

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ(52) СПК
A01K 61/00 (2022.08)

(21)(22) Заявка: 2022103102, 07.02.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.02.2022Дата регистрации:
24.01.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 07.02.2022

(45) Опубликовано: 24.01.2023 Бюл. № 3

Адрес для переписки:
630111, г. Новосибирск, ул. Кропоткина, 269/1,
кв. 243, Жердеву К.А.

(72) Автор(ы):

Верещагин Евгений Иванович (RU),
Жердев Константин Александрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью
"Шримп" (ООО "Шримп") (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2479215 C1, 20.04.2013. RU
2317714 C2, 27.02.2008. CN 101595939 A,
09.12.2009.(54) Кормовая добавка на основе цисты ракча *Artemia salina*, увеличивающая выживаемость и темпы роста личинок и молоди объектов аквакультуры

(57) Реферат:

Изобретение относится к рыбному хозяйству, а именно к парафармацевтикам и кормам. Кормовая добавка представляет собой композицию, включающую, мас. %: порошок цист ракча *Artemia salina*, измельченный до мелкодисперсного состояния после экстракции липидов - 47,5-48,5, порошок дрожжей вида

Saccharomyces cerevisiae, измельченный до мелкодисперсного состояния - 47,5-48,5, липидный экстракт из цист ракча *Artemia salina* - 3-5. Изобретение увеличивает выживаемость молоди и способствует более быстрому увеличению длины и массы тела личинок, молоди рыб и ракообразных. 3 з.п. ф-лы, 2 табл., 4 пр.

C1
2788721
RUR U
2788721
C1

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
A01K 61/00 (2022.08)

(21)(22) Application: 2022103102, 07.02.2022

(24) Effective date for property rights:
07.02.2022Registration date:
24.01.2023

Priority:

(22) Date of filing: 07.02.2022

(45) Date of publication: 24.01.2023 Bull. № 3

Mail address:
630111, g. Novosibirsk, ul. Kropotkina, 269/1, kv.
243, Zherdevu K.A.

(72) Inventor(s):

Vereshchagin Evgenij Ivanovich (RU),
Zherdev Konstantin Aleksandrovich (RU)

(73) Proprietor(s):

Obshchestvo s ogranicennoj otvetstvennostyu
"Shrimp" (OOO "Shrimp") (RU)(54) FEED ADDITIVE BASED ON CYSTS OF THE CRUSTACEAN ARTEMIA SALINA FOR INCREASING
THE SURVIVAL AND GROWTH RATES OF LARVAE AND JUVENILE SPECIMENS OF AQUACULTURE
SPECIES

(57) Abstract:

FIELD: pisciculture.

SUBSTANCE: invention relates to fish farming, namely, to parapharmaceuticals and feeds. Feed additive constitutes a composition including, wt.%: powdered cysts of the crustacean Artemia salina crushed to a fine state after lipid extraction 47.5 to 48.5, powdered yeast of the species Saccharomyces crushed to a fine state

47.5 to 48.5, lipid extract from cysts of the crustacean Artemia salina 3 to 5.

EFFECT: increased survival rate of juvenile specimens and faster increase in the length and body weight of larvae, juvenile fish and crustaceans.

4 cl, 2 tbl, 4 ex

R U 2 7 8 7 2 1 C 1

R U 2 7 8 8 7 2 1 C 1

Изобретение относится к рыбному хозяйству, а именно, к парафармацевтикам и кормам, включающим пищевые концентраты, кормовые добавки, стартовый живой и искусственный сухой корм и может быть использовано для подращивания личинок и молоди рыб и ракообразных, в том числе в условиях интенсивной индустриальной аквакультуры в устройствах замкнутого водоснабжения (УЗВ).

Актуальной проблемой мировой индустриальной аквакультуры является высокий отход (до 50-90%) посадочного материала на начальных этапах подращивания личинок и молоди рыб и ракообразных возрастного диапазона от 15 до 65 суток в условиях УЗВ вследствие их высокой подверженности инфекционным заболеваниям на ранних стадиях онтогенеза.

В Китае, который является лидером по объемам выращивания и потребления объектов аквакультуры, традиционно применяется стартовый комбикорм ALPHA FEED (производство КНР). ALPHA FEED содержит такие компоненты, как рыбий жир, соевый шрот, витамины А, Д и группы В; аминокислоты лизин и DL-метионин; муку из панциря креветки, рыбную и пшеничную муку, арахисовый жмых; экстракт секрета каракатицы; хлористый натрий, дигидрофосфат кальция. Таким образом, данный корм хорошо сбалансирован по нутритивным компонентам и калорийности, однако не обладает лечебно-профилактическими свойствами, особенно при инфекционных заболеваниях.

Недостатком стартового корма ALPHA FEED является его относительно низкая эффективность для кормления личинок и молоди рыб и ракообразных в возрасте от 15 до 65 суток, выживаемость которых при выращивании в УЗВ не превышает 50%.

Известна биологически активная добавка (БАД) на основе цист рачка *Artemia salina* (*A. salina*) и продукт для наружного и внутреннего применения на ее основе (патент РФ №2340215, 2005), предназначенная для использования в пищевой промышленности, косметике и медицине. БАД обладает антиоксидантными и мембрano-стабилизирующими свойствами. Она представляет собой липидно-витаминный комплекс из экстракта измельченных цист рачка *A. salina*. Белковая фракция и нуклеиновые кислоты, содержащиеся в цисте, в ее состав не входят, что снижает полезные свойства БАД.

Из патента РФ №_2316978 известна БАД к пище на основе цист рачка *Artemia salina* с размером частиц не более 20 мкм и влажностью не более 5 мас. %. БАД может быть использована в пищевой промышленности и медицине.

Средство, обладающее репаративным и ранозаживляющим действием, по патенту РФ №2429865, включает ультрадисперсный порошок цист рачка *Artemia salina* и обеспечивает сорбирующее и регенерирующее воздействие без проявления побочных эффектов. Сухие цисты рачка *Artemia salina* измельчают в шаровой мельнице до ультрадисперсного состояния с размером частиц не более 10-25 мкм.

Известна БАД на основе цист или науплий, или взрослых особей рачка *Artemia salina* (патент РФ №2317714). Изобретение относится к пищевым или косметическим БАД. БАД содержит липидную и белково-аминокислотную фракции из экстракта цист или науплий, или взрослых особей рачка *Artemia salina*. При этом соотношение липидной и белково-аминокислотной фракции составляет от 1000:1 до 1:1. Изобретение обеспечивает снижение аллергических реакций у потребителей данного продукта.

Вышеуказанные БАД не предназначены для добавления в корм и подращивания личинок и молоди рыб и ракообразных.

Известна белковая кормовая добавка для кормления молоди рыб, выращиваемых в естественных водоемах и в садово-бассейновых рыбохозяйственных системах (патент РФ №2479215). Белковая кормовая добавка для молоди рыб включает кормовую рыбную муку и гидролизат рыбной муки. Кормовая добавка позволяет обогатить корм

для молоди рыб белком в доступной форме (прототип).

Следует указать, что практически все известные средства на основе *A. salina* имеют недостатки, касающиеся стабилизации этих средств. В них либо отсутствуют дополнительные стабилизаторы и консерванты (поскольку авторы исходят из

- 5 предположения, что сам по себе субстрат из *A. salina* - и белковый, и липидный - содержит антиоксиданты и натуральные консерванты), либо в них добавляют химические консерванты вплоть до антибактериальных средств. Однако без дополнительных консервантов средства на основе *A. salina* не стабильны, а использование антибактериальных веществ существенно снижает лечебно-профилактическую
- 10 эффективность композиций на основе *A. salina*. Использование антибиотиков в настоящий момент считается нежелательным в пищевой и кормовой промышленности, поэтому следует минимизировать их применение.

Раскрытие сущности изобретения

Предлагаемая кормовая добавка на основе цист рачка *Artemia salina* для личинок и

- 15 молоди рыб и ракообразных, выращиваемых в условиях интенсивной индустриальной аквакультуры, представляет собой композицию, имеющую следующий качественный и количественный (мас. %) состав: порошок цист рачка *Artemia salina* после экстракции липидов, измельченный до мелкодисперсного (тонкодисперсного, ультрадисперсного, микронизированного) состояния - 47,5-48,5; порошок дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae*, измельченный до мелкодисперсного состояния - 47,5-48,5; липидный экстракт из цист рачка *Artemia salina* - 3-5.
- 20

Размер частиц порошков цист рачка *Artemia salina* и дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* составляет 0,01-0,001 мм.

Для увеличения срока хранения кормовая добавка дополнительно содержит

- 25 антиоксиданты и натуральные консерванты: 1-2% этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и 0,01-0,03% дигидрокверцетина.

Предлагаемая кормовая добавка может представлять собой гранулы размером 0,5-1,5 мм с остаточной влажностью менее 10%.

Технические результаты

- 30 Добавление предлагаемой кормовой добавки в корм личинок или молоди рыб или ракообразных, содержащихся в опытных УЗВ, бассейнах, и кормление личинок или молоди рыб или ракообразных без добавления кормовой добавки (контрольные УЗВ, бассейны) приводит к следующим сравнительным результатам:

- 35 1) увеличивается выживаемость молоди осетровых при поражении бактериозом (псевдомонозом). В опыте она составила 100%, в контроле оказалась в 1,4-2 раза ниже;
- 2) ослабленная молодь стерляди быстрее набирает массу. Внесение предлагаемой композиции в ее корм в течение 125 суток привело к увеличению массы тела рыбы в 2,4 раза по сравнению с контролем;
- 3) увеличивается длина тела мальков форели на 85%, масса тела в 2,8 раза, возрастает
- 40 их выживаемость на 65%;

45 4) при подращивании личинок и молоди креветок в УЗВ, бассейнах объемом 2 м³ результаты в опыте превосходили результаты в контроле по выживаемости - в 11,28 раза, по массе тела - в 4,8 раза, длине тела - в 2,44 раза;

- 5) при подращивании личинок и молоди креветок в УЗВ, бассейнах объемом 28 м³ результаты в опыте превосходили контроль по выживаемости в 1,72 раза, массе тела - в 1,4 раза, длине тела - в 1,28 раза;

6) добавление ЭДТА и дигидрокверцетина тормозит рост микрофлоры и накопление гидроперекисей в предлагаемой кормовой добавке, благодаря чему она имеет

пролонгированный срок хранения - до 4-х лет;

7) предлагаемая композиция особенно эффективна на ранних стадиях онтогенеза, существенно повышая выживаемость рыб и ракообразных;

8) предлагаемая композиция позволяет сократить в 1,3-2 раза (в зависимости от вида)

5 традиционные сроки выращивания молоди до товарной навески;

9) проведенные в течение последних 4-х лет научно-производственные испытания применения данной кормовой добавки показали, что она безопасна, не токсична, не вызывает привыкания, подходит для обогащения традиционных искусственных кормов, придавая им лечебно-профилактические свойства.

10 Осуществление изобретения

Заявленную кормовую добавку получают в результате глубокой переработки цист рачка *Artemia salina* и дрожжей пивных кормовых *Saccharomyces cerevisiae*. Глубокая переработка грубого сырья до размеров частиц 0,01-0,001 мм многократно увеличивает биодоступность и эффективность нутритивных и биологически активных веществ

15 (Tolstikova T. G., Khvostov M. V., Lifshits G. I., Dushkin A.V., Meteleva E.S. Alteration of Warfarin's Pharmacologic Properties in Clathrates with Glycyrrhizic Acid and Arabinogalactan // Letters in Drug Design & Discovery. 2011. - Vol. 8, No. 3. - P. 201-204).

Для эффективной микронизации цист необходима экстракция из них липидной фракции, препятствующей механохимической обработке, поэтому она проводится на 20 первом этапе приготовления кормовой добавки.

Первый этап начинают с погружения цист в диапаузу путем промывки и выдержки их в солевом растворе в течение 1,5-2,5 часов с удалением из цист внутренней влаги и последующим отделением органических и неорганических примесей.

После удаления остатков соли пресной промывкой и сушки, цисты измельчают до 25 размера частиц 0,03-0,04 мм и добавляют к ним этиловый спирт, в котором растворяется липидная часть измельченных цист. Затем путем фильтрации взвесь разделяют на две фракции: жидкую - липидную и порошкообразную - белково-углеводную. Из обеих фракций удаляют этиловый спирт и получают два продукта - порошок измельченных цист и липидный экстракт. Порошок измельченных цист высушивают.

30 На втором этапе осуществляют раздельный механический помол на промышленных шаровых мельницах в специально подобранном режиме кормовых дрожжей и сухого порошка измельченных цист *A. Salina* до мелкодисперсного состояния с размером частиц 0,01-0,001 мм.

Сравнение качества материала, полученного в результате механического помола 35 разной длительности, показало, что при длительности процесса более 30 часов происходило химическое разложение природных органических соединений, тем самым их содержание снижалось до величины менее 70% от теоретической; при длительности помола менее 20 часов размер полученных частиц отличался большой вариабельностью.

На основании полученных данных был выбран следующий режим механической 40 обработки порошка цист и дрожжей:

- загрузка обрабатываемого материала по отношению к загрузке мелющих тел - 1: 1-1,2;
- скорость вращения привода - 30-50 об/мин;
- время механической обработки - 24-30 часов.

45 Таким образом, на втором этапе в результате механохимической обработки раздельно получают сухие микронизированные порошки цист и кормовых дрожжей с размером частиц 0,01-0,001 мм.

Высушивание порошков цист и дрожжей до остаточной влажности менее 10%

происходит в режиме термостатирования с сохранением исходных полезных свойств.

На последнем третьем этапе смешивают полученные порошки цист и дрожжей в соотношении 1:1 (по весу) и добавляют к ним липидный экстракт в конечной концентрации 3-5%.

5 Для длительного хранения кормовой добавки в нее вводят стабилизаторы: ЭДТА (1-2%) и антиоксидант дигидрокверцетин (0,01-0,03%), представляющий собой натуральный комплекс биофлавоноидов, полученный из лиственницы даурской (*Larix gmelinii*). Эффективность используемых стабилизаторов представлена в примере 3.

Для получения кормовой добавки в виде гранул к смеси порошков цист, дрожжей,

10 ЭДТА и дигидрокверцетина добавляют воду (750-1000 мл воды на 1 кг смеси) для получения пасты, из которой в результате влажного гранулирования и высушивания до остаточной влажности менее 10% получают гранулы размером 0,5 до 1,5 мм.

Предложенная композиция добавляется в обычный корм для личинок и молоди рыб и ракообразных до конечной концентрации 5-10%. Корм с добавлением данной 15 композиции используется в обычных для кормления данной возрастной группы дозировках 1-2 раза в день.

Эффективность использования предлагаемой кормовой добавки представлена в примерах 1, 2, 4-6.

Пример 1.

20 Лечебно-профилактическое действие предлагаемой кормовой добавки (композиции из микронизированных дрожжей, цисты артемии и липидного экстракта артемии) в случае бактериального заболевания аквакультурных организмов проявляется уже в первые сутки применения в условиях закрытых водоемов.

Лечение от бактериоза (псевдомоноза) молоди осетровых (стерляди и осетра)

25 традиционными ветпрепаратами на фоне кормления с добавлением и без добавления в комбикорм вышеуказанной композиции привело к следующим результатам.

Эксперимент 1 - период лечения 15 суток. При слабой степени поражения рыб выживаемость всех осетровых в опытной группе составила 100%. В контроле у стерляди выживаемость оказалась в два раза ниже; у осетра - в 1,4 раза ниже, чем в опыте.

30 Эксперимент 2 - период лечения 15 суток. За данный период при средней степени поражения в контрольных бассейнах отход у стерляди составил 50%, у осетра - 30%. В опыте выживаемость стерляди снизилась всего на 11%, у осетра выживаемость приближалась к 100%.

Пример 2

35 Кормление ослабленной молоди стерляди в течение полугода искусственным стартовым комбикормом с добавлением предлагаемой кормовой добавки (5% масс. доли) в опыте и без ее добавления (в контроле) привело к ускоренному росту рыбы в опыте по сравнению с контролем.

Уже через месяц относительный среднесуточный прирост в опыте составил 3,99%

40 от массы тела рыбы, в то время как в контроле он был отрицательным (-0,9%).

Кормление обогащенным предлагаемой композицией комбикормом способствовало увеличению в опыте как коэффициента массонакопления (K_m) у рыбы, так и удельной скорости роста, составив в среднем за период 0,056 и 0,022 соответственно. В контроле показатель K_m был в 2,5 раза меньше, а удельная скорость весового роста не превышала 0,009.

Через 125 суток отмечалось статистически достоверное ($P<0,01$) увеличение массы рыбы в 2,4 раза в опыте по сравнению с контролем, составив в среднем у двухлеток $558,01\pm25$ г и $232,4\pm16$ г, соответственно.

Пример 3. Ускоренное хранение.

Образец предлагаемой композиции был помещен в термостат (36°C) для ускоренного хранения. Через 3 суток отмечены изменения органолептических свойств, гнилостный запах, при микробиологическом исследовании обнаружен массовый рост смешанной 5 микрофлоры (более 105/г). Концентрация гидроперекисей липидов выросла на 420%.

Тот же концентрат, но с добавлением ЭДТА (1%) и дигидрокверцетина (0,01%) через 14 дней ускоренного хранения не изменил органолептических свойств. При микробиологическом исследовании отмечен рост менее 102/г микробных тел.

Определение гидроперекисей липидов показало рост их концентрации на 17% по 10 сравнению с исходными данными.

Таким образом, благодаря антиоксидантам в своем составе предложенная композиция имеет пролонгированный срок хранения - до 4-х лет, что играет важную роль для рыночной реализации и использования.

Пример 4. Подращивание мальков форели, возраст 30 дней.

15 В контрольной группе использовался коммерческий корм для мальков START PREMIUM (Alltech Coppens, Нидерланды), применимый в УЗВ. В опытной группе 2 раза в день в течение 1-го месяца использовали START PREMIUM с добавлением 5% предложенной композиции.

По окончании эксперимента проводился подсчет выживших особей и контрольное 20 взвешивание каждой особи.

В опыте отмечено ускорение роста мальков на 85% по сравнению с контролем ($p<0,01$). Выживаемость мальков в опыте была выше выживаемости их в контроле на 65%.

25 Масса аквакультуры при использовании предложенной композиции увеличилась более чем в 2.8 раза.

Пример 5. Подращивание личинок и молоди креветок в возрасте от 15 до 60 суток.

Эксперимент был проведен с использованием УЗВ, бассейнов минимального промышленного объема - 2 м³. Кормление креветок контрольных и опытных бассейнов проводилось по стандартной методике, применяемой на данной ферме.

30 Креветки в контрольных бассейнах получали традиционный корм ALPHA FEED до достижения возраста 60 суток. Креветки в опытных бассейнах получали аналогичный объем питания, но дважды в сутки ALPHA FEED использовался с добавлением 10% предложенной кормовой добавки.

Результаты в опыте превосходили результаты в контроле по параметру выживаемости 35 - в 11,28 раза, по массе тела - в 4,8 раза, длине тела - в 2,44 раза, что видно из таблицы 1.

5 Таблица 1. Результаты кормления личинок и молоди креветок при использовании стартового искусственного комбикорма ALPHA FEED с добавлением и без добавления предложенной композиции в УЗВ, бассейнах минимального промышленного объема – 2 м³.

ИЗМЕРЯЕМЫЕ ПАРАМЕТРЫ		Вариант кормления 1	
		Бассейны, объём 2 м ³	
10	Стартовый искусственный корм	ALPHA FEED	ALPHA FEED + предложенная композиция
		6,2	6,2
15	Масса тела, мг начальная	66	317
	конечная	7,3	7,3
20	Длина тела, мм начальная	25	61
	конечная	0,11	0,169
25	Удельная скорость весового роста	8,6	97,0
	Выживаемость личинок креветок, %	3,52	0,066
30	Интенсивность отхода, % в сутки	до 60	до 60
	Возраст личинок, сутки		

Пример 6. Подращивание личинок и молоди креветок в возрасте от 15 до 65 суток. Эксперимент был проведен с использованием УЗВ, бассейнов максимального

25 промышленного объема - 28 м³. Кормление креветок контрольных и опытных бассейнов проводилось по стандартной методике, применяемой на данной ферме. Креветки в контрольных бассейнах получали традиционный корм ALPHA FEED до достижения возраста 65 суток. Креветки в опытных бассейнах получали корм ALPHA FEED с добавлением 10% предложенной композиции до достижения возраста 65 суток.

30 Результаты в опыте превосходили результаты в контроле по параметру выживаемости в 1,72 раза, по массе тела - в 1,4 раза, длине тела - в 1,28 раза (см. таблицу 2).

35

40

45

5 Таблица 2. Результаты кормления личинок и молоди креветок при использовании стартового искусственного комбикорма ALPHA FEED с добавлением и без добавления предложенной композиции в УЗВ, бассейнах
 10 максимального промышленного объёма – 28 м³

ИЗМЕРЯЕМЫЕ ПАРАМЕТРЫ		Вариант кормления 2	
		Бассейны, объём 28 м ³	
		Стартовый искусственный корм	
15	ALPHA FEED	ALPHA FEED	+ предложенная композиция
		6,2	6,2
20	Масса тела, мг начальная	1539	2156
	конечная	7,3	7,3
25	Длина тела, мм начальная	41,5	53,0
	конечная	0,151	0,152
Удельная скорость весового роста		37,9	65,3
Выживаемость личинок креветок, %		1,24	0,68
Интенсивность отхода, % в сутки		Возраст личинок, сутки	до 65
Возраст личинок, сутки		до 65	до 65

30 Различия в выживаемости, полученные в примерах 5 и 6, объясняются различиями в условиях выращивания.

Предложенная композиция может быть использована как основа для приготовления новых кормов лечебно - профилактического действия.

(57) Формула изобретения

- 35 1. Кормовая добавка для подрашивания личинок и молоди рыб и ракообразных, характеризующаяся тем, что представляет собой композицию, включающую, мас. %: порошок цист рачка *Artemia salina*, измельченный до мелкодисперсного состояния после экстракции липидов - 47,5-48,5, порошок дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae*, измельченный до мелкодисперсного состояния - 47,5-48,5, липидный экстракт из цист 40 рачка *Artemia salina* - 3-5.
2. Кормовая добавка по п. 1, отличающаяся тем, что размер частиц порошков цист рачка *Artemia salina* и дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* составляет 0,01-0,001 мм.
3. Кормовая добавка по п. 1, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит 1-2% этилендиаминтетрауксусной кислоты и 0,01-0,03% дигидрокверцетина.
- 45 4. Кормовая добавка по п. 2, отличающаяся тем, что она представляет собой гранулы размером 0,5-1,5 мм с остаточной влажностью менее 10%.