



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013147755/13, 02.05.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.05.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
02.05.2011 US 13/098,741

(43) Дата публикации заявки: 10.06.2015 Бюл. № 16

(45) Опубликовано: 10.06.2016 Бюл. № 16

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 20050249841, 10.11.2005. RU 2407401
C2, 27.12.2010. RU 2326547 C2, 20.06.2008.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 02.12.2013(86) Заявка РСТ:
US 2012/036035 (02.05.2012)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2012/151227 (08.11.2012)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Большая Спасская, 25, стр.
3, ООО "Юридическая фирма "Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

ЛУХАДИЯ Ашок Премчанд (US),
ДАВЕНПОРТ Гэри Митчелл (US),
ЧЖАН Джин (US),
ИНГРАМ Дональд Кит (US),
РОТ Джордж С. (US),
ШОВЕЛЛЕР Анна Катарин (US),
ФЛИКИНГЕР Елизабет Энн (US)

(73) Патентообладатель(и):

Марс Инкорпорейтид (US)

(54) КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ АНТИМЕТАБОЛИТ ГЛЮКОЗЫ И СЕЛЕН

(57) Реферат:

Заявленная группа изобретений относится к производству кормов для домашних животных, содержащих антиметаболит глюкозы и селен. В одном из вариантов композиция корма для домашних животных содержит антиметаболит глюкозы в количестве от 0,0001% до 5% по массе композиции и добавленный селен в количестве от 0,05 до 10 мкг/г композиции. В другом варианте композиция корма для домашних животных содержит антиметаболит глюкозы и селен. При этом селен состоит из эндогенного селена и добавленного селена, а общее количество селена в композиции составляет от 0,15 до 7,0 мкг/г композиции. В третьем варианте композиция корма для домашних животных

содержит антиметаболит глюкозы и добавленный селен, где добавленный селен содержится в количестве от 0,05 до 10,0 мкг/г всей композиции, а антиметаболит глюкозы содержится в количестве менее 5% по массе. При этом добавленный селен может быть выбран из группы, состоящей из селенита натрия, селената натрия, оксида селена, селенида, селеноцистеина, селенометионина, селенизированных дрожжей, селенизированного чеснока, селенизированной капусты и их комбинаций. Антиметаболит глюкозы может быть выбран из группы, состоящей из 2-дезоксид-глюкозы; 5-тио-D-глюкозы; 3-О-метилглюкозы; 1,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-

ангидро-D-маннитола; манногептулозы и их смесей. Способ усиления полезных эффектов, связанных с введением антиметаболита глюкозы, включает введение композиции, содержащей антиметаболит глюкозы и селен, причем общее количество селена в композиции составляет от 0,15 до 11,0 мкг/г композиции. Осуществление

заявленной группы изобретений обеспечивает ограничение приема калорий животными, что способствует увеличению продолжительности жизни, приостанавливает возникновение и замедляет развитие опухолей и замедляет физиологическое старение животных. 4 н. и 18 з.п. ф-лы, 1 ил., 1 табл.

R U 2 5 8 7 0 5 0 C 2

R U 2 5 8 7 0 5 0 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A23K 50/40 (2016.01)
A23K 20/20 (2016.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2013147755/13, 02.05.2012**

(24) Effective date for property rights:
02.05.2012

Priority:

(30) Convention priority:
02.05.2011 US 13/098,741

(43) Application published: **10.06.2015** Bull. № 16

(45) Date of publication: **10.06.2016** Bull. № 16

(85) Commencement of national phase: **02.12.2013**

(86) PCT application:
US 2012/036035 (02.05.2012)

(87) PCT publication:
WO 2012/151227 (08.11.2012)

Mail address:

**129090, Moskva, ul. Bolshaja Spasskaja, 25, str. 3,
OOO "Juridicheskaja firma "Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**LUKHADIYA Ashok Premchand (US),
DAVENPORT Geri Mitchell (US),
CHZHAN Dzhin (US),
INGRAM Donald Kit (US),
ROT Dzhordzh S. (US),
SHOVELLER Anna Katarin (US),
FLIKINGER Elizabet Enn (US)**

(73) Proprietor(s):

Mars Inkorporejtid (US)

(54) **COMPOSITIONS CONTAINING GLUCOSE ANTIMETABOLITE AND SELENIUM**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: disclosed group of inventions relates to manufacture of pet food, containing glucose antimetabolite and selenium. In one embodiment, pet food composition contains glucose antimetabolite in amount of 0.0001 % to 5 % by weight of composition and selenium is added in an amount of 0.05 to 10 mcg/g of composition. In another embodiment, pet food composition contains glucose antimetabolite and selenium. Selenium consists of endogenous selenium and added selenium, and total amount of selenium in composition ranges from 0.15 to 7.0 mcg/g of composition. In third embodiment, pet food composition contains glucose antimetabolite and added selenium, where selenium is added in an amount of 0.05 to 10.0 mcg/g of total composition and glucose antimetabolite is contained in an amount of less than 5 % by weight. Added selenium can be selected from a group consisting of sodium selenite, sodium selenate, selenium oxide,

selenide, selenocysteine, selenomethionine, selenised yeast, selenised garlic, selenised cabbage and combinations thereof. Glucose antimetabolite can be selected from a group consisting of 2-deoxy-D-glucose; 5-thio-D-glucose; 3-O-methylglucose; 1,5-anhydro-D-glucitol; 2,5-anhydro-D-glucitol; 2,5-anhydro-D-mannitol; mannoheptulose; and combinations thereof. Method of enhancing beneficial effects associated with administration of glucose antimetabolite, comprising administering a composition comprising glucose antimetabolite and selenium, wherein total amount of selenium in composition ranges from 0.15 to 11.0 mcg/g of composition.

EFFECT: disclosed group of inventions limits caloric intake, which increases life expectancy, suspends rise and slows development of tumours and slow down physiological aging of animals.

22 cl, 1 dwg, 1 tbl

Область техники, к которой относится изобретение

Осуществления настоящего изобретения относятся к композициям, содержащим антимаболит глюкозы и селен. В частности, но не исключительно, осуществления настоящего изобретения относятся к композициям, содержащим антимаболит глюкозы и селен, для животных-компаньонов.

Уровень техники

Биологические теории правильно предсказали открытие того, что ограничение приема калорий путем пищевой депривации замедляет некоторые нежелательные клеточные процессы у лабораторных животных, многие из которых связаны со старением и возрастными заболеваниями.

В частности, ограничение калорий, как было показано, последовательно увеличивает продолжительность жизни, приостанавливает возникновение и замедляет развитие опухолей, и замедляет физиологическое старение во многих системах. Действительно, исследование, которое продолжалось более семидесяти лет, показало, что ограничение калорий является пищевым вмешательством, которое устойчиво продлевает жизнь у животных. См. Weindruch and Walford, «The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction», Springfield, IL: Charles C. Thomas (1988); Yu, «Modulation of Aging Processes by Dietary Restriction», Boca Raton: CRC Press (1994); и Fishbein, «Biological Effects of Dietary Restriction», Springer, New York (1991). Такие влияния ограничения калорий на продолжительность жизни и развитие опухолей были много раз сообщены, начиная с ранних исследований McKay. См. McKay et al., «The Effect of Retarded Growth Upon the Length of Lifespan and Upon Ultimate Body Size», J. Nutr., Vol.10, pp.63-79 (1935).

Действительно, за два последних десятилетия возрождение интереса к ограничению калорий в геронтологии привело к общему принятию того, что такие диетологические манипуляции замедляют физиологическое старение во многих системах. См. Weindruch and Walford, «The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction», Springfield, IL: Charles C. Thomas (1988); Yu, «Modulation of Aging Processes by Dietary Restriction», Boca Raton: CRC Press (1994); Fishbein, «Biological Effects of Dietary Restriction», Springer, New York (1991) и Masoro, E.J. «Overview of Caloric Restriction and Ageing», Mech. Aging Dev., Vol.126, pp 913-922 (2005).

Снижение уровней глюкозы и инсулина натощак и повышение чувствительности к инсулину являются легко измеримыми биомаркерами ограничения калорий. Грызуны с ограничением калорий проявляют более низкие уровни глюкозы и инсулина натощак, а пиковые уровни глюкозы и инсулина, которые достигаются при глюкозной нагрузке, снижены у тех, кто испытывал ограничение калорий. См. Kalant et al., «Effect of Diet Restriction on Glucose Metabolism and Insulin Responsiveness and Aging Rats», Mech. Aging Dev., Vol. 46, pp. 89 - 104 (1988). Также известно, что гиперинсулинемия является фактором риска, связанным с некоторыми такими болезненными процессами, включая сердечное заболевание и диабет (Balkau and Eschwege, Diabetes Obes. Metab. 1 (Suppl. 1): S23-31, 1999). Сниженные уровни инсулина и температура тела являются двумя из наиболее надежных индикаторов измененного метаболического профиля (Masoro et al., J. Gerontol. Biol. Sci. 47:B202-B208, 1992); Koizumi et al., J. Nutr. 117: 361-367, 1987; Lane et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 93:4154-4164, 1996).

Антимаболиты глюкозы, такие как 2-дезоксид-Д-глюкоза, являются соединениями, родственными глюкозе. Однако, ввиду структурных различий с глюкозой, такие соединения блокируют или ингибируют определенные аспекты углеводного обмена и поэтому могут имитировать эффекты ограничения калорий (Rezek et al., J. Nutr. 106:143-157, 1972). Такие антимаболиты вызывают ряд физиологических эффектов, включая

снижение массы тела, снижение уровней инсулина в плазме крови, снижение температуры тела, замедление образования и роста опухолей и повышение концентрации циркулирующих глюкокортикоидных гормонов. (Обзор см. Roth et al., Ann. NY Acad. Sci. 928:305 - 315, 2001). Эти физиологические эффекты возникают в результате

5 ингибирования углеводного обмена.

Селен является незаменимым микроэлементом у животных, который функционирует в качестве кофактора для восстановления нескольких антиоксидантных ферментов, в том числе глутатионпероксидаз и определенных форм тиоредоксинредуктазы. Это также компонент аминокислот селеноцистеина и селенометионина. Селен также

10 необходим для функции щитовидной железы, выступая в качестве кофактора для трех гормонов щитовидной железы - деиодиназ, которые активируют, а затем дезактивируют различные гормоны щитовидной железы и их метаболиты. В организме человека селен соединяется с цистеином, образуя 25 различных селеноцистеин-содержащих соединений, называемых в совокупности селенопротеинами. Селенсодержащие ферменты называют

15 селеноферментами.

При обеспечении в необходимом диапазоне, селен, доставленный в рационе, имеет множество потенциальных полезных эффектов для здоровья, которые имитируют эффекты ограничения калорий. Не будучи связанными какой-либо теорией, считают, что его противораковые и антидиабетические эффекты могут, вероятно, работать через

20 свои эффекты по снижению окислительного стресса и воспаления, и эти эффекты могут синергически взаимодействовать с эффектами антиметаболитов глюкозы и обеспечивать дополнительные полезные эффекты по отношению к селену, когда оба эти вещества являются частью рациона животных-компаньонов.

Таким образом, было бы полезно обеспечить питание, такое как антиметаболит

25 глюкозы в сочетании с селеном, в частности для животных-компаньонов. Соответственно, осуществления относятся к такой композиции.

Сущность изобретения

В одном осуществлении представлена композиция корма для домашних животных, содержащая антиметаболит глюкозы и добавленный селен. Композиция может включать

30 добавленный селен в количестве от приблизительно 0,05 до приблизительно 10,0 мкг/г композиции. Композиция может включать антиметаболит глюкозы в количестве менее, чем приблизительно 5% по массе композиции. Добавленный селен может быть неорганическим источником или органическим источником. Добавленный селен может быть источником селена, выбранным из группы, состоящей из селенита натрия, селената

35 натрия, оксида селена, селенида, селеноцистеина, селенометионина, селенизированных дрожжей, селенизированного чеснока, селенизированной капусты и их комбинаций и смесей. Антиметаболит глюкозы может быть выбран из группы, состоящей из 2-дезоксид-глюкозы; 5-тио-D-глюкозы; 3-О-метилглюкозы; 1,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-маннитола; манногептулозы; и их смесей и

40 комбинаций. Композиция может быть выбрана из группы, состоящей из влажной композиции, полувлажной композиции, сухой композиции и их комбинаций. Композиция может быть диетически сбалансированной композицией корма для домашних животных.

В другом осуществлении композиция корма для домашних животных может содержать антиметаболит глюкозы и селен, где селен состоит из эндогенного селена и

45 добавленного селена. Эндогенный селен может присутствовать в количестве от приблизительно 0,30 до приблизительно 0,60 мкг/г композиции, и добавленный селен может присутствовать в количестве от приблизительно 3,0 до приблизительно 6,0 мкг/г композиции.

Краткое описание чертежей

На чертеже изображена интегрированная амперометрическая хроматограмма, полученная при способе с антиметаболитом глюкозы.

Подробное описание изобретения

5 Определения

Как используют в данной заявке, подразумевают, что единственное число, если его используют в формуле или в описании данной заявки, означает один или более заявленных или описанных объектов.

10 Как используют в данной заявке, термины «включать», «включает» и «включающий» подразумевают как не ограничивающие.

Как используют в данной заявке, термин «множество» означает более одного.

15 Как используют в данной заявке, термины «животное» или «домашнее животное» означают домашнее животное, включая, но не ограничиваясь приведенным, домашних собак (семейство собачьих), кошек (семейство кошачьих), лошадей, коров, хорьков, кроликов, свиней, крыс, мышей, песчанок, хомяков, и тому подобное. Домашние собаки и домашние кошки являются конкретными примерами домашних животных и упоминаются в данной заявке как «животные-компаньоны». Следует понимать, что в данном описании при использовании термина «животное», «домашнее животное» или «животное-компаньон», животное, домашнее животное или животное-компаньон
20 находится не в болезненном состоянии, если не указано иное.

Как используют в данной заявке, термины «корм для животных», «композиция корма для животных», «гранулы корма для животных», «корм для домашних животных» или «композиция корма для домашних животных», все означают композицию, предназначенную для употребления животным. Корм для домашних животных может
25 включать, без ограничения, диетически сбалансированные композиции, подходящие для ежедневного корма, а также добавки и/или лакомства, которые могут быть или могут не быть диетически сбалансированными.

Как используют в данной заявке, термин «диетически сбалансированный» означает, что композиция, такая как корм для домашних животных, имеет известные необходимые
30 пищевые вещества для поддержания жизни в надлежащих количествах и пропорциях, за исключением дополнительной нужды в воде, исходя из рекомендаций признанных авторитетов в области питания домашних животных, включая государственные органы, такие как, но не ограничиваясь приведенным, Центр ветеринарной медицины
Управления по контролю за продуктами и лекарствами Соединенных Штатов (Unites
35 States Food and Drug Administration's Center for Veterinarian Medicine), Ассоциация должностных лиц по контролю за кормами (American Feed Control Officials Incorporated).

Все дозы для приема внутрь в соответствии с настоящим изобретением приведены в расчете на килограмм массы тела животного-компаньона, если не указано иное.

40 Следует понимать, что каждый максимальный численный предел, указанный в настоящем описании, включает каждый нижний численный предел, как если бы такие нижние численные пределы были явным образом описаны в данной заявке. Каждый минимальный численный предел, указанный в данном описании, будет включать каждый верхний численный предел, как если бы такие верхние численные пределы были явным образом указаны в данной заявке. Каждый числовой диапазон, указанный в данном
45 описании, будет включать каждый более узкий интервал численных значений, попадающий в такой больший числовой диапазон, как если бы такие узкие диапазоны численных значений были все явным образом указаны в данной заявке.

Все перечисления элементов, таких как, например, перечисления ингредиентов,

предназначены для и должны быть интерпретированы как группы Маркуша. Таким образом, все перечисления могут быть прочитаны и интерпретированы как элементы, «выбранные из группы, состоящей из» ... перечисления элементов... «и их комбинаций и смесей».

5 Ссылки в данной заявке являются торговыми наименованиями компонентов, включая различные ингредиенты, которые используют в осуществлениях настоящего изобретения. Авторы настоящего изобретения не намерены ограничиваться материалами под определенными торговыми наименованиями. Материалы, равноценные (например, полученные из другого источника под другим именем или номером) материалам,
10 указанным под торговым наименованием, могут быть заменены и использованы в описании, приведенном в данной заявке.

Процессы, способы, композиции и аппараты в данной заявке могут включать, состоять по существу из или состоять из любых признаков или осуществлений изобретения, описанных в данной заявке.

15 При описании различных осуществлений данного раскрытия, раскрыты различные осуществления или индивидуальные признаки. Как должно быть очевидно специалисту в данной области техники, все комбинации таких осуществлений и признаков возможны и могут привести к предпочтительным вариантам исполнения изобретения. Хотя различные осуществления и индивидуальные признаки изобретения были
20 проиллюстрированы и описаны, различные другие изменения и модификации могут быть выполнены без отступления от сущности и объема изобретения. Как также будет очевидно, все комбинации осуществлений и признаков, раскрытые в предшествующем описании, возможны и могут привести к предпочтительным вариантам исполнения изобретения.

25 Осуществления настоящего изобретения

Осуществления настоящего изобретения относятся к композициям, содержащим селен и компонент антиметаболита глюкозы, выбранный из группы, состоящей из 2-дезоксид-D-глюкозы; 5-тио-D-глюкозы; 3-О-метилглюкозы; 1,5-ангидро-D-глюцитол; 2,5-ангидро-D-глюцитол; 2,5-ангидро-D-маннитол; манногептулозы; и их смесей и
30 комбинаций. Не имея желания быть связанными теорией, данные компоненты принимают как антиметаболиты глюкозы. В другом осуществлении, компоненты могут присутствовать в указанных композициях посредством компонента растительного материала, такого как авокадо, или другого обогащенного источника манногептулозы, такого как люцерн, инжир, примула и т.д.

35 Антиметаболиты глюкозы

Компоненты антиметаболитов глюкозы, как описано в данной заявке, включают 2-дезоксид-D-глюкозу, 5-тио-D-глюкозу, 3-О-метилглюкозу, ангидросахару, включая 1,5-ангидро-D-глюцитол, 2,5-ангидро-D-глюцитол и 2,5-ангидро-D-маннитол, манногептулозу, и их смеси и комбинации. Манногептулоза является одним конкретным
40 антиметаболитом глюкозы. В одном осуществлении, манногептулоза может присутствовать в указанных композициях в качестве компонента растительного материала, такого как авокадо, экстракт авокадо, мука из плодов авокадо, концентрат авокадо или другие обогащенные источники манногептулозы. Не ограничивающие примеры обогащенных источников манногептулозы включают люцерну, инжир или
45 примулу. Растительный материал может включать плоды, семена (или косточки), ветви, листья или любые другие части соответствующих растений или их комбинации.

Авокадо (также обычно называют аллигаторовой грушей, по-испански - aguacate или palta) содержит чрезвычайно обогащенные источники манногептулозы, а также

родственные сахара и другие углеводы. Авокадо представляет собой субтропическое вечнозеленое плодовое дерево, растущее наиболее успешно в районах Калифорнии, Флориды, Гавайев, Гватемалы, Мексики, Вест-Индии, Южной Африки и Азии.

Виды авокадо, включают, например, *Persea Americana* и *Persea nubigena*, включая все сорта культурного растения в указанных иллюстративных видах. Сорта культурного растения могут включать 'Anaheim', 'Bacon', 'Creamhart', 'Duke', 'Fuerte', 'Ganter', 'Gwen', 'Hass', 'Jim', 'Lula', 'Lyon', 'Mexicola Grande', 'Murrieta Green', 'Nabal', 'Pinkerton', 'Queen', 'Puebla', 'Reed', 'Rincon', 'Ryan', 'Spinks', 'Topa Topa', 'Whitsell', 'Wurtz' и 'Zutano'. Плоды авокадо являются особенно предпочтительным для использования в настоящем изобретении, они могут содержать косточку или у них может быть удалена косточка или, по меньшей мере, частично удалена. Плоды *Persea Americana* являются особо предпочтительными для применения в данной заявке, а также плод сортов культурного растения, которые дают большие плоды (например, приблизительно 12 унций или более, если плод зрелый), таких как Anaheim, Creamhart, Fuerte, Hass, Lula, Lyon, Murrieta Green, Nabal, Queen, Puebla, Reed, Ryan и Spinks.

Растительный материал из люцерны, инжира или примулы также, как сообщают, обеспечивает относительно высокие уровни манногептулозы. Люцерну также называют *Medicago sativa*. Может быть также использован инжир или *Ficus carica* (включая фикус клубковатый или сикомор античный, например), а также примула, или *Primula officinalis*. Было открыто, что конкретные уровни компонента, выбранного из 2-дезоксид-глюкозы; 5-тио-D-глюкозы; 3-О-метилглюкозы; 1,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-маннитолола; манногептулозы; и их смесей и комбинаций, могут быть использованы в данной заявке. В частности, было найдено, что относительно низкие уровни, а также относительно высокие дозы компонента, являясь полезными, могут обеспечивать менее, чем оптимальную эффективность для желательных целей. Дозировка будет зависеть от используемого компонента антиметаболита глюкозы, и будет варьироваться в зависимости от размера и состояния животного-компаньона, которому антиметаболит глюкозы должен быть введен. Дозировка в диапазоне от приблизительно 0,0001 или приблизительно 0,001 грамм/кг до приблизительно 1 г/кг может быть полезной в некоторых осуществлениях. Как используют в данной заявке, если используют дозировку в мг/кг, то «мг» относится к уровню компонента, такого как манногептулоза, а «кг» относится к килограммам массы тела животного-компаньона, такого как собака или кот. Дозировка в нижнем диапазоне также может быть приемлемой при использовании 2-дезоксид-глюкозы у крупных животных. Более высокие дозы, особенно соединений, таких как 5-тио-D-глюкоза или 2,5-ангидро-D-маннитол, также могут быть легко переносимыми. В одном осуществлении, дозировка компонента, который дают животному-компаньону на ежедневной основе, может составлять от приблизительно 0,1, 0,5, 1,2 или 5 мг/кг до приблизительно 15, 20, 50, 100, 150 или 200 мг/кг, и все комбинации этих диапазонов, при этом «мг» относится к уровню компонента и «кг» относится к килограммам массы тела животного-компаньона. В одном осуществлении, дозировка для животного-компаньона, на ежедневной основе, может составлять от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг или от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг. В одном осуществлении, дозировка для животного-компаньона, на ежедневной основе, может составлять от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 1,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, или приблизительно 2 мг/кг. В определенных осуществлениях, такие количества могут преобразовываться в композиции, содержащие

менее, чем приблизительно 5%, или менее, чем приблизительно 2%, или от приблизительно 0,0001% до приблизительно 0,5%, или от приблизительно 0,1% до приблизительно 10%, или от приблизительно 0,1% до приблизительно 5%, компонента, все по массе композиции. Все диапазоны между ними предусмотрены. Уровень компонента может быть определен специалистом в данной области техники на основании различных факторов, например, формы композиции (например, сухая композиция, полувлажная композиция, влажная композиция или добавка, либо любая другая форма или их смеси). Специалист в данной области техники сможет использовать предпочтительные дозировки и определять оптимальный уровень компонентов в данной композиции.

Аналогичным образом, может быть обеспечено общее количество дозы компонента на ежедневной основе, предоставляемое животному-компаньону. Такая суточная доза может составлять от приблизительно 0,1 мг в день до приблизительно 1000 мг в день. Такие суточные дозы могут зависеть от размера животного-компаньона, которое потребляет композицию. Например, в одном осуществлении, крупные животные-компаньоны могут потреблять больше, чем мелкие животные-компаньоны. Естественно, это согласуется с дозировкой, описанной в данной заявке в отношении дозирования количества на массу животного-компаньона. Таким образом, в одном осуществлении, по мере увеличения животного-компаньона в размерах большее количество композиции может быть введено.

Соответственно, в одном осуществлении, такая суточная доза может соответствовать дозировке на ежедневной основе на массу животного-компаньона, как описано в данной заявке. В частности, суточные дозы могут варьироваться, в некоторых осуществлениях, от приблизительно 0,1 мг в день до приблизительно 1000 мг в день, или даже больше, в зависимости от размера животного-компаньона и суточных доз, как описано выше. В других вариантах, суточная доза может составлять от приблизительно 1 мг в день до приблизительно 500 мг в день, или от приблизительно 1 мг в день до приблизительно 200 мг в день, или от приблизительно 1 мг в день до приблизительно 100 мг в день, или от приблизительно 5 мг в день до приблизительно 100 мг в день, или от приблизительно 5 мг в день до приблизительно 80 мг в день, или от приблизительно 10 мг в день до приблизительно 50 мг в день, или приблизительно 40 мг в день. Все диапазоны между ними также предусмотрены.

Аналогично, если экстракт или муку грубого помола из растительных материалов используют в композициях в данной заявке, уровни экстракта или муки грубого помола могут зависеть от уровня эффективного компонента в таком экстракте или муке грубого помола. В настоящем изобретении были найдены экстракты и/или мука грубого помола, которые содержат от приблизительно 0,5% до приблизительно 99% компонента антимаболита глюкозы, альтернативно от приблизительно 0,5% до приблизительно 75% компонента антимаболита глюкозы, альтернативно от приблизительно 0,5% до приблизительно 50% компонента антимаболита глюкозы, альтернативно от приблизительно 0,5% до приблизительно 25% компонента антимаболита глюкозы, все по массе экстракта или муки грубого помола. В данном изобретении были найдены экстракты и/или мука грубого помола, в которых компонент антимаболита глюкозы может составлять от приблизительно 0,5, 1, 2, 5 или 10% до приблизительно 15, 25, 50 или 75% по массе экстракта и/или муки грубого помола.

Селен

Как описано выше, композиция в соответствии с осуществлениями настоящего изобретения может содержать селен. В одном осуществлении селен может быть либо

добавленным селеном, либо эндогенным селеном. В одном осуществлении композиция может содержать как добавленный селен, так и эндогенный селен.

Как используют в данной заявке, когда речь идет о селене в композиции, «добавленный» селен означает любой ингредиент, который добавляют к композиции, и который имеет, по меньшей мере, 100 мкг селена на 100 г ингредиента (независимо от его происхождения/источника). «Добавленный» селен также означает любой неорганический источник селена, как перечислено ниже. Таким образом, для ясности, любой добавленный неорганический селен считается добавленным селеном в данной заявке. Как используют в данной заявке, когда речь идет о селене в композиции, «эндогенный» селен означает селен, который, природно встречается в растительных источниках (за исключением орехов) и/или животных источниках, которые в основном используют в качестве источников энергии, белка, жира и т.п. в композиции корма для домашних животных. Например, эндогенный селен можно найти в зернах и источниках белка на основе животных и растений.

Селен может присутствовать в композиции из любого количества источников. Источники селена могут включать, но не ограничиваясь приведенным, неорганические и органические источники, и их комбинации.

Неорганические источники селена могут включать, но не ограничиваясь приведенным, селенит натрия, селенат натрия, оксид селена, селенид, селен-обогащенные почвы и их комбинации и смеси.

Органические источники селена могут включать, но не ограничиваясь приведенным, орехи, злаки, мясо, грибы, рыбу, яйца, селенометионин, диметил-селенид, селеноцистеин, метилселеноцистеин, селенизированные дрожжи (коммерчески доступные как Sel-Plex), селенизированный чеснок, селенизированную капусту и другие известные источники селена. Бразильские орехи являются богатым обычным диетическим источником, но высокие уровни также могут быть найдены в почках, тунце, крабах и омарах. Например, орехи, как известно, содержат более 100 мкг селена на 100 г орехов, а бразильские орехи, как известно, содержат более 1000 мкг на 100 г бразильских орехов.

Композиция может содержать различные количества добавленного селена. В одном осуществлении, добавленный селен может присутствовать в количестве от приблизительно 0,05 до приблизительно 10,0 мкг селена на грамм рациона. В других осуществлениях, добавленный селен может присутствовать в количестве от приблизительно 1,25 до приблизительно 10,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 1,25 до приблизительно 9,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 1,25 до приблизительно 8,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 1,25 до приблизительно 7,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 1,25 до приблизительно 6,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 2,0 до приблизительно 6,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 2,0 до приблизительно 5,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 2,0 до приблизительно 4,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 3,0 до приблизительно 6,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 3,0 до приблизительно 4,0 мкг/г рациона, или приблизительно 2 мкг/г рациона, или приблизительно 3 мкг/г рациона, или приблизительно 4 мкг/г рациона, или приблизительно 5 мкг/г рациона, или приблизительно 6 мкг/г рациона, или приблизительно 7 мкг/г рациона.

Композиция может содержать различные количества эндогенного селена. В одном осуществлении, эндогенный селен может присутствовать на уровне, по меньшей мере, 0,10 мкг на г рациона. В других осуществлениях, эндогенный селен может присутствовать в количестве от приблизительно 0,10 до приблизительно 1,00 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,10 до приблизительно 0,90 мкг/г рациона, или от приблизительно

0,10 до приблизительно 0,80 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,10 до приблизительно 0,70 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,10 до приблизительно 0,60 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,20 до приблизительно 0,60 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,20 до приблизительно 0,50 мкг/г рациона, или от
5 приблизительно 0,20 до приблизительно 0,40 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,30 до приблизительно 0,60 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,30 до приблизительно 0,40 мкг/г рациона, или приблизительно 0,2 мкг/г рациона, или приблизительно 0,3 мкг/г рациона, или приблизительно 0,4 мкг/г рациона, или приблизительно 0,5 мкг/г рациона, или приблизительно 0,6 мкг/г рациона, или
10 приблизительно 0,7 мкг/г рациона.

Любое сочетание добавленного селена и эндогенного селена может быть включено в композиции в данной заявке. Таким образом, общее количество селена, включая любой добавленный селен и любой эндогенный селен, в композициях может составлять в одном осуществлении от приблизительно 0,150 до приблизительно 11,0 мкг/г рациона.
15 В других осуществлениях, общее количество селена может присутствовать в количестве от приблизительно 0,15 до приблизительно 9,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,15 до приблизительно 8,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,15 до приблизительно 7,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,15 до приблизительно 6,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,20 до приблизительно 6,0 мкг/г рациона, или от приблизительно
20 0,20 до приблизительно 5,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,20 до приблизительно 4,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,30 до приблизительно 6,0 мкг/г рациона, или от приблизительно 0,30 до приблизительно 4,0 мкг/г рациона, или приблизительно 2 мкг/г рациона, или приблизительно 3 мкг/г рациона, или приблизительно 4 мкг/г рациона, или приблизительно 5 мкг/г рациона, или приблизительно 6 мкг/г рациона,
25 или приблизительно 7 мкг/г рациона.

Композиции

Соответственно, осуществления настоящего изобретения направлены на композицию, предназначенную для проглатывания животным-компаньоном и которая содержит
30 антиметаболит глюкозы и селен, как описано в данной заявке. Композиции включают продукты, предназначенные для удовлетворения необходимых потребностей в корме, а также лакомства (например, печенье) или другие пищевые добавки. Необязательно, композиция в данной заявке может быть сухой композицией (например, гранулы), полувлажной композицией, влажной композицией или любой их смесью. Альтернативно или дополнительно, композиция является добавкой, такой как соус, питьевая вода,
35 йогурт, порошок, суспензия, жевательная резинка, лакомство (например, печенье) или любой другой формой поставки.

Кроме того, в одном осуществлении композиция может быть диетически сбалансированной, например гранулы корма для домашних животных. В другом осуществлении, композиция не является диетически сбалансированной, например,
40 добавка, лакомство или другая форма поставки для домашнего животного. Диетически сбалансированные корма для домашних животных и добавки, а также способы их производства, хорошо известны в данной области техники.

Композиции, используемые в данной заявке, могут необязательно содержать один или более дополнительных компонентов. Другие компоненты являются полезными
45 для включения в композиции, используемые в данной заявке, но являются необязательными для целей настоящего изобретения. В одном осуществлении, композиции могут содержать, в пересчете на сухое вещество, от приблизительно 10% до приблизительно 90% общего белка, альтернативно от приблизительно 20% до

приблизительно 50% общего белка, альтернативно от приблизительно 20% до приблизительно 40% общего белка, по массе композиции, или альтернативно от приблизительно 20% до приблизительно 35% общего белка, по массе композиции.

5 Материал общего белка может содержать белки на растительной основе, такие как соевые бобы, зерновые (кукуруза, пшеница и т.д.), хлопковое масло и арахис, или белки на животной основе, такие как казеин, альбумин и мясной белок. Неограничивающие примеры мясного белка, используемые в данной заявке, включают источник белка, выбранный из группы, включающей говядину, свинину, баранину, птицу, рыбу и их смеси.

10 Дополнительно, композиции могут содержать, в пересчете на сухое вещество, от приблизительно 5% до приблизительно 40% жира, альтернативно от приблизительно 10% до приблизительно 35% жира, по массе композиции.

Осуществления изобретения, относящиеся к композициям в соответствии с настоящим изобретением, могут дополнительно содержать источник углеводов. В одном
15 осуществлении, композиции могут содержать от приблизительно 35%, по массе композиции, до приблизительно 50%, по массе композиции, источника углеводов. В других осуществлениях, композиция может содержать от приблизительно 35% до приблизительно 45%, по массе композиции или от приблизительно 40% до 50%, по массе композиции, источника углеводов. Зерна или зерновые, такие как рис, кукуруза, майло,
20 сорго, ячмень, пшеница и тому подобное, являются иллюстративными источниками углеводов.

Композиции также могут содержать другие вещества, такие как, но не ограничиваясь приведенным, сухая сыворотка и другие молочные побочные продукты, свекловичный жом, целлюлоза, волокна, рыбий жир, льняное масло, витамины, минералы,
25 ароматизаторы, антиоксиданты и таурин.

Композиции также могут содержать другие необязательные ингредиенты. Необязательные ингредиенты могут включать пробиотические компоненты (бифидобактерии и/или *Lactobacillus*) и пребиотические (фруктоолигосахариды) компоненты. Примеры и количества пробиотических компонентов и пребиотических
30 компонентов, которые могут быть включены, раскрыты в публикации США №2005/0158294, например. Другие необязательные ингредиенты, которые могут быть включены, представляют собой омега-6 и омега-3 жирные кислоты, карнитин, гексаметафосфат, глюкозамин, хондроитинсульфат, каротиноиды, включая бета-каротин, витамин Е и лютеин, и те ингредиенты, которые приведены в Таблице 1 ниже.

35 Примеры

Следующие примеры приведены для иллюстрации осуществлений настоящего изобретения и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения каким-либо образом.

Получение муки из плодов авокадо, содержащей манногептулозу

40 Свежие авокадо (*Lula* variety) получали от Fresh King Incorporated (Homestead, FL). Авокадо вручную разделяли и вынимали и отбрасывали косточки. Оставшуюся кожицу и мякоть размалывали при помощи устройства Hobart Commercial Food Preparation (серийный номер 11-10410235), используя сито 12¼. Размолотое авокадо затем переносили в сушилку Edwards Freeze (Super Modulyo Model, Crawley, Sussex, England).
45 Лиофильную сушилку устанавливали при -20°C в течение первых 24 часов, -5°C в течение последующих 24 часов и 5°C в течение последних 72 часов. После удаления из лиофильной сушилки, муку размалывали в порошок при помощи мельницы Straub (модель 4E, Philadelphia, PA). Муку из плодов авокадо анализировали, и было

обнаружено, что она содержит приблизительно 10,35% манногептулозы по массе муки. Необходимо отметить, что количество манногептулозы, обнаруженной в авокадо, варьируется в зависимости от определенного вида и состояния зрелости.

Получение экстракта авокадо

5 Экстракт авокадо, содержащий повышенные уровни манногептулозы, получают в соответствии со следующим необязательным процессом, и используют в композициях в соответствии с осуществлениями настоящего изобретения.

Обеспечивают цельные плоды авокадо (приблизительно 900 килограмм). Плоды разрезают и удаляют косточку, частично или полностью, обеспечивая приблизительно 10 225 килограмм половинок авокадо с удаленными косточками. Сырые авокадо погружают в дезинтегратор, после некоторого перемешивания дополнительно добавляют воду (приблизительно 3000 килограмм) и CELLUBRIX (коммерчески доступный от Novozymes A/S) (приблизительно 1 литр). Смесь дополнительно перемешивают и одновременно нагревают до приблизительно 66°C. После окончания 15 загрузки, добавляют еще CELLUBRIX (приблизительно 1 литр) и всю смесь выдерживают при перемешивании в течение приблизительно 12 часов при контролируемом pH приблизительно 5,5. Температуру затем дополнительно повышают до приблизительно 80°C и потом выдерживают в течение, по меньшей мере, приблизительно 2 часов. Полученную в результате переваренную растительную смесь затем фильтруют при 20 80°C с получением углеводного экстракта в качестве фильтрата. Углеводный экстракт потом упаривают в упрощенной системе рециркуляции при 80°C, под вакуумом, с получением углеводного экстракта, имеющего от приблизительно 10% до приблизительно 20% твердых веществ и pH приблизительно 5,5. Затем экстракт дополнительно концентрируют, используя сушилку Refractance Window, с обеспечением 25 приблизительно 100 кг экстракта в виде кристаллов или порошка (выход приблизительно 11% углеводного экстракта, исходя из исходной массы цельных плодов авокадо, который соответствует выходу от приблизительно 0,25% до приблизительно 4,5% манногептулозы, исходя из исходной массы цельных плодов авокадо). Следует отметить, что количество манногептулозы, найденное в авокадо, варьируется в зависимости от 30 конкретного вида и степени зрелости плода. Экстракт может быть использован в композициях в соответствии с осуществлениями настоящего изобретения.

Гранулы

35 Таблица 1 иллюстрирует две композиции в виде гранул, имеющие следующие компоненты в примерных указанных количествах, которые получают с использованием процессов, которые являются стандартными в данной области техники, включая экструзию, и которые могут давать собакам и/или кошкам в качестве ежедневного корма:

Таблица 1		
Компонент	Рацион 1: количество компонента, мас.%(если не указано иное)	Рацион 2: количество компонента, мас.%(если не указано иное)
Экстракт авокадо*	0,02	0,01
Курица, мука из куриных субпродуктов, рыбная мука и яйца	44	47
Куриный жир	8	6
Свекловичный жом	2	3
45 Соли	2,5	2
Витамины и минералы**	1	1
Незначительные добавки***	3,5	4
Селен (добавленный в виде селенита натрия)	3,5 мкг на г гранул	4,0 мкг на г гранул

Зерна (кукуруза, сорго, овес, рис, пшеница)	Остальное	Остальное
<p>*Авокадо может быть заменен другими растительными веществами, имеющими повышенное содержание манногептулозы. Включение источника манногептулозы вероятно заменяет такое же количество источника зерна в композиции.</p> <p>**Витамины и минералы могут включать: витамин Е, бета-каротин, витамин А, аскорбиновую кислоту, пантотенат кальция, биотин, витамин В₁₂, витамин В₁, ниацин, витамин В₂, витамин В₆, витамин D₃, витамин D₂, фолиевую кислоту, хлорид холина, инозит, карбонат кальция, дикальцийфосфат, хлорид калия, хлорид натрия, оксид цинка, сульфат марганца, сульфат меди, оксид марганца, сульфат железа (II), йодид калия, карбонат кобальта.</p> <p>***Незначительные добавки могут включать: рыбий жир, льняное семя, льняную муку, целлюлозу, ароматизаторы, антиоксиданты, таурин, дрожжи, карнитин, хондроитин сульфат, глюкозамин, лютеин, экстракт розмарина.</p>		

Применение

Восемьдесят (n=80) лабрадоров были рандомизированы по возрасту, полу и одному помету, чтобы получать либо полное и диетически сбалансированное контрольное питание, аналогичное Eukanuba® Senior Large Breed, либо экспериментальное питание, которое идентично контрольному питанию, кроме включения манногептулозы и селена, как описано ниже. Собаки были разделены на две группы исследования.

Исследование 1: всего 39 старших лабрадоров-ретривер могут кормить диетически сбалансированной композицией, обеспечивающей манногептулозу в количестве 0 или приблизительно 2 мг/кг массы тела собаки и добавленный селен в количестве 0 мкг на г рациона или приблизительно 3,5 мкг на г рациона, соответственно. Средний возраст собак (12 кастрированных самцов, 27 стерилизованных самок) в начале 4-летнего исследования составлял 6,7 лет с диапазоном от 5,1 до 8,2 лет для самых молодых и самых старых собак в группе, соответственно. Контрольную композицию могут давать в качестве диетически сбалансированной композиции, и она не содержала манногептулозы (0 мг/кг), добавленного селена (0 мкг на г рациона), экстракта авокадо, муки из плодов авокадо или концентрата авокадо. Тестируемая композиция может быть диетически сбалансированной контрольной композицией, полученной с применением экстракта авокадо, муки из плодов авокадо или концентрата авокадо, чтобы обеспечить манногептулозу в дозе приблизительно 2 мг/кг массы тела собаки, и добавленный селен в количестве приблизительно 3,5 мкг на г рациона. Старшим собакам могут давать по половине их суточного рациона в 07:30 и 14:30 каждый день. Собаки могут кормить для поддержания массы тела и показателя конституции (BCS) в пределах 2-4 баллов. Если должны были быть внесены пищевые коррективы, они были бы сделаны на ежеквартальной основе. Всех собак могут не кормить в течение ночи и утренние блюда могут удерживать, пока не отберут кровь для всех иммунных измерений. Воду давали неограниченно.

Исследование 2: Всего 41 молодых лабрадоров-ретривер могут кормить диетически сбалансированной композицией, обеспечивающей манногептулозу в количестве 0 или приблизительно 2 мг/кг массы тела собаки и добавленный селен в количестве 0 мкг на г рациона или приблизительно 3,5 мкг на г рациона, соответственно. Средний возраст собак (12 кастрированных самцов, 29 стерилизованных самок) в начале 36-месячного исследования составлял 4,0 года с диапазоном от 2,0 до 6,1 лет для самых молодых и самых старых собак в группе, соответственно. Контрольную композицию могут давать в качестве диетически сбалансированной композиции (Eukanuba Senior Maintenance Formula), и она не содержала манногептулозы (0 мг/кг), добавленного селена (0 мкг на г рациона), экстракта авокадо, муки из плодов авокадо или концентрата авокадо. Тестируемая композиция может быть диетически сбалансированной контрольной композицией, полученной из экстракта авокадо, муки из плодов авокадо или концентрата авокадо, чтобы обеспечить манногептулозу в дозе приблизительно 2 мг/кг массы тела собаки и добавленный селен в количестве приблизительно 3,5 мкг на г рациона. Молодым собакам могут давать по половине их суточного рациона в 07:30

и 14:30 каждый день. Собак могут кормить для поддержания массы тела и показателя конституции (BCS) в пределах 2-4 баллов. Если должны были быть внесены пищевые коррективы, они были бы сделаны на ежеквартальной основе. Однако, всех собак могут не кормить в течение ночи и утренние блюда могут удерживать, пока не отберут кровь для всех иммунных измерений. Воду давали неограниченно.

Способы

Антиметаболит глюкозы, такой как манногептулоза, может быть измерен в корме для домашних животных или добавке следующим образом.

Процедура (используйте только деионизированную воду):

Взвесьте приблизительно 0,1 г корма/ингредиента в 15 мл пластиковую центрифужную пробирку.

Добавьте 10 мл воды в пробирку и встряхивайте в течение 5 минут.

Центрифугируйте пробирку при максимальной скорости (2440 g) в течение 5 минут.

Поместите некоторое количество надосадочной жидкости в 0,2 мкм нейлоновый центрифужный фильтр и вращайте при максимальной скорости (14000 g) в течение 5 минут. Проба готова для впрыскивания.

Подготовьте углеводный стандарт концентрацией 10 мкг/мл путем растворения 10 мг каждого углевода в 1 л воды.

Подготовьте углеводный стандарт концентрацией 1 мкг/мл путем растворения 100 мкл раствора концентрацией 10 мкг/мл в 900 мкл воды.

Подготовьте углеводный стандарт концентрацией 0,1 мкг/мл путем растворения 10 мкл раствора концентрацией 10 мкг/мл в 990 мкл воды.

Условия ионообменной хроматографии: очистка элюента: Ionpac ATC-3 (Dionex P/N 059661), Boratrap (Dionex P/N 047078). Колонка: CarboPac PA20 (Dionex P/N 060142), 2 мм Aminotrap предколонка (Dionex P/N 046122). Температура колонки: 30°C

ПРОКАЧКА

Скорость: 0,4 мл/мин

Элюенты: A = Вода, B = 0,2 М NaOH, D = 1 М NaOH

0 мин	4%B	0%C	0%D
14 мин	4%B	0%C	0%D
14,01 мин	4%B	0%C	40%D
20 мин	4%B	0%C	40%D
20,01 мин	4%B	0%C	0%D
30 мин	4%B	0%C	0%D

Примечание: может быть необходимым регенерировать колонку перед применением путем 30-60-минутного промывания 1 М NaOH, с последующим 30-60-минутным промыванием раствором, содержащим 95% воды и 5% 0,2 М NaOH. Следуйте рекомендованной процедуре от Dionex для подготовки элюентов.

АВТОМАТИЧЕСКИЙ ОТБОР ПРОБЫ

Объем впрыскивания: 10 мкл на весь процесс

ИНТЕГРИРОВАННАЯ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКАЯ ХРОМАТОГРАММА

40	Время = 0	Потенциал = 0,1
	Время = 0,2	Потенциал = 0,1, Начать интеграцию
	Время = 0,4	Потенциал = 0,1, Закончить интеграцию
	Время = 0,41	Потенциал = -2
	Время = 0,42	Потенциал = -2
45	Время = 0,43	Потенциал = 0,6
	Время = 0,44	Потенциал = -0,1
	Время=0,5	Потенциал= -0,1

ПРИМЕЧАНИЕ: количественно определите все пики с использованием площадей пиков. Пример интегрированной амперометрической хроматограммы можно увидеть на чертеже.

Ссылки:

1. Shaw, P.E.; Wilson, C.W.; Knight, R.J. J. Agric. Food Chem. 1980, 28, 379-382.
2. Dionex CarboPac20 документ №031844-01.

Селен

5 А. Содержание селена в корме может быть измерено при помощи AOAC Official Method 996.16(G): Селен в кормах и премиксах: метод флуориметрии 2000 следующим образом.

В. Аппарат:

10 а. Флуориметр - с возбуждением при 375 нм и эмиссией при 525 нм. Если это возможно, настройте флуориметр так, чтобы 1 единица шкалы соответствовала 1 нг.

б. Вытяжной шкаф - подходит для работы с HClO_2 .

15 в. Система расщепления - 21×26×7,4 см алюминиевый блок с 80 отверстиями (диаметр 22 мм) установлен на 30×30 см горячей плите (любой коммерчески доступной, если тестовые и стандартные растворы могут быть нагреты одновременно). Альтернативно, микро система расщепления по Кьельдалю, способная удерживать 30 мл колбы или прямые пробирки, может быть использована.

д. Сосуды для расщепления - для системы расщепления. Закрывающиеся при помощи винтовых крышек (тефлоновые прокладки) 20×150 мм тестовые пробирки; микро колбы Кьельдаля, 30 мл, или прямые пробирки являются приемлемыми.

20 е. Экстрактор с механизированным вращением - поддержание 60-70 оборотов в минуту. Переносная стойка, обеспечивающая перемешивание (4 ряда по 10 пробирок), является подходящей.

ф. Устройство для отбора при помощи пипеток - доставка 5 мл ($\pm 1\%$).

г. Водяные бани - 1) поддержание $60 \pm 2^\circ$ и 2) кипящая вода.

25 h. Вихревая мешалка.

i. Мерные колбы -100 и 1000 мл.

j. Колбы Эрленмейера - 250-1000 мл и 2 л.

к. Фильтровальная бумага - качественная бумага, удержание 11 мкм.

С. Реагенты:

30 Все реагенты должны быть, по меньшей мере, чистыми для анализа. Используйте стеклянный дистиллятор деионизированной воды для приготовления растворов и разведений.

а. Циклогексан.

35 б. Раствор соляной кислоты - 0,1 М. Отберите пипеткой 8,3 мл концентрированной HCl в 1 л мерную колбу и разбавьте до объема водой. Могут быть использованы пропорциональные количества для любого удобного объема.

с. Азотная кислота - 70%.

д. Хлорная кислота - 70%.

40 е. 2,3-диаминонафталин (ДАН) реагент - взвесьте 1,0 г ДАН порошка (97% чистоты) и перенесите в 2 л колбу Эрленмейера. Добавьте 500 мл 0,1 М HCl и нагревайте 15 мин до 60°C на водяной бане. Перемешивайте, чтобы помочь растворить порошок. Разбавьте до 1 л 0,1 М HCl . Экстрагируйте раствор в течение 3-5 мин 40-50 мл циклогексана и отбросьте слой циклогексана. Повторите экстракцию трижды. Фильтруйте ДАН реагент через фильтровальную бумагу, предварительно смоченную 0,1 М HCl . ДАН реагент 45 стабилен, по меньшей мере, две недели, в защищенном от света месте в холодильнике.

ф. (Этилендинитрил)-тетрауксусная кислота (ЭДТК), стандартные растворы. (1) ЭДТК стандартный исходный раствор - 0,1 М. Поместите 37,2 г динатриевой соли (этилендинитрил)-тетрауксусной кислоты, в 1 л мерную колбу и разбавьте до объема

водой. (2) ЭДТК рабочий стандартный раствор - 0,01 М. В зависимости от количества пробирок для анализа, разбавьте достаточный объем стандартного исходного раствора ЭДТК (1+9) водой, чтобы получить 15 мл в каждую пробирку.

g. Селенитные стандартные растворы. (1) Селенитный стандартный исходный раствор - 0,4 мкг Se/мл. Отберите пипеткой 100 мл селенитного стандартного раствора (1000 мкг Se/мл в 1% HNO₃; подходит коммерчески доступный стандартный раствор для атомной абсорбции) в 1 л мерную колбу и разбавьте до объема 0,1 М HCl. Из этого раствора отберите пипеткой 40 мл в 100 мл мерную колбу и разбавьте до объема 0,1 М HCl. (Примечание: в качестве альтернативы, растворите 0,400 г Se в HNO₃ в 1 л мерной колбе и разбавьте до объема 0,1 М HCl; разбавьте 10,0 мл этого раствора до 1 л 0,1 М HCl в мерной колбе. Наконец, разбавьте 10 мл этого раствора до 100 мл 0,1 М HCl в мерной колбе и используйте непосредственно). (2) Селенитный калибровочный стандартный раствор. Отберите пипеткой 0,00 (холостая проба), 0,200, 0,500, 1,00 и 1,50 мл селенитного стандартного исходного раствора в отдельные сосуды для расщепления для получения 0,00, 0,08, 0,200, 0,400 и 0,600 мкг Se/сосуд.

h. Стандартные растворы селенита натрия - 0,4 мкг Se/мл. Перенесите 0,1915 г безводного Na₂SeO₄ в 1 л мерную колбу, разбавьте до объема водой. Хорошо перемешайте. Из этого раствора отберите пипеткой 5,00 мл в 1 л мерную колбу и разбавьте до объема водой.

D. Обеспечение качества:

Начиная процесс расщепления, для каждого набора тестовых растворов приготовьте два холостых реагента и, по меньшей мере, четыре селенитных стандартных раствора, C(g)(2), (например, 0,080, 0,200, 0,400 и 0,600 мкг Se/сосуд), и одну пробирку, содержащую 0,500 мл раствора селената натрия, C(h), (0,2 мкг Se/сосуд), чтобы проверить адекватность стадии восстановления, так как селенат не реагирует с ДАН. Восстановление 95-105% ожидается. В противном случае повторно проанализируйте весь набор.

Соответствующие NIST стандартные реперные материалы (SRM) могут быть включены в анализ, например, NIST 1643 с, микроэлементы в воде (удобнее всего использовать), NIST 1567а, пшеничная мука, и NIST 1577b, бычья печень. Стадии предварительного расщепления для SRM могут быть опущены. Перенесите или взвесьте соответствующие количества SRM непосредственно в пробирки для расщепления.

E. Определение:

a. Предварительное расщепление - взвесьте приблизительно 10 г премикса или корма в 250-1000 мл колбу Эрленмейера и запишите массу с точностью до 10 мг (W_a).

(Используйте самую большую имеющуюся колбу, чтобы свести к минимуму проблемы вспенивания.) Добавьте медленно и с осторожностью 75 мл HNO₃ и керамическую «кипелку» (или несколько стеклянных шариков). (Внимание: Матрицы с большими количествами известняка или легко окисляемых материалов могут вызвать вспенивание при добавлении HNO₃.) Нагревайте на горячей плите, пока в раствор не перейдет столько материала, сколько возможно, и пары оксида азота не спадут (обычно 15 мин достаточно). Охладите раствор и количественно разбавьте водой так, чтобы содержание Se находилось между 0,04 и 0,60 мкг/мл. Запишите конечный объем разбавленного подвергнутого предварительному расщеплению раствора с точностью до мл (V₁).

b. Расщепление - Действуйте следующим образом:

1. Тщательно перемешайте подвергнутый предварительному расщеплению раствор из А. для суспендирования всех нерастворенных материалов. Отберите пипеткой 1,00

мл аликвот в тестовые пробирки (сосуды для расщепления). Если содержание Se подвергнутого предварительному расщеплению раствора низкое ($<0,02$ мкг/мл), аликвоты до 10 мл могут быть использованы. Запишите объем с точностью до 0,01 мл (V_a).

5 2. Добавьте пористые шарики для кипения в каждую пробирку, в том числе в холостые, селенитные калибровочные стандартные растворы и стандартный раствор Na_2SeO_4 . Если используют стеклянные шарики, добавьте 2-3 шарика.

3. Добавьте 4 мл HNO_3 и 1 мл HClO_4 [или 5 мл HClO_4 - HNO_3 смеси (1+4, об/об)] в каждую пробирку.

10 4. Поместите пробирки в алюминиевый нагревательный блок. Увеличивайте температуру медленно до 210°C (приблизительно 2 ч). Белые пары HClO_4 должны быть видны в пробирках при завершении расщепления. После достижения белого состояния паров, нагревайте дополнительно 15 мин.

15 5. Удалите пробирки из нагревательного блока. Охладите пробирки до комнатной температуры и нагрейте блок до 110 - 150°C .

c. Восстановление - добавьте 0,5 мл концентрированной HCl в пробирки из b5. Поместите пробирки снова в нагревательный блок и нагревайте в течение 30 мин. Убедитесь, что температура поддерживается между 110 - 150°C в течение всего периода.

20 d. Выделение и количественное определение:

1. Удалите пробирки из нагревательного блока и дайте остыть. Очень важно, чтобы на этой стадии пробирки находились при комнатной температуре. (Примечание - процедура может быть прервана в любой момент, вплоть до этой стадии и в период ее проведения.)

25 2. Добавьте 15 мл ЭДТК рабочего стандартного раствора, C(f)(2), и 2 мл ДАН реагента, C(e), в тестовую пробирку. (Примечание - оба раствора могут быть добавлены одновременно, однако они не должны быть смешаны вместе более чем за 10 мин непосредственно перед использованием или образованием осадка.) Перемешайте хорошо каждую пробирку на вихревом смесителе, со встряхиванием в нижней части

30 пробирки, по меньшей мере, дважды.

3. Поместите стойку пробирок при 60°C на водяную баню и поддерживайте 30 мин. Убедитесь, что уровень воды выше уровня реакционной смеси.

4. Удалите стойку с водяной бани и охлаждайте пробирки 5 мин. в проточной водопроводной воде.

35 5. Добавьте 5 мл циклогексана в каждую пробирку. Закройте пробирки крышкой с тефлоновой прокладкой. Экстрагируйте 5-10 мин. во вращающемся блоке экстракции (60 - 70 об/мин). (Примечание - экстракция может быть выполнена вручную путем встряхивания (поворачивания) стойки пробирок в течение периода времени, который обеспечивает максимальную экстракцию.)

40 6. Перенесите слой циклогексана в кюветы флуориметра. Убедитесь, что раствор свободен от каких-либо суспендированных капель воды, которые могут прилипнуть к стенке кюветы на пути светового луча.

7. Установите длину волны возбуждения флуориметра при 375 нм и эмиссию при 525 нм. Установите флуориметр на ноль циклогексаном и снимите показание холостой

45 пробы, чтобы оценить качество ДАН реагента. Если показания превышают 2-3 единицы флуоресценции, ДАН реагент должен быть экстрагирован снова циклогексаном. Установите флуориметр на ноль относительно холостой пробы.

8. Определите флуоресценцию (F) селенитных калибровочных стандартных растворов

и расчет уравнения регрессии для стандартной кривой. Используйте наклон (k) при расчете концентраций Se в тестовых растворах. В зависимости от имеющегося оборудования, это может быть выполнено автоматически с помощью встроенной процедуры калибровки. (Примечание - флуоресцентный ответ является линейным при использовании селенитных калибровочных стандартных растворов при концентрациях, описанных в C(g)(2). Стандарты, содержащие не менее 2 мкг Se/сосуд, могут поддерживать линейную зависимость.)

9. Определите флуоресценцию тестового раствора.

F. Расчеты:

В зависимости от поддержки программного обеспечения используемого флуориметра, калибровочные данные, коэффициенты разведения и массы проб могут быть сохранены в компьютере и окончательное содержание Se [мкг/г (ppm)] может быть распечатано. Сообщите о мкг Se/г до трех значащих цифр.

При использовании ручной системы вычислите содержание Se в тестовой пробе следующим образом:

$$\text{мкг Se/г} = (F/\Gamma)(V_1/V_A)(1/W_a).$$

Размеры и значения, описанные в данной заявке, не должны быть истолкованы как строго ограниченные точными численными значениями, которые указаны. Вместо этого, если не указано иное, каждый такой размер предназначен для обозначения как процитированного значения, так и функционально эквивалентного диапазона, охватывающего данное значение. Например, размер, описанный как «40 мм», предназначен для обозначения «приблизительно 40 мм».

Каждый документ, процитированный в данной заявке, включая любые перекрестные ссылки или родственные патенты или заявки, включен в данную заявку путем ссылки во всей ее полноте, если нет выраженных исключений или иных ограничений.

Цитирование любого документа не должно быть истолковано как допущение того, что он представляет собой уровень техники в отношении любого изобретения, раскрытого или заявленного в данной заявке, или что он отдельно или в любой комбинации с любой другой ссылкой или ссылками, описывает, предполагает, или раскрывает любое такое изобретение. Дополнительно в случае, когда любое значение или определение термина в данном документе противоречит какому-либо значению или определению в документе, включенном путем ссылки, значение или определение, присвоенные этому же термину в данном документе, будут определяющими.

В то время как конкретные осуществления в соответствии с настоящим изобретением были проиллюстрированы и описаны, специалистам в данной области техники будет очевидно, что различные другие изменения и модификации могут быть выполнены, не выходя за суть и объем настоящего изобретения. Поэтому формула настоящего изобретения, которая прилагается, предназначена для охватывания всех таких изменений и модификаций, которые входят в объем настоящего изобретения.

Формула изобретения

1. Композиция корма для домашних животных, содержащая антиметаболит глюкозы в количестве от 0,0001% до 5% по массе композиции и добавленный селен в количестве от 0,05 до 10 мкг/г композиции.

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что добавленный селен присутствует в композиции в количестве от 0,05 до 7,0 мкг/г композиции.

3. Композиция по п. 2, отличающаяся тем, что добавленный селен присутствует в композиции в количестве от 0,5 до 7,0 мкг/г композиции.

4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что добавленный селен присутствует в композиции в количестве от 1,25 до 6,0 мкг/г композиции.

5. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что добавленный селен присутствует в композиции в количестве от 2,0 до 6,0 мкг/г композиции.

6. Композиция по п. 5, отличающаяся тем, что добавленный селен присутствует в композиции в количестве от 2,0 до 5,0 мкг/г композиции.

7. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что добавленный селен присутствует в композиции в количестве от 3,0 до 4,0 мкг/г композиции.

8. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что антиметаболит глюкозы присутствует в композиции в количестве менее чем 5% по массе композиции.

9. Композиция по п. 8, отличающаяся тем, что антиметаболит глюкозы присутствует в композиции в количестве менее чем 2% по массе композиции.

10. Композиция по п. 9, отличающаяся тем, что антиметаболит глюкозы присутствует в композиции в количестве от 0,0001% до 0,5% по массе композиции.

11. Композиция по любому из пп. 1-7, отличающаяся тем, что антиметаболит глюкозы присутствует в композиции в количестве от 0,1% до 10% по массе композиции.

12. Композиция по любому из пп. 1-7, отличающаяся тем, что антиметаболит глюкозы присутствует в композиции в количестве от 0,1% до 5% по массе композиции.

13. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что добавленный селен содержит неорганический источник или органический источник.

14. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что добавленный селен содержит источник селена, выбранный из группы, состоящей из селенита натрия, селената натрия, оксида селена, селенида, селеноцистеина, селенометионина, селенизированных дрожжей, селенизированного чеснока, селенизированной капусты и их комбинаций и смесей.

15. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что антиметаболит глюкозы содержит компонент антиметаболита глюкозы, выбранный из группы, состоящей из 2-дезоксид-глюкозы; 5-тио-D-глюкозы; 3-О-метилглюкозы; 1,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-маннитола; манногептулозы и их смесей и комбинаций.

16. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что антиметаболит глюкозы включает манногептулозу.

17. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что композиция выбрана из группы, состоящей из влажной композиции, полувлажной композиции, сухой композиции и их комбинаций.

18. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что композиция является диетически сбалансированной композицией корма для домашних животных.

19. Композиция корма для домашних животных, содержащая антиметаболит глюкозы и селен, при этом селен состоит из эндогенного селена и добавленного селена, и причем общее количество селена в композиции составляет от 0,15 до 7,0 мкг/г композиции.

20. Композиция корма для домашних животных по п. 19, отличающаяся тем, что эндогенный селен присутствует в количестве от 0,30 до 0,60 мкг/г композиции, а добавленный селен присутствует в количестве от 3,0 до 6,0 мкг/г композиции.

21. Способ усиления полезных эффектов, связанных с введением антиметаболита глюкозы, включающий введение композиции, содержащей антиметаболит глюкозы и селен, причем общее количество селена в композиции составляет от 0,15 до 11,0 мкг/г композиции.

22. Композиция корма для домашних животных, содержащая антиметаболит глюкозы и добавленный селен, в которой добавленный селен содержится в количестве от 0,05

до 10,0 мкг/г всей композиции и антимаетаболит глюкозы содержится в количестве менее 5% по массе,

причем добавленный селен выбран из группы, состоящей из селенита натрия, селената натрия, оксида селена, селенида, селеноцистеина, селенометионина, селенизированных дрожжей, селенизированного чеснока, селенизированной капусты и их комбинаций;

причем антимаетаболит глюкозы выбран из группы, состоящей из 2-дезоксид-глюкозы; 5-тио-D-глюкозы; 3-О-метилглюкозы; 1,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-глюцитолола; 2,5-ангидро-D-маннитолола; манногептулозы и их смесей.

10

15

20

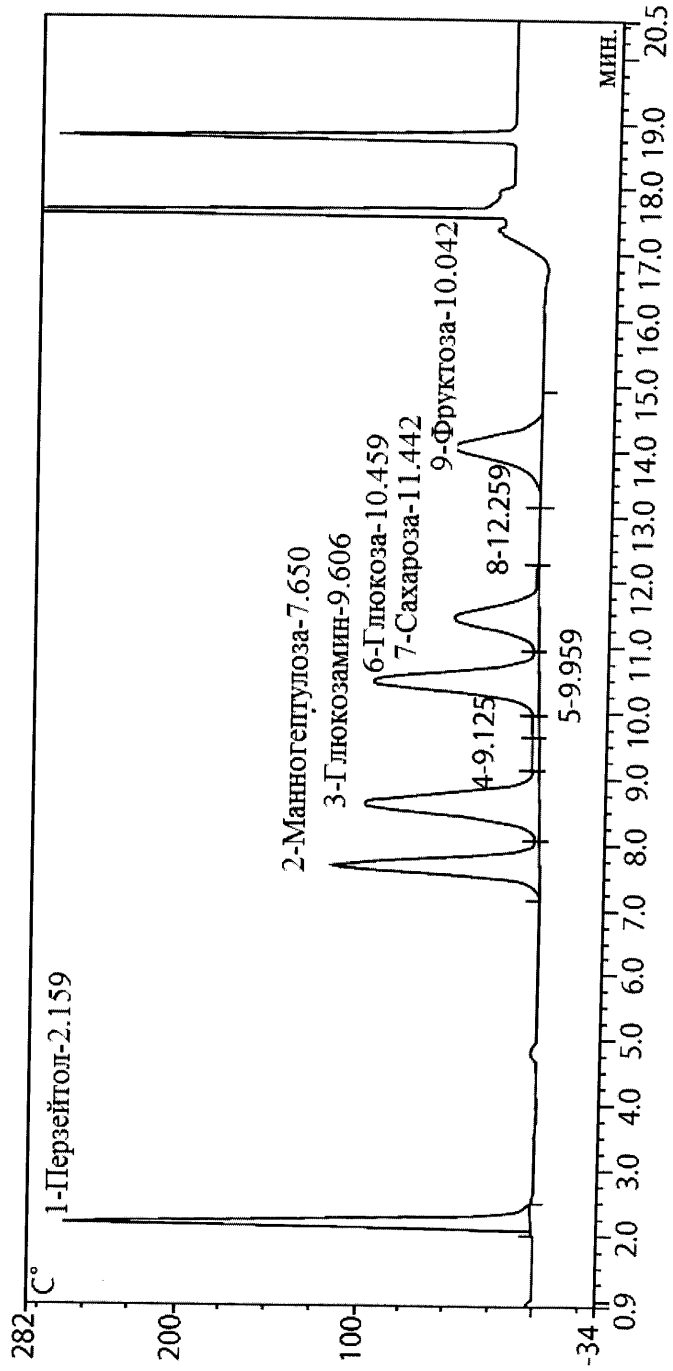
25

30

35

40

45



Фиг. 1