



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
*A23K 50/80 (2023.01)*

(21)(22) Заявка: 2022124045, 12.09.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
12.09.2022

Дата регистрации:  
22.03.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 12.09.2022

(45) Опубликовано: 22.03.2023 Бюл. № 9

Адрес для переписки:

460018, Оренбургская обл., г. Оренбург, просп.  
Победы, 13, ФГБОУ ВО "Оренбургский ГУ",  
аудитория 170411, пат. отдел, Быков Артем  
Владимирович

(72) Автор(ы):

Аринжанова Мария Сергеевна (RU),  
Мирошникова Елена Петровна (RU),  
Аринжанов Азамат Ерсайнович (RU),  
Килякова Юлия Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Оренбургский  
государственный университет" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2762421 C1, 21.12.2021. ЕА 16809  
В1, 30.07.2012. CN 111777463 А, 16.10.2020.

(54) Способ повышения продуктивности и стимуляции иммунного ответа организма рыб

(57) Реферат:

Способ включает скармливание комбикорма, тонкий слой которого опрыскивают ультрадисперсными частицами SiO<sub>2</sub>, полученными методом плазмохимического синтеза. Частицы размером 388±117 нм

предварительно обрабатывают ультразвуком с частотой 35 кГц в дистиллированной воде в течение 30 мин и используют в количестве 200 мг/кг корма. Изобретение обеспечивает увеличение продуктивности и стимуляцию иммунного ответа организма рыб. 3 табл.

RU 2 7 9 2 4 3 9 C 1

RU 2 7 9 2 4 3 9 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*A23K 50/80 (2023.01)*

(21)(22) Application: **2022124045, 12.09.2022**

(24) Effective date for property rights:  
**12.09.2022**

Registration date:  
**22.03.2023**

Priority:

(22) Date of filing: **12.09.2022**

(45) Date of publication: **22.03.2023** Bull. № 9

Mail address:

**460018, Orenburgskaya obl., g. Orenburg, prosp. Pobedy, 13, FGBOU VO "Orenburgskij GU", auditoriya 170411, pat. otdel, Bykov Artem Vladimirovich**

(72) Inventor(s):

**Arinzhanova Mariia Sergeevna (RU),  
Miroshnikova Elena Petrovna (RU),  
Arinzhanov Azamat Ersainovich (RU),  
Kiliakova Iuliia Vladimirovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniia «Orenburgskii gosudarstvennyi universitet» (RU)**

(54) **METHOD FOR INCREASING PRODUCTIVITY AND STIMULATING THE IMMUNE RESPONSE OF THE FISH ORGANISM**

(57) Abstract:

FIELD: veterinary.

SUBSTANCE: method includes feeding mixed fodder, a thin layer of which is sprayed with ultrafine particles of SiO<sub>2</sub> obtained by the method of plasma-chemical synthesis. Particles with a size of 388±117 nm are pre-treated with ultrasound at a frequency of 35

kHz in distilled water for 30 minutes and used in an amount of 200 mg/kg of feed.

EFFECT: invention provides an increase in productivity and stimulation of the immune response of the fish organism.

1 cl, 3 tbl

**1 C  
9  
6  
3  
9  
2  
4  
3  
9  
2  
7  
9  
2  
4  
3  
9  
C 1  
R U**

**R U  
2 7 9 2 4 3 9  
C 1**

Изобретение относится к рыбной промышленности и может быть использовано при производстве кормовых продуктов для обеспечения повышения продуктивности рыб и стимуляции иммунитета.

В настоящее время для повышения продуктивности и стимуляции иммунного ответа организма животных и рыб используют различные биодобавки: пробиотики, ферментные препараты, антиоксиданты, гормоны, витамины, микроэлементы и т.д.

Кремний признан важным элементом организма животных и человека. Особенно роль кремний играет в соединительной ткани, являясь основным ионом остеогенных клеток. Кроме того, кремний участвует в биохимии субклеточных ферментосодержащих структур и образует важные взаимосвязи с другими элементами (Carlisle EM. Silicon as an essential trace element in animal nutrition. Ciba Found Symp. 1986;121:123-39. doi: 10.1002/9780470513323.ch8.).

Наноматериалы на основе кремния продемонстрировали уникальные свойства для их применения в медицине (Peng F, Cao Z, Ji X, Chu B, Su Y, He Y. Silicon nanostructures for cancer diagnosis and therapy. Nanomedicine (Lond). 2015;10(13):2109-23. doi: 10.2217/nnm.15.53.), ветеринарии (Savage DJ, Liu X, Curley SA, Ferrari M, Serda RE. Porous silicon advances in drug delivery and immunotherapy. Curr Opin Pharmacol. 2013 Oct;13(5):834-41. doi: 10.1016/j.coph.2013.06.006.) и сельском хозяйстве (Carlisle EM. Silicon: an essential element for the chick. Science. 1972 Nov 10;178(4061):619-21. doi: 10.1126/science.178.4061.619.). В частности выявлено, что наночастицы кремния и его оксиды способны повышать продуктивность роста и стимулировать иммунный ответ организма рыбы (Zhang W, Zhu C, Xiao F, Liu X, Xie A, Chen F, Dong P, Lin P, Zheng C, Zhang H, Gong H, Wu Y. pH-Controlled Release of Antigens Using Mesoporous Silica Nanoparticles Delivery System for Developing a Fish Oral Vaccine. Front Immunol. 2021 Apr 19;12:644396. doi: 10.3389/fimmu.2021.644396.) и птицы (Dosoky WM, Fouda MMG, Alwan AB, Abdelsalam NR, Taha AE, Ghareeb RY, El-Aassar MR, Khafaga AF. Dietary supplementation of silver-silica nanoparticles promotes histological, immunological, ultrastructural, and performance parameters of broiler chickens. Sci Rep. 2021 Feb 18;11(1):4166. doi: 10.1038/s41598-021-83753-5.).

Известен способ получения кремнийсодержащего препарата (RU 2091071, МПК А61К 35/10, 1997 г.), включающий смешивание пирогенного кремнезема (96-97%) и гумата натрия (3-4%) с последующим диспергированием в шаровой мельнице в течении 2-3 часов.

Недостатком данного способа является её ограниченная область применения, так как используется только для крупного рогатого скота.

Известен способ повышения продуктивности животных (RU 2084178, МПК А23К 1/175, 1997 г.), путем скармливания стандартного комбикорма с измельченной минеральной добавкой размером 0,5-2 мм, содержащая аморфный кремнезем (опал-кристаболитовая порода) - 0,3-0,5 мас. %.

Известен способ повышения продуктивности животных (RU 2134042, МПК А23К 1/175, 1999 г.), путем скармливания корма совместно с опокой -горная измельченная порода нерудного месторождения природного минерала, включающая аморфный кремнезем (опал-кристаболитовая порода Красногвардейского месторождения в Свердловской области с содержанием кремнезема 50,0 - 85,8 %) измельченного до состояния муки в количестве 10-200 г на голову в сутки.

Известен способ повышения продуктивности животных (RU 2199883, А23К 1/16, А23К 1/175, 2003 г.), путем скармливания корма совместно с диатомитом Инзенского месторождения Ульяновской области (содержание кремнезема 81,3-85,6 %) или опокой Дубинского месторождения Ульяновской области (содержание кремнезема 84,10-

89,62%).

Недостатком данных способов является трудоемкость приготовления опоки и диатомита, и соответственно ее высокая стоимость, а также их ограниченная область применения, так как используются только для крупного рогатого скота и птицы.

5 Известен способ повышения продуктивности животных (RU 2293472, А23К 1/175, 2007 г.), путем скармливания корма совместно с кремнесодержащим (цеолит на основе диоксида кремния (69-81%)) и серосодержащим компонентом (сера элементарная - отход установок сероочистки нефтепродуктов), и с сухим обезжиренным молоком.

Недостатком способа является её ограниченная область применения, так как  
10 используется для теплокровных животных и птицы.

Известен способ повышения продуктивности животных (RU 2729387, А23К 10/30, А23К 20/00, 2020 г.) путем скармливания корма совместно с препаратами «Йоддар-Zn» (доза 0,01 кг/100 кг добавки), «ДАФС-25» (доза 0,00016 кг/100 кг добавки), кремнесодержащим препаратом «Коретрон» (0,5 кг/100 кг добавки) и тыквенным  
15 жмыхом холодного прессования (остальное).

Недостатком способа является её ограниченная область применения, так как используется только для молодняка овец.

Известен способ повышения иммунитета животных (RU 2546222, А23К 1/14, А23К 1/16, А23К 1/18, 2015 г.), путем введения животному антимаетаболита глюкозы, состоящей  
20 из 2-дезоксид-D-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 комбинаций от 1 мг до приблизительно 50 мг манногептулозы на кг массы тела в день.

Недостатком данного способа является её ограниченная область применения, так как используется только для домашних животных.

25 Известен способ усиления обменных процессов и иммунитета у сельскохозяйственных животных и птицы (RU 2259832, А61К 31/714 А23К 1/22 А61Р 3/00 А61Р 37/04, 2005 г.), путем скармливания корма совместно с добавками, вес. %: рибоксин 10,0-40,0, кальция глицерофосфат 30,0-40,0, витамин В120,02-0,04, аскорбиновая кислота 2-4, лимонная кислота 2-4, янтарная кислота 2-4, фолиевая кислота 1-2, фруктоза 5-10, глюкоза –  
30 (остальное до 100).

Недостатком способа является её ограниченная область применения, так как используется только для теплокровных животных и птицы.

Известен способ повышения продуктивности животных и иммунного статуса организма (RU 2708161, А23К 10/16, А23К 10/30, А23К 20/28, 2019 г.) путем скармливания  
35 корма совместно с добавкой состоящей из порошка цеолита (30-32 %), пробиотика (8-18 %), включающий биомассу молочнокислых бактерий, выбранных из *Lactobacillus acidophilus*, или *Propionobacterium freundenreichii*, или *Bifidobacterium longum*, или *Bifidobacterium adolescentis*, или *Streptococcus thermophilus* с титром не менее 10<sup>9</sup> КОЕ/мл, пресноводной микроводоросли хлореллы (13-14 %), глюкозы кормовой (3-3,5 %) и  
40 отруби злаковые (остальное до 100%).

Недостатком способа является её ограниченная область применения, так как используется для теплокровных животных и птицы.

Известна кормовая добавка (RU 2374900, А23К 1/16, А23К 1/175, 2009 г.), для  
45 повышения продуктивности и иммунитета животных и рыб, состоящая из смеси препаратов Мивала с Крезацином при соотношении 1:9, при этом добавку вводят в дозе 0,01-5 мг/кг живой массы или в дозе 75 мг/кг корма.

Недостатком данного способа является низкая сохранность рыб.

Известна иммуномодулирующая композиция (RU 2322452, С07К 14/52, А61К 38/19,

2008 г.) для перорального введения, содержащая водонерастворимую фракцию разрушенных клеток дрожжевого продуцента гетерологичного гидрофобного белка-цитокина, солубилизатор и воду.

Недостатком способа является трудоемкость получения композиции и ее высокая стоимость.

Наиболее близкий к предлагаемому по технической сущности является способ повышения продуктивности роста, согласно которому цыплятам-бройлерам в основной рацион вводят ультрадисперсные частицы  $\text{SiO}_2$  дозой 300 мг/кг комбикорма после диспергирования в физиологическом растворе продолжительностью 45 мин, и аминокислоты: аргинин – дозой 7 г/кг, лизин - 6 г/кг, метионин - 2 г/кг.

Недостатком данного способа является её ограниченная область применения, так как используется только для цыплят-бройлеров. Кроме того, применение аминокислот в форме сухих сыпучих компонентов и жидкого в физиологическом растворе ультрадисперсных частиц  $\text{SiO}_2$  приводит к неравномерному распределению компонентов в корме во время перемешивания.

Технический результат – увеличение продуктивности и стимуляция иммунного ответа организма рыб.

Способ был реализован следующим образом. Тонкий слой корма опрыскивают ультрадисперсными частицами  $\text{SiO}_2$  полученными методом плазмохимического синтеза, размером  $388 \pm 117$  нм, предварительно обработанные ультразвуком в дистиллированной воде в течение 30 мин с частотой 35 кГц, в количестве 200 мг/кг корма.

На базе кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры Оренбургского государственного университета, методом аналогов было сформированы 4 группы (n=30) молоди карпа средней массой 20 г.

Рыбы контрольной группы получали основной рацион (ОР), рыбам опытных групп к ОР дополнительно вводили ультрадисперсные частицы (УДЧ)  $\text{SiO}_2$  в различных дозировках: 100 мг/кг корма (I опытная группа -  $O_1$ ); 200 мг/кг (II опытная группа –  $O_2$ ); 300 мг/кг (III опытная группа –  $O_3$ ).

В качестве ОР использовался сбалансированный по основным питательным веществам корм для карповых рыб КРК-110-1 (ОАО «Оренбургский комбикормовый завод», г. Оренбург), содержащий 26,0 % протеина.

УДЧ  $\text{SiO}_2$  были получены методом плазмохимического синтеза (ООО «Плазмотерм» г. Москва), размером  $388 \pm 117$  нм, удельная поверхность частиц -  $109 \text{ м}^2/\text{г}$ , Z-потенциал -  $27 \pm 0,1$  мВ. УДЧ вводили после диспергирования препарата в дистиллированной воде в течении 30 мин с частотой 35 кГц с помощью УЗДН-2Т.

Обслуживание рыб и экспериментальные исследования выполнены в соответствии с инструкциями Russian Regulations, 1987 (Order No.755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1966)». При выполнении исследований были приняты усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшения количества используемых образцов.

Суточная норма кормления определялась еженедельно в зависимости от массы рыбы, температуры воды и значений растворенного в воде кислорода (Пономарев С.В. Индустриальное рыбоводство: учебник / С. В. Пономарев, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева. - Санкт-Петербург: Лань, 2013. – 448 с.).

Полученные результаты были статистически обработаны. Для выявления

статистически значимых (достоверных) различий использовали критерий Стьюдента. Достоверными считали различия при уровне вероятности ошибки не выше 5% ( $P \leq 0,05$ ) (Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Высш. шк., 1990. - 352 с.).

В ходе экспериментальных исследований установлен ростостимулирующий эффект действия УДЧ SiO<sub>2</sub> (таблица 1) - достоверные различия по динамике живой массы в опытных группах были зафиксированы на шестой неделе опыта и сохранились вплоть до конца эксперимента. К концу эксперимента в опытных группах констатировали увеличение живой массы рыб на 10,2% (O<sub>1</sub>), на 14,1% (O<sub>2</sub>) и на 11% (O<sub>3</sub>), по сравнению с контрольной группой. Лучшие показатели по динамике роста были зафиксированы при дозировке УДЧ SiO<sub>2</sub> - 200 мг/кг корма (O<sub>2</sub>).

Для оценки физиологического состояния рыб и уровня метаболизма проводились морфо-биохимические исследования крови рыб с использованием оборудования ЦКП БСТ РАН <http://цкп-бст.рф> по стандартным методикам (аттестат аккредитации № RA.RU.21ПФ59 от 02.12.2015 г.). Анализ полученных данных показал, что добавление в корм молоди карпа используемых добавок не вызывает отклонений гематологических показателей от физиологической нормы.

Таблица 1 – Динамика живой массы молоди карпа, г

Неделя учетного периода	Группа			
	контроль	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>
Начало опыта	20,3±3,4	20,2±3,4	21,0±3,7	20,1±3,3
1	24,6±3,9	24,7±3,8	26±4,0	24,1±3,8
2	31,2±4,6	30,2±4,4	31,6±4,5	29,3±4,3
3	37,1±5,0	36,5±5,1	35,6±4,5	35,4±4,5
4	43,4±4,9	42,8±5,3	43,1±5,8	41,6±4,6
5	46,1±5,4	50,8±5,9	50,9±5,5	48,7±5,2
6	51,5±6,1	56,6±6,5*	55,3±5,6*	54,4±5,8
7	61,0±6,4	65,5±6,8*	65,4±6,1*	64,1±6,5*
8	65,4±7,3	72,1±6,9*	74,6±6,5*	72,6±6,8*

Примечание: \*  $P \leq 0,05$

В опытных группах зафиксировано повышение уровня гемоглобина на 36 % (O<sub>1</sub>), 85,3 % (O<sub>2</sub>), 68 % (O<sub>3</sub>); эритроцитов на 14,4 % (O<sub>1</sub>) и на 15,6% (O<sub>2</sub>); относительно контрольных значений (таблица 2), что говорит о повышении обменных процессов, в частности гемопоэза, в организме благодаря кремнию (Колбин, И.А. Изменение показателей функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови доноров после инкубации с наночастицами диоксида кремния / И.А. Колбин, О.Л. Колесников // Вестник ЮУрГУ. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. 2011. № 20(237). С. 116-119.). Повышение уровня гемоглобина и эритроцитов свидетельствует на благоприятное влияние заявленного препарата на стимуляцию гемопоэза.

Повышение количества лейкоцитов, лимфоцитов (центральное звено иммунной системы) и моноцитов в опытных группах относительно контрольных значений свидетельствуют об увеличении интенсивности метаболических процессов в организме рыб на фоне действия кремния в ультрадисперсной форме. Увеличение количества данных клеток играет важную роль в контроле иммунного ответа и устойчивости организма к различным патогенам, в частности моноциты составляют основную массу клеток мононуклеарной фагоцитарной системы, т. е. обладают способностью к фагоцитозу - основному механизму врожденной иммунной защиты организма (Estaiano

de Rezende RA, Soares MP, Sampaio FG, Cardoso IL, Ishikawa MM, Lima Dallago BS, Rantin FT, Teixeira Duarte MC. Phytobiotics blend as a dietary supplement for Nile tilapia health improvement. Fish Shellfish Immunol. 2021 Jul;114:293-300. doi: 10.1016/j.fsi.2021.05.010.).

Таблица 2 – Морфологические показатели крови рыб

Группа	Показатели				
	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, $10^{12}/л$	Лейкоциты, $10^9 л$	Лимфоциты, $10^9/л$	Моноциты, $10^9/л$
Контроль	75 ± 6,0	0,45 ± 0,03	33,8 ± 3,1	33,3 ± 3,0	0,4 ± 0,06
O <sub>1</sub>	102 ± 8,5*	0,65 ± 0,045**	71,2 ± 4,5***	69,8 ± 5,3***	1,2 ± 0,2**
O <sub>2</sub>	139 ± 11,7***	0,70 ± 0,05**	115,8 ± 8,8***	111,9 ± 10,2***	3,4 ± 0,4***
O <sub>3</sub>	126 ± 9,8***	0,45 ± 0,035	98,8 ± 7,4***	95,7 ± 9,5***	2,7 ± 0,35***

Примечание: \*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*  $P \leq 0,001$

Об активации защитных функций организма, а также о повышении белкового обмена, свидетельствует высокий уровень белка сыворотки крови рыб (таблица 3).

Кроме того, анализ крови рыб показал в опытных группах высокое содержания такого важного элемента для гемопоэза, как железа. Максимальное количество которого зафиксировано при дозе введения УДЧ SiO<sub>2</sub> 200 мг/кг корма, в 10,6 раза ( $P \leq 0,001$ ) выше контроля.

Таблица 3 - Биохимические показатели крови рыб

Группа	Показатели				
	Общий белок, г/л	Железо, мкмоль/л	Фосфор, ммоль/л	АСТ, Ед/л	АЛТ, Ед/л
Контроль	27,99 ± 1,23	3,9 ± 0,45	4,59 ± 0,33	483,7 ± 23,8	175,2 ± 5,4
O <sub>1</sub>	34,88 ± 1,8**	15,4 ± 1,9***	6,05 ± 0,4**	504 ± 26	165,9 ± 5,1
O <sub>2</sub>	33,43 ± 1,51*	41,4 ± 3,5***	5,67 ± 0,37*	487,4 ± 27,5	174 ± 7,4
O <sub>3</sub>	32,12 ± 1,29*	37,8 ± 3,2***	5,32 ± 0,35	324,4 ± 24,4**	109,5 ± 4,5***

Примечание: \*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*  $P \leq 0,001$

Анализируя полученные данные, можно сделать следующие выводы:

- добавление в основной рацион УДЧ SiO<sub>2</sub> в количестве 200 мг/кг корма положительно влияет на продуктивность и развитие рыб, повышая интенсивность обменных процессов в организме.

- способ повышения продуктивности и стимуляции иммунного ответа организма рыб путем включения в рацион ультрадисперсных частиц оксида кремния в количестве 200 мг/кг корма подтвержден возможностью его осуществления с помощью описанных в заявке средств и методов.

- заявленное изобретение соответствует условию «промышленная применимость».

#### (57) Формула изобретения

Способ повышения продуктивности и стимуляции иммунного ответа организма рыб, включающий скармливание комбикорма, отличающийся тем, что тонкий слой корма опрыскивают ультрадисперсными частицами SiO<sub>2</sub>, полученными методом плазмохимического синтеза, размером 388 ± 117 нм, предварительно обработанными ультразвуком в дистиллированной воде в течение 30 мин с частотой 35 кГц, в количестве 200 мг/кг корма.