

35 0811



P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "UN PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR CAPSULAS DE DESPRENDI-
MIENTO REGULADO PARA RUMIANTE", a favor de la firma canadien-
se JOHN LABATT LIMITED, residente en 150 Simcoe Street, Lon-
don, Ontario, Canadá.

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Este invento se refiere a materiales biológicamente
activos, encapsulados, para la alimentación de rumiantes.

- Se ha establecido extensamente que pueden obtenerse
aumentos muy importantes en la eficiencia de la alimentación
5. animal con el uso de ciertos aditivos para piensos. Esto ha
resultado particularmente exacto en la alimentación de los
monogástricos, donde actualmente es práctica usual complemen-
tar la dieta con materiales de esta índole, como los aminoáci-
dos. El uso de los aminoácidos en los piensos para animales



se describe en Block y col., patente canadiense N° 429.111, expedida el 31 de Julio de 1945, mientras que Baldini y col., patente canadiense N° 561.699, expedida el 12 de Agosto de 1958, describe el uso del aminoácido metionina. Los aminoácidos constituyen un grupo particularmente útil de aditivos, dado que son las unidades de las que se construyen las moléculas proteínicas. Aunque como aditivos de los piensos para rumiantes se emplean muchos materiales biológicamente activos, está reconocido que muchos de estos aditivos para piensos, por ejemplo los aminoácidos y la vitamina A, pueden utilizarse ineficazmente a causa de su degradación en el rumen.

En condiciones prácticas, los piensos consumidos por los rumiantes contienen una variedad de compuestos nitrogenados. El pienso, mezclado con saliva, entra en el rumen, que es en esencia un fermentador continuo. Una parte del alimento que entra en el rumen puede ser a continuación erup-tado y remasticado, para reducir el tamaño de las partículas. Dentro del rumen, la microflora ataca el alimento y reduce una parte de los compuestos nitrogenados a amoníaco. Una parte del amoníaco pasa por la pared del rumen a la sangre portal, que lo transporta al hígado. Dentro del hígado, una parte del amoníaco se convierte en urea, una parte de la cual vuelve a entrar en el rumen con la saliva; mucha de la urea restante se excreta en la orina. La microflora del rumen utiliza amoníaco ruminal y otros compuestos nitrogenados para sintetizar proteínas celulares microbianas. Una corriente de ingesta, rica en células microbianas, pasa del rumen al omaso,



cuya función puede compararse a la de una prensa. Mucha parte del líquido vuelve a entrar en el rumen, mientras el resto del material penetra en el abomaso o estómago verdadero. La digestión y la absorción del nitrógeno se desarrollan entonces de manera semejantes a la que se halla en los monogástricos. Enzimas segregadas dentro del lumen del intestino digieren muchos de los compuestos nitrogenados, incluyendo algunos de los contenidos en las células microbianas. Los productos de la digestión son excretados como heces o absorbidos. Los compuestos nitrogenados absorbidos pueden usarse, entre otras cosas, para reparar los tejidos desgastados, construir tejidos nuevos o suministrar energía. El nitrógeno absorbido excedente se excreta por la orina o la saliva. Además de lo que precede, algunas de las células que tapizan el tracto intestinal se esfacelan durante el paso de los ingesta. Los componentes nitrogenados de las células procedentes del tracto intestinal pueden ser elaborados de manera semejante a las células microbianas.

El rumen tiene la gran ventaja de ser capaz de convertir, por acción microbiana, muchos componentes del alimento que carecen de valor nutritivo directo para el huésped en productos que pueden ser asimilados y utilizados por el huésped. Por ejemplo, la urea puede ser convertida en proteína microbiana, que luego puede ser digerida y utilizada por el animal huésped, y la celulosa puede ser convertida en una mezcla de ácidos grasos volátiles, la cual puede servir como fuente de energía para el huésped.



Esta acción microbiana presenta también ciertas desventajas. Por ejemplo, proteínas solubles de gran valor nutritivo pueden desaminarse en el rumen y en parte volverse a sintetizar en proteína microbiana de menor valor nutritivo.

5. Los aminoácidos, las unidades de que se construyen las moléculas proteínicas, están también sujetos a cambio químico por los microorganismos del rumen y se ha observado que éstos convierten los aminoácidos en anhídrido carbónico, ácidos grasos volátiles y amoníaco.
10. También hemos demostrado que el espectro de los aminoácidos disponibles para la absorción por el rumiante está desequilibrado en términos de los requisitos para máxima eficiencia y productividad. En ciertas condiciones, se ha demostrado que la metionina y la lisina eran los aminoácidos más limitantes en los novillos de crianza. La infusión directa de soluciones de metionina y/o lisina en los abomasos de los novillos de crianza daban marcadas mejoras en ganancia de peso, eficiencia alimenticia y retención de nitrógeno.
15. La infusión de un aminoácido en el abomaso de un novillo también tendía a dar por resultado un aumento en el nivel de ese aminoácido en el plasma sanguíneo.
20. Así pues, pueden lograrse en los ruminantes aumentos muy notables de la eficiencia en la alimentación si pueden disponerse aminoácidos suplementarios para la absorción por el animal. Sin embargo, a causa de la acción microbiana en el rumen, los suplementos de aminoácidos en los piensos
- 25.



para rumiantes raramente han dado respuestas beneficiosas.

- Según este invento, se ha descubierto que los materiales biológicamente activos, tales como los aminoácidos, pueden ser transportados a través del rumen de manera que
5. ejerzan sus efectos biológicos más allá del omaso, si se suministran los materiales en forma de partículas, por ejemplo de cápsulas, grageas, gránulos o similares, en las que los materiales activos estén totalmente envueltos por una película continua de material protector que sea esencialmente
10. inmune a la degradación en el rumen pero que suelte los materiales activos más allá del omaso. Así, las partículas pueden pasar por el rumen esencialmente inalteradas y llegar a un lugar posterior al omaso, donde el material biológicamente activo se hace disponible para utilización por el animal. Estas partículas se referirán en lo que sigue como "cápsulas".
- 15.

- Algunos materiales activos, como los aminoácidos, pueden ser absorbidos del tracto intestinal y utilizados dentro del propio cuerpo del animal huésped, mientras otros
20. materiales activos pueden desplegar su actividad dentro del lumen del intestino.

- Las cápsulas pueden prepararse por una amplia variedad de técnicas de encapsulación conocidas; por ejemplo, técnicas de lecho fluidificado, dispositivos de encapsulación
25. por extrusión centrífuga, grageado, etc., y puede usarse cualquier material protector que no suelte el material activo en el fluido del rumen, sino que lo suelte más allá del omaso



- y que sea tolerable para el animal. Así, las cápsulas pueden formarse con una cáscara externa continua de material protector o pueden formarse sin una cáscara externa distinta, si el material activo se encapsula en bolsas en una matriz de material protector. Sin embargo, es importante que el material activo esté completamente revestido de material protector, dado que las cápsulas deben ser capaces de resistir períodos prolongados de tiempo en el rumen sin que grandes cantidades de material activo sean lixiviadas de las cápsulas por el fluido ruminal.
- 5.
- 10.

El tamaño de las cápsulas puede variar en una amplia gama, pero es preferible que sean suficientemente grandes para que no puedan ser fácilmente engolfadas por los protozoos del rumen. El tamaño máximo está limitado únicamente por el tamaño que puede administrarse al animal como parte integrante del pienso. Para uso rutinario como aditivo para piensos, se prefiere un diámetro para las cápsulas que abarque de unas 200 a 2000 micras.

15.

La densidad de las cápsulas debe ser suficiente para asegurar que no han de permanecer flotando en la superficie del contenido del rumen por un período de tiempo indebido, y al mismo tiempo, no debe ser tan grande que las cápsulas caigan al suelo del rumen y permanezcan en él indefinidamente. Las cápsulas tienen por lo general una densidad de 0,8 a 2,0 aproximadamente, y de preferencia de 1,0 a 1,4 aproximadamente. La densidad de las cápsulas puede regularse convenientemente variando los ingredientes que forman el

20.

25.



núcleo de la cápsula, por ejemplo mediante la adición de caolín.

5. El material protector debe ser esencialmente insoluble e impermeable en el rumen y debe tener también un punto de fusión superior a la temperatura del fluido del rumen. Además, debe ser esencialmente indegradable por los microorganismos ruminales dentro del tiempo de permanencia en el rumen.

10. Dado que el material activo de las cápsulas debe ser desprendido más allá del omaso, por ejemplo en el abomaso o en la parte anterior del intestino delgado, el material protector puede ser un material que se vuelva permeable o se disuelva en el abomaso, el duodeno o el jejunio. El material protector puede ser modificado por el pH bajo del abomaso o puede ser destruido por las sales biliares o por las enzimas, 15. o bien por una combinación de estos factores. Entre los materiales protectores satisfactorios cabe mencionar los triglicéridos, como las grasas hidrogenadas vegetales y animales, las ceras, como la cera de salvado de arroz, y las mezclas de resina y cera que pueden ser emulsionadas o disgregadas 20. por las sales biliares y/o disueltas por las lipasas del tracto intestinal.

25. Las cápsulas pueden suministrarse convenientemente a los animales como parte de un concentrado alimenticio o en combinación con minerales, como sales. El suministro de las cápsulas mezcladas con mineral tiene la importante ventaja de permitir suministrar cantidades controladas de cápsulas a animales en apacentamiento, hasándose en su consumo de



mineral.

De los muchos aminoácidos que se sabe existen, aproximadamente 22 se hallan en los tejidos animales. Una respuesta a un aminoácido suplementario únicamente se obtendrá si ese ácido es el más deficiente respecto a las otras deficiencias de ácido, con tal de que no exista un déficit general de aminonitrógeno no específico. Una deficiencia de ciertos aminoácidos puede limitar el crecimiento y/o la productividad del animal y, de hecho, una deficiencia aguda puede desembocar en la muerte.

En la Tabla I que sigue se expone una comparación de datos estimados de las necesidades de aminoácidos con los valores observados para los aminoácidos libres en el plasma sanguíneo de un novillo de crianza.

TABLA I

Aminoácido	Necesidad (A)	Plasma sanguíneo p.p.m (B)	relación (C)	(C) como % de (A) (D)	Orden de limitación
20. Lisina	1.00	15.1	1.00	100	2
Arginina	0.60	16.6	1.10	183	9
Histidina	0.33	11.0	0.73	221	11
Treonina	0.60	9.3	0.62	103	3
25. Metionina	0.45	6.0	0.33	73	1
Cistina	0.25	6.4	0.42	168	6
Valina	0.80	30.2	2.00	250	12
Leucina	0.90	17.2	1.14	127	5
Isoleucina	0.60	15.8	1.05	175	8
30. Fenilalanina	0.70	11.5	0.76	108	4
Tirosina	0.35	9.2	0.61	174	7
Triptófano	0.20	6.7	0.44	220	10



Por los datos anteriores se ve que la metionina ha resultado ser el primer limitante, seguida por la lisina y la treonina. A base de esta información, se estableció un programa de ensayos para estudiar los efectos tanto de la infusión abomasal como de la administración oral de metionina y de lisina en los novillos de crianza.

5.

Aunque los datos anteriores se aplican a novillos de crianza, se apreciará que datos respectivos pueden calcularse para otros ruminantes en condiciones variables, por ejemplo para vacas lecheras, ovejas, etc.

10.

El invento se ilustra a continuación con los siguientes ejemplos, no limitativos:

EJEMPLO 1

15.

La finalidad de este experimento era estudiar los efectos de las infusiones abomasaes de metionina y/o lisina sobre las funciones de los novillos de crianza alimentados con una dieta de heno/concentrado sobre una base ad libitum.

20.

Se destetó un grupo ocho terneros del tipo Holstein para pasarlos a una dieta de heno basto y, tuvieron unas 13 semanas de edad, se aplicó a cada animal una cánula abomasal diseñada y fabricada por el Dr. G.D. Phillips de la Universidad de Manitoba. Dos semanas más tarde se castraron y descornaron los terneros.

25.

El experimento fué en plan de bloque al azar, con



dos replicaciones y cuatro tratamientos. Estos últimos, que se dispusieron como factor 2 x 2, implicaban la infusión abomasal de soluciones de lisina y/o metionina.

5. Se colocaron los novillos en jaulas de metabolismo individuales y se les ofreció todo el heno que pudieron consumir. Su dieta incluía también un concentrado alimenticio que se dividía en dos comidas por día y que era equivalente al 20% del consumo de heno del día anterior. Una vez por día se retiraba el alimento que había quedado, se le pesaba y se tomaban muestras.

10. La orina se recogía a base diaria en bidones de plástico a los que se habían añadido 500 cc de solución de ácido bórico al 4%. Se diluía la orina con las lavazas de la jaula y con agua del grifo hasta un volumen de 8 litros, se la mezclaba perfectamente y luego se tomaban muestras de ella.

15. A cada animal estaba unido un arnés de heces y una bolsa colectora, y las bolsas colectoras se cambiaban tres veces por día. El peso de las heces vaciadas se registraba y se tomaba de ellas una muestra representativa.

20. El contenido de materia seca del heno, de los residuos de heno y de las muestras de heces se determinó por el método de la A.O.A.C. Para medir el contenido de nitrógeno del heno, de los residuos de heno, de las heces, de la orina y de las soluciones de ensayo se empleó la técnica micro-kjeldahl de la A.O.A.C.

25.



Se prepararon cuatro soluciones de ensayo para infusión abomasal, que tenían la composición siguiente:

1. 1,5% de alcohol bencílico
2. 2,5% de clorhidrato de L-lisina + 1,5% de alcohol bencílico
3. 2,0% de DL-metionina + 1,5% de alcohol bencílico
4. 2,5% de clorhidrato de L-lisina + 2,0% de DL-metionina + 1,5% de alcohol bencílico.

Se infundieron las soluciones por medio de una bomba de Harvard, a un promedio de 750 cc por cabeza y por día, a base continua, calculada para suministrar 15 g de lisina y/o metionina, y se prosiguió el ensayo por 14 días.

Una vez terminada la fase de infusión del experimento, se extrajo una muestra de sangre venosa de una vena yugular de cada animal. Se centrifugó la sangre citratada y se desproteinizaron muestras del plasma. Luego se ensayó el plasma respecto a los aminoácidos libres utilizando el Technicon Autoanalyzer.

En la Tabla II se resumen los datos de este experimento respecto al cambio de peso, el consumo de alimento, la eficiencia alimenticia y la retención de nitrógeno.



-12-

-13-

TABLA II

Datos de cambio de peso, consumo de alimento y retención de nitrógeno

Tratamiento	Rep.	Peso corporal medio		Cambio de peso, en kg	Alimento consumido		Eficiencia alimenticia			Cambio de peso como % del control	Eficiencia total como % del control	Nitrógeno retenido en %	Nitrógeno retenido, brutoc nisc, %
		Inicial, kg	Final, kg		Heno trado	Concentrado	Heno	Concentrado	Total				
Control	A	179.94	189.44	9.50	61.915	12.317	6.52	1.30	7.81	100	100	160.94	13.31
	B	181.19	188.94	7.75	57.675	11.487	7.44	1.48	8.92	100	100	69.83	6.22
	Promedio	180.56	189.19	8.62	59.795	11.902	6.93	1.38	8.31	100	100	115.16	9.89
Lisina	A	173.88	183.56	9.68	55.525	11.105	5.74	1.15	6.88	102	88	89.08	7.94
	B	172.69	181.75	9.06	58.605	11.527	6.47	1.27	7.74	117	87	177.74	15.06
	Promedio	173.28	182.66	9.37	57.065	11.316	6.09	1.21	7.30	109	88	133.41	11.58
Metionina	A	158.19	169.75	11.56	46.480	9.419	4.02	0.81	4.84	122	62	108.77	11.72
	B	178.69	189.75	11.06	63.535	11.494	5.74	1.04	6.78	143	76	210.89	17.09
	Promedio	168.44	179.75	11.31	55.008	10.456	4.86	0.92	5.79	131	70	159.83	14.78
Metionina + Lisina	A	179.94	190.88	10.94	64.550	12.832	5.90	1.17	7.07	115	90	222.16	16.80
	B	170.31	180.25	9.94	56.745	11.399	5.71	1.15	6.86	128	77	160.86	13.75
	Promedio	175.12	185.56	10.44	60.648	12.116	5.81	1.16	6.98	121	84	191.51	15.36

5.

10.

15.

1 Cada valor está basado sobre 4 pesadas diarias consecutivas.

20.

TABLA II

Datos de cambio de peso, consumo de alimento y retención

5.	Tratamiento	Rep.	Peso corporal medio ¹		Cambio de peso, en kg	Alimen consumo	
			Ini- cial, kg	Final, kg		Heno	C t
10.	Control	A	179.94	189.44	9.50	61.915	
		B	181.19	188.94	7.75	57.675	
		Promedio	180.56	189.19	8.62	59.795	
15.	Lisina	A	173.88	183.56	9.68	55.525	
		B	172.69	181.75	9.06	58.605	
		Promedio	173.28	182.66	9.37	57.065	
20.	Metionina	A	158.19	169.75	11.56	46.480	
		B	178.69	189.75	11.06	63.535	
		Promedio	168.44	179.75	11.31	55.008	
20.	Metionina + Lisina	A	179.94	190.88	10.94	64.550	
		B	170.31	180.25	9.94	56.745	
		Promedio	175.12	185.56	10.44	60.648	

¹ Cada valor está basado sobre 4 pesadas diarias consecutivas.



TABLA II

y retención de nitrógeno

Peso, kg	Alimento consumido		Eficiencia alimenticia			Cambio de peso como % del control	Eficiencia alimenticia total como % del control	Nitrógeno retenido, en g	Nitrógeno bruto retenido, %
	Heno	Concentrado	Heno	Concentrado	Total				
.50	61.915	12.317	6.52	1.30	7.81	100	100	160.94	13.31
.75	57.675	11.487	7.44	1.48	8.92	100	100	69.83	6.22
.62	59.795	11.902	6.93	1.38	8.31	100	100	115.16	9.89
.68	55.525	11.105	5.74	1.15	6.88	102	88	89.08	7.94
.06	58.605	11.527	6.47	1.27	7.74	117	87	177.74	15.06
.37	57.065	11.316	6.09	1.21	7.30	109	88	133.41	11.58
.56	46.480	9.419	4.02	0.81	4.84	122	62	108.77	11.72
.06	63.535	11.494	5.74	1.04	6.78	143	76	210.89	17.09
.31	55.008	10.456	4.86	0.92	5.79	131	70	159.83	14.78
.94	64.550	12.832	5.90	1.17	7.07	115	90	222.16	16.80
.94	56.745	11.399	5.71	1.15	6.86	128	77	160.86	13.75
.44	60.648	12.116	5.81	1.16	6.98	121	84	191.51	15.36



5. Por la tabla II se ve que los novillos infundidos con aminoácido ganaron constantemente más peso que sus controles y que los animales que recibieron metionina hicieron las mayores ganancias. Los datos de eficiencia alimenticia son paralelos a los datos de cambio de peso. Así, se ve que pueden lograrse aumentos muy importantes en la eficiencia alimenticia y la ganancia de peso si pueden hacerse disponibles más allá del omaso de los novillos de crianza aminoácidos suplementarios.

10. En la Tabla III que sigue se exponen los valores medios de algunos de los aminoácidos libres en las muestras de plasma sanguíneo obtenidas de los novillos al final del experimento.

15. T A B L A III

	Control ppm	Lisina ppm	Metionina ppm	Lisina + Metionina ppm
20. Lisina	15.1	33.8	15.0	27.3
Metionina	5.0	5.1	114.2	96.0
Cistina	6.4	7.0	8.0	6.2

25. De los datos que anteceden resulta evidente que la infusión de lisina, ya sea sola o en presencia de metionina, elevó el nivel de la lisina libre en el plasma en un 100%. Las infusiones de metionina elevaron el nivel de metionina



- libre en 2,000% aproximadamente. Sin embargo, la cantidad de cistina libre no cambió. Estos datos sugieren que el cambio en los niveles de aminoácidos libres en el plasma sanguíneo puede usarse como ensayo biológico para clasificar las preparaciones de aminoácidos administradas por vía oral.
- 5.

E J E M P L O 2

- Se hizo una lechada con DL-metionina, caolín y ácido esteárico, la cual se encapsuló en una grasa vegetal hidrogenada (Setsquick) empleando un dispositivo de extrusión centrífugo del Southwest Research Institute, de San Antonio, Texas. El material resultante estaba constituido primordialmente por partículas esencialmente esféricas, de un tamaño de 1,000 a 1,200 micras y con una densidad de 1,1 a 1,2 g/ml.
- 10.
15. La composición del producto final fué:

	DL-metionina	39,1%
	Caolín	14,7%
	Acido esteárico	44,0%
20.	Setsquick	2,2%

E J E M P L O 3

- Se dividieron en tres pares seis novillos del tipo Holstein, sanos y en crianza, que recibían una dieta de heno y concentrado en forma de dos comidas por día. El primer par de animales sirvieron de controles negativos y no recibieron suplemento. El segundo par de novillos fueron los controles positivos. Durante el período experimental, cada
- 25.



uno de los controles positivos recibió 5 g de DL-metionina con cada comida. Los animales del tercer par recibieron cada uno 5 g de DL-metionina, en forma del material que se ha descrito en el Ejemplo 2, con cada comida durante el experimento. Las cápsulas se administraron como purgante directamente dentro del esófago por medio de un tubo. Inmediatamente antes del inicio del experimento (día 0) e inmediatamente después del cuarto día del ensayo de alimentación (día 4) se obtuvieron de cada animal muestras de plasma sanguíneo. El plasma sanguíneo desproteínizado se sometió a ensayo para investigar la metionina y la valina. Los resultados del experimento están resumidos en la Tabla IV.

T A B L A IV

15.	Día	Metionina		Valina		Relación metionina:valina	
		0	4	0	4	0	4
	<u>Replicación del tratamiento</u>						
	Control negativo	a 3.0	3.0	25.7	24.9	0.117	0.120
		b 3.3	3.2	27.9	24.6	0.118	0.130
20.	promedio	3.15	3.10	26.80	24.75	0.118	0.125
	Control positivo	a 3.4	2.1	24.5	22.4	0.139	0.094
		b 4.0	3.1	31.0	26.4	0.129	0.117
	promedio	3.70	2.60	27.75	24.40	0.133	0.106
	Ejemplo 2	a 3.0	8.1	26.4	21.0	0.114	0.386
25.		b 2.6	6.3	25.5	22.6	0.102	0.279
	promedio	2.80	7.20	25.95	21.80	0.107	0.330



Los datos de la Tabla IV muestran que la metionina sola tiene poco efecto sobre el contenido de metionina libre del plasma sanguíneo, mientras que la metionina como se describe en el Jemplo 2 induce una elevación en el contenido de metionina del plasma. Esto demuestra que la metionina encapsulada modificada resultó disponible para la absorción. Dado que la cantidad de metionina capaz de pasar a través de la pared del rumen es extremadamente pequeña, debe asumirse que la metionina encapsulada fué absorbida del tracto intestinal distalmente al rumen. Las relaciones de metionina:valina son una medida más sensible de la absorción de metionina y confirman que la metionina encapsulada fué utilizada por el huésped, mientras que la metionina libre no lo fué.

Un ascenso en esta relación indica que la metionina administrada en el concentrado fué absorbida en el torrente sanguíneo. La relación metionina:valina es más sensible que el cambio en el nivel de metionina del plasma, dado que la metionina absorbida puede usarse muy rápidamente si es el primer aminoácido limitante. En tales condiciones, el cambio observado en el índice absoluto de metionina puede ser muy pequeño; sin embargo, al utilizar la metionina absorbida es probable que una porción de la valina libre, normalmente presente en exceso, sea también utilizada. En consecuencia, la absorción de metionina puede dar por resultado niveles deprimidos de valina y ningún cambio en los niveles de metionina.

Un motivo secundario para el empleo de la relación metionina:valina es que tiende a eliminar muchas de las varia-



5. ciones causadas por factores tales como un cambio del volumen sanguíneo. Se ha observado con frecuencia que los niveles de metionina en plasma de los animales de control pueden manifestar marcada variación durante un ensayo mientras que sus índices de metionina:valina pueden mostrar poca o ninguna variación.

E J E M P L O 4

10. Se repitió el procedimiento de encapsulación del Ejemplo 2 para formar cápsulas de la composición siguiente:

DL-metionina (%)	36,4
Acido esteárico (%)	39,5
Caolín (%)	13,7
15. Grasa vegetal hidrogenada (%)	10,4

20. La grasa vegetal hidrogenada (Setsquick) constituía la máscara o envoltura externa de las cápsulas y el resto de los componentes constituían el núcleo. La cápsula tenía un tamaño de partículas de < 1190 micras y una densidad de 1,13 g/cc.

E J E M P L O 5

25. Se efectuó una prueba para medir las respuestas de los novillos en final de crecimiento a los suplementos dietéticos de metionina encapsulada preparados según el Ejemplo 4.

Las pruebas abarcaban tres establos que contenían cada uno 8 novillos Hereford. Los animales se destinaron a



los establos al azar, con reordenamiento ulterior para asegurar pesos medios semejantes en cada establo. El experimento duró 10 semanas, durante las cuales se registraron a intervalos de 7 días el consumo de alimento por establo y el peso de cada animal. Al final del experimento, se sacrificaron los animales y se clasificaron sus restos. Al descuartizar éstos, se hicieron trazados en sección transversal de los lomos.

Los novillos se alimentaron con heno y un concentrado. El heno se administró al principio ad libitum, pero a medida que aumentó la toma de concentrado se restringió la administración de heno. Durante las 8 primeras semanas, la composición de la parte de concentrado de la dieta fué:

5.	Copos de cebada	47,79%
10.	Copos de avena	50,33%
15.	Mineral	1,88%

Al cabo de 8 semanas, la composición del concentrado se cambió por:

20.	Copos de cebada	74,1%
	Copos de avena	24,7%
	Mineral	1,2%

Las cápsulas de metionina se mezclaron previamente con una porción del concentrado y se administraron dos veces al día con niveles de 7,2 y 14,4 g por cabeza y por día. Los resultados de esta prueba se exponen en la Tabla V que sigue.



- 21 -

20 - 21

- 20 -

TABLA V

Cápsulas de metionina (g/cabeza/día) 0		7.2				14.4			
Sema- na	Ganancia media diaria por novi- llo (en libras)	Eficien- cia del conden- trado	Eficien- cia del heno	Ganancia media diaria por novi- llo (en libras)	Eficien- cia del concen- trado	Eficien- cia del heno	Ganancia media diaria por novi- llo (en libras)	Eficien- cia del concen- trado	Eficien- cia del heno
1	2.55	2.74	4.85	3.48	2.01	3.43	2.86	2.45	4.04
2	2.68	3.13	4.31	3.06	2.73	3.78	3.46	2.42	3.11
3	2.74	3.43	3.92	3.10	3.04	3.54	3.20	2.94	3.10
4	2.81	3.71	3.56	3.03	3.44	3.47	3.02	3.45	3.16
5	2.57	4.28	3.58	2.94	3.74	3.39	3.03	3.64	2.99
6	2.46	4.40	3.79	2.80	4.06	3.54	2.70	4.03	3.23
7	2.03	5.30	4.44	2.46	4.57	3.97	2.42	4.52	3.59
8	2.26	4.82	3.96	2.77	4.12	3.54	2.48	4.46	3.45
9	2.51	4.40	3.58	2.80	4.12	3.52	2.63	4.26	3.26
10	2.46	4.62	3.68	2.88	4.08	3.39	2.60	4.40	3.30

5.

10.

15.

TABLA V

Cápsulas de metionina (g/cabeza/día)		0	7.2			
Sema- na	Ganancia media diaria por novi- llo (en libras)	Eficien- cia del conden- trado	Eficien- cia del heno	Ganancia media diaria por novi- llo (en libras)	Eficien- cia del concen- trado	
5.	1	2.55	2.74	4.85	3.48	2.01
	2	2.68	3.13	4.31	3.06	2.73
10.	3	2.74	3.43	3.92	3.10	3.04
	4	2.81	3.71	3.56	3.03	3.44
	5	2.57	4.28	3.58	2.95	3.74
	6	2.46	4.40	3.79	2.80	4.06
	7	2.03	5.30	4.44	2.48	4.57
15.	8	2.26	4.82	3.96	2.77	4.12
	9	2.51	4.40	3.58	2.80	4.12
	10	2.46	4.62	3.68	2.88	4.08



TABLA V

7.2		14.4		
Eficiencia del concentrado	Eficiencia del heno	Ganancia media diaria por novillo (en libras)	Eficiencia del concentrado	Eficiencia del heno
2.01	3.43	2.86	2.45	4.04
2.73	3.78	3.46	2.42	3.11
3.04	3.54	3.20	2.94	3.10
3.44	3.47	3.02	3.45	3.16
3.74	3.39	3.03	3.64	2.99
4.06	3.54	2.70	4.03	3.23
4.57	3.97	2.42	4.52	3.59
4.12	3.54	2.48	4.46	3.45
4.12	3.52	2.63	4.26	3.26
4.08	3.39	2.60	4.40	3.30



- En la tabla anterior, la eficiencia del concentrado se calculó dividiendo el peso de concentrado consumido en cada establo por la ganancia de peso de los animales contenidos en él, mientras que la eficiencia del heno se calculó dividiendo el peso del heno consumido en cada establo por la ganancia de peso de los animales contenidos en él. Por esta tabla puede verse que los novillos que recibieron metionina encapsulada crecieron con más rapidez que los animales de control. Asimismo, consumieron menos concentrado por libra de ganancia y su consumo de heno por libra de ganancia fué también menor que el de los controles.

- Los datos obtenidos de los restos de los animales después de sacrificar éstos se resumen en la Tabla VI que sigue:

15.

TABLA VI

	Cápsulas de metionina (g/cabeza/día)	0	7.2	14.4
20.	Número de animales	8	7	8
	Peso vivo encogido (en libras)	900	920	901
	Peso de los restos en caliente (en libras)	512	524	517
25.	Menudos en caliente	57	57	57
	Peso de los restos en frío (en libras)	497	509	501
	Menudos en frío	55	55	56
	Zona de los lomos (en pulgadas cuadradas)	9.98	11.08	11.46
	Relación magro/grasa	2.59	2.70	3.09



• La tabla anterior muestra que los novillos que recibieron metionina encapsulada presentaron mejora en las zonas de lomo y la proporción de magro/grasa.

E J E M P L O 6

5. Esta prueba se realizó para medir la respuesta de los novillos en crecimiento y engorde a la metionina encapsulada preparada según el Ejemplo 4.

10. La prueba abarcó dos establos de 225 novillos del oeste. Un establo de animales sirvió de control negativo, mientras que el otro recibió la metionina encapsulada rociada sobre el alimento a un nivel calculado para suministrar 4,0 g de metionina por cabeza y por día.

15. Al principio la dieta consistió en heno ensilado, maíz ensilado, grano de destiladores y 0,2 libras de concentrado por cabeza y por día. El concentrado era en esencia una mezcla de vitaminas y minerales. Poco después de empezarse la prueba, se cambió la dieta a patatas, mazorcas de maíz molidas, paja de avena, granos de destiladores, heno ensilado y maíz dulce ensilado.

20. Se pesaron los animales al iniciarse la prueba y al cabo de 30 días. Los resultados obtenidos son los que se resumen en la tabla VII que sigue.



TABLA VII

	Control	Cápsulas de metionina
Número de novillos por establo	225	225
Peso inicial por establo (en libras)	177,030	172,390
5. Peso por establo al cabo de 30 días (en libras)	191,240	188,550
Ganancia por establo (en libras)	14,210	16,160
10. Ganancia media diaria por cabeza (en libras)	2,10	2,39

De los datos anteriores se desprende que los animales que recibieron metionina encapsulada ganaron un 14% más de peso por cabeza y por día que los controles.

15.

EJEMPLO 7

La finalidad de este experimento era determinar la estabilidad de diferentes cápsulas en el rumen de un animal vivo.

20.

Preparación de cápsulas

Las diferentes cápsulas utilizadas fueron:

Cápsula A

25.

DL-metionina (%)	40,3
Caolín (%)	15,1
Cera de salvado de arroz (%)	44,6



5. Estas cápsulas se hicieron en un dispositivo de extrusión centrífuga del Southwest Research Institute, de San Antonio, Texas, y tenían un tamaño de partículas del orden de 354 a 707 micras. La cera de salvado de arroz se utilizó tanto en el núcleo como en la cáscara, empleando en ésta alrededor del 10%.

Cápsula B

	DL-metionina (%)	32,8
10.	Grasa animal hidrogenada (núcleo) (%)	40,6
	Caolín (%)	12,3
	Grasa animal hidrogenada (cáscara) (%)	13,9

15. Estas cápsulas se hicieron también en un dispositivo de extrusión centrífuga y tenían un tamaño de partículas del orden de 300 a 1000 micras y una densidad de 1,18 g/cc.

Cápsula C

20. Esta cápsula se hizo de la misma manera que la cápsula B y tenía la composición siguiente:

	DL-metionina (%)	36,2
	Grasa animal hidrogenada (núcleo) (%)	45,2
	Caolín (%)	13,6
25.	Grasa animal hidrogenada (cáscara) (%)	5,0
	Tamaño de las partículas (en micras)	300 a 1000
	Densidad (g/cc)	1,26



Cápsula D

Esta cápsula se hizo de la misma manera que la cápsula B, pero sin envoltura externa. La composición fué la siguiente:

5.	DL-metionina (%)	38,1
	Grasa animal hidrogenada (núcleo) (%)	47,6
	Caolín (%)	14,3
	Tamaño de las partículas (en micras)	300 a 1000
10.	Densidad (g/cc)	1,26.

Cápsula E

Esta cápsula se hizo mediante una técnica de lecho fluidificado y tenía la composición siguiente:

15.	<u>Núcleo</u>	
	DL-metionina (%)	40
	Caolín (%)	15
	Acido esteárico (%)	45.

Envoltura externa

20. La envoltura externa era una grasa vegetal hidrogenada y se aplicó por la técnica de lecho fluidificado. La envoltura externa constituía el 35% en peso del producto final y el tamaño de las partículas fué del orden de 595-1005 micras.

25.

Prueba de la bolsa de nylon

1 g aproximadamente de cada una de las muestras



de cápsulas anteriores se pesó cuidadosamente y se depositó en una bolsa de lona de nylon blanco de 1 x 1,5 pulgadas, que luego se cerró térmicamente. La bolsa más las cápsulas se pesaron antes de sumergirlas en el contenido del rumen de un novillo vivo. La inmersión se realizó sujetando la bolsa a un soporte, que se insertó por una fístula del rumen en el contenido del rumen. El movimiento del soporte se restringió por medio de una cuerda de nylon sujeta a la cánula del rumen.

Después de un período de inmersión predeterminado, se retiró la bolsa del rumen, se la lavó con agua corriente para eliminar el material adherido y las partículas finas que podían haber entrado en la bolsa y se la secó al aire. La bolsa seca se pesó junto con el resto del contenido. El cambio de peso se utilizó para calcular el porcentaje de pérdida de peso de las cápsulas durante la inmersión en el contenido del rumen.

Se sometieron a ensayo para investigar el contenido de nitrógeno muestras de las cápsulas colocadas en las bolsas, junto con muestras de las cápsulas recuperadas. La pérdida de nitrógeno de las cápsulas después de la inmersión en el rumen se calculó así:

Peso inicial de nitrógeno = peso de las cápsulas colocadas en la bolsa x % de nitrógeno contenido en las cápsulas.

Peso de nitrógeno recuperado = peso de las cápsulas recuperadas de la bolsa x % de nitrógeno contenido en las cápsulas recuperadas.



$$\% \text{ de pérdida de nitrógeno durante la inmersión} = \frac{(\text{Peso inicial de nitrógeno} - \text{Peso de nitrógeno recuperado}) \times 100}{\text{Peso inicial de nitrógeno}}$$

5. Dado que la mayor parte del nitrógeno contenido en las cápsulas se halla en forma de metionina, la pérdida de nitrógeno refleja la capacidad de las cápsulas para proteger la metionina durante la exposición al contenido del rumen en un novillo vivo.

10. En la evaluación de una muestra, se prepararon nueve bolsas de cápsulas. Tres bolsas se sujetaron a tres soportes respectivos, y todos los soportes se sumergieron en el contenido de un rumen. Los soportes, con las bolsas fijadas, se retiraron a las 6, 12 y 24 horas de ser colocados en el rumen. Esto permitió efectuar tres observaciones en cada uno de los tres intervalos de tiempo.

15. Los datos medios obtenidos de los estudios con las bolsas de nylon se resumen en la Tabla VIII que sigue.

20. TABLA VIII

Muestra de cápsulas	Pérdida de peso de la cápsula (%)			Pérdida de nitrógeno de la cápsula (%)		
	Período de inmersión en el rumen (en horas)			Período de inmersión en el rumen (en horas)		
	6	12	24	6	12	24
A	6	12	20	-	-	-
B	2	9	18	3	28	55
C	3	9	22	5	23	54
D	4	15	24	-	-	-
E	3	7	15	10	17	42



Los datos anteriores demuestran que todas estas cápsulas fueron capaces de proteger una gran proporción de la metionina hasta 12 horas en el rumen.

E J E M P L O 8

5. Se suministraron a novillos de crianza las cápsulas B, C y D del Ejemplo 7 para determinar sus efectos sobre el plasma sanguíneo.
10. Los novillos se aclimataron a una dieta de heno y concentrado, en la que el peso de concentrado suministrado era igual al 20% en peso del consumo de heno del día anterior. La ración diaria de concentrado se dividió en dos porciones iguales, que se ofrecieron al animal a las 8 y a las 16 horas, respectivamente. Los animales de control negativo se mantuvieron en la dieta normal. Los animales de control positivo
15. tuvieron una pequeña cantidad (5 o 6 g) de DL-metionina añadida a cada comida de concentrado. Los animales de ensayo se trataron de la misma manera que los controles positivos, con la modificación de que la metionina añadida al concentrado se hallaba en forma de cápsulas B, C y D.
20. Se tomaron muestras de sangre venosa de cada animal inmediatamente antes de la administración de concentrado de las 8 horas, en el día cero y 77 horas después. El plasma obtenido de la sangre se desproteinizó y se sometió a análisis
25. para investigar los diversos aminoácidos, con inclusión de la metionina y la valina.

Al calcular los datos de respuesta, cada animal



sirve como su propio control. Los animales de control negativo se incluyeron en cada ensayo para reflejar la variación causada por factores distintos a los que se hallaban en estudio.

5. Los resultados obtenidos aparecen en la Tabla IX que sigue.

TABLA IX

10.	Muestra de cápsula	<u>Metionina (p.p.m)</u>			<u>Relación metionina:valina</u>		
		Inicial	final	cambio	Inicial	final	cambio
	Ninguna	3.58	3.25	-0.32	.135	.136	+0.001
	B	2.82	5.00	2.18	.112	.187	+0.075
15.	C	2.90	4.13	1.23	.111	.173	.063
	D	3.33	4.03	1.03	.133	.178	.045

20. Los datos anteriores demuestran la importancia del material protector. Aunque todas las tres cápsulas B, C y D presentaron respuestas positivas, se observará que las cápsulas D, que carecen de una cáscara externa manifiesta, dieron los peores resultados, mientras que las cápsulas B, con la cáscara externa más gruesa, dieron los mejores resultados.

- 25.

= . =

35 0811



N O T A

Se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridad de la solicitud de patente estadounidense serial núm. 617.817 del 23 de

5. febrero de 1967:

1.- Un procedimiento para producir cápsulas de desprendimiento regulado para rumiantes, caracterizado porque comprende formar una lechada que contiene un aminoácido, si es necesario adicionar un agente regulador de la densidad a la citada lechada, y formar la citada lechada en cápsulas en las que el aminoácido está totalmente envuelto en una película continua de material protector a base de triglicérido, cera o mezcla de resina-cera, teniendo las citadas cápsulas diámetros en el orden de unas 200 a 2000 micras y una densidad de 0,8-2,0 aproximadamente, y siendo aptas para ser transportadas a través del herbario sin degradación substancial en él, pero que desprende aminoácido después del omaso.

2.- Un procedimiento, según la reivindicación 1, en el que se producen cápsulas que tienen una densidad de 1,0 a 1,4 aproximadamente.

3.- Un procedimiento, según la reivindicación 1 ó 2, en el que se forma un núcleo de la lechada y luego este núcleo se revisto de una película continua de material protector a base de triglicérido, cera o mezcla de resina-cera.



- 4.- Un procedimiento, según la reivindicación 3, en el que el núcleo incluye el mismo material protector a base de triglicérido, cera o mezcla de resina-cera utilizado en el revestimiento.
5. 5.- Un procedimiento, según las reivindicaciones 1-4, en el que la lechada incluye caolín en calidad de agente regulador de la densidad.
- 6.- Un procedimiento, según las reivindicaciones 1 a 5, en el que las cápsulas se forman por extrusión centrífuga.
10. 7.- Un procedimiento, según la reivindicación 3 ó 4, en el que el revestimiento se aplica por una técnica de lecho fluidificado.
- 8.- Un procedimiento, según la reivindicación 1 ó 2, en el que una lechada de aminoácido junto con material protector a base de triglicérido, cera o mezcla de resina-cera, si es necesario con un agente regulador de la densidad, se forma en partículas en las que el aminoácido se encapsula en bolsas en una matriz del material protector.
15. 20. 8.- Un procedimiento, según las reivindicaciones 1 a 8, en el que el aminoácido es metionina.
- 9.- Un procedimiento, según las reivindicaciones 1 a 9, en el que el material protector es una grasa animal o vegetal hidrogenada.
- 25.

35 0811



11.- Un procedimiento, según las reivindicaciones 1 a 10, en el que el material protector es cera de salvado de arroz.

5. 12.- Un procedimiento para producir cápsulas de desprendimiento regulado para rumiantes.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 33 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 22 de febrero de 1968.

p.a.

Firmado: JOSÉ RODRIGUEZ