



УКРАЇНА

(19) UA (11) 85042 (13) C2
(51) МПК (2006)
A23K 1/00
A23K 1/16

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) КОРМОВА ДОБАВКА ДЛЯ ТВАРИН

1

(21) 20041109801
(22) 28.04.2003
(24) 25.12.2008
(86) РСТ/IB03/01726, 28.04.2003
(31) 02356081.6
(32) 30.04.2002
(33) EP
(46) 25.12.2008, Бюл.№ 24, 2008 р.
(72) ДОЛЛА ЖАН-МАРІ, РОБЕР ЖАН-КЛОД,
ШЬЯВАЗЗА ВЕРОНИК
(73) АДІССЕО АЙЕРЛЕНД ЛТД.
(56) WO 0028835 A, 25.05.2000
GB 1156010 A, 25.06.1969
US 4175121 A, 20.11.1979
US 3035920 A, 22.05.1962
G.L. ROMOSER ET AL.: "An evaluation of the L-methionine activity of the hydroxy analogue of methionine" POULTRY SCIENCE, vol. 55, no. 3, 1976, pages 1099-1103, XP001104093
CHAMPAIGN, IL, US ISSN: 0032-5791
FRANCIS H. BIRD: "A comparison of methionine and two of its analogues in the nutrition of the chick" POULTRY SCIENCE, vol. 31, 1952, pages 1095-1096, XP008019822 CHAMPAIGN, IL, US ISSN: 0032-5791
D.J. COTTLE ET AL.: "Overcoming seasonal depression in wool production in Romney Marsh ewes by feed supplementation" PROCEEDINGS OF THE AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION., vol. 19, 1992, pages 135-137, XP001113106 J.A. ROBERTS, MELBOURNE., AU ISSN: 0067-2149
(57) 1. Кормова добавка для тварин, що має тверду форму і стійка до розщеплення у рубці тварин, яка містить щонайменше одну похідну метіоніну і пористий носій, **яка відрізняється тим, що** (а) зазначена похідна метіоніну вибирається з групи,

2

що включає рідкі складні алкілові ефіри ізопропілового ефіру 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти, (б) зазначена похідна метіоніну складає від щонайменше 20% до 70% мас. кормової добавки і (в) розмір часток зазначеної добавки складає від 80 до 600 мікронів.
2. Кормова добавка за п. 1, **яка відрізняється тим, що** зазначена похідна метіоніну є ізопропіловим ефіром, втор-бутиловим ефіром, ізобутиловим ефіром, трет-бутиловим ефіром, ізопентилловим ефіром і ізогексилловим ефіром.
3. Кормова добавка за п. 2, **яка відрізняється тим, що** складний ефір є ізопропіловим ефіром чи трет-бутиловим ефіром.
4. Кормова добавка за будь-яким з вищенаведених пунктів, **яка відрізняється тим, що** пористий носій має пористість принаймні 0,4мл/г, бажано - принаймні 1,5мл/г.
5. Кормова добавка за будь-яким з вищенаведених пунктів, **яка відрізняється тим, що** носій вибирається з природних глин і силікатів, таких як вермикуліт, сепіоліт, перліт, бентоніт; з цеолітів чи пористого кремнезему.
6. Кормова добавка за п. 5, **яка відрізняється тим, що** носій є сепіолітом, а похідна метіоніну складає до 40мас. % кормової добавки.
7. Кормова добавка за п. 5, **яка відрізняється тим, що** носій є кремнеземом, а похідна метіоніну складає до 70мас. % кормової добавки.
8. Кормова добавка за будь-яким з вищенаведених пунктів, **яка відрізняється тим, що** частинки мають розмір від 125 до 500мікронів, краще - від 160 до 400 мікронів.
9. Корм для тварин, **який відрізняється тим, що** містить кормову добавку за будь-яким з вищенаведених пунктів.

Даний винахід відноситься до нової кормової добавки для тварин.

Метіонін є добре відомою добавкою до тваринних кормів, зокрема, до кормів для жуйних тварин. Метіонін можна додавати безпосередньо у

тваринний корм. Однак вільна форма зазначеної сполуки швидко розщеплюється під дією бактерій у рубці, внаслідок чого тільки мала порція вихідного метіоніну здатна потрапляти до кровообігу. Найчастіше застосовується також аналог метіоні-

(13) C2

(11) 85042

(19) UA

ну, а саме оксианалог з хімічною назвою 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанова кислота, яка у більшості випадків позначається HMB. Зазначений продукт застосовується у рідкій формі і також здебільшого розщеплюється у рубці.

Відомий продукт промислового виробництва реалізується фірмою Aventis Animal Nutrition під торговою маркою Smartamine, досить ефективний у забезпеченні організму тварини метіоніном, і тести показали, що метіонін надходить до кровообігу через 10 годин після прийому твариною зазначеного продукту. Недавно проведені дослідження також показали, що певні складні ефіри метіоніну чи HMB (2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти) можуть з успіхом використовуватися для забезпечення організму жуйних тварин необхідним біодоступним метіоніном. В [WO-00/28835] розкривається застосування ефірної форми оксианалога, зокрема, у зазначеному документі стверджується, що щонайменше 50% біодоступного метіоніну може потрапляти в організм тварини при згодовуванні їй ізопропілового ефіру оксианалога метіоніну.

Авторами даної заявки встановлено, що, якщо деякі похідні метіоніну, зокрема, ізопропіловий ефір оксианалога метіоніну, перевести у тверду форму і змішати з тваринним кормом, то продукт матиме високу біодоступність, щонайменше еквівалентну біодоступності його рідкої форми.

Таким чином, даний винахід відноситься до стійкої до розщеплення в рубці кормової добавки у твердій формі, причому зазначена добавка містить щонайменше одну похідну метіоніну і пористий матеріал носія, у якій (а) зазначена похідна метіоніну вибирається з групи, що включає рідкі і тверді складні ефіри 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти за умови, що тверді складні ефіри мають температуру плавлення максимум 100°C; 2-аміно-4-метилтіобутанамід і 2-гідрокси-4-метилтіобутанамід; (б) зазначена похідна метіоніну складає від щонайменше 20% до 70% маси кормової добавки і (в) розмір частинок зазначеної добавки складає від 80 до 600 мікрон.

Даний винахід дає перевагу перед раніше відомими кормовими добавками для тварин, яка полягає не тільки у тому, що застосування заявленої кормової добавки забезпечує тварин достатньою кількістю метіоніну, але й у тому, що метіонін, як було встановлено, потрапляє у кровоток через короткий проміжок часу в порівнянні з джерелами метіоніну, що випускаються в даний час промисловістю.

Даний винахід відноситься до кормової добавки для тварин, що має тверду форму. У контексті опису даного винаходу «тверда форма» означає порошок, у якому частинки чи гранули мають розмір від 80 до 600 мікронів, краще - від 125 до 500 мікронів, ще краще - від 160 до 400 мікронів.

Кормова добавка відповідно до даного винаходу містить похідну метіоніну, що може вибиратися з алкилових ефірів з відкритим і розгалуженим ланцюгом 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти. Придатними для даної мети складними ефірами є метиловий ефір, етиловий ефір, н-пропіловий ефір, ізопропіловий ефір, бутилові

ефіри, а саме н-бутиловий ефір, втор-бутиловий ефір, ізобутиловий ефір і трет-бутиловий ефір, пентилієві ефіри і гексилієві ефіри, а саме п-пентилієвий, ізопентилієвий, н-гексилієвий і ізогексилієвий ефіри.

У кращому варіанті складний ефір є алкиловим ефіром з розгалуженим ланцюгом, головним чином ізопропіловим ефіром і трет-бутиловим ефіром. Зокрема, було встановлено, що тверда кормова добавка, яка містить ізопропіловий ефір оксианалога метіоніну, забезпечує біодоступність метіоніну вище 50%.

Похідна метіоніну складає від щонайменше 20% до 70% мас. загальної кормової композиції. Бажано, щоб зазначена сполука була присутньою в кількості від 20 до 70% мас.

Кормова добавка відповідно до даного винаходу містить носій у вигляді пористого матеріалу. Придатний для даної мети носій має пористість щонайменше 0,4 мл/м, краще - щонайменше 1,5 мл/м. Придатні для даної мети носії включають природні глини і силікати, такі як вермикуліт, сепіоліт, перліт, бентоніт і/чи цеоліти і/чи пористий кремнезем. Одним із кращих носіїв є глина, головним чином сепіоліт, що реалізується під торговою маркою Exal-H; у цьому випадку похідна метіоніну складає до 40% мас. кормової добавки. Іншим кращим носієм є кремнезем, у випадку його застосування похідна метіоніну складає до 70% мас. кормової добавки. Гранули (частинки) можуть включати додаткові компоненти, такі як засіб для запобігання утворенню грудок, антиоксидант і поверхнево-активна речовина. Засоби для запобігання утворенню грудок, придатні для застосування в даному винаході, включають кремнезем, тальк, фосфат кальцію, карбонат кальцію і стеарат магнію. Кращим засобом для запобігання утворенню грудок є сполука, що має велику площу повної поверхні, наприклад, щонайменше 100 м²/г. У кращому варіанті засобом для запобігання утворенню грудок є кремнезем. Бажаний вміст засобу для запобігання утворенню грудок становить від 0 до 2% мас. Що стосується антиоксиданту, то придатні для даної мети антиоксиданти включають токоферол, аскорбінову кислоту, етоксиквін, пропіл-, октил- чи додецил-галлат, бутилоксанізол (зазвичай його позначають - ВНА) і бутильований окситолуол (зазвичай його позначають - ВНТ). Антиоксидант може бути присутнім у твердому вигляді в кількості від 0 до 3% мас. від маси гранул.

Поверхнево-активні речовини, придатні для застосування в даному винаході, включають сульфати, такі як алкілсульфат чи лаурилсульфат натрію, полісорбати, такі як складні ефіри поліоксетиленсорбітола жирної кислоти. Поверхнево-активна речовина присутня в кількості від 0 до 5% мас.

Гранули можуть містити воду, хоча бажаніше, щоб гранули були в основному сухими. Вміст води може бути від 0 до 10% мас.

В найкращому варіанті гранули, відповідно до даного винаходу, містять від 25 до 30% мас. ізопропілового ефіру оксианалога метіоніну і від 75 до 70% сепіоліту.

Тверді частинки (гранули) можуть мати середній діаметр від 200 до 400 мікронів, бажано - від 275 до 325 мікронів, і насипну щільність - від 700 до 950 кг/м³, бажано - від 800 до 900 кг/м³.

Кормова добавка відповідно до даного винаходу може бути приготовлена шляхом просочення носія продуктом, що містить рідкий метіонін, з наступним (не обов'язково) додаванням засобу для запобігання утворенню грудок. Ця операція може здійснюватися шляхом змішування компонентів з використанням будь-яких придатних для даної мети змішувача чи мішалки. Змішування може проводитися при температурі від 20 до 80°C, бажано - від 40 до 70°C. Швидкість змішування буде визначатися необхідним розміром частинок готового порошку. Альтернативне змішування може здійснюватися в киплячому шарі.

Кормова добавка відповідно до даного винаходу може вводиться в корм тварин, і, відповідно до іншого аспекту даного винаходу, заявлено корм для тварин, що містить кормову добавку, описану вище.

Даний винахід більш докладно розкривається в нижченаведених прикладах.

У процесі підготовчої роботи проводили наступні стандартні тести на твердій добавці:

1. Визначення розміру частинок: розмір твердих частинок визначали шляхом пропускання 100г гранул крізь Retsch-сито з амплітудою 1,5мм протягом періоду часу 10 хвилин.

2. Об'ємна щільність і щільність потоку пористих матеріалів: об'ємну щільність і щільність потоку визначали за допомогою волюміметра для порошків (230мл).

3. Індекс носія: зазначений індекс визначали як: (об'ємна щільність - щільність потоку)/об'ємна щільність.

4. Індекс плинності: індекс плинності, що являє собою напруження зрушення в кільцевому потоці за Шульцом, визначали за допомогою приладу для визначення плинності (стандартний зразок приладу RST-01.01 Dr. Ing. Dietmar Schulze, Wolfenbuttel, Germany). Індекс Jenike визначали за відношенням головної напруги при постійному потоці до межі міцності в необмежених умовах потоку.

Приклад 1: Приготування кормової добавки, що містить ізопропіловий ефір 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (HMBI на носії з глини сепіоліт)

0,22кг глини сепіоліт (70% мас.) поміщали в установку з киплячим шаром Aeromatic. Через шар пропускали потік газу. Глину суспендували в потоці газу протягом 5 хвилин. 0,11кг рідкого ізопропілового ефіру 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (30% мас.) розбризкували крізь сопло, змонтоване у верхній частині киплячого шару. Операцію розбризкування виконували таким чином, щоб її тривалість склала 10 хвилин. Після

цього киплячий шар підтримували ще додаткові п'ять хвилин. Потім подачу газу припиняли.

Збирали 320г порошкоподібного продукту і за допомогою Retsch-сита поділяли на 8 порцій по 40г. Потім кожну порцію розділяли ще на 8 порцій по 5г для виміру стабільності.

Стабільність твердого продукту визначали шляхом вимірювання кількості HMBI у твердому продукті після одержання (0 днів) і через 15, 45 і 90 днів. Твердий матеріал зберігали при температурі навколишнього середовища протягом усього часу проведення тестів. Рівень HMBI залишався постійним протягом цього періоду, що вказує на високу стабільність кормової добавки. Результати приводяться в таблиці 1.

Таблиця 1

Кількість	Дозування
HMBI (теоретична)	30,7%
HMBI (0 днів)	31,0%
HMBI (15 днів)	29,8%,
HMBI (45 днів)	31,2%
HMBI (90 днів)	31,4%

Приклад 2: Приготування кормової добавки, що містить ізопропіловий ефір 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (HMBI на носії з глини сепіоліт)

35кг глини сепіоліт (70% мас.) поміщали в змішувач Lodige плужного типу на 130 літрів. Глину перемішували протягом п'яти хвилин. 11,6кг рідкого ізопропілового ефіру 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (30% мас.) виливали в змішувач при швидкості потоку 36кг/годину. Отриману суміш гомогенізували протягом 20 хвилин.

Розмір, насипну щільність і щільність потоку, індекс носія й індекс плинності готових гранул визначали за вищеописаними методиками. Результати приводяться в таблиці 2.

Приклад 3: Приготування кормової добавки, що містить ізопропіловий ефір 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (HMBI на носії з глини сепіоліт)

27кг глини сепіоліт (70% мас.) поміщали в змішувач Lodige плужного типу на 130 літрів. Глину перемішували протягом п'яти хвилин. 15кг рідкого ізопропілового ефіру 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (30%мас.) нагрівали до 60°C, а потім виливали у змішувач при швидкості потоку 35кг/годину. Отриману суміш гомогенізували протягом 20 хвилин.

Розмір, насипну щільність і щільність потоку, індекс носія й індекс плинності готових гранул визначали за вищеописаними методиками. Результати приводяться в таблиці 2.

Таблиця 2

Фізичні властивості продуктів, отриманих у прикладах 2 і 3

Властивості продукту	Приклад 2	Приклад 3
HMBI: теоретично очікувана кількість *	27,6	27,6
HMBI: обмірювана кількість	28,4	27,7
Розподіл за розмірами	Сито*	Сито*
D ₁₀ (мкм)	167	135
D ₅₀ (мкм)	344	310
D ₉₀ (мкм)	529	504
%>630мкм	1,6	2,1
%<100мкм	1,9	1,7
Пористість		
Загальний об'єм пор (см ³ /г)	0,38	0,41
Залишковий об'єм пор усередині частинок (см ³ /г)	0,09	0,11
Діаметр пор між частинками (мкм)	67	74
Розрахункова щільність частинок** (г/см ³)	1,44	1,42
Насипна щільність порошку (г/см ³)	0,89	0,91
Щільність потоку порошку (г/см ³)	0,95	0,98
Індекс пористого носія	7%	8%
Індекс плинності (кільцева комірка)	20	19

* З урахуванням чистоти HMBI=92%.

** Розраховували за питомою щільністю сепіоліта і питомою щільністю рідини.

Приклад 4

0,5кг кремнезему Tixosil 68 від фірми-постачальника Rhodia поміщали в змішувач Lodige плужного типу на 5 літрів. Кремнезем перемішували протягом двох хвилин при 200об./хв. Потім виливали в змішувач 0,5кг рідкого ізопропілового ефіру 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (50%мас.) при швидкості потоку 3,6кг/годину. Отриману суміш гомогенізували протягом 20 хвилин.

Розмір, насипну щільність і щільність потоку, індекс носія й індекс плинності готових гранул визначали за вищеописаними методиками. Результати приводяться в таблиці 3. Стабільність такого порошку була високою, тому що кількість HMBI залишалася постійною протягом одного місяця.

Приклад 5

0,5кг кремнезему Tixosil 68 від фірми-постачальника Rhodia поміщали в змішувач Lodige плужного типу на 5 літрів. Кремнезем перемішували протягом двох хвилин за 200об./хв. Потім у змішувач виливали 0,7кг рідкого ізопропілового ефіру 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (58,3%мас.) при швидкості потоку 3,4кг/годину. Отриману суміш гомогенізували протягом 20 хвилин.

Розмір, насипну щільність і щільність потоку, індекс носія й індекс плинності готових гранул визначали за вищеописаними методиками. Результати приводяться в таблиці 3. Стабільність такого порошку була високою, тому що кількість HMBI залишалася постійною протягом одного місяця.

Приклад 6

0,5кг кремнезему Tixosil 68 від фірми-постачальника Rhodia поміщали в змішувач Lodige плужного типу на 5 літрів. Кремнезем перемішували протягом двох хвилин при 200об./хв. Потім у змішувач виливали 0,9кг рідкого ізопропілового ефіру 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (65%мас.) при швидкості потоку 3,4кг/годину. Отриману суміш гомогенізували протягом 20 хвилин.

Розмір, насипну щільність і щільність потоку, індекс носія й індекс плинності готових гранул визначали за вищеописаними методиками. Результати приводяться в таблиці 3. Стабільність такого порошку була високою, тому що кількість HMBI залишалася постійною протягом одного місяця.

Приклад 7

14кг кремнезему Tixosil 68 від фірми-постачальника Rhodia поміщали в змішувач Lodige плужного типу на 130 літрів. Кремнезем перемішували протягом двох хвилин за 270об./хв. Потім у змішувач виливали 26кг рідкого ізопропілового ефіру 2-гідрокси-4-(метилтіо)-бутанової кислоти (64,9% мас.) при швидкості потоку 39кг/годину. Отриману суміш гомогенізували протягом 10 хвилин і включали на одну хвилину дробарку.

Розмір, насипну щільність і щільність потоку, індекс носія й індекс плинності готових гранул визначали за вищеописаними методиками. Результати приводяться в таблиці 3.

Таблиця 3

Фізичні властивості продуктів, отриманих у прикладах 4,5, 6 і 7

Властивості продукту	Приклад 2	Приклад 3	Приклад 6	Приклад 7
Теоретично очікувана кількість НМБІ*	47	54,8%	61,1%	61%
Обмірювана методом рідинної хроматографії, високого розрішення (HPLC) кількість НМБІ	46,4	56,5%	60,8%	61,4%
Обмірювана методом HPLC кількість НМБІ через один місяць зберігання порошку при 40°C	47,8	56,3%	62%	
Розподіл за розмірами	Сито*			
D ₁₀ (мкм)	140	140	150	140
D ₅₀ (мкм)	280	280	290	310
D ₉₀ (мкм)	390	390	400	370
%>500мкм	1,2	1,3	2	0,2
%<80мкм	0	0	0	0,6
Розрахункова щільність частинок ** (г/см ³)	1,40	1,33	1,27	1,27
Насипна щільність порошку <г/см ³ >	0,51	0,64	0,70	0,64
Щільність потоку порошку (г/см ³)	0,58	0,72	0,76	0,73
Індекс носія	14%	11%	9%	14%
Індекс плинності (кільцева комірка)	20	20	20	17

З урахуванням чистоти НМБІ=94%

Приклад 8: тест на біодоступність

Тверду кормову добавку, що містить НМБІ, приготувану відповідно до прикладу 1 (див. вище), і таку, що включає 30% НМБІ і 70% глини сепіоліт, додавали в кормовий раціон і згодовували 4 недейним коровам протягом 7 днів у двох різних добових дозах. Аналогічний експеримент проводили з застосуванням рідкої НМБІ (порівняльний приклад 1) і відомого продукту Smartamine промислового виробництва (у твердому вигляді - порівняльний приклад 2). Кількість кормової добавки є кожному випадку розраховували з урахуванням необхідності надходження в організм тварини 50г або аналога метіоніну (НМВ) у випадку використання твердої і рідкої НМБІ, або метіоніну у випадку використання Smartamine.

Кормову добавку вводили у звичайний кормовий раціон один раз на добу. Зразки крові відбирали щопівгодини в перші дві години після прийому твариною корму, а після цього кожні дві години для прикладу 1 і порівняльного прикладу 1 і кожні дві години у порівняльному прикладі 2.

Вимірювали концентрацію метіоніну в крові і будували криву. Для визначення показника біодоступності розраховували площу поверхні під кривою. Кормова добавка відповідно до даного вина-

ходу забезпечувала 56% біодоступного метіоніну. Рідка кормова добавка НМБІ забезпечувала 49% біодоступного метіоніну. Smartamine забезпечував 82% біодоступного метіоніну. Рідка і тверда кормові добавки НМБІ забезпечували абсорбцію метіоніну в кровообіг протягом 2 годин після прийому їх тваринами, у той час як у випадку Smartamine метіонін був виявлений у крові через 10 годин після прийому його тваринами.

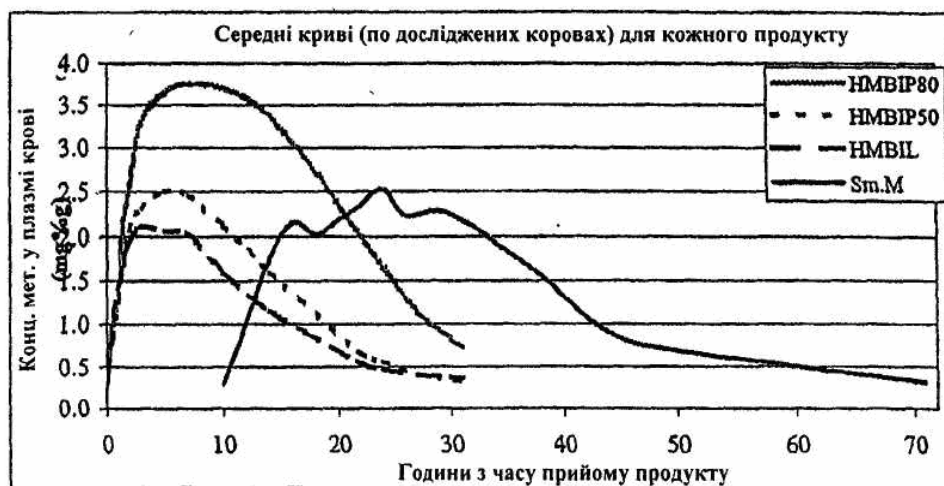
Результати представлені у вигляді кривих на Фіг., на якій показані концентрації метіоніну в плазмі крові молочних корів після прийому ними різних кормових добавок метіоніну і на який:

НМБІР80 означає тверду НМБІ, доза згодовування якої забезпечує 80г еквівалента метіоніну (чи НМВ) з розрахунку на одну корову на добу («Р» означає порошок);

НМБІР50 - тверду НМБІ, доза згодовування якої забезпечує 50г еквівалента метіоніну (НМВ) з розрахунку на одну корову на добу;

НМБІЛ - рідку НМБІ, доза згодовування якої забезпечує 50г еквівалента метіоніну (НМВ) з розрахунку на одну корову на добу (L=рідкий);

Sm.M - Smartamine M, доза згодовування якого забезпечує 50г метіоніну з розрахунку на одну корову на добу.



Фіг.