬四分孢子体样品已显示出碘水平为0.142mg/g。该样品在干物质中的 HCBBr_3 与I之比为83.8w/w。

[0040] 尽管在典型的培养条件下,海门冬属四分孢子体迅速成熟为先前作为饲料补充剂进行研究的丝状形式,但在本发明的条件下,四分孢子体维持非丝状外观、生长迅速、表现出高溴仿浓度、具有低的碘浓度/溴仿浓度比并且可在生物反应器中在这些阶段保持无限期时间。这些形态类型可被描述为“膨化球”形式。丝状膨化球形式和非丝状膨化球形式二者在图2至4中示出。

[0041] 此外,可补充包含在本文中所述条件下生长的四分孢子体品种的补充剂,而不需要向生物质添加通常用于提高适口性和阻止拒绝饲料(feed refusal)所需的糖蜜(molasses)。在另一个方面中,本技术的饲料补充剂组合物不包含甜味剂,例如但不限于糖蜜、高果糖玉米糖浆、蔗糖、果糖、木糖醇、山梨糖醇或其他醇糖开胃剂(appetant)。

[0042] 在又一个方面中,本技术的饲料补充剂组合物可针对以牧草放牧的动物以小于10g/天、或7.5g/天、或5g/天的在此所述藻类生物质的速率用于补充动物。在又一个方面中,本技术的饲料补充剂组合物可针对处于肥育饮食中的动物以小于200g/天、小于约150g/天、小于100g/天或50g/天的在此所述藻类生物质的每日补充速率用于补充处于肥育饮食中的畜牧场动物。一般性地,动物具有不同的补充速率,这取决于它们是否是针对乳或肉而被饲喂、仅以牧草放牧、仅以谷物放牧、或者处于过渡饮食,特别地,本文中所述的算法和补充速率及方法将考虑中性膳食纤维(NDF,或有时称为aNDF)的量。

[0043] 另外地,本研究者发现了如何诱导“膨化球”形式的四分孢子体的生长和无限期维持,所述四分孢子体显示出是在形态上和化学类型上(chemotypically)与图6中示出的配子体大型藻类阶段非常不同的微观寡细胞形式。特别地,本研究者发现,这些四孢子体品种(特别是形态类型)中的某些非常好地适合于用作作为卤代化合物的来源的饲料补充剂以抑制产甲烷、促进动物(例如反刍动物)的生长以及提高来源于此的产品的品质。

[0044] 在一个实施方案中,本技术因此涉及通过上述收集、操作、解剖和选择过程产生的紫杉状海门冬。所得的植株是小红藻,其包含图7中示出的细胞的微观支链。不同于其中细胞具有经分化的功能(附着器、茎、叶片等)的配子体形式,四分孢子体中的细胞不是经高度分化的。相反,具有四个细胞的各簇大致相等,并且这些簇在一起串成长链。颜色范围从淡粉色到红色到深樱桃色。各分枝均包含储存溴仿的腺细胞。这些腺细胞的颜色为深红色至棕色,其中较深的颜色指示较高的溴仿浓度。该植株不是生根的而是自由漂浮在水中。其从水中获得所有其的有机和无机营养物,并且可以以这种状态无限期地生活。

[0045] 在一个实施方案中,该品种在解剖学上与其他品种的区别在于第三阶段(四分孢子体阶段)的停滞(stasis)。野生AT通常遵循通过三个生命阶段(配子体、果孢子体和四分孢子体)的进展。本发明的品种停滞在四分孢子体阶段。这是特别有益的,因为百分之一百(100%)的四分孢子体产生高水平的溴仿,相比之下仅百分之五十(50%)的配子体合成有意义的量的溴仿。另外,由于本发明的四分孢子体处于停滞阶段,因此它们不产生孢子,这与图8中示出的四分孢子体形式不同。这意味着它们可将所有能量用于生长,这与甚至较高的溴仿浓度相关。

[0046] 此外,在一个实施方案中,本发明的品种甚至在四分孢子体类别中也是特异性的。尽管在任其发展时四分孢子体从“膨化球”转变为丝状形式,但本发明的四分孢子体可维持在“膨化球”阶段。这是有利的,因为“膨化球”形式比丝状形式生长得更快。同样,这可与更高的溴仿浓度相关。

[0047] 本技术的品种不仅限于“膨化球”形式,而且还涵盖较大的“棉球(cotton ball)”形式和较长的“丝状”链。

[0048] 鉴于这些解剖学差异,本发明的品种的组成与母体品种是实质上不同的。特别地,本发明的品种具有高得多的溴仿与碘之比。不希望受特定理论的束缚,认为较低的碘水平可部分地是由于溴仿合成率高且储存率高,替代了腺细胞(溴仿储存在其中)中的碘,如下表1中概述的:

[0049] 表1:配子体和四分孢子体中的溴仿和碘含量的比较

样品	物质类型	碘	平均溴仿	溴仿与碘之比
		(ppm)	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g} : \text{ppm}$)
AT 牛肉袋 1	配子体	2265	7961	3.5
AT 牛肉袋 15	配子体	2336	7371	3.2
AT 牛肉袋 21	配子体	2201	8192	3.7
野生四分孢子体	四分孢子体	* >67.4	**500 至 1500	*<<22.3
AT <i>brominata</i>	四分孢子体	67.4	9600	142.4

[0052] *因为确定了在此研究的藻类生物质的类型中的溴仿含量与碘含量之间存在强的负相关性,所以主张在此测定的野生四分孢子体中根据溴仿的碘含量显著高于AT

brominate变体中的。

[0053] **这是预期存在于野生收获类似海门冬属中的溴仿的典型范围。

[0054] 其他区别特征包括植株的味道和气味。虽然天然存在的配子体倾向于有恶臭,但本发明的四分孢子体具有低气味。这是有益的,因为低气味食物倾向于更适口。

[0055] AT倾向于作为附生植物生长。本发明的品种是独特的,因为其作为单独的藻类物种生长。这对藻类培养有许多优点,包括所有营养物均用于AT而不是竞争性物种的生长,并且提高了产品纯度的事实。然而,AT是脆弱的物种,高度易受害虫、疾病和竞争性藻类的影响。可通过多种机制阻止害虫或污染物的引入,所述机制例如但不限于:纯化循环、维持烧瓶中的正气压、在烧瓶上使用塞以阻止物质进入、穿实验外套和使用鞋垫(dip)以阻止害虫或污染物进入实验室。此外,AT对运输或环境变化具有低抗性。其可被温度或光强度的变化杀伤或漂白(bleached)。鉴于这种敏感性,植株在受控的环境条件下生长。光由白炽灯、卤素灯、LED灯、荧光灯、高强度放电灯、金属卤化物灯、高压钠灯或其他合适的灯提供,并在种子库和苗圃中使用60%至80% Blue Pearl遮光布维持在10至100mE下。经适当过滤并有足够的持续时间的经合适过滤和控制的自然光(如果可用的话)也可用作主要光源,或用作本文中所指定的人工光源的补充或补足,但优选严格控制的人工提供的光。光周期维持在12小时/天以阻止孢子形成。在苗圃内,将烧瓶通气以确保藻类具有足够的CO₂供给用于光合作用和足够的O₂供给用于呼吸。通气也用于促进生物质的运动。这确保了所有藻类均获得光,降低了生物膜的形成,并阻止了藻类结块,藻类结块可产生其中细菌或污染物生长的缺氧环境。营养物以约在表2中示出的浓度通过F/2培养基提供。全天温度维持在65°F至85°F(约18至30摄氏度)下。

[0056] 表2:F/2培养基中营养物的浓度

营养物	浓度(ml/L)
氮	6.998
磷酸盐	1.500
维生素B1	0.053
维生素B12	痕量
生物素	痕量
铁*	0.735
锰*	0.026
钴*	0.002
锌*	0.003
铜*	0.001
钼酸盐*	0.001

[0058] *仅添加人工海水而非深海水

[0059] 在这些条件下生长的本发明的紫杉状海门冬品种是与亲本植株不同的稳定且均匀的培养物。野生型海门冬属具有不愉快的气味、高碘含量、附生性质以及缺乏合成卤代化合物的物质浓度的能力(特别是在雄性试样中)。本发明的品种具有较高的溴仿含量、较低的气味、较低的碘、不存在附生植物并且停滞在四分孢子体阶段。这些解剖学上的区别特征有利于成本有效地大量产生高品质添加剂。在该阶段之后,可将该生物体转移至室外生长。

[0060] 在一个变型中,本技术提供了紫杉状海门冬来源的生物物质,其中溴仿与碘之比为等于或大于约5:1、10:1、15:1、20:1、25:1、50:1、75:1、100:1、150:1、200:1、300:1、400:1、500:1、600:1或700:1。

[0061] 在另一个变型中,本技术提供了非丝状紫杉状海门冬来源的生物物质,其包含每克干物质中大于约5、约6、约7、约8、约9、10、约11、约12、约15或约20mg的溴仿(w/w)。

[0062] 在另一个变型中,本技术提供了非丝状紫杉状海门冬四分孢子体来源的生物物质,其通过在连续通气诱导的循环流生物反应器中不附着地培养而获得。

[0063] 在一个变型中,本技术提供了非丝状紫杉状海门冬来源的生物物质,其连续生长1、2、3、4、5、6、7、9或10周。

[0064] 本技术还提供了通过包含种子库、苗圃和室外阶段的培养周期产生的非丝状紫杉状海门冬藻类生物物质,所述培养周期跨越约8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24个月。

[0065] 本技术还提供了通过包含种子库、苗圃和室外阶段的培养周期产生的非丝状紫杉状海门冬藻类生物物质,所述培养周期跨越多于约12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24个月。

[0066] 本技术还提供了通过包含种子库、苗圃和室外阶段的培养周期产生的非丝状紫杉状海门冬藻类生物物质,所述培养周期跨越多于约16、17、18、19、20、21、22、23或24个月。

[0067] 本技术还提供了通过包含种子库、苗圃和室外阶段的培养周期产生的非丝状紫杉状海门冬藻类生物物质,所述培养周期跨越多于约20、21、22、23或24个月。

[0068] 本技术还提供了通过连续的培养周期产生的非丝状紫杉状海门冬藻类生物物质,在所述培养周期可收获包含可接受浓度的溴仿的自由漂浮的四分孢子体,同时使未实现可接受水平的溴仿的自由漂浮的四分孢子体留在生物反应器中以用于进一步成熟。溴仿的水平可包括每克冻干生物物质中约3000至约20000 μg 的水平。在另一个变型中,溴仿的水平可包括每克冻干生物物质中约5000至约18000 μg 的水平。在另一个变型中,溴仿的水平可包括每克冻干生物物质中约7000至约12000 μg 的水平。在另一个变型中,溴仿的水平可包括每克冻干生物物质中约9000至约11000 μg 的水平。在又一个变型中,溴仿的水平可包括每克冻干生物物质中约20000至约30000 μg 的水平。

[0069] 本技术还提供了通过其中生长容器中的生物物质密度小于约10g/L的培养周期产生的非丝状紫杉状海门冬藻类生物物质。

[0070] 在又一个变型中,本技术提供了通过在生物反应器中以小于约10g/l的新鲜生物物质的密度持续约8个月至约24个月的时间的连续培养周期产生的非丝状紫杉状海门冬藻类生物物质,其产生如在冻干生物物质中测量的约9000 $\mu\text{g/g}$ 至约20000 $\mu\text{g/g}$ 的溴仿含量。

[0071] 在又一个变型中,本技术提供了通过在生物反应器中以小于约10g/l的新鲜生物物质的密度持续约8个月至约24个月的时间的连续培养周期产生的非丝状紫杉状海门冬藻类生物物质,其产生如在冻干生物物质中测量的约2000 $\mu\text{g/g}$ 至约30000 $\mu\text{g/g}$ 的溴仿含量。

[0072] 在一些实施方案中,本技术涉及用于培养与亲本植株相比具有更高溴仿浓度、更低气味、更低碘和更高纯度的紫杉状海门冬的品种的方法。所述品种的特征适合于大规模藻类培养和用作牛饲料添加剂。所述方法包括3个阶段,如图5中所示:

[0073] i) 收集亲本植株;

[0074] ii) 在“种子库”室中进行操作、解剖和生长;以及

[0075] iii) 从种子储备液中选择合适的物质。

[0076] 对于收集亲本植株的步骤,从藻类草皮或如野生的自由漂浮的藻类中收集野生型紫杉状海门冬(AT)。对于在“种子库”室中进行操作、解剖和生长的步骤,在解剖显微镜下对样品进行观察和操作以在可能的程度下分离AT的干净丝状体并分离出污染物(例如,附生植物、其他藻类、海洋动物、受污染或不健康的AT)。从母体植株上切下极小的分枝,并置于有海水的无菌孔板中,每个孔包含360 μ L的水。将这些样品维持在“种子库”(具有受控的温度条件、污染保护和具有每天12小时光周期的小心校准的光的房间)中。定期检查培养物。当其尺寸超过两倍时,将其加速置于较大的无菌孔板中,并随后再次置于有30ml海水的无菌试管中。

[0077] 对于从种子储备液中选择合适物质的步骤,在试管中7天之后,将迅速生长并且在放大倍数下显示出完全不含附生植物和污染生物体的物质升级至250ml烧瓶中,并移动至苗圃。另外的选择步骤可包括选择表现出比通常的腺细胞更大的升级(promotion)生物体。从未达到这些标准的物质中,将代表新生长的尖端从该物质上切下,将尖端放回至有海水的的海水最小无菌孔板中,再次开始该过程。种子库内的光照水平和温度被控制在10至100 μ E和65°F至85°F以确保持续生长。生长培养基是以F/2培养基的形式补充有微量营养物。

[0078] 与种子库中的一样,使苗圃中的物质在小心维持的环境中生长,所述小心维持包括控制光(光强度、光谱、光周期)、温度、微量营养物和通气。此外,将烧瓶通气以确保藻类具有足够的CO₂供给用于光合作用和足够的O₂供给用于呼吸。通气还促进生物质的运动(有利于确保获得光并阻止生物膜的形成)。

[0079] 在整个过程中,根据植株的需要使用深海水或人工海水。通常在植株最容易受害虫和疾病影响的过程早期使用人工海水,并且在过程后期使用深海水,因为其包含加速植株生长的丰富的营养物的混合物。

[0080] 在一些实施方案中,本技术提供了计算包含率、甲烷降低水平的方法,以及一般性地间歇性饲喂海门冬属的方法,并且更具体地,这些在美国临时专利申请63/117,390中公开,其整体并入本文。

[0081] 倾向于定期将海门冬属作为乳牛的TMR(全混合日粮)的一部分饲喂乳牛。然而,最近发现,在乳牛停止食用海藻之后,海门冬属的阻止甲烷作用持续了数天。该发现开辟了维持海门冬属补充剂的相同或类似影响的可能性,但需要间歇性而不是定期饲喂。有数种可能的时间方案用于这种新的方法。

[0082] 除了其比普通牧草更高的碘水平之外,红色海洋藻类包含与普通饲喂的草(grass)牧草型饲料(例如苜蓿干草(hay)和草干草)相当的矿物质、能量和大量营养物的水平。海藻在碘浓度上差异极大,其中一些具有这样的高水平:如果在长时间的时间段内定期消耗则其会对动物和人造成健康威胁。红色海洋藻类显示出在这种状态中,其碘水平高达9000ppm。

[0083] 乳碘水平与乳牛的碘摄入水平直接相关,其中所消耗的碘中约2%直接进入到乳中。如果乳牛显著超过了其每日碘摄入水平,则其乳将超过推荐的人的碘摄入水平。来自每天饲喂包含占有有机物质的0.5%的红色海洋藻类的饮食的牛的肉碘水平相对于未饲喂红色海洋藻类的牛升高。碘的浓度与红色海洋藻类中降低气体排放的靶组分的浓度负相关。在

一个方面中,该靶组分是溴仿。在另一个方面中,靶组分可以是选自图1中示出的结构组的化合物。碘的浓度通常与在红色海洋藻类中促进生长性能改善的靶组分的浓度负相关。

[0084] 通常地,饲喂藻类用于使甲烷降低约80%的乳牛当连续饲喂藻类时显示出其乳中的碘为约0.9mg/kg。未饲喂藻类的乳牛的乳碘水平通常为约0.4mg/kg。本研究者发现在间歇性饲喂方案的情况下,可实现类似水平的甲烷降低,同时使乳的碘含量降低至约0.8mg/kg或更低,特别是当乳牛被饲喂“膨化球”形态类型的紫杉状海门冬或刺海门冬(*Asparagopsis armata*)四分孢子体时。

[0085] 在一个特定的情况下,发现来自未经补充的乳牛的乳每千克包含约0.3mg的碘。另一方面,来自连续补充有配子体形式的海门冬属的乳牛的乳每千克包含约6.5mg的碘以实现80%甲烷降低。这提高了6.2mg/kg。在间歇性饲喂(每隔一天饲喂)的情况下,预测提高了仅3.1mg/kg,总共约3.4mg/kg。因此,间歇性饲喂方法也可单独使用,或与使用藻类生物来源的具有低碘含量的补充剂组合使用,以降低经补充的动物的总碘暴露。

[0086] 红色海洋藻类具有复杂的三相生命史,其具有有独特的性状和特征的不同生命阶段。另外,已发现在这些生命阶段中的一些阶段内,可存在不同的形态类型,其作为饲料补充剂特别有效,特别是用于在哺乳动物(包括反刍动物)中促进有效生长和甲烷气体排放降低特别有效。对于具有三相生命史的红色海洋藻类,世代在二倍体阶段与单倍体阶段之间交替。成熟的单倍体或配子体阶段的特征在于类似于根结构的附着器,其固定在珊瑚礁或其他基质上。在二倍体阶段中,四分孢子体形成并扩散到周围的草坪周围。用于将并入到动物饲料、人食品和化妆品中的红色海洋藻类的传统藻类培养技术大多依赖于收获混合性别的配子体生命阶段的植株。雄性红色海洋大型藻类配子体比雌性红色海洋大型藻类配子体包含更低浓度的在反刍动物中降低气体排放的靶组分。这种配子体形式包含附着器、叶柄和植物体(frond),其是导致被称为“大型藻类”的宏观形式。然而,在一些情况下,藻类的特定物种可呈现出微观的寡细胞形式,其显示为在形态上和化学类型上与大型藻类形式非常不同。特别可用于本技术的实施方式的这种形态类型是包含细胞支链的小红藻。不同于其中细胞具有经分化的功能(附着器、叶柄、植物体等)的配子体形式,四分孢子体中的细胞不是经高度分化的。相反,具有四个细胞的各簇大致相等,并且这些簇在一起串成长链。颜色范围从淡粉色到红色到深樱桃色。根据其培养条件,其可呈现与文献中提到的天然存在的丝状形式不同的“膨化球”形式。雄性红色海洋大型藻类配子体与雌性红色海洋大型藻类配子体相比包含更低浓度的在反刍动物中促进生长性能改善的靶组分。雄性红色海洋大型藻类配子体与雌性红色海洋大型藻类配子体相比包含更高浓度的氮。在雄性与雌性红色海洋大型藻类配子体的所有部分中,雌性的囊果壁具有最高浓度的在反刍动物中降低气体排放的靶组分和最低浓度的碘。

[0087] 在雄性与雌性红色海洋大型藻类配子体的所有部分中,雌性的囊果壁具有最高浓度的在反刍动物中促进生长性能改善的靶组分和最低浓度的碘。包含在囊果内的果孢子几乎不含溴仿。雌配子体的囊果是在配子体植物体的尖端处的棒状结构。它们从茎上的植物体中略微突出。使基于配子体的生物质有效包含在动物饲料中可被不足的靶组分浓度影响而无法以成本有效的包含率实现期望的结局。雄性和雌性二者的红色海洋大型藻类的成熟配子体生命阶段与该植株的四分孢子体生命阶段相比包含实质上更高水平的气味触发化合物。据认为,这些气味触发化合物包含碘或碘化物(其含有化学物质)。

[0088] 另外,本研究者阐明了如何诱导“膨化球”形式的四分孢子体的生长和无限期维持,所述“膨化球”形式的四分孢子体显示出在形态上和化学类型上与配子体大型藻类阶段非常不同的微观的寡细胞形式。特别地,本研究者已发现,这些四分孢子体品种中的某些(特别是某些形态类型)非常好地适合于作为卤代化合物的来源用作饲料补充剂以抑制产甲烷、促进动物(例如反刍动物)的生长以及提高来源于此的产品的品质。

[0089] 鉴于此,需要能够实现靶代谢物浓度的培养方法,以能够以比10至30g/天更低的不同水平有效使用卤代代代谢物 $\mu\text{g/g}$ 与碘ppm之比大于约150:1的藻类生物质的组合物,同时使气味和碘的过补充最小化。

[0090] 在本技术的一些方面中,非丝状紫杉状海门冬四分孢子体(包括紫杉状海门冬 *brominata*)的预期补充速率为约40g/天,或对于乳牛为约20至60g/天并且对于肉牛为小于约40g/天。在这种情况下,即使在20至60g/天的方案中可补充大于40g藻类/天,低碘含量也允许这种补充水平并引起甲烷降低大于可通过以10至30g/天给药配子体或丝状四分孢子体实现的甲烷降低。

[0091] 在一些实施方案中,与用以10至30g/天施用配子体或丝状四分孢子体所实现的相比,另外的甲烷降低大于10%、20%、30%、40%或50%,同时保持碘摄入为每千克干物质摄入(dry matter intake,DMI)中小于50mg。

[0092] 本技术还包括计算间歇性给药方案的方法,其提供了针对给定的甲烷降低水平的降低的藻类与饲料之比、提高的丙酸盐与乙酸盐之比、以及降低的在来源于经补充的动物的乳、肉或脂肪产品中的碘浓度。需要能够实现靶组分浓度的包含计算方法,以能够有效使用靶组分 $\mu\text{g/g}$ 与碘ppm之比大于20:1的红色海洋藻类生物质,使得可以以比10至30g/天更低的水平补充生物质,从而优化碘的浓度,同时增强有益作用并使资金和边际成本最小化。

[0093] 藻类可包含恶臭组分,在此被称为“气味触发组分”。这些气味触发组分降低了已经补充有来源于藻类生物质或藻类成分的组合物的饲料的适口性。因此,期望通过以下来使最终饲料中的这些组分的水平最小化:通过降低藻类来源的组合物中这些组分的浓度,或通过增强期望的生物活性组分相对于不期望的气味触发组分的浓度,从而降低需要添加至动物饲料的藻类来源的组合物的量。本文中描述了培养红色海洋藻类生物质的方法和系统,所述红色海洋藻类生物质与在配子体阶段时收获的整株植株相比表现出所期望的更低的气味、更高的卤代代代谢物水平和更低的碘体积的特征。

[0094] 本技术的一些实施方案包括四分孢子体生命阶段藻类培养系统。在这些实施方案的一些实施方式中,在陆地上的管理系统中实现培养;在另一些中,在驳船(barge)上、筏(raft)上或浅海水(shallow ocean water)中的架系统中实现培养。在一些实施方案中,过程通过设备实现,并且在另一些中,过程通过手动进行。

[0095] 一般而言,本主题公开内容的方法和系统的一些实施方案可包括:建立高纯度生长培养基;培养规模选择和分离的样品用于繁殖;能够在靶生物质内针对稳健性进行选择培养增强周期;生长阶段控制;可持续收获;以及保存卤代代代谢物。

[0096] 对于具有三相生命史的红色海藻,世代在二倍体阶段与单倍体阶段之间交替。成熟单倍体阶段的特征在于类似于根结构的附着器,其固定在珊瑚礁或其他基质上。在二倍体阶段中,四分孢子体形成并扩散到周围的草坪周围。当其生长时其呈现出可从珊瑚礁脱落的形式,成为与配子体如此不同以至于其曾被认为是不同物种的丝状的自由生活的生物

体。

[0097] 在本技术的一些实施方案中,从海洋收获四分孢子体或从生产中的生物质产生系统获得四分孢子体。在海洋中,四分孢子体生长在整个水层中,并且可见于岩石上或人造结构包括船和码头上。可对可获得样品针对颜色、纯度或质地进行粗略检查,如选择显示出健康并且合理地不含污染生物体的植株用于繁殖。可首先将样品放置在袋中,并且可将袋在收集后运输期间放置在冰上。

[0098] 图5示出了用于培养增强周期的过程方法的流程图,所述培养增强周期能够使卤代代谢物的合成得到逐步改善,所述卤代代谢物在四分孢子体生命阶段中迫使靶生物质内的碘浓度较低。培养增强周期的目的是通过针对靶生物质内的稳健性进行选择而影响生物质储备液的逐步改善,以促进生长速率和卤代代谢物累积、天然地降低碘,同时除去非靶物种。图1示出了可存在于藻类中的卤代代谢物和碘的结构。制备高纯度起始培养基以用于将四分孢子体置于受控环境中。水可以是富集营养物的深海海水、近地表海水或其他适合于使海洋物种生长的盐水。将收集的水进行高压灭菌,然后通过紫外线进行纯化。将收集的水通过罐过滤来进一步纯化。将过滤至0.2至0.35微米的高纯度起始培养基置于合适的生长温度并添加营养物。将收集的四分孢子体从袋中移出,并以靶密度添加至包含高纯度起始培养基的小容器,在其中它们可适应新的环境条件,例如光、环境温度和生物多样性变化。制备经纯化的生长培养基以用于四分孢子体的培养系统。水可以是富集营养物的深海海水、近地表海水或其他适合于海洋物种生长的盐水。将收集的水进行高压灭菌,然后通过紫外线进行纯化。将过滤至0.35至25微米的经纯化的生长培养基置于合适的生长温度并添加营养物。在生物质开始出现新的生长之后,实验室人员将试样单独移出,并在显微镜下对其进行检查。实验室人员对需要清洁的生物质的部分进行鉴定,例如除去附生植物或其他污染生物体。在显微镜的帮助下,可使用镊子或类似的仪器清洁四分孢子体,直至实现纯度水平。可将具有稳健腺细胞的丝状或“膨化球”形式进行修剪,并且以促进生长同时抑制污染的储备液密度与经纯化的生长培养基在袋或容器中组合。该周期继续进行,并定期在显微镜下检查、清洁和修剪以改善藻类物质的品质和卤代代谢物合成的速率。

[0099] 在一个实施方案中,在较小和随后较大的容器或袋中产生足够的生物质之后,可将四分孢子体转移至具有经管理的营养物、光、温度和通气的陆地上的光生物反应器中。当光生物反应器实现指示收获的合适时间的储备液密度时,可使用阀启动系统从光生物反应器中释放一定量的生长培养基。离开光生物反应器的生物质可在过滤装置中被捕获。将捕获的生物质在数分钟内从过滤器中转移,以保存生物活性化合物。可将生物质鼓风冷冻(blast frozen),然后在真空和温度控制下冻干30小时。可使用真空盘式干燥器干燥生物质。可在户外阳光下干燥生物质。可在太阳能传导干燥器中干燥生物质。可使用油萃取从生物质中萃取卤代代谢物。可通过分馏从生物质中萃取卤代代谢物。

[0100] 在一个实施方案中,将已经以促进生长同时抑制污染的储备液密度组合到袋或容器中的生物质转移至筏或驳船上的架或者直立在浅海水中的架上,在其中营养物、光和温度是经管理的,并且能够通过太阳能泵实现通气。当袋或容器实现指示收获的合适时间的储备液密度时,将袋或容器从架上移出并且将内容物清空并彼此组合。在一个实施方案中,可将生物质鼓风冷冻,然后在真空和温度控制下冻干30小时。在一个实施方案中,可使用真空盘式干燥器干燥生物质。在一个实施方案中,可在户外阳光下干燥生物质。在一个实施方

案中,可在太阳能传导干燥器中干燥生物质。可使用油萃取从生物质中萃取卤代代谢物。在某些实施方案中,油萃取可用于使用本文中所述的方法制备经包封的含油卤代代谢物。可通过分馏从生物质中萃取卤代代谢物。

[0101] 需要能够实现靶代谢物浓度的包含计算方法,以能够以比10至30g/天或20至60g/天更低的不同水平有效使用非碘代卤代代谢物mg/g与碘ppm之比大于约150:1的藻类生物质的组合物,从而使气味最小化并优化适口性。

[0102] 其饲料中补充有从这些系统和方法获得的藻类生物质或来源于其的靶组分的动物,除了降低有害的甲烷排放之外,提供了在肉、乳、粪肥、皮革、粉(meal)和脂肪的量或品质方面的改善,或者例如,乳、肉和粪肥可具有最佳营养的碘含量和脂肪酸组成。饲喂这种饲料的动物即使在较低品质的饮食中也能更快地生长并产生更多的乳和皮革。

[0103] 在一些实施方案中,以间歇性方案用于饲喂的藻类是“膨化球”或丝状四分孢子体。在一个实施方案中,藻类是刺海门冬、紫杉状海门冬、网地藻属(*Dictyota* spp) (例如 *Dictyota bartayresii*),鞘藻属(*Oedogonium* spp),石莼属(*Ulva* spp)或扩展刚毛藻(*C.patentiramea*)。在又一个实施方案中,藻类是海门冬属物种。在又一个实施方案中,藻类是紫杉状海门冬。在又一个实施方案中,藻类是刺海门冬。

[0104] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比体重增加多约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。这种体重增加差异可以是屠宰时或生长周期中其他时间的平均体重。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比体重增加多约12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%或21%。这种体重增加差异可以是屠宰时或生长周期中其他时间的平均体重。

[0105] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比生长快约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。经补充与经补充动物之间的这种体重增加差异可被限定为平均每日体重增加。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比生长快约12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%或21%。经补充与经补充动物之间的这种体重增加差异可被限定为平均每日体重增加。

[0106] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比提供的肉或乳的反式脂肪低约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比提供的肉或乳的反式脂肪低约12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%或21%。

[0107] 在另一个实施方案中,经补充的动物需要的饲料比通常基于动物的品种和活动水平计算的饲料少约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%或21%。

[0108] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比提供的肉或乳的反式脂肪低约10%至20%、21%至30%、31%至40%、41%至50%、51%至60%、61%至70%、71%至80%、81%至90%、91%至99%、或100%。

[0109] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的

动物相比其瘤胃中丙酸与乙酸之比高约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比其瘤胃中丙酸与乙酸之比高约12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%或21%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比其瘤胃中丙酸与乙酸之比高约10%至20%、21%至30%、31%至40%、41%至50%、51%至60%、61%至70%、71%至80%、81%至90%、91%至99%、或100%。

[0110] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比提供的乳多约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比提供的乳多约12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%或21%。

[0111] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比提供的乳多约22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%或31%。

[0112] 在一个实施方案中,通过本技术的方法、系统和装置计算添加至动物的正常饮食中的增强饲料补充剂的甲烷降低的品质-量之比。在一个实施方案中,饲喂经补充的饮食的动物与饲喂未经补充的饮食的动物相比呼出更多的氢。

[0113] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比呼出的氢多约10%至20%、21%至30%、31%至40%、41%至50%、51%至60%、61%至70%、71%至80%、81%至90%、91%至99%、或100%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比呼出的氢多约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比呼出的氢不少于约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比呼出的氢不少于约10%至20%、21%至30%、31%至40%、41%至50%、51%至60%、61%至70%、71%至80%、81%至90%、91%至99%、或100%。

[0114] 在一个实施方案中,饲喂经补充的饮食的动物与饲喂未经补充的饮食的动物相比呼出更少的甲烷。

[0115] 在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比呼出的甲烷少约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比呼出的甲烷少约10%至20%、21%至30%、31%至40%、41%至50%、51%至60%、61%至70%、71%至80%、81%至90%、91%至99%、或100%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比呼出的二氧化碳不少于约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或11%。在一个实施方案中,补充有本技术组合物的动物与饲喂相同的未经补充的饮食的动物相比呼出的二氧化碳不少于约10%至20%、21%至30%、31%至40%、41%至50%、51%至60%、61%至70%、71%至80%、81%至90%、91%至99%、或100%。

[0116] 在一个实施方案中,本技术提供了能够实现以下所需的靶代谢物浓度的培养方法:能够有效使用卤代代谢物(mg/g)与碘(ppm)的浓度之比大于150:1的藻类生物质组合,从而允许藻类生物质以比约10g/天至约60g/天更低的水平包含在动物饲料中,因此使

气味和碘的过补充最小化,同时维持降低的甲烷产生、较快的生长、较高的最终体重、脂肪酸含量品质、粪肥品质、皮革品质、肉品质和乳品质的有益效果。

[0117] 在一些实施方案中,包含率在特定日可以是10、15、20、25、30、35、40、45、50、55或60g/天。在另一些实施方案中,包含率可以是在2、3、4、5、6或7天时间内平均的10、15、20、25、30、35、40、45、50、55或60g/天。在一个实施方案中,包含率为约每48小时约40g/天。

[0118] 在另一个实施方案中,藻类补充剂每1.5天、每2天、每3天或每4.5天施用一次。在又一个实施方案中,藻类补充剂每7天施用一次。在一个实施方案中,包含率由其中一个输入是动物饮食中的中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF)的量的算法确定。在另一个实施方案中,动物饮食中的中性洗涤纤维的量通过将动物的干物质摄入乘以向动物饲喂的干物质中的中性洗涤纤维的百分比来确定。

[0119] 在又一个实施方案中,确定回归常数。回归常数涉及实现甲烷降低/动物饮食中存在的中性洗涤纤维的量的设定百分比所需的溴仿的量。因此,所述算法包括以下步骤:i) 确定靶标甲烷降低百分比,并随后确定靶标绝对降低($\text{g CH}_4/\text{kg}$ 乳);ii) 基于干物质摄入(DMI)和NDF比例确定乳牛的NDF摄入;iii) 确定所需的归一化溴仿浓度(等于所期望的绝对降低除以回归常数,其中回归常数是甲烷强度的降低($\text{g CH}_4/\text{kg}$ 乳)/单位经归一化溴仿摄入(mg/kg NDF));iv) 乘以NDF摄入以确定所需的溴仿浓度(mg),以及v) 除以海藻中的溴仿浓度以确定所需的海藻的量。

[0120] 本研究者已发现,该算法准确地预测了甲烷降低,无论藻类补充剂是以连续还是间歇性方案饲喂,如图12和图13中所示。

[0121] 在一个实施方案中,本技术提供了能够实现以下所需的靶代谢物浓度的培养方法:能够有效使用非碘代卤代代谢物(mg/g)与碘(ppm)的浓度之比大于150:1的藻类生物组合物,从而允许藻类生物物质以比约10g/天至约30g/天更低的水平包含在动物饲料中,因此使气味和碘的过补充最小化,同时维持降低的甲烷产生、较快的生长、较高的最终体重、脂肪酸含量品质、粪肥品质、皮革品质、肉品质和乳品质的有益效果。

[0122] 在一个实施方案中,本技术的培养方法提供了包含藻类生物物质的组合物,所述藻类生物物质的卤代代谢物($\mu\text{g}/\text{g}$)与碘(ppm)的浓度之比大于1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1或19:1。在一个实施方案中,本技术的培养方法提供了包含藻类生物物质的组合物,所述藻类生物物质的非碘代卤代代谢物($\mu\text{g}/\text{g}$)与碘(ppm)的浓度之比大于1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1或19:1。在一个实施方案中,本技术的培养方法提供了包含藻类生物物质的组合物,所述藻类生物物质的卤代代谢物($\mu\text{g}/\text{g}$)与碘(ppm)的浓度之比大于21:1、22:1、23:1、24:1、25:1、26:1、27:1、28:1、29:1、30:1、31:1、32:1、33:1、34:1、35:1、36:1、37:1、38:1或39:1。在一个实施方案中,本技术的培养方法提供了包含藻类生物物质的组合物,所述藻类生物物质的非碘代卤代代谢物($\mu\text{g}/\text{g}$)与碘(ppm)的浓度之比大于21:1、22:1、23:1、24:1、25:1、26:1、27:1、28:1、29:1、30:1、31:1、32:1、33:1、34:1、35:1、36:1、37:1、38:1或39:1。

[0123] 在一个实施方案中,本技术的培养方法提供了包含藻类生物物质的组合物,所述藻类生物物质的溴仿($\mu\text{g}/\text{g}$)与碘(ppm)的浓度之比大于20:1。在一个实施方案中,本技术的培养方法提供了包含藻类生物物质的组合物,所述藻类生物物质的溴仿($\mu\text{g}/\text{g}$)与碘(ppm)的浓度之

比大于1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1或19:1。在一个实施方案中,本技术的培养方法提供了包含藻类生物质的组合物,所述藻类生物质的溴仿($\mu\text{g/g}$)与碘(ppm)的浓度之比大于21:1、22:1、23:1、24:1、25:1、26:1、27:1、28:1、29:1、30:1、31:1、32:1、33:1、34:1、35:1、36:1、37:1、38:1或39:1。在一个实施方案中,本技术的培养方法提供了包含藻类生物质的组合物,所述藻类生物质的溴仿($\mu\text{g/g}$)与碘(ppm)的浓度之比等于或大于700:1、600:1、500:1、400:1、300:1、200:1、150:1、140:1、130:1、120:1、100:1、75:1、50:1、25:1或20:1。在一个优选实施方案中,通过本技术的方法获得的藻类生物质的溴仿($\mu\text{g/g}$)与碘(ppm)的浓度之比大于140。

[0124] 在一些实施方案中,本发明提供了估计靶组分的平均浓度、样品内的组分浓度的范围或组分浓度水平随时间的趋势的方法。在这些实施方案的一些实施方式中,所述方法包括在基于图像的靶组分测量系统或光生物反应器或其他藻类生长容器中测量或操作光源的强度或波长分布谱、测量或操作样品浊度。在这些实施方案的一些实施方式中,所述方法包括基于计算机视觉的特征识别和基于神经网络的光学图像分析。

[0125] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于基于微藻或藻类样品内靶组分的测量结果的正向或负向发展来触发警报或动作的方法。在这些实施方案的一些实施方式中,所述方法包括触发培养收获周期、调整环境条件或请求人员干预。

[0126] 本文中使用的表达“靶组分”包括被确定为影响其来源的组合物作为动物饲料补充剂的功能的收获前、收获后或加工后的藻类生物质的卤代代谢物、碘、溴仿或其他组分。

[0127] 当提及卤代代谢物与碘之比时,卤代代谢物包括含碘化合物,而不是元素碘。当提及非碘代卤代代谢物与碘之比时,非碘代卤代代谢物不包括含碘化合物和元素碘。当提及非碘代卤代代谢物与碘之比时,碘含量包含含碘的任何靶组分,所述碘包括元素碘、有机碘和无机碘。

[0128] 在一个实施方案中,表达“无机碘”意指碘阴离子、盐、次碘酸盐等。在一个实施方案中,表达“有机碘”是指包含与至少一个碳原子结合的至少一个碘原子的任何化合物。

[0129] 靶组分可以是藻类、微藻或藻类内包含的代谢物组分。靶组分包括但不限于:初级代谢物;次级代谢物;从环境中吸收或浓缩的物质;由于寄生虫或共生体作用而存在的物质;由于环境因素而形成的物质;通过电磁辐射,声能,细菌、酵母或其他生物体的发酵,氧化、脱水、消除、水合、脱羧、异构化、外消旋化、螯合、包合、碎裂的作用形成的物质;或作为电磁辐射,声能,细菌、酵母或其他生物体的发酵,氧化、脱水、消除、水合、脱羧、异构化、外消旋化、螯合、包合、碎裂的作用的底物的物质。在一个实施方案中、靶组分是溴仿。在一个实施方案中,靶组分是卤代代谢物。在一个实施方案中,靶组分是非碘代代谢物。在另一个实施方案中,靶组分是元素碘(I_2)。在另一个实施方案中,靶组分是有机碘。在另一个实施方案中,靶组分是无机碘。在另一个实施方案中,靶组分是在藻类生物质收获后释放元素碘的物质。代表性的靶组分在图1中示出。不希望受到理论的束缚,认为溴仿(化合物1)是海藻补充剂的甲烷降低和动物产品改善结果的主要贡献者。

[0130] 术语“水平”可意指绝对水平、随时间的量、或浓度,这取决于上下文。例如,当提及“消耗水平”时,术语“水平”应被解释为由动物在设定的时间段内(例如天、周、月等)食用的量。当提及藻类生物质中组分的水平时,术语“水平”意指特定重量或体积的生物质中的组分的浓度。在最后一种情况下,水平可根据光反应器中活的生物质、湿收获的生物质、干燥

的生物质或在从开始到最终市售产品的每个过程阶段的生物质来确定。

[0131] 在一些实施方案中,包含计算可考虑其他非藻类来源的组分的添加,所述其他非藻类来源的组分当与本文中所述的组合物组合时提供添加剂或协同有益作用。在一些实施方案中,非藻类来源的组分选自:3-硝基氧基丙醇、Mootral (瑞士农业 (Swiss Agritech) 公司 Mootral 的产品)、大蒜提取物、丝兰 (Yucca) 提取物、丝兰粉末、皂苷、呋喃甾烷醇糖苷配基 (furostanol aglycone)、螺甾烷醇糖苷配基 (spirostanol aglycone)、氯仿、sarsapogenin、马尔可皂甙元 (markogenin)、异菝葜皂苷元 (smilagenin)、samogenin、吉托皂苷元 (gitogenin)、新吉托皂苷元 (neogitogenin)、单糖链皂苷 (monodesmosidic saponin)、YS-I、YS-II、YS-III、YS-IV、YS-V、YS-VI、YS-VII、YS-VIII、YS-IX、YS-X、YS-XI、YS-XII、YS-XIII、双糖链配糖体皂苷 (bidesmoside saponin) 组分、单糖链配糖体皂苷 (monodesmoside saponin) 组分、quillaya 皂苷、原花青素、缩合单宁、可水解单宁、绞股蓝皂苷 (Gynosaponins) 粉末、茶皂素、田菁属田菁 (*Sesbania sesban*) 叶提取物、黑荆 (*Acacia mearnsii*) 提取物、*Acacia saligna* 叶、银合欢 (*Leucaena leucocephala*) 提取物、鸡眼草 (*Lespedeza striata*) 牧草、精油 (百里香 (thyme) 油中的丁香油酚 809g/kg; 牛至 (oregano) 油中的香芹酚 837g/kg; 肉桂油中的肉桂醛 855g/kg; 柠檬油中的柠檬烯 801g/kg) 加富马酸一钠的组合、精油 (丁香油酚、香芹酚、柠檬醛、肉桂醛; 纯度 99%) 加富马酸一钠的组合、Agolin Ruminant (Agolin S.A. Of Biere, Switzerland) 和小叶薄荷 (*Mentha microphylla*) (氧化胡椒酮和顺式氧化胡椒酮, 46.7% 和 28%)。

[0132] 在一些实施方案中,本技术的组合物可与其他降低甲烷、增强品质和量的组分组合使用,所述组分如 A.Cieslak, M.Szumacher-Strabel, A.Stochmal and W.Oleszek, *Animal* (2013), 7:s2, 第 253 至 265 页; 以及 The Animal Consortium 2013, doi:10.1017/S1751731113000852 中所公开的,其整体并入本文。

[0133] 红藻与绿藻和褐藻相比,产生广泛的卤代代谢物组,包括肽、聚酮化合物、吡啶、萜烯、酚和挥发性卤代烃。紫杉状海门冬的主要卤代代谢物之一是卤代烃溴仿 CHBr_3 。基于生长环境、季节性、物种、品系、生命阶段、培养方法以及其他已知和未知因素,紫杉状海门冬和其他红藻中存在的溴仿和其他卤代化合物的浓度已显示出广泛的变化。

[0134] 体外和体内测试已鉴定了反刍动物中甲烷降低的水平与从红藻饲料补充剂递送的溴仿组分相对于动物饮食的特定类型 (例如牧草来源的饲料和肥育饮食) 的比例之间的强正相关性。然而,直至本工作,这些相互作用的特定组分决定因素才被鉴定。

[0135] 体内测试已鉴定了反刍动物中甲烷降低的水平与从红藻饲料补充剂递送的溴仿组分相对于动物饮食的特定组分的比例之间的强正相关性。体内测试已鉴定了牲畜饮食中的中性洗涤纤维 (NDF)、藻类中的溴仿的浓度和肠甲烷降低的百分比之间的预测关系。

[0136] 体内测试已鉴定了牲畜饮食中的中性洗涤纤维 (NDF)、藻类中的溴仿的浓度和肠甲烷降低的百分比之间的预测关系。

[0137] 牲畜饮食中的中性洗涤纤维 (NDF)、藻类中的溴仿的浓度和肠甲烷降低的百分比之间的预测关系在共用与物种、品种、性别、年龄和生殖周期的阶段有关的共同特征的牲畜中是一致的。

[0138] 已知溴仿在厌氧环境中,如其中存在酶甲基辅酶 M 还原酶的牲畜瘤胃中安全且有效地降解。如通过体外和体内测试所证明的,从红藻递送的溴仿组分的降解有益地提高了

牲畜瘤胃中的丙酸盐:乙酸盐比例,这能够节省饲料能量。

[0139] 根据来自饲喂包含溴仿的红藻的肉牛的肉的测试进一步证明,牲畜瘤胃中丙酸盐:乙酸盐比例的提高导致肉中的反式脂肪代谢较低。

[0140] 对培养期间的红藻中以及牲畜饲料和补充剂制剂中的代谢物组分浓度的测量结果和知情管理对于实现安全、有效且成本有效地使用红藻作为饲料补充剂用于降低甲烷排放或提供其他目标益处至关重要。

[0141] 因此,准确计算和说明由消耗红色大型藻类的牲畜引起的温室气体排放的降低的能力对于那些重视温室气体排放的这样的降低的个人、政府机构、非政府机构和私营公司至关重要。

[0142] 本文中描述的是计算和说明由消耗红色大型藻类的牲畜引起的肠甲烷排放的系统和方法。

[0143] 该系统和方法的组件包括:与红色大型藻类、红色大型藻类的包含率和牲畜饮食相关的变量之间的相互关系、以及这些变量对牲畜肠甲烷排放的组合影响的知识库(knowledge base);基于与红色大型藻类、红色大型藻类的包含率和牲畜饮食相关的变量之间的相互关系来计算肠甲烷排放的算法;以及说明由消耗红色大型藻类的牲畜引起的肠甲烷排放降低的系统。

[0144] 在一个实施方案中,所述系统计算由牲畜饲料和补充剂中一定包含率的红色大型藻类引起的肠甲烷降低。

[0145] 在一个实施方案中,所述系统记录、说明、跟踪和验证来自消耗红色大型藻类的牲畜的肠甲烷排放。另一些实施方案包括具有数字的或类似(analogue)过程的集成,所述过程记录、说明、跟踪和验证来自消耗红色大型藻类的牲畜的甲烷排放降低。在一些实施方案中,记录、说明、跟踪和验证来自消耗红色大型藻类的牲畜的肠甲烷排放降低的过程依赖于其他现有系统来运作。在另一些实施方案中,所述过程独立于其他现有系统来运作。

[0146] 在一个实施方案中,通过图形用户界面来访问系统。在另一个实施方案中,通过应用编程接口来访问系统。另一些实施方案使用户能够并且允许用户进入并操作输入数据和目的函数,并且观察基于这些输入的算法计算的结果。

[0147] 图10中示出的是本技术的系统(1)的一个实施方案,所述系统(1)计算并说明了由消耗红色大型藻类的牲畜导致的肠甲烷排放降低。系统包含知识库和算法(11),其计算由牲畜饲料和补充剂中一定包含率的红色大型藻类导致的肠甲烷降低。该知识库和算法(11)被编程到计算机软件(12)中,所述软件存在于大型计算机服务器(13)上并被访问。在一个实施方案中,存在于大型计算机(13)上的数据库(16)记录、说明、跟踪和验证来自消耗红色大型藻类的牲畜的肠甲烷排放。在本实施方案中,系统用户可通过独特的图形界面(15)或通过能够进行电子数据交换(17)的现有软件程序(18)将数据(14)输入到数据库(16)中。在一个实施方案中,系统的用户接收与他们的数据相关的唯一标识号。在另一个实施方案中,该唯一标识号用于验证和跟踪牲畜肠甲烷排放降低。

[0148] 目前,还不存在精确计算牲畜饲料和补充剂中红藻的包含率以实现特定期望的生物影响和结局的系统和方法。因此,准确配制牲畜饲料和补充剂中红藻的包含率的能力对于那些负责动物健康和牲畜饲喂运作的经济可行性的人至关重要。

[0149] 本文中描述了计算牲畜饲料和补充剂中红藻的精确包含率的系统和方法。该系统

和方法以向牲畜及其副产品递送特定预期的生物影响和结局的方式说明与红藻和牲畜饮食相关的变量。

[0150] 所述系统还包含补充方案,其可以是间歇性的或连续的。

[0151] 在一个实施方案中,间歇性饲喂是其中饲喂变化以每天或每周时间尺度进行。例如,人可设想在早上的TMR中而不是晚上饲喂海门冬属,或者在工作日而不是周末饲喂海门冬属。这可产生上述许多益处,例如减少劳动。请注意,虽然实际饲喂紫杉状海门冬(AT)是以次周(sub-week)时间尺度进行的,但这将可能是持续数周或更长时间的饲喂方案的一部分。

[0152] 在另一个实施方案中,间歇性饲喂是其中饲喂变化以比一周更长的时间进行。例如,人可设想在乳牛的哺乳期间而不是在妊娠期间饲喂海门冬属,或者在收获之前两周将肉牛从添加的饲料中移出。

[0153] 在又一个实施方案中,在给药期开始时向反刍动物饲喂较高剂量的海门冬属,在接近给药期结束时逐渐降低至较低剂量。这可用于例如“启动(kickstart)”AT的益处。

[0154] 在另一个实施方案中,在给药期开始时向反刍动物饲喂较低剂量的海门冬属,在给药期结束时提高至较高剂量。这可用于例如维持或延长AT的益处。

[0155] 在又一个实施方案中,本技术用于基于海藻内活性成分(溴仿)的浓度来改变AT的剂量。

[0156] 在一个实施方案中,本技术提供了如通过向每只动物饲喂的每克AT组合物的甲烷降低来计算的AT的更有效的用途。

[0157] 在一个实施方案中,每克AT组合物降低甲烷排放量的效力提高至少约5%、10%、20%、30%、40%、50%、75%、100%、150%、200%或大于200%。

[0158] 在又一个实施方案中,向反刍动物饲喂随时间变化剂量的AT组合物的方法。

[0159] 在一个实施方案中,AT组合物的随时间变化剂量是描述定期发生的间隔和所饲喂AT组合物的量的补充方案。

[0160] 在另一个实施方案中,AT组合物每48小时施用一次。

[0161] 在又一个实施方案中,AT组合物每72小时施用一次。

[0162] 在另一个实施方案中,AT组合物的随时间变化剂量是这样的补充方案:描述基于离散事件(例如生殖状态或上市时间或其他将限制动物产品或动物中可允许的碘或卤代有机物质的量的这样的事件)的AT组合物的补充时间窗口和剂量。

[0163] 在另一个实施方案中,调整随时间变化剂量补充方案时间窗以适合动物饲料法规或消费者感知。

[0164] 在又一个实施方案中,本技术允许更灵活的工作人员时间表,因为将需要更少的工作人员成员熟悉AT组合物施用。

[0165] 在一个实施方案中,本技术提供了与未经补充或经连续补充的动物相比更健康的动物及其后代。

[0166] 在又一个实施方案中,本技术提供了与未经补充或经连续补充的动物相比更高品质的动物产品。

[0167] 在另一个方面中,本技术的饲料补充剂组合物不包含甜味剂,例如但不限于糖蜜、高果糖玉米糖浆、蔗糖、果糖、木糖醇、山梨糖醇或者其他糖或醇糖开胃剂。

[0168] 在另一个方面中,本技术的饲料补充剂组合物可包含甜味剂,例如但不限于糖蜜、高果糖玉米糖浆、蔗糖、果糖、木糖醇、山梨糖醇或者其他糖或醇糖开胃剂。

[0169] 在又一个方面中,本技术的饲料补充剂组合物可以在此描述的针对处于肥育饮食的动物的小于200g/天、小于约150g/天、小于约100g/天、或者约50g/天或小于约50g/天藻类生物质的每日补充速率用于补充处于肥育饮食的畜牧场动物。

[0170] 该系统和方法的组件包括:与红藻相关的变量、与红藻包含率相关的变量、与牲畜饮食相关的变量之间的相互关系、以及这些变量对牲畜及其副产品的特定生物学结局的组合影响的知识库;基于与红藻、红藻的包含率和牲畜饮食相关的变量之间的相互关系来计算和预测对牲畜及其副产品的特定生物学影响和结局的算法;以及针对配制牲畜饲料和补充剂的本领域技术人员的指导,所述牲畜饲料和补充剂实现对牲畜及其副产品的特定和预期的生物学影响和结局。

[0171] 在一个实施方案中,所述系统计算和预测由牲畜饲料和补充剂中一定包含率的红藻引起的肠甲烷降低。

[0172] 在一个实施方案中,所述系统计算和预测由牲畜饲料和补充剂中一定包含率的红藻引起的牲畜饲料转换效率比的具体改善,或者牲畜生产力增加和输出的改善。

[0173] 在一个实施方案中,所述系统计算和预测由牲畜饲料和补充剂中一定包含率的红藻引起的牲畜瘤胃中丙酸盐:乙酸盐之比。

[0174] 在一个实施方案中,所述系统计算和预测由牲畜饲料和补充剂中一定包含率的红藻引起的牲畜副产品中的有价值的属性。

[0175] 在另一个实施方案中,所述系统计算和预测由消耗其饲料和补充剂中一定包含率的红藻的牲畜产生的肉和乳中的有价值的属性。

[0176] 在一个实施方案中,所述系统计算和预测牲畜饲料和补充剂中红藻的经济最佳包含率。

[0177] 在一个实施方案中,所述系统计算和配制其中添加红藻的牲畜饲料和补充剂配给(ration)。另一些实施方案包括具有计算和配制牲畜饲料和补充剂配给的数字或类似过程的集成。在一些实施方案中,计算和配制依赖于其他现有系统来运作。在另一些实施方案中,其独立于其他现有系统来运作。

[0178] 在一个实施方案中,通过图形用户界面来访问系统。在另一个实施方案中,通过应用编程接口来访问系统。另一些实施方案使用户能够并且允许用户进入并操作输入数据和目的函数,并观察基于这些输入的算法计算的结果,所述用户是配制牲畜饲料和补充剂的本领域技术人员。

[0179] 在一个实施方案中,所述系统由商业饲料厂使用。

[0180] 在另一个实施方案中,所述系统用于农场上的饲喂运作。

[0181] 图11中示出的是系统(1)的一个实施方案,所述系统(1)计算牲畜饲料和补充剂中红藻的精确包含率。系统包含知识库和算法(11),其基于与红藻、红藻的包含率和牲畜饮食相关的变量之间的相互关系来计算和预测对牲畜和/或其副产品的特定生物学影响和结局。该知识库和算法(11)被编程到计算机软件(12)中,所述软件存在于大型机计算机服务器(13)上并被访问。在一个实施方案中,知识库和算法向配制牲畜饲料和补充剂的本领域技术人员提供说明(14)以用于将红藻并入到牲畜饲料和补充剂中。在该实施方案中,说明

基于与物种、品种、性别、年龄和生殖周期阶段相关的共同特性,以及与对具有这些共同特性的牲畜和/或由具有这些共同特性的牲畜产生的副产品的特定预期生物学影响和结局相关的预定目的函数。在另一个实施方案中,独特的图形用户界面(15)允许配制牲畜饲料的本领域技术人员用户进入并操作输入数据和目的函数,并观察由知识库和算法(11)提供的结果(16)。在另一个实施方案中,知识库和算法通过应用编程接口(17)访问,并且观察到的结果在现有软件程序(18)内提供并观察。

[0182] 图1中示出的是卤代代谢物和其他含卤素化合物的示例性结构,其是靶化合物的子集,所述靶化合物的水平是本技术方法的计算靶化合物在本技术的饲料补充剂和经补充的饲料中的包含水平的输入。

[0183] 本技术还包括特别适合于间歇性饲喂的新的AT品种。

[0184] 动物可对常规中的变化,尤其是其饮食的突然变化敏感。虽然可在添加速率逐渐提高的情况下开始连续补充具有独特气味的添加剂,但本文中所预期的间歇性饲喂方案的类型可导致动物拒绝补充有恶臭添加剂的饲料。在此,本技术的组合物通过包含低浓度的恶臭组分来避免这些问题,从而允许灵活的间歇饲喂方案。

[0185] 在某些实施方案中,本技术的组合物包含非配子体来源的藻类生物质,其表现出溴仿含量多于干重的2.5w/w%、2.4w/w%、2.3w/w%、2.2w/w%、2.1w/w%、2.0w/w%、1.9w/w%、1.8w/w%、1.7w/w%、1.6w/w%、1.5w/w%、1.4w/w%、1.3w/w%、1.2w/w%、1.1w/w%、1.0w/w%、0.9w/w%、0.8w/w%、0.7w/w%、0.6w/w%、0.5w/w%、0.4w/w%、0.3w/w%、0.2w/w%或0.1w/w%。

[0186] 在某些实施方案中,本技术的组合物包含非配子体来源的藻类生物质,其表现出溴仿含量多于干重的1.8w/w%。

[0187] 在某些实施方案中,本技术的组合物包含非配子体来源的藻类生物质,其表现出碘含量小于干重的0.1w/w%、0.09w/w%、0.08w/w%、0.07w/w%、0.06w/w%、0.05w/w%、0.04w/w%、0.03w/w%、0.02w/w%或0.01w/w%。

[0188] 在某些实施方案中,本技术的组合物包含非配子体来源的藻类生物质,其表现出碘含量小于干重的0.145w/w%。

[0189] 在某些实施方案中,本技术的组合物包含藻类生物质,其表现出碘与溴仿之比小于0.1、0.09、0.08、0.07、0.06、0.05、0.04、0.03、0.02、0.012或0.01。

[0190] 更优选地,本技术的组合物包含藻类生物质,其表现出碘与溴仿之比小于0.04、0.03、0.02、0.012或0.01。

[0191] 甚至更优选地,本技术的组合物包含藻类生物质,其表现出碘与溴仿之比小于0.012。

[0192] 在一些实施方案中,藻类生物质的碘含量可包括元素碘、有机碘化合物、无机碘化合物、碘化物、碘酸盐或高碘酸盐,或其组合。

[0193] 在一些实施方案中,藻类生物质的碘含量可在收获、加工或储存时释放元素碘。

[0194] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷降低降低至少80%的方法,其是通过用非配子体来源的藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述非配子体来源的藻类生物质表现出溴仿含量多于干重的2.5w/w%、2.4w/w%、2.3w/w%、2.2w/w%、2.0w/w%、1.9w/w%、1.8w/w%、1.7w/w%、1.6w/w%、1.5w/w%、1.4w/w%、1.3w/w%

w%、1.2w/w%、1.1w/w%、1.0w/w%、0.9w/w%、0.8w/w%、0.7w/w%、0.6w/w%、0.5w/w%、0.4w/w%、0.3w/w%、0.2w/w%或0.1w/w%。

[0195] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷降低降低至少80%的方法,其是通过用非配子体来源的藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述非配子体来源的藻类生物质表现出碘含量小于0.1w/w%、0.09w/w%、0.08w/w%、0.07w/w%、0.06w/w%、0.05w/w%、0.04w/w%、0.03w/w%、0.02w/w%或0.01w/w%。

[0196] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷降低降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述藻类生物质表现出碘与溴仿之比小于0.1、0.09、0.08、0.07、0.06、0.05、0.04、0.03、0.02、0.012或0.01。

[0197] 更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷降低降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述藻类生物质表现出碘与溴仿之比小于0.04、0.03、0.02、0.012或0.01。

[0198] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于50mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0199] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于40mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0200] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于30mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0201] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于20mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0202] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于10mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0203] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于5mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0204] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于4mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0205] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷降低降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于3mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0206] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于2mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0207] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少80%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于1mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0208] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用非配子体来源的藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述非配子体来源的藻类生物质表现出溴仿含量多于干重的2.5w/w%、2.4w/w%、2.3w/w%、2.2w/w%、2.0w/w%、1.9w/w%、1.8w/w%、1.7w/w%、1.6w/w%、1.5w/w%、1.4w/w%、1.3w/w%、1.2w/w%、1.1w/w%、1.0w/w%、0.9w/w%、0.8w/w%、0.7w/w%、0.6w/w%、0.5w/w%、0.4w/w%、0.3w/w%、0.2w/w%或0.1w/w%。

[0209] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用非配子体来源的藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述非配子体来源的藻类生物质表现出碘含量小于0.1w/w%、0.09w/w%、0.08w/w%、0.07w/w%、0.06w/w%、0.05w/w%、0.04w/w%、0.03w/w%、0.02w/w%或0.01w/w%。

[0210] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述藻类生物质表现出碘与溴仿之比小于0.1、0.09、0.08、0.07、0.06、0.05、0.04、0.03、0.02、0.012或0.01。

[0211] 更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述藻类生物质表现出碘与溴仿之比小于0.04、0.03、0.02、0.012或0.01。

[0212] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于50mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0213] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于40mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0214] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于30mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0215] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于20mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0216] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于10mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0217] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于5mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0218] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于4mg碘/1kg

干物质摄入来进行的。

[0219] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于3mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0220] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于2mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0221] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少70%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于1mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0222] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用非配子体来源的藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述非配子体来源的藻类生物质表现出溴仿含量多于干重的2.5w/w%、2.4w/w%、2.3w/w%、2.2w/w%、2.0w/w%、1.9w/w%、1.8w/w%、1.7w/w%、1.6w/w%、1.5w/w%、1.4w/w%、1.3w/w%、1.2w/w%、1.1w/w%、1.0w/w%、0.9w/w%、0.8w/w%、0.7w/w%、0.6w/w%、0.5w/w%、0.4w/w%、0.3w/w%、0.2w/w%或0.1w/w%。

[0223] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用非配子体来源的藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述非配子体来源的藻类生物质表现出碘含量小于0.1w/w%、0.09w/w%、0.08w/w%、0.07w/w%、0.06w/w%、0.05w/w%、0.04w/w%、0.03w/w%、0.02w/w%或0.01w/w%。

[0224] 在某些实施方案中,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述藻类生物质表现出碘与溴仿之比小于0.1、0.09、0.08、0.07、0.06、0.05、0.04、0.03、0.02、0.012或0.01。

[0225] 更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给来进行的,所述藻类生物质表现出碘与溴仿之比小于0.04、0.03、0.02、0.012或0.01。

[0226] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于50mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0227] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于40mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0228] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于30mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0229] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于20mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0230] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,

其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于10mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0231] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于5mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0232] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于4mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0233] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于3mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0234] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于2mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0235] 甚至更优选地,本技术提供了使来自反刍动物的甲烷产生降低至少85%的方法,其是通过用藻类生物质补充这样的反刍动物的食物配给使得反刍动物消耗小于1mg碘/1kg干物质摄入来进行的。

[0236] 在一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最多3000ppm的碘。

[0237] 在一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最多2000ppm的碘。

[0238] 在一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最多1000ppm的碘。

[0239] 在一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最多500ppm的碘。

[0240] 在另一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最少2.5%的溴仿。

[0241] 在另一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最少3.5%的溴仿。

[0242] 在另一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最少16%的蛋白质。

[0243] 在另一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最少20%的aNDF。

[0244] 在又一个优选实施方案中,本技术提供了用于肉牛、乳牛和其他反刍动物的藻类饲料补充剂,其包含按干重计最少20%的aNDF、按干重计最少16%的蛋白质、按干重计最多3000ppm的碘和按干重计最少2.5%的溴仿。

[0245] 在又一个优选实施方案中,本技术提供了降低由反刍动物喷出 (belch) 的甲烷的方法,其包括用藻类饲料补充剂补充这样的反刍动物的饲料,所述藻类饲料补充剂包含按干重计最少20%的aNDF、按干重计最少16%的蛋白质、按干重计最多3000ppm的碘和按干重

计最少2.5%的溴仿。

[0246] 在又一个优选实施方案中,本技术提供了使由反刍动物喷出的甲烷降低至少50%的方法,其包括用藻类饲料补充剂补充这样的反刍动物的饲料,所述藻类饲料补充剂包含按干重计最少20%的aNDF、按干重计最少16%的蛋白质、按干重计最多3000ppm的碘和按干重计最少2.5%的溴仿。

[0247] 在又一个优选实施方案中,本技术提供了使由反刍动物喷出的甲烷降低至少80%的方法,其包括以40g/天的平均速率用藻类饲料补充剂补充这样的反刍动物的饲料,所述藻类饲料补充剂包含按干重计最少20%的aNDF、按干重计最少16%的蛋白质、按干重计最多3000ppm的碘和按干重计最少2.5%的溴仿。

[0248] 在另一个实施方案中,本技术提供了包含藻类饲料补充剂的试剂盒,所述藻类饲料补充剂包含按干重计最少20%的aNDF、按干重计最少16%的蛋白质、按干重计最多3000ppm的碘和按干重计最少2.5%的溴仿,所述试剂盒附有助于饲喂时用藻类饲料补充剂替换至多约0.5%的全混合日粮(TMR)的说明。

[0249] 在另一个实施方案中,本技术提供了包含藻类饲料补充剂的试剂盒,所述藻类饲料补充剂包含按干重计最少20%的aNDF、按干重计最少16%的蛋白质、按干重计最多3000ppm的碘和按干重计最少2.5%的溴仿,所述试剂盒附有助于用每千克中性膳食纤维(aNDF)中约6.5g的产品补充全混合日粮的说明。

[0250] 在另一个实施方案中,本技术提供了包含藻类饲料补充剂的试剂盒,所述藻类饲料补充剂包含按干重计最少20%的aNDF、按干重计最少16%的蛋白质、按干重计最多3000ppm的碘和按干重计最少2.5%的溴仿,所述试剂盒附有助于由每千克中性膳食纤维(aNDF)中约4.5g至8.5g的产品补充全混合日粮的说明。

[0251] 增强的产生甲烷的粪肥

[0252] 在另一些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了来自经海门冬属、紫杉状海门冬或包含紫杉状海门冬brominata的组合物处理的反刍动物的粪肥用于使用粪肥消化器(digester)产生甲烷的用途,以获得与从未经处理的乳牛的粪肥中获得的那些相比提高的甲烷产率。

[0253] 在另一些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了来自经海门冬属、紫杉状海门冬或包含紫杉状海门冬brominata的组合物处理的反刍动物的粪肥用于使用经覆盖的粪肥泻湖(lagoon)产生甲烷的用途,以获得与从未经处理的乳牛的粪肥中获得的那些相比提高的甲烷产率。

[0254] 粪肥甲烷治理(remediation)

[0255] 尽管已发现用本技术的组合物和方法处理动物降低了动物喷出的甲烷的量,但出乎意料地发现,来自这样的经处理动物的粪肥与来自未经处理动物的粪肥相比可产生更多甲烷。因此,本技术还提供了用本文中所述的藻类生物质组合物、本文中所述的其他抗产甲烷的化合物、或其组合处理粪肥本身。用本技术的组合物和方法处理粪肥的这种方法可在来自补充有本技术的组合物和方法的动物的粪肥上或在来自未经处理的动物的粪肥上进行。

[0256] 在一些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了用组合物对反刍动物粪肥的处理,所述组合物包含约1g/吨、10g/吨、50g/吨、100g/吨、500g/吨、1kg/吨或10kg/吨的海门

冬属、紫杉状海门冬或包含紫杉状海门冬brominata的组合物。

[0257] 在一些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了用组合物对反刍动物粪肥的处理,所述组合物包含约1g/吨、10g/吨、50g/吨、100g/吨、500g/吨、1kg/吨或10kg/吨的溴仿、经包封的溴仿或选自图2中示出的化合物或元素的化合物或元素。

[0258] 在另一些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了来自经海门冬属、紫杉状海门冬或包含紫杉状海门冬brominata的组合物处理的反刍动物的粪肥用于使用粪肥消化器产生甲烷的用途,以与从未经处理的乳牛的粪肥中获得的那些相比,获得改善的甲烷产率。

[0259] 在另一些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了来自经海门冬属、紫杉状海门冬或包含紫杉状海门冬brominata的组合物处理的反刍动物的粪肥用于使用经覆盖的粪肥泻湖产生甲烷的用途,以与从未经处理的乳牛的粪肥中获得的那些相比,获得改善的甲烷产率。

[0260] 在一些实施方案中,用于处理粪肥的组合物可包含选自以下的一种或更多种化合物:3-硝基氧基丙醇、Mootral (瑞士农业 (Swiss Agritech) 公司Mootral的产品)、大蒜提取物、丝兰提取物、丝兰粉末、皂苷、呋喃甾烷醇糖苷配基、螺甾烷醇糖苷配基、氯仿、sarsapogenin、马尔可皂甙元、异菝葜皂苷元、samogenin、吉托皂苷元、新吉托皂苷元、单糖链皂苷、YS-I、YS-II、YS-III、YS-IV、YS-V、YS-VI、YS-VII、YS-VIII、YS-IX、YS-X、YS-XI、YS-XII、YS-XIII、双糖链配糖体皂苷组分、单糖链配糖体皂苷组分、quillaya皂苷、原花青素、缩合单宁、可水解单宁、绞股蓝皂苷粉末、茶皂素、田菁属田菁叶提取物、黑荆提取物、Acasia saligna叶、银合欢提取物、鸡眼草牧草、精油(百里香油中的丁香油酚809g/kg;牛至油中的香芹酚837g/kg;肉桂油中的肉桂醛855g/kg;柠檬油中的柠檬烯801g/kg)加富马酸一钠的组合、精油(丁香油酚、香芹酚、柠檬醛、肉桂醛;纯度99%)加富马酸一钠的组合、Agolin Ruminant (Agolin S.A.Of Biere,Switzerland) 和小叶薄荷(氧化胡椒酮和顺式氧化胡椒酮,46.7%和28%)。

[0261] 在一些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了用包含选自以下的一种或更多种化合物的组合物以约1g/吨、10g/吨、50g/吨、100g/吨、500g/吨、1kg/吨或10kg/吨的比例对反刍动物粪肥的处理:3-硝基氧基丙醇、Mootral (瑞士农业 (Swiss Agritech) 公司Mootral的产品)、大蒜提取物、丝兰提取物、丝兰粉末、皂苷、呋喃甾烷醇糖苷配基、螺甾烷醇糖苷配基、氯仿、sarsapogenin、马尔可皂甙元、异菝葜皂苷元、samogenin、吉托皂苷元、新吉托皂苷元、单糖链皂苷、YS-I、YS-II、YS-III、YS-IV、YS-V、YS-VI、YS-VII、YS-VIII、YS-IX、YS-X、YS-XI、YS-XII、YS-XIII、双糖链配糖体皂苷组分、单糖链配糖体皂苷组分、quillaya皂苷、原花青素、缩合单宁、可水解单宁、绞股蓝皂苷粉末、茶皂素、田菁属田菁叶提取物、黑荆提取物、Acasia saligna叶、银合欢提取物、鸡眼草牧草、精油(百里香油中的丁香油酚809g/kg;牛至油中的香芹酚837g/kg;肉桂油中的肉桂醛855g/kg;柠檬油中的柠檬烯801g/kg)加富马酸一钠的组合、精油(丁香油酚、香芹酚、柠檬醛、肉桂醛;纯度99%)加富马酸一钠的组合、Agolin Ruminant (Agolin S.A.Of Biere,Switzerland) 和小叶薄荷(氧化胡椒酮和顺式氧化胡椒酮,46.7%和28%)。

[0262] 在一些实施方案中,用于处理粪肥的组合物可包含其他降低甲烷、增强品质和量的组分,所述组分如A.Cieslak,M.Szumacher-Strabel,A.Stochmal and W.Oleszek, Animal (2013), 7:s2,第253至265页,以及The Animal Consortium 2013,doi:10.1017/

S1751731113000852中所公开的,其整体并入本文。

[0263] 在一个优选实施方案中,本技术的组合物还包含3-硝基氧基丙醇(3-nitrooxylpropanol,3-NOP)。

[0264] 在另一个优选实施方案中,本技术的组合物还包含Agolin Ruminant (Agolin S.A.Of Biere,Switzerland)。

[0265] 在另一个优选实施方案中,本技术的组合物还包含Agolin Ruminant (Agolin S.A.Of Biere,Switzerland)和3-硝基氧基丙醇(3-NOP)。

[0266] 在另一个优选实施方案中,本技术的方法提供了向动物施用与四分孢子体来源的藻类生物质组合的Agolin Ruminant (Agolin S.A.Of Biere,Switzerland)。

[0267] 在另一个优选实施方案中,本技术的方法提供了向动物施用与四分孢子体来源的藻类生物质组合的3-硝基氧基丙醇(3-NOP)。

[0268] 在另一个优选实施方案中,本技术的方法提供了向动物施用与四分孢子体来源的藻类生物质组合的3-硝基氧基丙醇(3-NOP)和Agolin Ruminant (Agolin S.A.Of Biere,Switzerland)。

[0269] 在另一个优选实施方案中,本技术的方法提供了用与四分孢子体或配子体来源的藻类生物质组合的Agolin Ruminant (Agolin S.A.Of Biere,Switzerland)对动物的粪肥的处理。

[0270] 在另一个优选实施方案中,本技术的方法提供了用与四分孢子体或配子体来源的藻类生物质组合的3-硝基氧基丙醇(3-NOP)对动物的粪肥的处理。

[0271] 在另一个优选实施方案中,本技术的方法提供了用与四分孢子体或配子体来源的藻类生物质组合的Agolin Ruminant (Agolin S.A.Of Biere,Switzerland)和3-硝基氧基丙醇(3-NOP)对动物的粪肥的处理。

[0272] 在另一个优选实施方案中,本技术的方法提供了用3-硝基氧基丙醇(3-NOP)对粪肥的处理。

[0273] 在一个实施方案中,本技术提供了对来自未用本文中所述的组合物和方法补充的动物的粪肥的处理。

[0274] 牛的矿物质营养需求

[0275] 在一些实施方案中,将向反刍动物提供的藻类生物质配制到包含下文所述的另外的营养来源和赋形剂的饲料补充剂中。

[0276] 肉牛在其饮食中需要能量、蛋白质、矿物质和维生素。什么决定了需要多少这些营养物?什么决定了其是否需要被补充在饮食中?

[0277] 许多因素影响所需营养物的量。雌性进行以下许多功能均需要营养物:身体维持、活动、体重增加、生殖和产乳。所需营养物的量取决于身体尺寸、环境条件、动物行进的距离、期望的增加率、妊娠期和产乳水平。

[0278] 可用牧草的营养价值和量确定了饮食中是否需要补充营养物。在一年的大部分时间期间,暖季牧草可能缺乏一些矿物质,特别是磷和某些痕量元素(如铜和锌)。在大多数情况下,补充应包括至少全年提供具有百分之8至百分之12的磷和类似水平的钙的矿物质和盐。维生素A通常在干的或风化的牧草中较低,如果怀疑缺乏其,则应以矿物质或其他补充剂的形式进行注射或饲喂。矿物质和维生素补充剂应是高度优先的,因为可以以相对小的

成本纠正缺乏。

[0279] 在解决矿物质和维生素需求之后,必须考虑蛋白质和能量缺乏。牧草蛋白质和能量是季节性的。暖季牧草通常在仲夏并再次在冬季变的缺乏蛋白质。牧草主要在冬季缺乏足够的能量含量,但动物可获得的能量更多地通常受到有限的牧草供应的限制,而不是受到植株组成缺乏的限制。

[0280] 许多因素影响肉牛可能需要的蛋白质或能量补充剂的类型和量。有六个关键因素影响补充需求。

[0281] 牧草量。可用牧草的量明显影响补充饲喂的需求。如果放牧或干草将被限制,则立即采取行动。降低动物的数目以降低对剩余乳牛补充饲喂的需求。当牧草供应降低时,动物选择性放牧的机会降低,并且因此饮食品质也降低。然后,即使动物数目降低,但补充也可能变得必要。

[0282] 牧草品质。差品质牧草具有少于百分之6至百分之7的粗蛋白质(crude protein, CP)并且消化率低,其中总可消化营养物(total digestible nutrient, TDN)少于百分之50。这些缺乏限制了动物可食用的这样的牧草的量。由于差品质牧草的消耗和营养物含量二者均低,因此补充需求高。中等品质牧草(百分之7至百分之11的CP,百分之50至百分之57的TDN)消除或显著降低了补充需求。高品质牧草(高于百分之12至百分之14的CP和百分之57的TDN)可以以最大量被消耗,并且除了低身体状况下的高挤乳的乳牛可能需要补充之外,通常去除了任何补充需求。然而,在早春常见情况是,高品质但低量的牧草提高了对补充膳食体积(bulk)和能量的需求。乳牛一天可食用的量的范围为针对极低品质牧草仅体重的百分之1.5至针对极高品质牧草近百分之3.0。典型的量为百分之2.0至百分之2.5。

[0283] 身体状况。身体状况的水平(脂肪的量)影响补充需求。低身体状况显著提高了对补充营养物的需求,并且满足这样的需求通常成本过高。中等身体状况显著降低或消除了对补充的需求。丰满乳牛通常几乎不需要任何补充剂,并且每天所需的牧草的量通常可降低。如果不降低牧草消耗,可能有较高的产量,或者可维持储存的身体能量的储备。

[0284] 身体尺寸。牧草消耗的潜力与身体尺寸有关,因此较大的动物与较小的动物相比可能不需要更多补充剂。调整储备率,以允许每头乳牛有足够的牧草的量,可抵消尺寸差异但将提高每头乳牛的成本。但如果牧草稀少或有限,较大的乳牛需要成比例的更多补充剂。

[0285] 挤乳水平。较高挤乳的乳牛可消耗稍微更多的牧草,但不足以完全满足额外的需求。当牧草品质不足时,较高挤乳的乳牛需要更多补充剂;在相同身体尺寸的乳牛中,高产乳相对于低产乳可需要百分之50至百分之100更多。

[0286] 年龄。年轻动物仍在生长并且需要额外的营养物,但其身体尺寸不像成熟动物一样大。由于其较小的身体尺寸,生长中的小母牛不能消耗与成熟的乳牛一样多的牧草。由于这些原因,年轻雌性比成熟的乳牛需要更高品质的饮食并且通常需要更多和不同的补充剂。

[0287] 本技术的组合物和方法可与以下所述的补充剂形式结合使用:

[0288] 油籽粉。棉籽、大豆和花生粉通常被制备为大丸粒或颗粒饲料(cube)以便于饲喂。这些是中等至高能量来源的高蛋白质(百分之38至百分之45的CP),通常以一天1磅至3磅进行饲喂。尽管每吨相对昂贵,但它们通常是最便宜的蛋白质来源。当需要补充蛋白质以及需要极少或不需要能量时,这些饲料最有用。油籽粉特别适合于中等至良好肉的干乳牛(dry

cow), 当它们获得足够量的低蛋白质、中等能量牧草时。

[0289] 谷物。玉米和谷物高粱(蜀黍)是最常见的低蛋白质、高能量来源。其他谷物包括燕麦、小麦和大麦。谷物通常是最便宜的补充能量的来源。类似的饲料包括经加工的副产品, 例如小麦米(mid)、大豆壳和米糠。这些副产品在蛋白质方面略高于谷物并且在能量方面略低于谷物, 以及在淀粉方面相对低。淀粉可干扰牧草消化率, 因此这些对于牧草都是优异的补充剂。该类别中的饲料通常存在于种畜(breeder)/牧草(range)颗粒饲料中。

[0290] 种畜/牧草颗粒饲料。这些最通常地是百分之20的CP, 但也存在如百分之30至百分之32产品。这些饲料被设计成提供蛋白质和能量的组合, 以比高蛋白质饲料更大的量(一天3至6磅)进行饲喂。可用约三分之一的油籽粉与三分之二的谷物的混合物制备百分之20颗粒饲料的等同物。约四分之三的粉和四分之一的谷物的混合物是百分之32颗粒饲料的等同物。一些颗粒饲料使用非蛋白氮(nonprotein nitrogen, NPN), 其通常是尿素, 为瘤胃微生物蛋白质的潜在合成提供氮。具有低粗纤维(低于百分之10)的颗粒饲料通常在能量方面是最高的。全棉籽、啤酒谷物(brewers grain)和一些玉米麸质粉在蛋白质和能量含量方面与这些颗粒饲料类似。

[0291] 蛋白质块(Protein Block)和液体。这些饲料通常包含百分之30至百分之40的CP并且通常在能量方面是低至中等的。它们的制剂或物理结构将消耗限制为每天约1磅至3磅。蛋白质部分通常由百分之50至百分之90的NPN组成, 但可以是相当低的。它们的主要用途是在以方便自饲喂为优先的情况下为低蛋白质、中等能量牧草(低于百分之7的CP, 百分之50至百分之52的TDN)提供补充的蛋白质。这些饲料通常不填充营养缺乏的大的空白, 也不支持较高水平的动物性能。

[0292] 糖浆块和桶。这些通常为百分之12至百分之24的CP(通常为NPN的约一半)并且在能量方面是中等的。这些块的消耗通常非常低(通常一天1/2磅至1 1/2磅), 因此较高的蛋白质形式可能是最有用的。这些产品不旨在直接提供许多补充的蛋白质或能量。相反, 它们理论上的功能是刺激瘤胃微生物以消化更多牧草并产生可在小肠中使用的微生物蛋白质。为了发生这种情况, 必须可获得足够量的至少中度可消化的牧草。这些饲料当全年供应时效果最好, 这允许动物可在通常秋季和冬季牧草品质和量下降期间利用的体脂储备的累积。它们通常不支持高性能。

[0293] 干草。高品质干草(例如苜蓿、花生和大豆)可用作补充剂。这些中等蛋白质(通常百分之15至百分之20的CP)、中等能量来源可被限制饲喂, 其代替先前讨论的饲料之一。如果这样的干草的成本具有竞争力的话, 尽管蛋白质被浪费, 但也可自由选择地饲喂。

[0294] 必须选择补充剂来满足特定的营养物缺乏。身体状况是选择补充剂的关键因素。瘦乳牛在膳食能量方面比在蛋白质方面相对更缺乏。相比之下, 丰满乳牛可能需要额外的蛋白质, 如果它们需要任何的话。为了使补充最小化, 合理使用牧草供应。一般而言, 干草(不包括补充的苜蓿等)在常备牧草的情况下不应被限制饲喂。限制饲喂干草鼓励乳牛减少放牧, 并且在品质相当好的情况下不使用牧草。例如, 假定可用于放牧或饲喂的牧草包括一些栽培(tame)牧草(例如coastal bermudagrass)、一些天然牧草和一些干草。当冬天的临近时, 应首先使用栽培牧草, 其次是天然牧草, 最后是干草。以这种方式, 每种牧草都是最有效利用的, 并且有更好的机会在晚冬至早春当高品质草开始生长但量有限时留下一些干草。

[0295] 在某个实施方案中,本技术的组合物和方法提供了在反刍动物中抑制甲烷产生并且不需要对以下描述的典型补充方案进行任何改变的动物补充剂和动物补充方法。

[0296] 在另一些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了在反刍动物中抑制甲烷产生并且包含合适的矿物质补充剂作为甲烷抑制制剂的一部分的动物补充剂和动物补充方法。

[0297] 关于蛋白质和能量的补充难以做出一般性建议。通常地,对于典型的休眠性暖季牧草或低品质干草,中等或较高身体状况的干成熟乳牛一天通常仅需要1磅至2磅的高蛋白质饲料。(对于极低品质牧草,例如冬季的高草大草原(tall-grass prairie),可能需要3磅至4磅的高蛋白质饲料。)但是瘦、干、成熟乳牛可能需要每天2磅至4磅的中等蛋白质、高能量补充剂。在产犊之后,所有的这些量基本上应加倍。

[0298] 当使用高蛋白质补充剂(例如棉籽粉颗粒饲料)时,通常不需要每天饲喂。相反,根据量,每周所需的总量可每隔一天、每周两次或甚至每周一次进行分配和饲喂。实际上,非每天饲喂这些补充剂通常更有效。然而,为了最佳的牧草利用率、最高的动物性能和最高的效率,通常应每天饲喂以每天较大量被需要的组合蛋白质-能量补充剂,特别是种畜/牧草颗粒饲料和粉-谷物混合物。

[0299] 自饲喂、受控的消耗可用一些饲料,特别是油籽粉和粉-谷物混合物通过包含摄入限制物(例如盐)来实现。然后,牛将以最大量为体重的约百分之0.1来消耗盐,或者1,000磅的乳牛每天消耗约1磅的盐。因此,为了使1,000磅的乳牛获得每天3磅的补充剂消耗,应提供1磅盐与3磅补充剂的混合物。当使用盐来限制消耗时,必须可获得足够的高品质水。此外,当乳牛位于水源附近时其消耗更多的限制盐的补充剂。

[0300] 也许最常见的补充剂是高品质的百分之20的CP种畜/牧草颗粒饲料(高蛋白质或全天然蛋白质和低粗纤维)或等同物。这样的补充剂通常是对低品质牧草和低至中等身体状况的常见情况的折衷。但这必须饲喂足够的量,通常一天3至6磅是有效的。实际上,除了管理丰满乳牛的体重减轻之外,很少有以下情况:饲喂较少量的这样的颗粒饲料是适当的。如果生产者不愿意或不能承担所需量的这些颗粒饲料(或等同物)的成本,那么应饲喂较低量的较高蛋白质饲料。然而,但要意识到,如果营养物需求未被满足,则身体状况、生殖、生产率和利润可能降低。

[0301] 矿物质和维生素在肉牛饮食中占每日干物质摄入的非常小的比例,并且可有时在畜群营养程序中被忽略。尽管矿物质和维生素作为非常小百分比的膳食营养物被需要,但它们在肉牛营养程序中对于适当的动物功能(例如骨发育、免疫功能、肌肉收缩和神经系统功能)非常重要。如果没有良好的矿物质程序,则牛生长和生殖性能可被损害。良好的矿物质和维生素补充程序成本为约15美元至25美元/头/年。在每头乳牛的年生产成本通常为数百美元的情况下,高品质矿物质和维生素补充程序的成本是相对小的投资。许多自由选择的矿物质和维生素混合物被配制成每天2或4盎司的消耗率。出于举例说明目的,如果肉牛每天消耗4盎司(1/4磅)的补充剂持续365天,那么它一年内消耗91.25磅的补充剂。许多矿物质和维生素补充剂均包装在50磅袋里,因此肉牛以每天4盎司的消耗率每年消耗几乎两个50磅袋的该补充剂。将矿物质和维生素补充剂的这些袋之一的价格加倍,约是按每头为基础的补充剂的年成本。

[0302] 肉牛在其饮食中需要至少17种不同的矿物质元素。将所需矿物质基于肉牛饮食中所需的量分类为大量矿物质(主要矿物质)或微量矿物质(痕量矿物质)。与微量矿物质(毫

克/天或微克/天)相比,需要更大量的大量矿物质(克/天)。

[0303] 肉牛所需的大量矿物质包括钙、镁、磷、钾、钠、氯和硫。所需的微量矿物质包括铬、钴、铜、碘、铁、锰、钼、镍、硒和锌。特定矿物质元素的营养需求根据动物年龄、体重、产生阶段、泌乳状态、品种、应激和来自饮食的矿物质生物利用度(在施用之后矿物质针对靶组织变得可用的程度)而变化。

[0304] 大量矿物质需求通常表示为总饮食的百分比(%),而微量矿物质需求通常表示为毫克/千克(milligrams per kilogram,mg/kg),其等同于百万分之几(parts per million,ppm)。为了将百分比转换为ppm,将小数点向右移动四位(例如0.2500%=2500ppm)。

[0305] 膳食矿物质来源包括牧草、浓缩饲料、矿物质补充剂和水。

[0306] 矿物质在体内相互作用。许多相互作用可导致矿物质元素的束缚(tying up)或使其他矿物质元素不可用于基本的身体功能。在实际的肉牛营养程序中,钙与磷之间的相互作用是两种矿物质在饮食中影响彼此所需的水平的典型实例。钙和磷的推荐量通常表示为钙与磷之比(Ca:P)。

[0307] 如果饮食中其他矿物质水平足够,则牛可耐受高浓度的膳食钙。钙推荐量根据钙与磷之比(Ca:P)表示,其中约1.6:1是理想的,1:1至4:1的范围是可接受的。补充的钙源包括碳酸钙、饲料级石灰石、磷酸二钙、脱氟磷酸盐、磷酸一钙和硫酸钙。饲料级石灰石是约百分之34的钙并且通常被添加至肉牛饮食中以提高饮食的钙水平。磷酸二钙是约百分之22的钙和百分之19.3的磷并且被添加至肉牛饮食中以帮助平衡钙与磷之比。其将钙和磷二者添加至饮食中。推荐的矿物质补充剂中的磷水平通常为百分之4至百分之8,这主要取决于牧草条件和其他膳食来源的磷的水平。

[0308] 包封

[0309] 紫杉状海门冬和其他藻类、微藻、大型藻类和红色大型藻类中存在的溴仿和其他卤代化合物的浓度基于生长环境、季节性、物种品系和其他已知和未知因素而广泛变化,使得来源于这样的藻类生物质的组合物的使用难以在一致的基础上生产,并且因此难以在严格监管的市场中商业化。

[0310] 体外和体内测试已鉴定了反刍动物中甲烷降低的水平与从红色大型藻类饲料补充剂递送的溴仿组分相对于动物饮食中的特定组分的比例之间的强正相关性。

[0311] 另外的体内测试已发现,从红色大型藻类饲料补充剂递送的溴仿在牲畜瘤胃中以这样的方式降解:溴仿不被吸收到瘤胃壁或其它器官中,并且其不存在于由牲畜产生的代谢副产品(例如牲畜的乳、肉或粪肥)中。

[0312] 溴仿可通过数种方法人工合成,包括使用丙酮和次溴酸钠的卤仿反应、在乙醇中电解溴化钾或通过用溴化铝处理氯仿。因此,需要以成本有效、对牲畜和环境安全并且当向牲畜饲喂时有效的方式来人工合成和包封溴仿的新的且可用的系统和方法。本发明提供了这样的新的且可用的系统和方法。

[0313] 在多个方面中,本技术通过提供组合物以及用于制备经靶组分输注饲料产品或靶组分饲料补充剂的那些组合物的方法,解决了必须建造和维持大规模农业设备的问题以及由动物和消耗动物产品的人摄入过多碘的问题。

[0314] 在某些实施方案中,本技术的组合物和方法提供了经包封的溴仿组合物,其包含

携带溴仿的核心和形成包封屏障的可食用聚合物材料。

[0315] 在某些实施方案中,形成包封屏障的包封材料是可食用的聚合物材料,并且可选自例如:聚合物;树脂;碳水化合物;改性碳水化合物;单糖、二糖、寡糖或多糖;淀粉;改性淀粉;蛋白质;脂肪酸;聚甘油脂肪酸酯;丙烯酸类树脂;植物胶;聚乙酸乙烯酯;聚乙烯吡咯烷酮;聚(1-乙基吡咯烷酮-共-乙酸乙烯酯);聚维酮;交聚维酮;Kollidon®聚合物;Kollidon®-CL;Kollidon®-25;Kollidon®-30;Kollidon®-90;Kollidon®-12PF;Kollidon®-17PF;Kollidon®-VA 64;Aquacoat®水性分散体;卤代烃;Aquateric®肠溶衣;炔树脂;聚乙烯醇;乙酸纤维素;羟基丙基纤维素(hydroxyl propyl cellulose, HPC);聚氯乙烯;乙酸丁酸纤维素;羟基丙基甲基纤维素(hydroxy propyl methyl cellulose, HPMC);邻苯二甲酸聚乙酸乙烯酯;乙酸纤维素邻苯二甲酸酯;羟基丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯;聚偏氯乙烯;酪蛋白酸盐;Kynar®氟塑料;氯化橡胶;麦芽糊精;橡胶;合成物;Coateric®包衣;Opaglos®包衣系统;Opaglos®-GS-2-0400;Opaglos®-GS-2-0450;Opaglos®-GS-2-0700;Opaglos®-GS-2-0750;Opadry®;烷基纤维素(例如,甲基纤维素和乙基纤维素);虫胶;包衣黄油;微晶蜡;有机硅;Daran®乳胶;乳固体;糊精;糖蜜;硬脂(stearine);尼龙;蔗糖;肠溶剂(enteric);表面活性剂;Eudragits®聚甲基丙烯酸酯;石蜡;Surelease®包衣系统;乙烯乙酸乙烯酯;酚醛树脂;Teflon®碳氟化合物;脂肪;聚丙交酯;聚乙交酯;蜡;氨基酸;聚氨基酸;玉米醇溶蛋白;Aqua-Zein®;明胶;聚乙烯;聚环氧乙烷;甘油酯;聚乙二醇;乳清蛋白分离物;或其组合。

[0316] 在另一些实施方案中,包封屏障可包含另一些添加剂,例如但不限于:右旋糖、糊精、阿拉伯胶、瓜尔胶、麦芽糖、蔗糖、果胶、羟基丙基纤维素(HPC)、羟基丙基甲基纤维素(HPMC)、甲基纤维素、Eudragit®聚合物(聚丙烯酸酯和甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物)、Carbowax™ Sentry™聚乙二醇(例如,PEG-8000)、Sentry™ Polyox™ WSR N12K-NF级、Sentry™ Polyox™ WSR 301-NF级、水溶性虫胶(优选精制食品级糖果釉(confectioners glaze))、淀粉、改性淀粉、氯化钠、丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、瓜尔胶、糖、甜味剂、卵磷脂、十二烷基硫酸钠、吐温-20、吐温-60、吐温-85、Lutrol®系统、磷酸二氢钠、酒石酸、天冬氨酸、抗坏血酸、蓖麻油、植物油、脂肪酸和单硬脂酸甘油酯。

[0317] 在又一些实施方案中,携带溴仿的核心还可包含:右旋糖、糊精、阿拉伯胶、瓜尔胶、麦芽糖、蔗糖、果胶、羟基丙基纤维素(HPC)、羟基丙基甲基纤维素(HPMC)、甲基纤维素、Eudragit®聚合物(聚丙烯酸酯和甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物)、Carbowax™ Sentry™聚乙二醇(例如,PEG-8000)、Sentry™ Polyox™ WSR N12K-NF级、Sentry™ Polyox™ WSR 301-NF级、水溶性虫胶(优选精制食品级糖果釉)、淀粉、改性淀粉、氯化钠、丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、瓜尔胶、糖、甜味剂、卵磷脂、十二烷基硫酸钠、吐温-20、吐温-60、吐温-85、Lutrol®系统、磷酸二氢钠、酒

石酸、天冬氨酸、抗坏血酸、蓖麻油、植物油、脂肪酸和单硬脂酸甘油酯。

[0318] 在又一些实施方案中,包封屏障还可包含甜味剂或用甜味剂包被,所述甜味剂例如但不限于:蔗糖、L-天冬氨酰-L-苯丙氨酸甲酯、山梨糖醇、木糖醇和甘露糖醇、果糖、糖蜜、甜菜糖、红糖、甘蔗糖、糖果剂的糖(confectioner's sugar)、糖粉、原糖、分离砂糖(turbinado)、枫糖浆、角豆粉、玉米糖浆、甘蔗糖浆、蜂蜜、甜炼乳、和巧克力、糖精、阿斯巴甜、乙酰磺胺酸钾、三氯蔗糖和甜菊。

[0319] 在另一些实施方案中,包封屏障可包含另一些添加剂,例如但不限于:Advanta-Gel™ P75, Batter Bind® S, Crisp Coat UC, Crisp Film®, Crystal Gum, Crystal Tex™ 627, Crystal Tex™ 644, Crystal Tex™ 648, Elastigel™ 1000J, Encapsul 855, Flojel® 60, Flojel® 65, Flojel® G, Hi-Set® 322, Hi-Set® 377, Hi-Set® C, Hi-Set® CHG, Hylon® V, Hylon® VII, Impression™, K4484, Melojel®, Nadex™ 772, National 0280, National 814, N-TACK®, Purity® 21D, Purity® TF, Superset® LV, Ultra-Set® LT, Dry-Tack® 250, Versa-Sheen™, Baka-Plus™, Baka-Snak®, Capsul®, Capsul® TA, Gel NMelt®, H-50, Hi-Cap™ 100, Hi-Cap™ 200, IF 131, Instant ClearGel®, Instant Pure-Flo, Instant Pure-Flo F, Instant Textaid-A, Instant Textra, National 104, National 1 215, National 46, National 1517, National 5730, National 711, National 78-1551, N-Creamer 46, N-Flate, N-Lite™ LP, N-LOK®, N-LOK® 1930, Novation® 4600, Novation® 5600, Novation® 9460, Purity Gum 1773, Purity Gum 2000, Purity Gum 539, Purity Gum BE, Purity® H0, Stir-N-Set® FG, Text-Aid-A®, Textra® Plus, Ultra-Crisp CS, Ultra-Sperse® 2000, Ultra-Sperse® 5, Ultra-Sperse® A, Ultra-Sperse® M, Ultra-Tex 1, Ultra-Tex 2, Ultra-Tex 2000, Ultra-Tex 3, Ultra-Tex 4, AbsorboHP, Amioca, Can-Fil®, Dry-Flo, Hoosier 5, National 150, National 1545, National 6912, National 77-1744, National 912, N-Zorbit® M, Purity® 21, Purity® 5, Purity® 825, Purity® 826, Purity® FC, Target brand tapioca, NU Mould™, Purity® 5S, Clearjel®, Clearjel® S, Colflo® 67, Firm-Tex®, Frigex® w, Hi FLO®, National 1333, National 1457, National 1658, National 4012, National 465, National 740, National Frigex, National Frigex HV, National® 320, Novation® 1600, Novation® 1900, Novation® 2300, Novation® 2600, Novation® 2700, Novation® 3300, Novation® 3600, Novation® 9230, Novation® 9260, Novation® 9270, Novation® 9330, Novation® 9360, Pure-Flo®, Purity® 270, Purity® 4, Purity® 420, Purity® 550, Purity® 660, Purity® 69, Purity® 87, Purity® Cloud, Purity® CSC, Purity® D, Purity® HPC, Purity® W, Thermflo®, Thermtex®, WNA。

[0320] 在又一些实施方案中,携带溴仿的核心还可包含:Advanta-Gel™ P75, Batter Bind® S, Crisp Coat UC, Crisp Film®, Crystal Gum, Crystal Tex™ 627, Crystal Tex™

644, Crystal TexTM 648, ElastigelTM 1000J, Encapsul 855, Flojel® 60, Flojel® 65, Flojel® G, Hi-Set® 322, Hi-Set® 377, Hi-Set® C, Hi-Set® CHG, Hylon® V, Hylon® VII, ImpressionTM, K4484, Melojel®, NadexTM 772, National 0280, National 814, N-TACK®, Purity® 21D, Purity® TF, Superset® LV, Ultra-Set® LT, Dry-Tack® 250, Versa-SheenTM, Baka-PlusTM, Baka-Snak®, Capsul®, Capsul® TA, Gel N Melt®, H-50, Hi-CapTM 100, Hi-CapTM 200, IF 131, Instant ClearGel®, Instant Pure-Flo, Instant Pure-Flo F, Instant Textaid-A, Instant Textra, National 104, National 1215, National 46, National 1517, National 5730, National 711, National 78-1551, N-Creamer 46, N-Flate, N-LiteTM LP, N-LOK®, N-LOK® 1930, Novation® 4600, Novation® 5600, Novation® 9460, Purity Gum 1773, Purity Gum 2000, Purity Gum 539, Purity Gum BE, Purity® H0, Stir-N-Set® FG, Text-Aid-A®, Textra® Plus, Ultra-Crisp CS, Ultra-Sperse® 2000, Ultra-Sperse® 5, Ultra-Sperse® A, Ultra-Sperse® M, Ultra-Tex 1, Ultra-Tex 2, Ultra-Tex 2000, Ultra-Tex 3, Ultra-Tex 4, AbsorboHP, Amioca, Can-Fil®, Dry-Flo, Hoosier 5, National 150, National 1545, National 6912, National 77-1744, National 912, N-Zorbit® M, Purity® 21, Purity® 5, Purity® 825, Purity® 826, Purity® FC, Target brand tapioca, NU MouldTM, Purity® 5S, Clearjel®, Clearjel® S, Colflo® 67, Firm-Tex®, Frigex® w. Hi FLO®, National 1333, National 1457, National 1658, National 4012, National 465, National 740, National Frigex, National Frigex HV, National® 320, Novation® 1600, Novation® 1900, Novation® 2300, Novation® 2600, Novation® 2700, Novation® 3300, Novation® 3600, Novation® 9230, Novation® 9260, Novation® 9270, Novation® 9330, Novation® 9360, Pure-Flo®, Purity® 270, Purity® 4, Purity® 420, Purity® 550, Purity® 660, Purity® 69, Purity® 87, Purity® Cloud, Purity® CSC, Purity® D, Purity® HPC, Purity® W, Thermflo®, Thermtex®, WNA。

[0321] 本发明的微胶囊通过以下来制备：(i) 将可食用的包封材料（例如，聚合物或树脂）溶解在合适的有机溶剂中；(ii) 将溶解的包封材料与包含吸附载体材料或吸收在载体材料上的溴仿的核心材料混合。在搅拌的情况下向混合物中缓慢添加用于包封材料的非溶剂。这使具有包含酸、碱、泡腾对 (effervescent couple) 和/或这些组分之组合的核心材料的微胶囊或微粒被用包含水不溶性可食用有机聚合物材料的可渗透包封屏障包被，所述可食用有机聚合物材料任选地是水可溶胀的。术语“缓慢添加”及其变化形式在本文中是指导致包封材料均匀分布到核心材料上的添加速度。本领域技术人员无需过多实验即可确定这样的添加速度。

[0322] 合适的溶剂和非溶剂的一些实例包括但不限于：乙酸、丙酮、乙腈、乙酰丙酮、丙烯醛、丙烯腈、烯丙醇、1,3-丁二醇、1,4-丁二醇、1-丁醇、2-丁醇、叔丁醇、2-丁氧基乙醇、正丁胺、butyl dioxitol acetate、丁醛、丁酸、2-氯乙醇、癸烷、双丙酮醇、二乙酰、二乙胺、二乙

二醇二乙醚、二乙二醇二甲醚、二乙二醇单丁醚、二乙二醇单丁醚乙酸酯、二乙二醇单乙醚、二乙二醇单乙醚乙酸酯、二乙二醇单甲醚、N,N-二乙基烟酰胺、二乙醚、二甲基亚砷、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺、1,4-二氧六环、乙醇、2-乙氧基乙醇、2-乙酸乙氧基乙酯、乙酸乙酯、甲酸乙酯、乙二醇甲基醚乙酸酯、甲酸、糠醛、glycofurol、己烷、己烷类、己二醇、异丁醇、异丙醇、2,6-卢剔啶、甲醇、乙酸甲酯、甲基乙基酮、甲基异丙基酮、丙酸甲酯、N-甲基吡咯烷酮、吗啉、壬烷、戊烷、戊烷类、叔戊醇、2-甲基吡啶、3-甲基吡啶、4-甲基吡啶、哌啶、1-丙醇、2-丙醇、丙醛、环氧丙烷、吡啶、嘧啶、吡咯烷、四氢呋喃、四甲基脲、三乙酸甘油酯、三甘醇、超临界二氧化碳、磷酸三甲酯、乙酸异丙酯(异丙基乙酸酯)、乙酸仲丁酯、苯乙酮、乙酸正戊酯、苯胺、苯甲醛、苯、二苯甲酮、苯甲醇、苄胺、苯甲酸苄酯、溴苯、溴仿、乙酸正丁酯、丁酸甲酯、己酸、二硫化碳、四氯化碳、邻氯苯胺、氯苯、1-氯丁烷、氯仿、氯甲烷、间氯苯酚、间甲酚、邻甲酚、氰基乙烷、氰基丙烷、环己醇、环己酮、1,2-二溴乙烷、二溴甲烷、二丁胺、间二氯苯、邻二氯苯、1,1-二氯乙烷、1,2-二氯乙烷、二氯氟甲烷、碳酸二乙酯、丙二酸二乙酯、二乙基硫醚、二乙二醇二丁醚、二异丁基酮、二异丙基硫醚、邻苯二甲酸二甲酯、硫酸二甲酯、二甲基硫醚、N,N-二甲基苯胺、庚酸、乙酰乙酸乙酯、苯甲酸乙酯、丙酸乙酯、乙苯、乙二醇单丁醚乙酸酯、exxate 600、exxate 800、exxate 900、氟苯、呋喃、六甲基磷酰胺、1-己醇、乙酸正己酯、异戊醇(3-甲基-1-丁醇)、乙酸异丁酯、甲氧基苯、甲基戊基酮、苯甲酸甲酯、甲酸甲酯、甲基异戊基酮、甲基异丁烯基酮、甲基异丁基酮、甲基正丁基酮、甲基丙基酮、4-甲基-2-戊醇、N-甲基苯胺、二氯甲烷、硝基苯、硝基乙烷、1-硝基丙烷、2-硝基丙烷、1-辛醇、2-辛醇、1-戊醇、3-戊酮、2-苯基乙醇、乙酸正丙酯、喹啉、苯乙烯、1,1,2,2-四氯乙烷、1,1,2,2-四氯乙烯、甲苯、1,1,1-三氯乙烷、1,1,2-三氯乙烷、1,1,2-三氯乙烯、三氟甲烷、戊酸、间二甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、2,4-二甲苯酚或以上的任意组合。

[0323] 合适的载体包括但不限于：高岭土、二氧化硅、聚乙二醇、粘土纳米粒、硬脂酸镁、硅胶、表面来源的二氧化硅、气相二氧化硅、锂蒙脱石、胶体硅酸镁铝、三硅酸镁、氢氧化铝、活性炭、滑石、Neusilin、硅酸钙、氧化镁、氧化锌、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠和聚甲基丙烯酸酯。

[0324] 本文中描述的是以对牲畜消耗安全、对环境安全并且在降低牲畜肠甲烷排放以及提高来源于这样的牲畜的产品的量和品质方面有效的方式来人工合成和包封溴仿的系统和方法。

[0325] 这些系统的组件包括人工合成溴仿的方法和包封经人工合成的溴仿的方法。在一个实施方案中，化学反应用于合成溴仿。在另一个实施方案中，该化学反应发生在特定且受控的环境条件下。在一个实施方案中，溴仿被包衣材料包封。在一个实施方案中，溴仿被嵌入均匀或非均匀基质中。在另一些实施方案中，本技术的包封方法阻止溴仿在牲畜瘤胃中消化之前挥发或与环境条件发生化学反应。

[0326] 在另一些实施方案中，本技术的包封方法允许溴仿与牲畜瘤胃中的常见酶反应，从而引起溴仿安全且有效地降解。

[0327] 在另一个实施方案中，生物学方法用于合成和包封溴仿。

[0328] 在一个实施方案中，遗传筛选用于鉴定与红色大型藻类中溴仿的合成和腺体包封有关的基因。在本实施方案的一些实施方式中，遗传筛选可包括正向遗传筛选的方法或反向遗传筛选的方法。

[0329] 在一个实施方案中,使用重组DNA方法分离和拷贝与红色大型藻类中溴仿的合成和腺体包封有关的基因。在另一个实施方案中,通过人工合成DNA的方法拷贝与红色大型藻类中溴仿的合成和腺体包封有关的基因。

[0330] 在一个实施方案中,鉴定和选择能够托管(hosting)与溴仿的合成和腺体包封有关的基因的生物体。在另一些实施方案中,根据宿主生物体在生产或制造系统中产生经包封的溴仿的能力来鉴定和选择宿主生物体。

[0331] 在一个实施方案中,使用载体将与溴仿的合成和腺体包封有关的基因插入到宿主生物体的DNA中。在一些实施方案中,插入产生转基因宿主生物体。在另一些实施方案中,插入产生经遗传编辑的宿主生物体。在另一些实施方案中,插入的遗传物质被宿主生物体复制。在另一些实施方案中,插入的遗传物质被宿主生物体表达。

[0332] 在一个实施方案中,在独特的生长培养基中繁殖或培养包含红色大型藻类中合成和包封溴仿的基因的生物体。在另一些实施方案中,这些生物体产生所收获的经包封的溴仿。在另一些实施方案中,该合成和包封方法阻止溴仿在牲畜瘤胃中消化之前挥发或与环境条件发生化学反应。在另一些实施方案中,该合成和包封方法允许溴仿与牲畜瘤胃中的常见酶反应,从而引起溴仿安全且有效的降解。

[0333] 图11中示出的是系统(1)的一个实施方案,其中在特定和受控的环境条件(13)的背景下,将涉及一种或更多种化学物质或试剂(11)的化学反应引入至一种或更多种另一些其他的化学物质或试剂(12),以引起溴仿CHBr₃(14)的化学形成。一旦形成,则溴仿被包衣材料(15)包封,或者嵌入均匀或不均匀基质(16)中或者被均匀或不均匀基质(16)包封。

[0334] 图11中示出的是系统(2)的一个实施方案,其中使用生物学方法来合成和包封溴仿。该系统包括鉴定(21)和分离(22)与红色大型藻类中溴仿的合成和腺体包封有关的基因的方法。在鉴定和分离这些基因之后,使用方法来拷贝它们(23)。一旦被拷贝,使用载体(24)将基因插入到宿主生物体的DNA(25)中。然后在独特的培养基(26)中繁殖和培养宿主生物体。系统(2)的结果是以安全且可用的方式包封的溴仿(27)。

[0335] 出乎意料的是,发现在PCT申请W02017100062中描述的针对大麻素、维生素、NSAIDS和维生素开发的方法可用于配制非常独特的、高度挥发性的靶化合物(例如溴仿),所述PCT申请通过引用并入本文。同样出乎意料的是,发现在美国专利US 5,989,583中描述的方法也可用于配制本发明的靶化合物,所述美国专利通过引用并入本文。

[0336] 经口施用构成用于大多数靶组分(例如溴仿)的优选施用途径。然而,在经口施用的剂型的情况下,具有不期望或苦的味道的靶组分导致患者依从性的缺乏。在这样的情况下,味道掩蔽是改善患者依从性的重要工具。因为靶组分(例如,溴仿)可具有不期望的味道谱,为了改善依从性,本发明公开的组合物还包含一种或更多种靶组分味道掩蔽剂。靶组分味道掩蔽剂的一些实例包括如上所述的干乳,以及薄荷醇、甜味剂、碳酸氢钠、离子交换树脂、环糊精包合化合物、吸附剂等。

[0337] 在一些方面中,在本技术的组合物和方法内,制剂是食用油或脂肪、保护性胶体、或者保护性胶体和食用油或脂肪二者。在另一个方面中,生物利用度增强剂也是亲脂性活性剂味道掩蔽剂。

[0338] 保护性胶体的一些实例包括但不限于:多肽(例如明胶、酪蛋白和酪蛋白酸盐)、多糖(例如淀粉、糊精、葡聚糖、果胶和阿拉伯胶)以及全脂乳、脱脂乳、乳粉或这些的混合物。

然而,也可使用聚乙烯醇、乙烯基聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮、(甲基)丙烯酸聚合物和共聚物、甲基纤维素、羧甲基纤维素、羟基丙基纤维素、环糊精和藻酸盐。

[0339] 在另一些方面中,在不存在生物利用度增强剂的情况下,靶组分在对象中的生物利用度是靶组分剂在产甲烷生物体中的生物利用度的至少约1.5倍、约2倍、约2.5倍、约3倍、约3.5倍、约4倍、约4.5倍、约5倍、约5.5倍、约6倍、约6.5倍、约7倍、约7.5倍、约8倍、约8.5倍、约9倍、约9.5倍或约10倍高。

[0340] 本文中使用的术语“生物利用度”,生物利用度是指针对定殖在反刍动物瘤胃中的产甲烷生物体和其它共生生物体的靶组分的生物利用度,而不是针对对象动物本身的靶组分的生物利用度。这种区别被认为对于将动物的内部组织暴露于靶组分是不期望的,因为这减少了可用于影响产甲烷生物体的靶组分的量,并且使对象动物受到靶组分的不期望的影响。

[0341] 本技术的靶组分在宽剂量范围内是有效的。例如,在处理动物时,本技术的组合物和方法包含约0.01mg至约1,000mg、约0.5mg至约500mg、约1mg至约100mg、约5mg至约50mg、以及约10mg至约25mg的靶组分的剂量。

[0342] 作为替代,在处理动物时,本技术的组合物和方法包含约0.01mg、约0.05mg、约0.1mg、约0.25mg、约0.5mg、约0.75mg、约1mg、5mg、约10mg、约15mg、约20mg、约25mg、约30mg、约35mg、约40mg、约45mg、约50mg、约55mg、约60mg、约65mg、约70mg、约75mg、约80mg、约85mg、约90mg、约95mg、约100mg、约150mg、约200mg、约250mg、约300mg、约350mg、约400mg、约450mg、约500mg、约550mg、约600mg、约650mg、约700mg、约750mg、约800mg、约850mg、约900mg、约950mg或约1,000mg的靶组分的剂量。

[0343] 作为替代,在处理动物时,本技术的组合物和方法包含约1500mg、约2000mg、约2500mg、约3000mg、约3500mg、约4000mg、约4500mg、约5000mg、约5500mg、约6000mg、约6500mg、约7000mg、约7500mg、约8000mg、约8500mg、约9000mg、约9500mg或约10,000mg的靶组分的剂量。

[0344] 作为替代,在处理动物时,本技术的组合物和方法包含约15,000mg、约20,000mg、约25,000mg、约30,000mg、约35,000mg、约40,000mg、约45,000mg、约50,000mg、约55,000mg、约60,000mg、约6,5000mg、约70,000mg、约7,5000mg、约80,000mg、约85,000mg、约90,000mg、约95,000mg或约100,000mg的靶组分的剂量。

[0345] 在一些实施方案中,本技术涉及可用于经口递送亲脂性物质的干固体脂质组合物以及用于制备和使用这样的组合物的方法。

[0346] 在一个方面中,本技术提供了干固体脂质混合物,其包含:当施用于动物时足以提供治疗性作用的量的靶组分的第一组分,包含至少一种固体脂肪的脂质的第二组分,以及至少一种磷脂的第三组分;其中第二组分和第三组分以当施用于动物时足以提高亲脂性物质的经口可用性的量存在。

[0347] 根据本技术的一些实施方案,干固体脂质混合物可包含抗氧化剂、冷冻保护剂或自由流动赋予剂(free-flow imparting agent)中的一种或更多种。

[0348] 本技术的干固体脂质混合物已显示出出乎意料的高靶组分负载效率和增强的靶组分经口生物利用度。

[0349] 在一些另外的实施方案中,本技术还涉及用于产生这样的干固体脂质混合物组合

物的方法,其是通过以下进行的:将亲脂性物质与包含至少一种固体脂肪和至少一种磷脂的脂质组分一起溶解在合适的有机溶剂中;将溶剂蒸发至干;用机械摇动将干固体脂质混合物与水相进行水合,以在水中获得脂质分散体;将所得脂质分散体例如通过高压均质化进行均质化,以将颗粒尺寸降低至亚微米范围;以及将亚微米分散体干燥。

[0350] 根据另一个实施方案,根据本技术的干固体脂质混合物可通过直接将溶解在有机溶剂中的脂质混合物干燥来制备。例如,可将固体脂质混合物制剂喷雾干燥或冻干以获得适合于制备固体剂型(例如,硬明胶胶囊剂或片剂)的干燥组合物。这些固体剂型还可包含冷冻保护剂、抗氧化剂、自由流动赋予剂、表面活性物质和/或乳化剂。

[0351] 这些脂质组合物适用于经口递送降低甲烷的靶组分和动物产品品质增强添加剂。

[0352] 在一些实施方案中,本技术涉及用于经口递送亲脂性物质的干固体脂质组合物,以及用于制备和使用这样的组合物的方法。

[0353] 在一些方面中,本技术的干固体脂质混合物由以下构成:i)亲脂性物质,ii)包含至少一种固体脂肪的脂质或脂质混合物,以及iii)一种或更多种磷脂。本技术的干脂质混合物还可包含抗氧化剂、冷冻保护剂和/或自由流动赋予剂。

[0354] 除了溴仿之外,任何广泛多种的靶组分均可用于这些混合物中。一些实例包括但不限于:亲脂性药物、维生素和激素。这些亲脂性物质包括类固醇、类固醇拮抗剂、非类固醇抗炎剂、抗真菌剂、抗菌剂、抗病毒剂、抗癌剂、抗高血压剂、抗氧化剂、抗癫痫药和抗抑郁药等。可受益于经口剂型的具有非常差的水溶解度和低经口生物利用度的亲脂性药物的另外的一些实例是神经激素褪黑素、抗真菌剂两性霉素B、抗癌药依托泊苷(etoposide)、以及他莫昔芬(tamoxifen)及其类似物。更特别的化合物包括大麻素(以dexanabinol作为示例)和维生素、酶或辅酶(以辅酶Q10作为示例)。一些亲脂性物质是在室温(25℃)下在水中具有<200μg/ml的水溶解度的那些,而其他物质<50μg/ml。

[0355] 在最终干固体脂质混合物中亲脂性物质的含量可以是混合物总固体重量的约0.01%至约50%、或混合物总固体重量的约5%至约40%、或混合物总固体重量的约7%至约30%。

[0356] 在以下描述和权利要求书中,术语“固体脂肪”表示任何脂质或脂质的混合物,前提是脂质或混合物的熔融特征使得它们在约25℃下表现出固晶相或液晶相。

[0357] 在室温下为固体的甘油三酯可用于制备脂质混合物。固体甘油三酯可由单个纯甘油三酯构成,通常可作为合成甘油三酯获得,或者固体甘油三酯可以是数个甘油三酯的混合物。从天然来源分离的脂肪通常仅作为甘油三酯的混合物获得。这样的天然混合物适合于制备干脂质混合物,前提是混合物的熔融特征使得它们在约25℃下表现出固晶相或液晶相。

[0358] 适合于制备本技术的干脂质混合物的固体脂肪的一些实例是:由链长在C10至C18范围内的天然、偶数和非支化脂肪酸构成的甘油三酯,或天然起源的饱和、偶数和非支化脂肪酸的微晶甘油三酯(例如三癸酰甘油(tricaprin)、三月桂酰甘油(trilaurin)、三肉豆蔻精(trimyristin)、三棕三棕榈精(tripalmitin)和硬脂酸甘油酯(tristearin))。

[0359] 最终干脂质混合物中固体甘油三酯的含量为混合物总固体重量的约20%至约75%、或混合物总固体重量的约25%至约50%、或混合物总固体重量的约30%至约45%。

[0360] 可进入本技术的干脂质混合物的组成的磷脂包括但不限于:天然磷脂,例如:大豆

卵磷脂、卵磷脂、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、磷脂酸、鞘磷脂、二磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰胆碱、心磷脂；合成磷脂，例如，二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱、二肉豆蔻酰基磷脂酰甘油、二硬脂酰基磷脂酰甘油、二棕榈酰基磷脂酰胆碱；以及氢化或部分氢化的卵磷脂和磷脂。

[0361] 磷脂组分可以是饱和的或不饱和的，并且可具有高于或低于约25℃的凝胶至流体相转变温度。卵或大豆磷脂酰胆碱（卵或大豆PC）是具有远低于室温的转变温度的磷脂的实例。二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱（Dimyristoyl phosphatidylcholine, DMPC）的转变温度略低于室温。二棕榈酰基磷脂酰胆碱和二硬脂酰基磷脂酰胆碱（DPPC和DSPC）是具有远高于室温并且实际上甚至高于生理温度（约37℃）的转变温度的磷脂的实例。可用这些和许多其他磷脂制备可接受的干脂质混合物。

[0362] 可制备磷脂与总脂质的摩尔比为约0.1至约0.75（约10摩尔%至75摩尔%）、或约0.1至约0.5（约10摩尔%至50摩尔%）的干脂质混合物。磷脂与总脂质的摩尔比通常可以是约0.1:1至约2:1、或约0.1:1至约1:1、或约0.2:1至约0.9:1、或约0.2:1至0.8:1、或约0.25:1至约0.6:1。在重量基础上，磷脂与总脂质的比例为约0.1:1至约2:1、或约0.2:1至约1:1、或约0.4:1至约1.5:1、或约0.5:1至约1.25:1。最终干固体脂质混合物中磷脂的含量为混合物总固体重量的约2%至约40%、或混合物总固体重量的约5%至约35%、或混合物总固体重量的约10%至约30%。

[0363] 本技术的干固体脂质混合物可包含一种或更多种另外的抗氧化剂。抗氧化剂使来自不饱和脂质或其他组分的氧化降解产物（例如过氧化物）的形成降低。这样的优选抗氧化剂的非限制性实例是 α -生育酚或其衍生物（例如生育酚琥珀酸酯），其是维生素E家族的成员。可使用本领域已知对人消耗安全的许多其他抗氧化剂，例如丁基化羟基甲苯（butylated hydroxytoluene, BHT）。最终干固体脂质混合物中抗氧化剂的含量通常为混合物总固体重量的约0.01%至约5%，或混合物总固体重量的约0.1%至约1%。干固体脂质混合物还可包含本领域已知的冷冻保护剂物质，例如糖或氨基化合物，以在用于制备干固体辅酶Q10脂质混合物的冻干或喷雾干燥过程期间保存制剂。

[0364] 可用于本技术的冷冻保护剂的一些实例包括但不限于：葡萄糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖和海藻糖；多糖，例如葡萄糖、糊精和环糊精；和非天然聚合物，例如聚乙烯吡咯烷酮（polyvinylpyrrolidone, PVP）。也可使用其他类型的冷冻保护剂，包括氨基酸，如美国专利No. 5,472,706中所公开的，其通过引用并入本文。冷冻保护剂对于干固体脂质混合物中总固体的范围的可使用的一些实例包括约0.1%至约50%（w/w），或约20%至约40%。

[0365] 本技术的干固体脂质混合物还可包含本领域已知的任何合适的无毒性载体或稀释剂粉末以用作自由流动赋予剂。这样的添加剂的一些常见实例是二氧化硅、淀粉、乳糖、蔗糖、山梨糖醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁和磷酸二钙。当将混合物配制成片剂或丸剂时，片剂或丸剂可用本领域已知的可药用物质进行包被或以其他方式复合，以提供提供延长的作用或持续释放的剂型。干固体脂质混合物也可在明胶胶囊中制备。但是，这些混合物可通过共研磨或其他混合过程简单地与任何种类的动物饲料产品混合。

[0366] 根据另一个实施方案，将干固体脂质混合物进一步与气相二氧化硅，例如气相二氧化硅CAB-0-SIL®（Cabot Corp., Ill., US）混合。该化合物是具有极小颗粒尺寸和巨大表面积粉状物质。气相二氧化硅可充当干燥润滑剂（dry lubricant），促进粉状混合物的

自由流动,并且阻止混合物结块或成块。该化合物的自由流动、抗结块和抗堵塞特征是数种作用的结果。例如,二氧化硅聚集体的亚显微尺寸允许其在其他干燥剂的较大颗粒之间容易地移动,并且在大多数情况下,气相二氧化硅可在粉末颗粒上形成包衣。气相二氧化硅层还降低了主体拉伸强度和剪切强度,同时中和了颗粒上的静电荷。

[0367] 在与其他粉末共混之后,气相二氧化硅吸附可存在于产品颗粒中或产品颗粒上的一些或所有水分。因此,气相二氧化硅聚集体阻止其他颗粒相互接触并且继而阻止形成核,否则导致形成较大的块和团块。这种间隔和润滑作用有助于保持物质穿过孔,例如处理设备阀、喷头、贮仓开口、袋和滚筒喷口以及气溶胶喷嘴孔口。

[0368] 通过在最终产品中添加浓度为约0.5%至约50%(总固体重量)的气相二氧化硅,可使大多数粉状物质保持自由流动。最佳浓度可通过逐步升高或降低来确定。最终产品中气相二氧化硅的重量百分比将为约1%至约40%(总固体重量)。即使是已经结块的粉末,通常也可通过将其与气相二氧化硅(总固体重量的约2%或更少)共混而使其自由流动。气相二氧化硅的巨大表面积是极少量就可提供有效作用的原因。

[0369] 除了黏性或胶黏的粉末之外,无法处理的产品可通过添加适当水平的气相二氧化硅作为最后的完成步骤而使其自由流动。气相二氧化硅也可用于促进喷雾干燥或冻干产品的自由流动。在一些情况下,可将其引入到原始乳剂、混悬剂或溶液剂中,或稍后进行共混。气相二氧化硅还已被用于包衣粉状和粒状产品,以阻止其后续结块。最终干固体脂质混合物中二氧化硅的含量为混合物总固体重量的约5%至约40%。本技术的干靶组分-脂质混合物可通过如下文显示的以下非限制性实施例中所述的不同方法来制备。

[0370] 实施例

[0371] 给出以下实施例以举例说明本公开内容的多个实施方案的实践。它们不旨在限制或限定本公开内容的整个范围。应理解,本公开内容不限于本文中描述和举例说明的具体实施方案,而是包括落入如所附实施方案中所限定的本公开内容的范围内的所有修改和变型。

[0372] 任何实施方案的任何要素均可用于任何实施方案。尽管已经参照一些特定实施方案描述了本技术,但是本领域技术人员将理解,可在不脱离本发明的真实精神和范围的情况下进行多种改变并且可用等同方案替换其要素。另外,可在不脱离本发明的基本教导的情况下进行修改。等同的组合物、方法和试剂盒的确定完全在普通从业人员的技术范围之内,并且根据本公开内容的教导,将仅需要常规实验即可。由以下实施例将更加全面地理解本公开内容的实践,本文中呈现这些实施例仅用于举例说明,并且不应被解释为以任何方式限制本公开内容。

[0373] 实施例1:针对给定的甲烷产生降低计算海门冬属的量

[0374] 表1示出了基于正常膳食需求和所测量的藻类生物质补充剂中溴仿水平,针对乳牛中给定的甲烷产生降低计算海门冬属的量。

[0375] 表1:

[0376]	海门冬属的量的计算	值
	饲料摄入 (kg/天)	27.70
	NDF 浓度 (%)	30.10%
	NDF 摄入/天 (kg/天)	8.34
	y-截距-甲烷强度 (g CH ₄ /kg 乳, 在零溴仿摄入下)	9.73
	斜率-每经归一化单位溴仿摄入 (mg/kg NDF) 中的甲烷强度的降低 (g CH ₄ /kg 乳)	-0.049
	期望的%CH ₄ 降低	-80.00%
	期望的绝对 CH ₄ 降低 (g/kg 乳)	-7.784
	所需的经归一化的溴仿 (mg/kg NDF)	157.89
	所需的溴仿 (mg/天)	1316.44
[0377]	经干燥的 AT 溴仿浓度 (μg/g)	35
	海门冬属/乳牛/天 (g) -DMI 基础	37.61
	海藻% DMI	95%
	海门冬属/乳牛/天 (g) -按饲喂基础	39.59

[0378] 实施例2a、b:

[0379] a) 基于每天120g剂量的补充剂的碘暴露

[0380] 表2a示出了基于每天120g剂量的补充剂的碘暴露,所述补充剂包含含有1000ppm (0.1%) 总碘含量和20kg总DMI的紫杉状海门冬brominata。

[0381] 表2a:

[0382]	藻类的量	120	g
	碘含量	0.1	%
	总碘	120	mg
	DMI/天	20	Kg
	碘/Kg DMI/天	6	mg/Kg-天

[0383] b) 动物在不同条件下的经计算的补充速率

[0384] 考虑了补充剂的溴仿含量和动物正在接受的饮食类型,如图12和13中所举例说明的本技术的补充速率确定的方法可在多种情况下使用。例如,在下表2b中,针对饲喂饲料的乳牛、饲喂牧草的乳牛、饲喂牧草的肉牛、处于过渡饮食的肉牛和处于肥育饮食的肉牛,给出了包含35,000μg/g (按干重计3.5%或35mg/g) 的溴仿的藻类生物质来源的补充剂的举例

说明性补充速率。

[0385] 表2b:

[0386]	动物/饮食	NDF 摄入 (kg/天)	藻类生物质的补充速率 (3.5%溴仿) (g/天)
	饲喂饲料的乳牛	7.7	40
[0387]	饲喂牧草的乳牛	12.1*	63
	饲喂牧草的肉牛	3.1	16
	处于过渡中的肉牛	2.8	15
	处于肥育中的肉牛	2.0	11

[0388] *近似值,可基于干物质摄入(DMI)和中性洗涤纤维(NDF)而增大或减小

[0389] 实施例3:包封:通过冻干从水性分散体制备溴仿-脂质干混合物

[0390] 本实施例举例说明了通过冻干从根据本技术的一个实施方案的水性分散体制备溴仿-脂质干混合物。制剂的最终干组分包含:

[0391] 溴仿:11.7%w/w

[0392] 三癸酰甘油:33.7%w/w

[0393] 卵磷脂:16.8%w/w

[0394] 生育酚琥珀酸酯:0.4%w/w

[0395] 蔗糖:23.9%w/w

[0396] 二氧化硅:13.5%w/w。

[0397] 溴仿获自Sigma-Aldrich, Inc. D-α生育酚琥珀酸酯购自Merck (德国)。卵磷脂获自Lipoid KG (德国)。三癸酰甘油获自Hulls (德国)。CAB-0-SIL获自Cabot Corp. 溴仿与脂质剂(磷脂、生育酚琥珀酸酯和固体甘油三酯)一起溶解在二氯甲烷中。蒸发溶剂直至完全干燥,并将干的固体脂质混合物随后通过机械摇动与水相水合。将所得脂质分散体随后使用EMULSIFLEX™ C-30高压均质器(Avestin Inc., Canada)通过高压均质化(800巴)进行均质化以将颗粒尺寸降低至亚微米范围。向所得的干的溴仿-脂质制剂中添加冷冻保护剂蔗糖(来自40%w/w水溶液)和自由流动赋予剂CAB-0-SIL气相二氧化硅(来自在水中的5%w/w混悬液),并随后使用Christ冻干机(德国)将制剂冻干。磷脂与总脂质的重量比为0.33:1。

[0398] 实施例4:来自不同AT组合物的溴仿-碘比例变化

[0399] 表3示出了来自不同AT组合物的一些可能的溴仿-碘比例变化,所述不同AT组合物来自从多个位置收获并在不同光强度和光周期下生长的种子储备液。除了9号和10号之外,所有均是四分孢子体。

[0400] 表3:

[0401]	编号	位置	% HCB _{Br} ₃	% 碘	碘: HCB _{Br} ₃ 比例	HCB _{Br} ₃ :碘 比例

[0402]

1	MB-JES012	0.803	0.0339	0.0422	23.70
2	CI-JES002	1.620	0.0372	0.0230	43.50
3	Pier (强光) - JES016	0.521	0.0239	0.0459	21.80
4	Pier (弱光) - JES015	0.177	0.0967	0.5463	1.80
5	Birch-JES019	1.060	0.0464	0.0438	22.80
6	SIO-13B2	0.263	0.0868	0.3300	3.00
7	SC-S-112	0.406	0.0383	0.0943	10.60
8	SC-S-JES014	0.641	0.0378	0.0590	17.00
9	MB 配子体	0.396	0.0456	0.1152	8.70
10	粗短的雄 (boy) 配子体	1.940	0.5977	0.3081	3.20
11	光实验	0.615	0.0227	0.0369	27.10
12	光实验	0.604	0.0320	0.0530	18.90
13	光实验	0.672	0.0245	0.0365	27.40
14	光实验	0.885	0.0580	0.0655	15.30
15	光实验	1.850	0.0326	0.0176	56.70
16	光实验	1.260	0.0156	0.0124	80.80
17	光实验	1.040	0.0282	0.0271	36.90
18	光实验	1.190	0.0142	0.0119	83.80

[0403] 表4示出了典型的配子体重金属和碘分析以及天然变化。

[0404] 表4:

[0405]

配子体组分分析					
来自亚速尔（Azores）的野生收获的配子体			来自亚速尔和澳大利亚的野生收获的配子体		
重金属	结果	单位	重金属	结果	单位
铝	600.5	ppm	铝	4093.3	ppm
铈	<5	ppm	铈	<5	ppm
砷	12.8	ppm	砷	14.1	ppm
钡	4.7	ppm	钡	10.7	ppm
硼	108.4	ppm	硼	108.6	ppm
镉	0.5	ppm	镉	0.5	ppm
钙	20242.8	ppm	钙	24479.5	ppm
铬	20.7	ppm	铬	84.2	ppm
钴	<1	ppm	钴	3.5	ppm
铜	2.6	ppm	铜	6.2	ppm
碘	9733	ppm	* 碘	2730	ppm
铁	1301.8	ppm	铁	5251	ppm
铅	<2.5	ppm	铅	<2.5	ppm
镁	9696.4	ppm	镁	10121.2	ppm
锰	31.2	ppm	锰	99.5	ppm
汞	<10	ppm	汞	<10	ppm
钼	1.9	ppm	钼	2.3	ppm
磷	1835.4	ppm	磷	1693.8	ppm
钾	17980.3	ppm	钾	16041.9	ppm

[0406]

硒	0.2	ppm		硒	0.3	ppm
钠	84741.8	ppm		钠	71571	ppm
硫	31889.7	ppm		硫	30656.5	ppm
铊	<10	ppm		铊	<10	ppm
锌	8.6	ppm		锌	14.4	ppm
溴仿	18600	ppm		溴仿	4250	ppm

[0407] 重金属分析由Cumberland Valley Analytical Services,Waynesboro,PA 17268进行

[0408] 溴仿分析由Bigelow Laboratory for Ocean Sciences,East Boothbay,ME 04544进行

[0409] 亚速尔批次的碘分析由Bigelow Laboratory for Ocean Sciences,East Boothbay,ME 04544进行

[0410] 亚速尔-澳大利亚混合物批次的碘分析由Cumberland Valley Analytical Services,Waynesboro,PA 17268进行

[0411] 表5.基于饲料组合物和总暴露,针对乳牛的多种矿物质的摄入限制。

[0412]

	<u>耐受性限制</u>	
	最大可允许的组分摄入限制/每天每千克的 DM 消耗	消耗 20.14 kg DM/天的乳牛的理论最大每天组分摄入
	mg/kg DMI	mg/天
铝	1000	20140
铈		
砷	30	604
钡		
硼	150	3021
镉	10	201
钙	15000	302100
铬	100	2014

[0413]

钴	25	504
铜	40	806
碘	50	1007
铁	500	10070
铅	100	2014
镁	6000	120840
锰	2000	40280
汞	2	40
钼	5	101
磷	7000	140980
钾	20000	402800
硒	5	101
钠	84742	1706704
硫	3000	60420
铊		
锌	500	10070

[0414] 表6:来自120g/天剂量的基于配子体的藻类补充剂的经计算的矿物质暴露,示出了过多的碘暴露。

[0415]

现在使用的典型的配子体组成		
亚速尔和澳大利亚混合物	海藻的矿物质含量 mg/kg	在 120 g/天海藻摄入下的每天 mg 矿物质暴露
	mg/kg	mg
铝	4093	491.20
锑	<5	<0.6
砷	14	1.69

[0416]

钡	11	1.28
硼	109	13.03
镉	1	0.06
钙	24480	2937.54
铬	84	10.10
钴	4	0.42
铜	6	0.74
碘	2730	327.60
铁	5251	630.12
铅	<2.5	<0.3
镁	10121	1214.54
锰	100	11.94
汞	<10.0	<1.2
钼	2	0.28
磷	1694	203.26
钾	16042	1925.03
硒	0.30	0.04
钠	71571	8588.52
硫	30657	3678.78
铊	<10.0	<1.2
锌	14	1.73

[0417] 表7:示出了低得多的碘和铝含量的典型Brominata分析。

[0418]

<u>Brominata 组分分析</u>		
<u>元素</u>	量	单位
铝	13.3	ppm

[0419]

锑	<5	ppm
砷	<2.5	ppm
钡	0.6	ppm
硼	239	ppm
镉	0.05	ppm
钙	3666.2	ppm
铬	1.1	ppm
钴	<1	ppm
铜	8.6	ppm
碘	460	ppm
铁	1972	ppm
铅	<2.5	ppm
镁	6572.8	ppm
锰	124.7	ppm
汞	<10	ppm
钼	0.9	ppm
磷	2716.1	ppm
钾	15067.7	ppm
硒	0.1	ppm
钠	33239.6	ppm
硫	26158	ppm
铊	<10	ppm
锌	10.8	ppm

[0420] 表8. 两种商业上共混矿物质补充剂的实例, 其具有以推荐的补充速率计算的暴露。

[0421]

	补充剂			
	用于泌乳乳牛的补充剂的矿物质含量		用于干乳牛的补充剂的矿物质含量	
		以 220 g/天补充的矿物质摄入	补充剂的矿物质含量	以 454 g/天补充的矿物质摄入
	mg/kg	mg/天	mg/kg	mg/天
铝				
铈				
砷				
钡				
硼				
镉				
钙	214369	128621	239808	143884.8
铬				
钴	20.4	12	4	2.4
铜	605	363	369	221.4
碘	71.6	43	25.9	15.54
铁	87.7	53	40.5	24.3
铅				
镁	59824	35895	59976	35985.6
锰	1004	602	214	128.4
汞				
钼				
磷	3.8	2.28	1.4	0.84
钾	45563	27338	7	4.2
硒	29.7	17.82	9.1	5.46
钠	59632	35779	154	92.4

[0422]	硫	19793	11876		45027	27016.2
	铊					
	铟	3546	2128		1576	945.6

[0423] 本说明书中引用的所有参考文献及其参考文献在适用于附加的或替代的细节、特征和/或技术背景的教导的情况下通过引用整体并入本文。

[0424] 虽然已经参照特定实施方案具体示出和描述了本公开内容,但是应理解,以上公开的以及其他特征和功能的变型方案或其替代方案可期望地组合到许多其他不同的系统或应用中。此外,本领域技术人员可随后在其中做出各种目前无法预料或不曾预料的替代方案、修改方案、变型方案或改进方案,这些也旨在被所附权利要求书所涵盖。

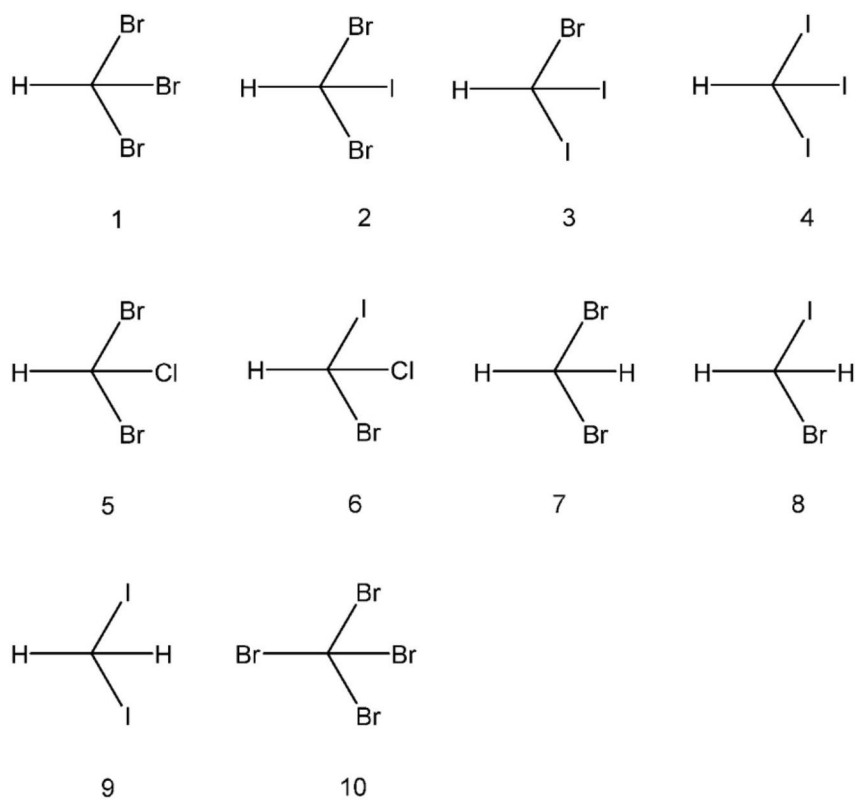


图1

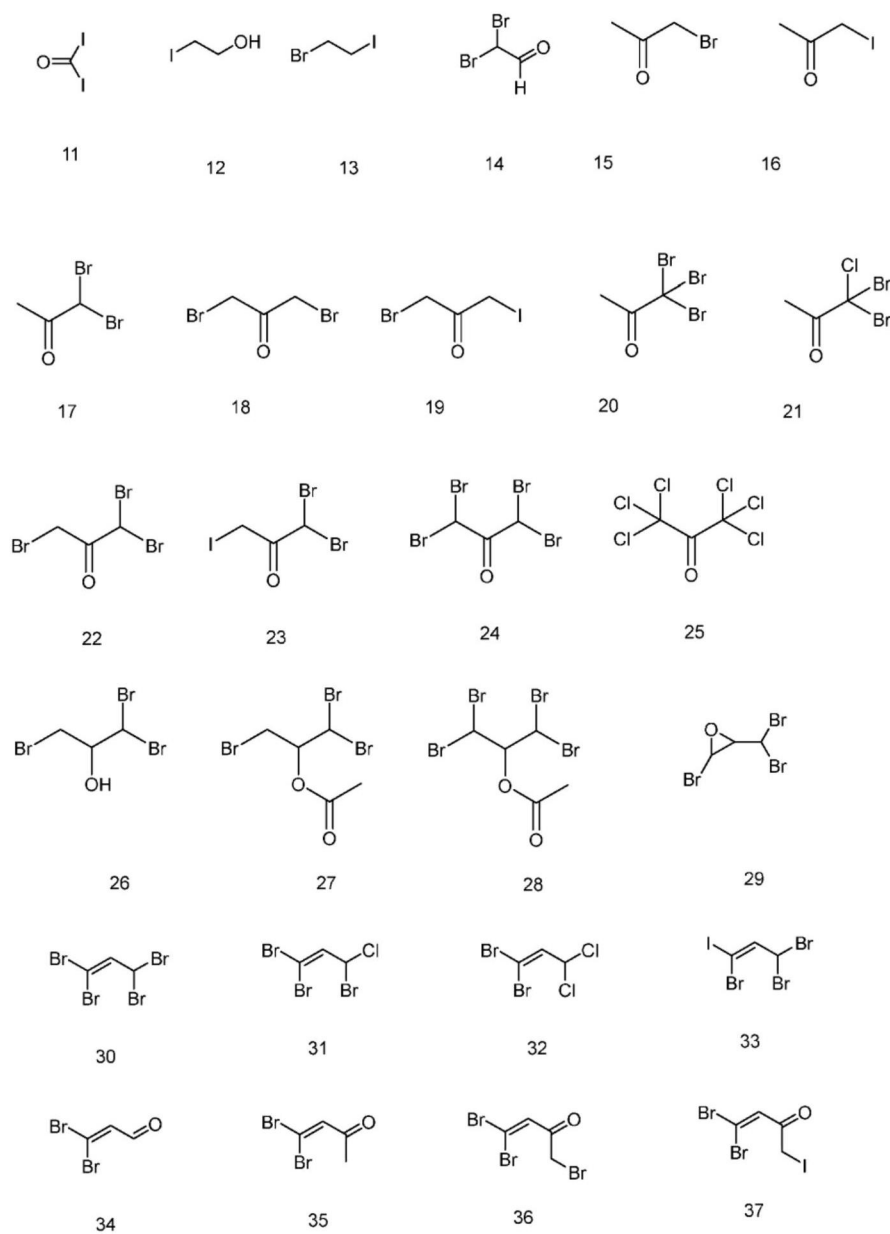


图1续

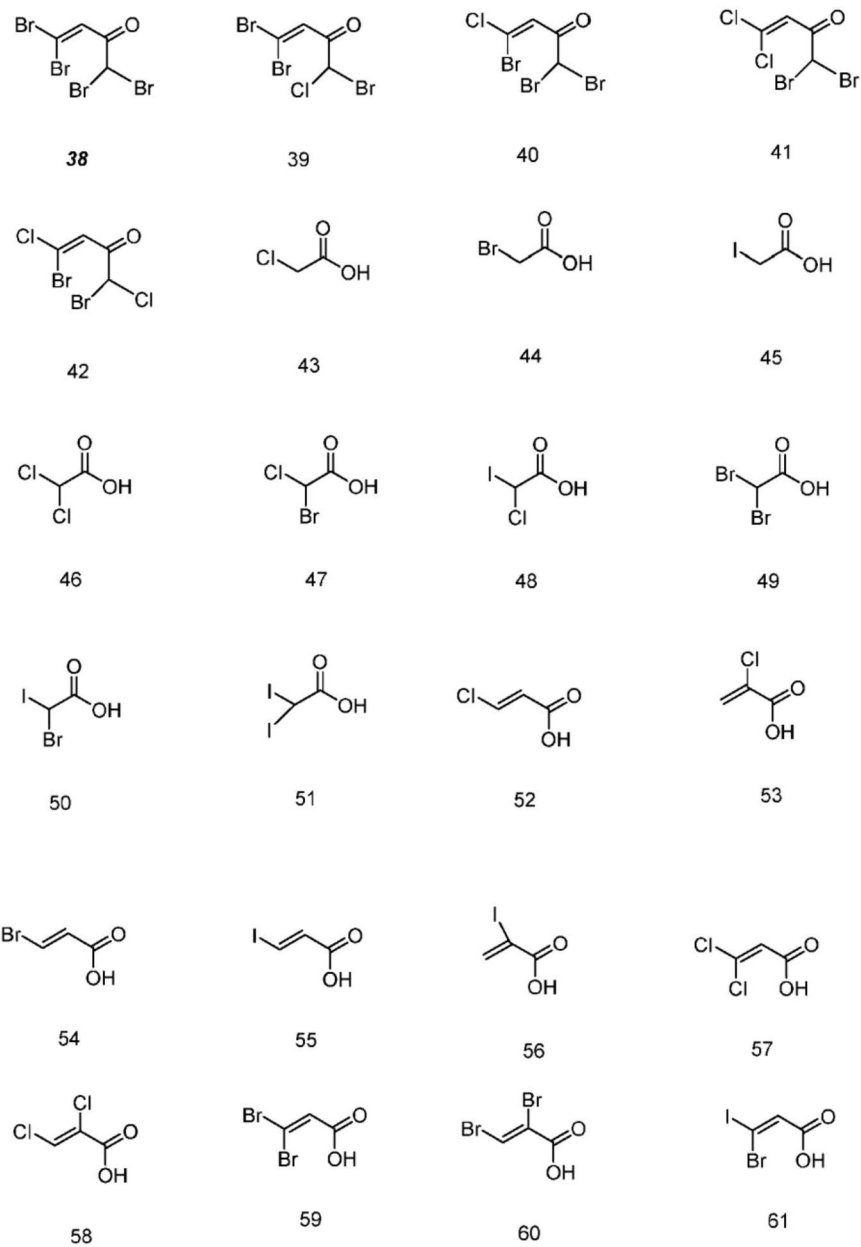


图1续

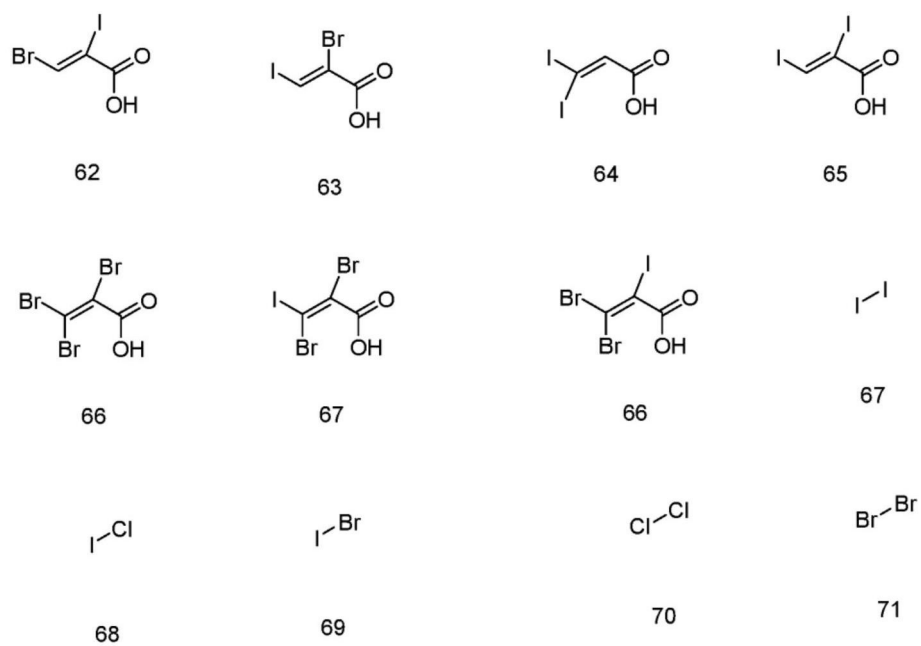


图1续

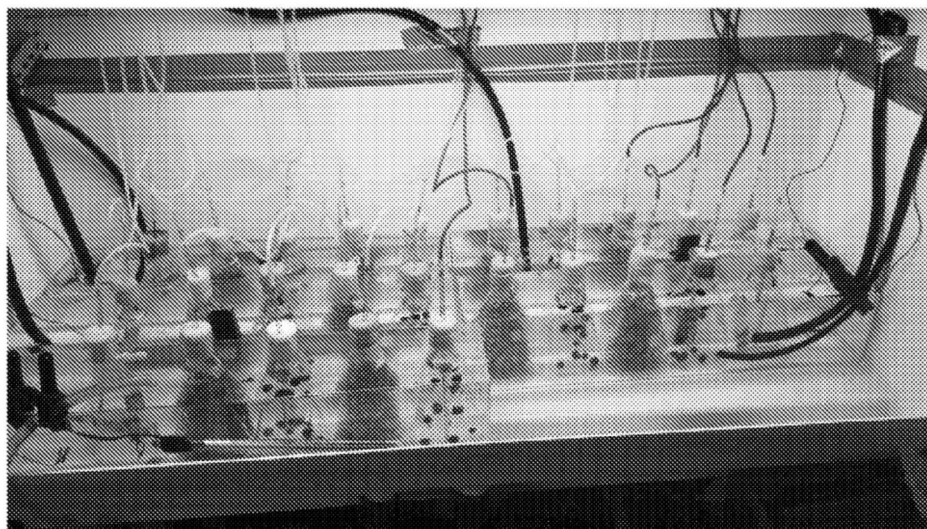


图2

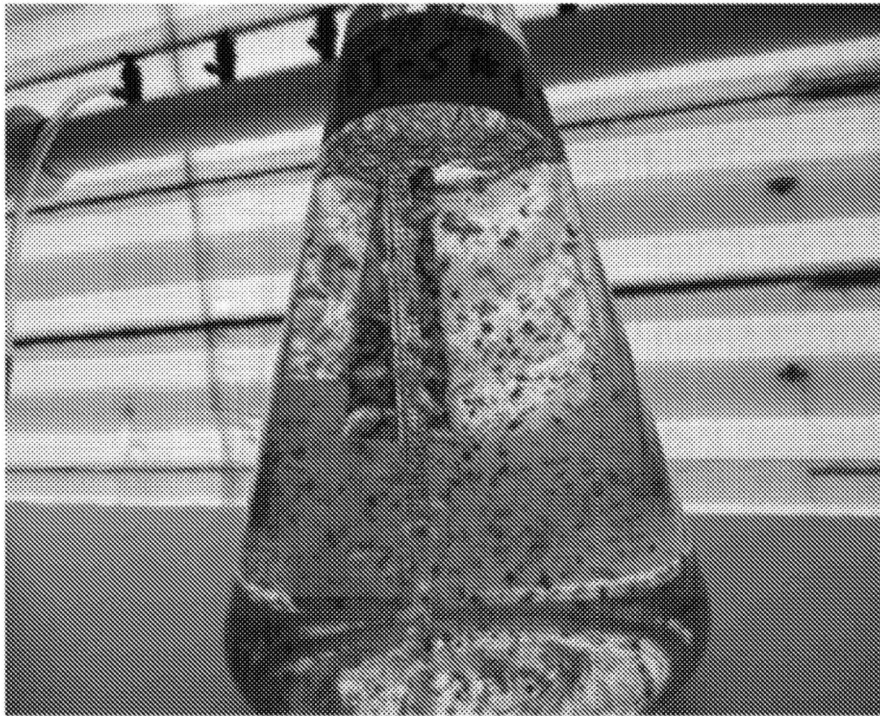


图3



图4

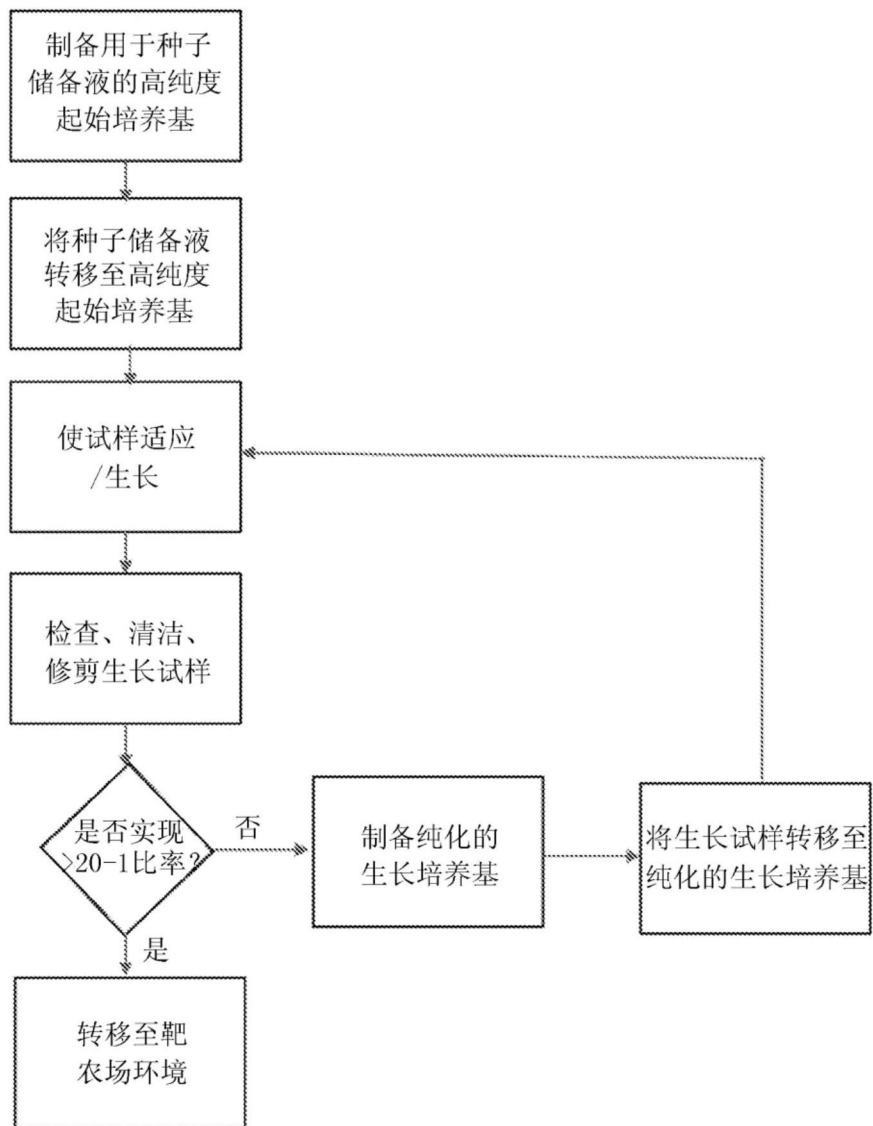


图5



图6

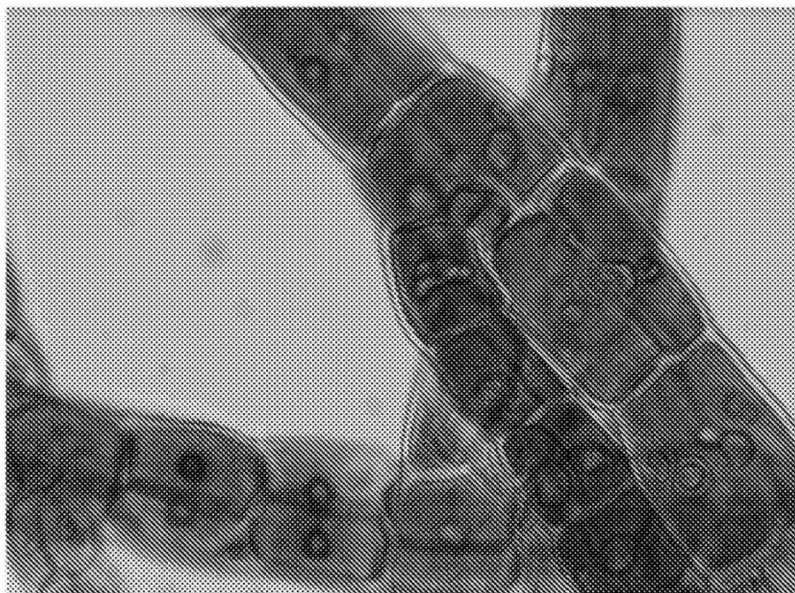


图7

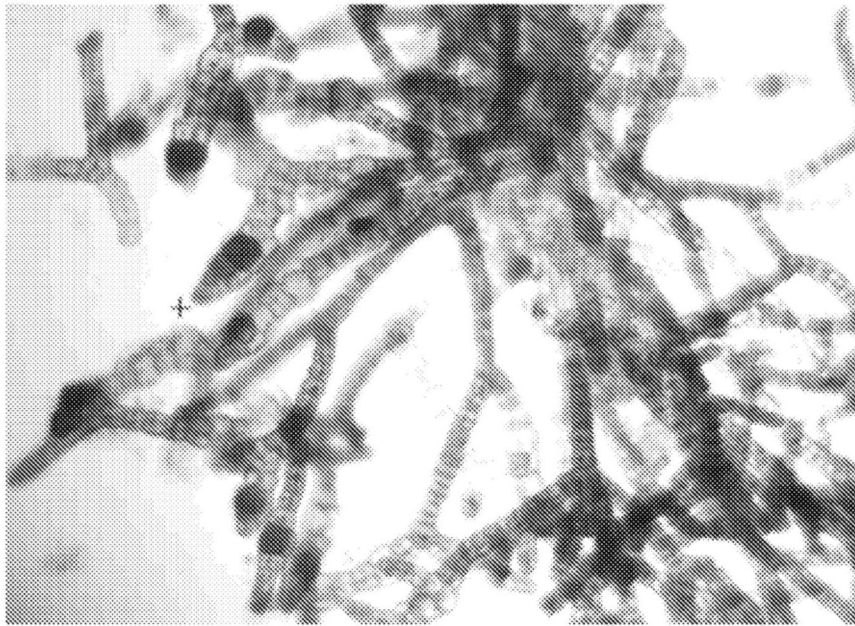


图8

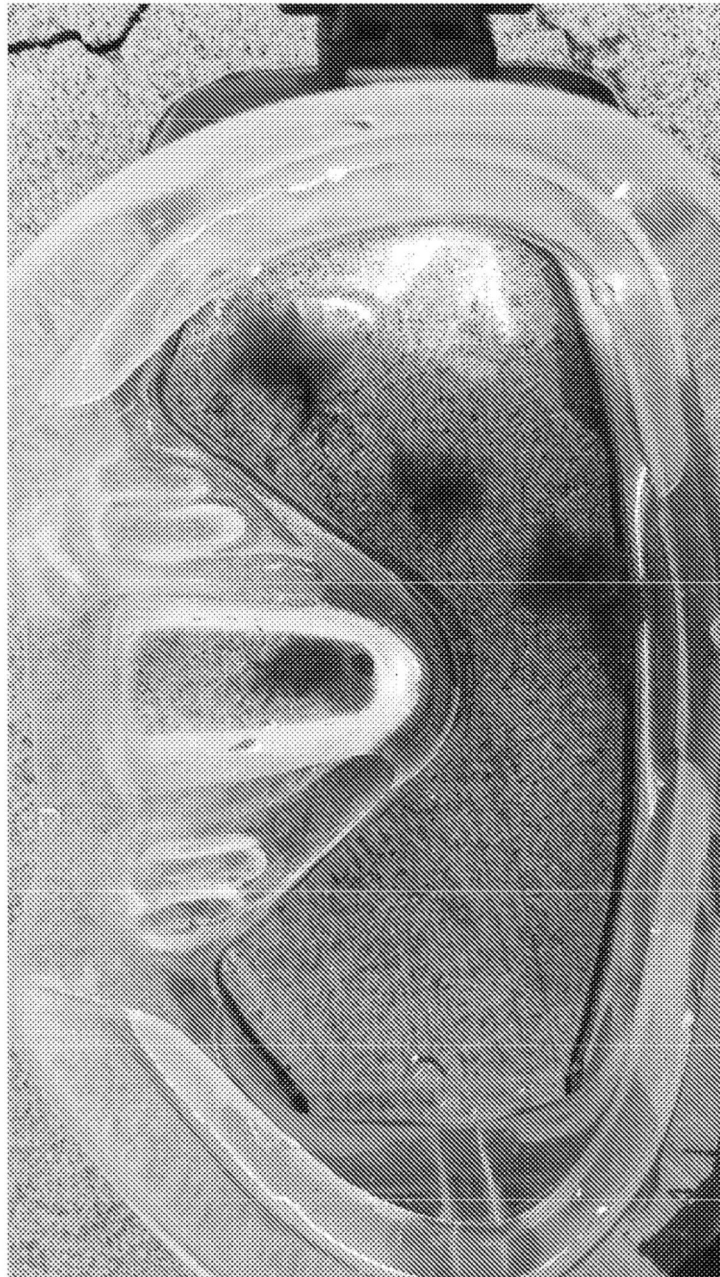


图9

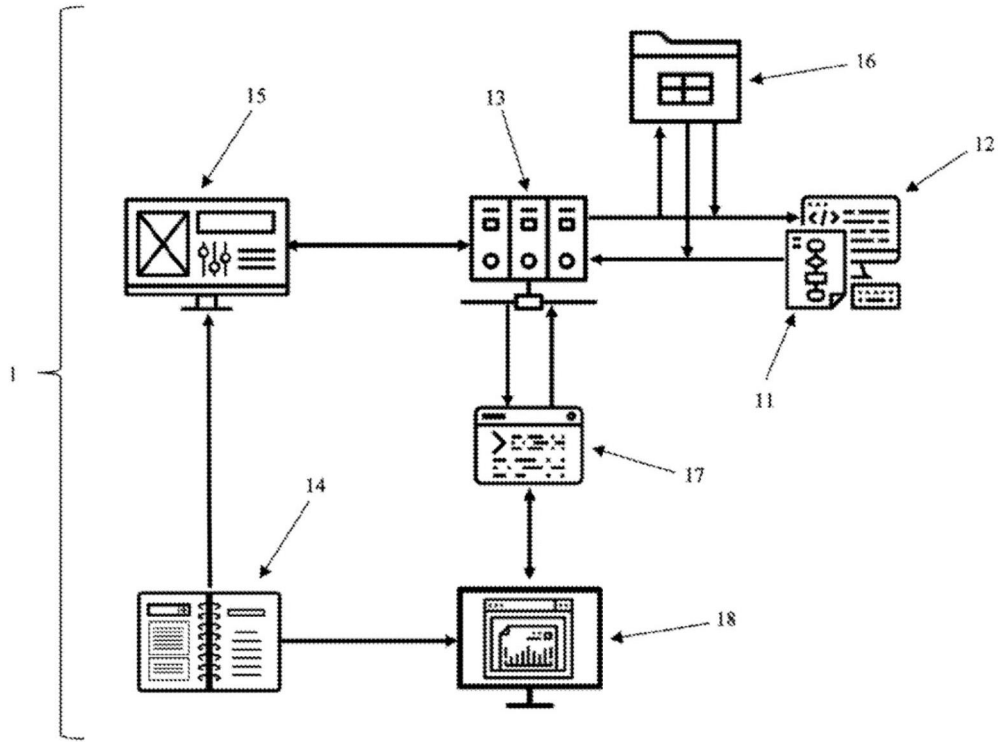


图10

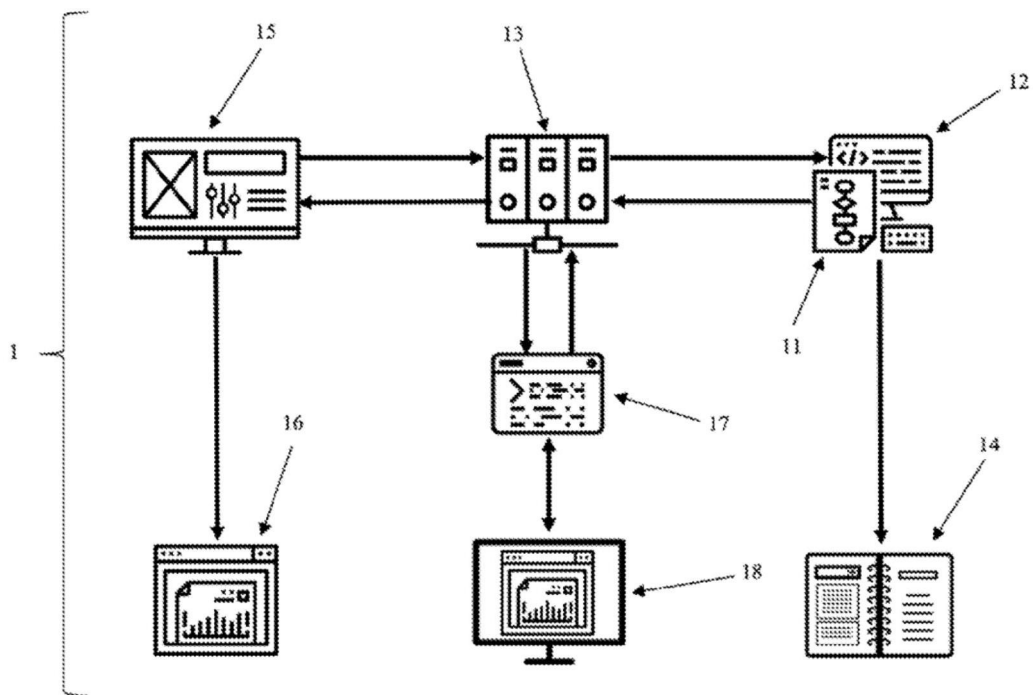


图11

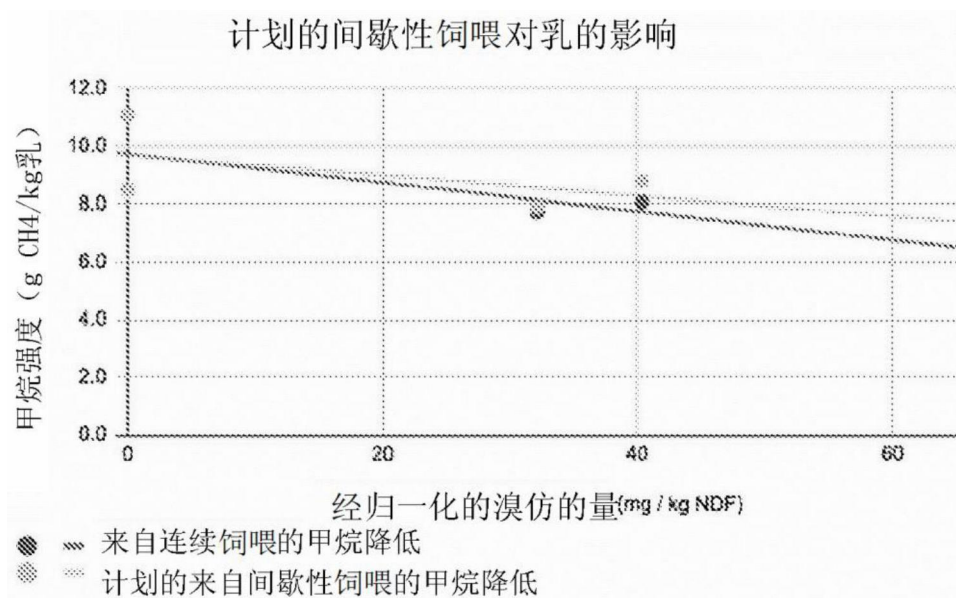


图12

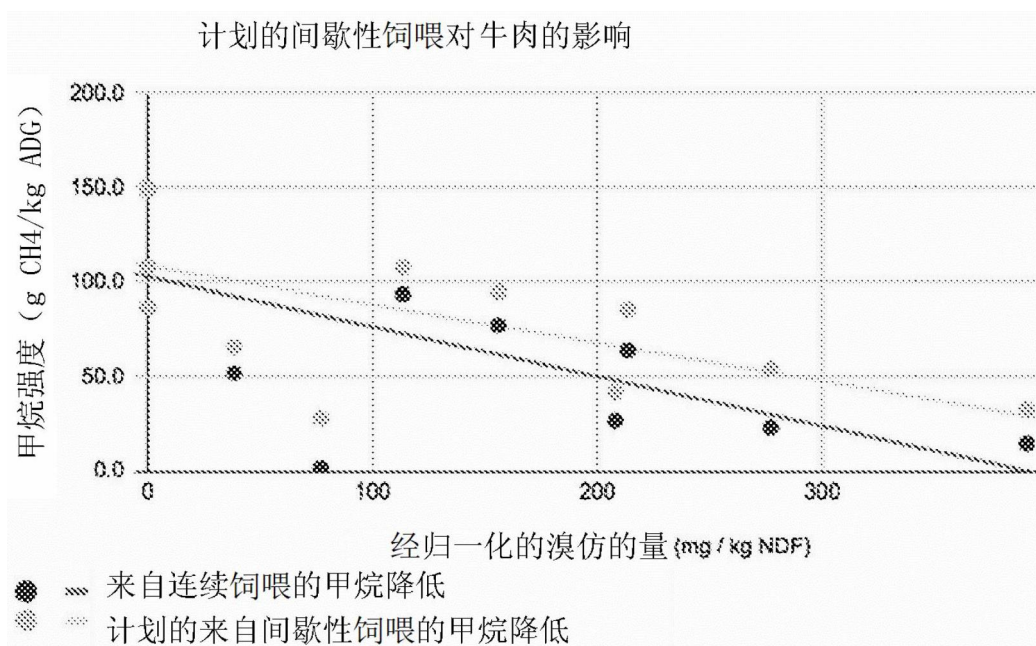


图13