

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202091226 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.08.24

(22) Дата подачи заявки
2018.12.11

(51) Int. Cl. A23L 3/3472 (2006.01)
A01N 31/16 (2006.01)
A01N 65/00 (2009.01)
A61K 36/00 (2006.01)
C07G 1/00 (2011.01)
C08H 7/00 (2011.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01)
A23K 10/32 (2016.01)
A23K 50/10 (2016.01)
A23L 29/00 (2016.01)
A23L 33/10 (2016.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ЛИГНИНОВОЙ ФРАКЦИИ В КАЧЕСТВЕ ИНГРЕДИЕНТА ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

(31) 102017000148931

(32) 2017.12.22

(33) IT

(86) PCT/EP2018/084310

(87) WO 2019/121147 2019.06.27

(71) Заявитель:
ГРИН ИННОВЕЙШН ГМБХ (AT);
ЮПМ-КЮММЕНЕ КОРПОРЕЙШН
(FI)

(72) Изобретатель:

Леонарди Джулиано (AT), Пиетаринен
Суви, Хюбш Кристиан (FI)

(74) Представитель:

Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Описаны применение лигниновой фракции в качестве ингредиента пищевой добавки для человека и животных, а также пищевые добавки, содержащие эту лигниновую фракцию.

202091226

A1

A1

202091226
972160207

РСТ/EP2018/084310**МПК:**

<i>A23L 3/3472</i> (2006.01)	<i>A61K 31/70</i> (2006.01)
<i>A01N 31/16</i> (2006.01)	<i>A23L 33/105</i> (2016.01)
<i>A01N 65/00</i> (2009.01)	<i>A23K 10/32</i> (2016.01)
<i>A61K 36/00</i> (2006.01)	<i>A23K 50/10</i> (2016.01)
<i>C07G 1/00</i> (2011.01)	<i>A23L 29/00</i> (2016.01)
<i>C08H 7/00</i> (2011.01)	<i>A23L 33/10</i> (2016.01)
<i>A61P 31/04</i> (2006.01)	

ПРИМЕНЕНИЕ ЛИГНИНОВОЙ ФРАКЦИИ В КАЧЕСТВЕ ИНГРЕДИЕНТА ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ОПИСАНИЕ

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к применению лигниновой фракции в качестве ингредиента пищевой добавки для человека и животных, а также к пищевым добавкам, содержащим эту лигниновую фракцию.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

В некоторых отраслях промышленности, например, в пищевой промышленности, для поддержания санитарно-гигиенических условий при производстве продуктов, например, пищевого продукта, необходимо избегать размножения бактерий. На фермах и скотобойнях размножение бактерий, с одной стороны, считается очень распространенным явлением, а, с другой стороны, очень важно ограничивать и не допускать подобное размножение.

Известные средства зачастую неэффективны в отношении многих микроорганизмов, поэтому необходимо использовать много разных средств, и кроме этого известные средства часто загрязняют как окружающую среду, так и продукт, для получения которого их применяют.

Средством, обычно используемым в этих случаях, являются антибиотики. Однако считается, что в основе проблемы устойчивости к антибиотикам лежит чрезмерное и неправильное использование этих лекарственных препаратов, а также отсутствие разработок новых лекарственных средств в фармацевтической промышленности ввиду сокращения экономических стимулов и усложнения нормативных требований.

Устойчивость к противомикробным препаратам (AMR) представляет собой

способность микроорганизма противостоять действию лекарственного препарата, ранее использованного для борьбы с ним. Этот термин включает в себя более конкретное понятие «устойчивость к антибиотикам», которое применяется только к бактериям, становящимися устойчивыми к антибиотикам. Устойчивые микроорганизмы труднее поддаются лечению, вызывая необходимость применения альтернативных лекарственных препаратов или более высоких доз, при этом и то и другое может быть более дорогостоящим или оказывать более токсичное действие.

Всемирная организация здравоохранения подтвердила, что несоответствующее применение антибиотиков в животноводстве является основной причиной появления и распространения устойчивых к антибиотикам патогенных микроорганизмов и что применение антибиотиков в качестве стимуляторов роста в кормах для животных должно быть ограничено. Всемирная организация по охране здоровья животных добавила в Международный ветеринарный кодекс наземных животных ряд руководящих материалов с рекомендациями для своих членов по созданию и согласованию национальных программ контроля и мониторинга устойчивости к противомикробным препаратам, по мониторингу количеств используемых в животноводстве антибиотиков, а также рекомендации по обеспечению надлежащего и оправданного применения антибиотических веществ. Другое руководящее указание заключается во внедрении методологий, которые помогают установить связанные с этим факторы риска и оценить риск возникновения устойчивости к антибиотикам.

В связи с этим ощущается потребность в эффективном противодействии этим вредным микроорганизмам с избеганием применения антибиотиков, при одновременном оберегании при этом здоровья человека и животных.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Указанная выше цель была достигнута посредством применения лигниновой фракции в качестве антипатогенного агента в пищевой добавке для человека и животных, как заявлено в п. 1 формулы изобретения.

При этом настоящее изобретение также относится к пищевой добавке, содержащей указанную лигниновую фракцию и подходящие пищевые носители.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения качества и срока годности мяса, получаемого от сельскохозяйственных животных.

Согласно следующему аспекту настоящее изобретение относится к пищевой

добавке для применения в кормлении самок сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения надоев и качества молока, получаемого от самок сельскохозяйственных животных.

Согласно дополнительному аспекту настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения фертильности сельскохозяйственных животных.

Согласно следующему аспекту настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для снижения выделения метана без нарушения эффективности пищеварения или руминации.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

Характеристики и преимущества настоящего изобретения станут очевидны на основании приведенного далее подробного описания, на основании рабочих примеров, представленных в иллюстративных целях, и на основании прилагаемых фигур, при этом:

- на Фиг. 1 показан профиль красной окраски мяса в контрольной и экспериментальной группах при выдерживании в течение 14 суток, как приведено в примере 6;

- на Фиг. 2 показан профиль желтой окраски мяса в контрольной и экспериментальной группах при выдерживании в течение 14 суток, как приведено в примере 6; и

- на Фиг. 3 показано общее выделение газа при расщеплении в течение 24 часов *in vitro* под действием сока рубца, как приведено в примере 6.

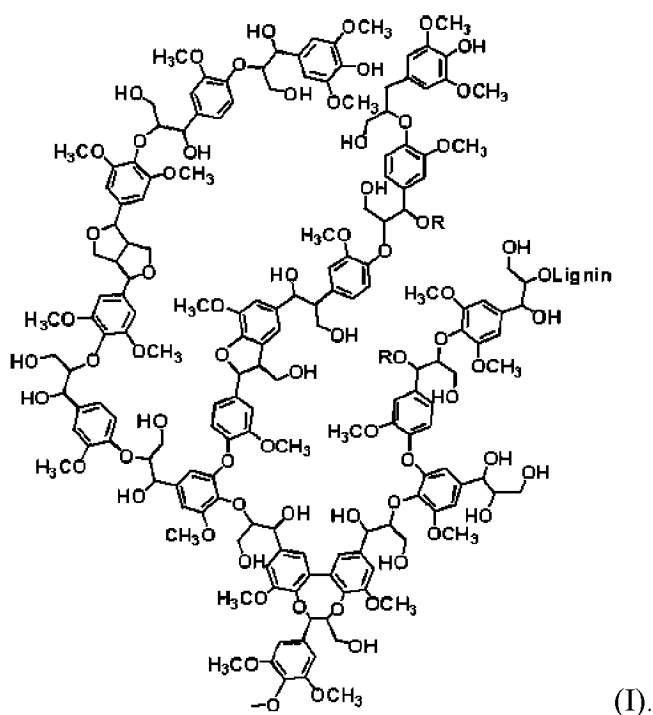
ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Таким образом, объектом изобретения является применение лигниновой фракции в качестве антипатогенного агента в пищевой добавке для человека и животных для предупреждения и лечения инфекций, вызываемых пищевыми патогенами, где указанная лигниновая фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу вплоть до 2500 дальтон по результатам измерений с использованием гель-проникающей хроматографии, причем указанные фрагменты содержат вплоть до 13 фенилпропановых звеньев на среднюю массу.

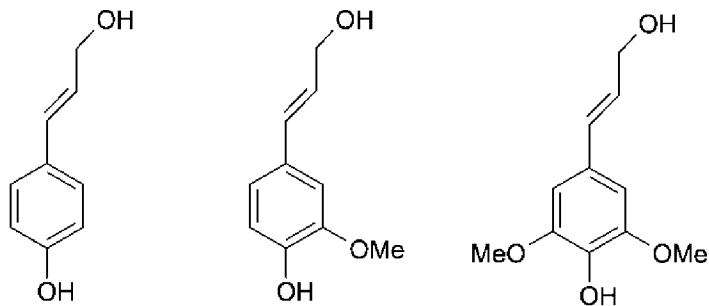
Лигнин относится к классу сложных органических полимеров, которые образуют важные структурные соединения в опорных тканях некоторых водорослей, сосудистых растений, включая их кору, и травянистых растений, таких как деревья (т.е. хвойные и

лиственные), в соломе всех зерновых культур, багассе сахарного тростника, траве, льне, джуте, конопле или хлопке. Имеется также минеральный источник лигнина, такой как торф, леонардит и уголь.

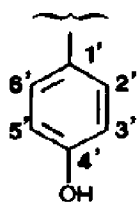
Лигнин, с точки зрения химической структуры, представляет собой очень нерегулярный полимер с перекрестно сшитыми случайным образом фенилпропановыми звеньями, соединенными большим числом различных связей, со средневесовой молекулярной массой 20000 дальтон или выше. Репрезентативный и иллюстративный фрагмент лигнина (I), содержащий наиболее важные виды связей, показан в данном описании ниже:



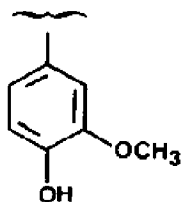
Указанный полимер представляет собой результат фермент-опосредованной дегидрогенизирующей полимеризации трех фенилпропаноидных мономеров-предшественников:



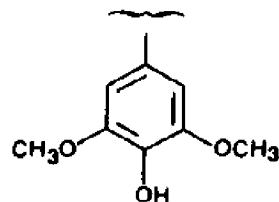
кумарилового спирта, кониферилового спирта, синапилового спирта, результатом чего является образование следующих группировок, соответственно:



дроксифенила (H),



гваяцила (G),



сирингила (S).

Кониферилловый спирт встречается у всех видов и является доминирующим мономером у хвойных (деревьев с мягкой древесиной). Лиственные (с твердой древесиной) виды содержат вплоть до 40% звеньев синапилового спирта, в то время как травы и сельскохозяйственные культуры могут содержать помимо этого звенья кумарилового спирта.

Лигнин можно подразделить на лигнины деревьев хвойных и лиственных пород в соответствии с их источниками необработанной биомассы. Источниками необработанной биомассы, которые могут подходить в качестве сырья для получения релевантной лигниновой фракции, являются: любой лигнин, включая по существу чистый лигнин, а также крафт-лигнин, происходящий из биомассы лигнин, лигнин, получаемый при щелочном способе варки целлюлозы, лигнин, получаемый при натронном способе варки целлюлозы, лигнин, получаемый при органосольвентном способе варки целлюлозы, и любая их комбинация.

Под выражением «по существу чистый лигнин» следует понимать по меньшей мере чистый на 90% лигнин из расчета на сухую необработанную биомассу, предпочтительно по меньшей мере чистый на 95% лигнин, при этом остальную часть составляют экстрагируемые вещества и углеводы, такие как гемицеллюлозы, а также неорганические вещества.

Под выражением «крафт-лигнин» следует понимать лигнин, который происходит из крафт-целлюлозного черного щелока. Черный щелок представляет собой щелочной водный раствор, содержащий остатки лигнина, гемицеллюлозу и неорганические химические реагенты, использованные в способе варки крафт-целлюлозы. Черный щелок, получаемый при варке целлюлозы, содержит компоненты, происходящие из разных видов хвойных и лиственных деревьев в различных соотношениях. Лигнин может быть выделен из черного щелока разными методами, включая, например, осаждение и фильтрование. Обычно лигнин начинает выпадать в осадок при значениях pH ниже 11-12. Для осаждения лигниновых фракций с разными свойствами можно использовать разные значения pH. Эти лигниновые фракции могут отличаться друг от друга молекулярно-массовым распределением, например, значениями средневесовой молекулярной массы (M_w) и

среднечисловой молекулярной массы (M_n), полидисперсностью, содержанием гемицеллюлозы и экстрагируемых веществ, содержанием неорганических соединений. Выпавший в осадок лигнин может быть очищен от неорганических примесей, гемицеллюлозы и экстрагируемых из древесины веществ с использованием стадий промывки кислотой. Дальнейшая очистка может быть осуществлена путем фильтрования.

Альтернативно, лигнин выделяют из чистой биомассы. Процесс выделения может начинаться с разжижения биомассы путем использования сильной щелочи с последующим проведением процесса нейтрализации. После щелочной обработки можно провести осаждение лигнина способом, аналогичным представленному выше.

Альтернативно, процесс выделения лигнина из биомассы включает стадию ферментативной обработки. В результате ферментативной обработки происходит модификация лигнина, подлежащего экстрагированию из биомассы. Лигнин, выделенный из чистой биомассы, по существу, не содержит серы (содержание серы меньше 3%) и ввиду этого является ценным продуктом для дальнейшей обработки.

Предпочтительно, чтобы лигнин, выделенный таким образом, также был подвергнут процессу деполимеризации с целью дополнительного уменьшения средневесовой молекулярной массы фрагментов.

Предпочтительно, чтобы лигнин, выделенный таким образом, также был подвергнут процессу деполимеризации с целью дополнительного уменьшения средневесовой и среднечисловой молекулярных масс фрагментов.

Подходящие способы деполимеризации включают катализируемую основаниями деполимеризацию, катализируемую кислотами деполимеризацию, катализируемую металлами деполимеризацию, деполимеризацию с использованием ионных жидкостей и деполимеризацию с использованием сверхкритических жидкостей.

В предпочтительных воплощениях для получения указанной лигниновой фракции используют катализируемую основаниями деполимеризацию.

Предпочтительно, указанную лигниновую фракцию получают, подвергая выделенный лигнин катализируемой основаниями деполимеризации при температуре ниже 300°C и давлении ниже 30 МПа.

Значение pH устанавливают в диапазоне от 11 до 14 посредством добавления основания, такого как NaOH, KOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, LiOH, K_2CO_3 или их смеси.

Для решения задач настоящего изобретения средневесовую молекулярную массу (M_w) фрагментов лигниновой фракции измеряют с использованием гель-проникающей хроматографии (или «SEC»). При проведении SEC в качестве неподвижной фазы

используют «застойную» жидкость, находящуюся в порах гранул, а в качестве подвижной фазы «текущую» жидкость. Ввиду этого подвижная фаза может перемещаться между гранулами, а также проникать в поры и выходить из пор в гранулах. Механизм разделения основан на размере молекул полимеров в растворе. Молекулы большего размера будут элюироваться первыми. Молекулам меньшего размера, которые могут проникать во многие поры в гранулах, требуется больше времени для прохождения через колонку, и поэтому они будут покидать колонку медленно. Чтобы определить молекулярные массы компонентов полимерного образца, необходимо выполнить калибровку с использованием стандартных полимеров известной молекулярной массы. Значения для неизвестного образца затем сравнивают с калибровочным графиком. Времена удерживания зависят от используемого материала колонки, элюента и от того, насколько используемые стандарты похожи на образцы. В настоящем изобретении элюент представляет собой предпочтительно 0,1 М раствор NaOH.

Лигниновая фракция по изобретению неожиданным и удивительным образом оказалась очень избирательной и эффективной против пищевых патогенов, одновременно не оказывая отрицательного действия на пробиотические микроорганизмы, как показано в приведенных ниже примерах.

Пищевыми патогенами являются грамположительные и грамотрицательные бактерии и грибки, такие как *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*.

Примерами пробиотических микроорганизмов являются *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Saccaromyces boulardii*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paracasei*, *Streptococcus thermophilus*.

Это означает, что применение лигниновой фракции по изобретению предпочтительно позволяет заменить лечение антибиотиками. Устойчивость к антибиотикам, определяемая как появление (и распространение) факторов устойчивости бактерий к антибиотикам, вызывается избирательным давлением, оказываемым на популяции микроорганизмов в результате чрезмерного и/или ненадлежащего применения антибиотиков. Лигниновая фракция, описанная в данной заявке, оказалась эффективной альтернативой антибиотикам для предупреждения и лечения устойчивых к антибиотикам инфекций.

Как будет видно из приведенных ниже примеров, лигниновая фракция по

настоящему изобретению позволяет предпочтительным и неожиданным образом улучшить общее состояние здоровья и самочувствие человека и животных, в особенности сельскохозяйственных животных, при одновременном повышении экономических показателей последних, а также улучшить качество получаемых от них молока и мяса.

Предпочтительно, чтобы указанная лигнинная фракция содержала фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу вплоть до 2000 дальтон.

В предпочтительных воплощениях указанная лигнинная фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу вплоть до 1500 дальтон.

В некоторых воплощениях указанная лигнинная фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу менее 150 дальтон.

В предпочтительных воплощениях указанная лигнинная фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу от 150 дальтон до 2500 дальтон, предпочтительно, имеющие средневесовую молекулярную массу от 250 дальтон до 2000 дальтон, более предпочтительно, имеющие средневесовую молекулярную массу от 500 дальтон до 1800 дальтон.

Предпочтительно, чтобы в этих воплощениях указанные фрагменты содержали вплоть до 12 фенилпропановых звеньев на среднюю массу, более предпочтительно, вплоть до 11 фенилпропановых звеньев на среднюю массу.

Молекулярная масса трех предшественников фенилпропаноидного мономера варьирует между 150 Да для кумарилового спирта, 180 Да для кониферилового спирта и 210 Да для синапилового спирта. Следовательно, значение средней молекулярной массы составляет 180 Да, и это значение использовано в качестве значения молекулярной массы «фенилпропанового звена». В результате деления значений M_w на 180 Да получают количества фенилпропановых звеньев на среднюю массу.

В частности, предпочтительными являются те воплощения, где указанная лигнинная фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу от 250 дальтон до 2000 дальтон и от 2 до 11 фенилпропановых звеньев на среднюю массу.

В других воплощениях лигнинная фракция содержит фрагменты, имеющие среднечисловую молекулярную массу (M_n) вплоть до 2000 дальтон.

Для задач настоящего изобретения среднечисловую молекулярную массу (M_n) фрагментов в лигнинной фракции измеряют с использованием гель-проникающей хроматографии. Предпочтительно, чтобы лигнинная фракция содержала фрагменты, имеющие среднечисловую молекулярную массу (M_n) вплоть до 1500 дальтон.

В предпочтительных воплощениях указанная лигнинная фракция содержит

фрагменты, имеющие среднечисловую молекулярную массу от 150 дальтон до 1000 дальтон.

Без связи с какой-либо теорией полагают, что более активные молекулы характеризуются более низкими значениями среднечисловой молекулярной массы. Это предположение выдвигается с учетом того, что более низкие значения молекулярной массы означают наличие более мелких фрагментов, а наличие более мелких фрагментов означает наличие перекрестно-сшитых в меньшей степени/более коротких фрагментов, а наличие перекрестно-сшитых в меньшей степени/более коротких фрагментов означает наличие у них большего количества свободных функциональных групп, следовательно большую реакционную способность фрагментов.

Кроме того, считается, что более мелкие молекулы могут легко проходить через клеточную мембрану патогенов и диффундировать в них, что значительно повышает общую эффективность лигниновой фракции.

Предпочтительно, чтобы в этих воплощениях указанные фрагменты содержали вплоть до 11 фенилпропановых звеньев на среднее число звеньев, более предпочтительно, вплоть до 8 фенилпропановых звеньев на среднее число звеньев.

Молекулярная масса трех предшественников фенилпропаноидного мономера варьирует между 150 Да для кумарилового спирта, 180 Да для кониферилового спирта и 210 Да для синапилового спирта. Следовательно, значение средней молекулярной массы составляет 180 Да, и это значение использовано в качестве значения молекулярной массы «фенилпропанового звена». В результате деления значений M_n на 180 получают усредненные по числу звеньев количества фенилпропановых звеньев.

В предпочтительных воплощениях указанная лигниновая фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу (M_w) от 150 дальтон до 2500 дальтон, и фрагменты, имеющие среднечисловую молекулярную массу (M_n) вплоть до 2000 дальтон.

Более предпочтительно, чтобы указанная лигниновая фракция содержала фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу (M_w) от 150 дальтон до 2500 дальтон и от 2 до 13 фенилпропановых звеньев на среднюю массу, и фрагменты, имеющие среднечисловую молекулярную массу (M_n) вплоть до 2000 дальтон и вплоть до 11 фенилпропановых звеньев на среднее число звеньев.

В следующих воплощениях лигниновая фракция имеет коэффициент полидисперсности (PDI) от 1,25 до 6.

Коэффициент полидисперсности (PDI), или коэффициент гетерогенности, или

просто степень дисперсности является мерой распределения по молекулярной массе в данном образце полимера. PDI представляет собой результат деления средневесовой молекулярной массы (M_w) на среднечисловую молекулярную массу (M_n). Он указывает на распределение молекул с индивидуальными значениями молекулярных масс в партии полимеров.

В частности, предпочтительными воплощениями являются такие, где указанная лигниновая фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу (M_w) от 150 дальтон до 2500 дальтон и от 2 до 13 фенилпропановых звеньев на среднюю массу, и где указанная лигниновая фракция имеет коэффициент полидисперсности от 1,25 до 6.

В частности, предпочтительными воплощениями также являются такие, где указанная лигниновая фракция содержит фрагменты, имеющие среднечисловую молекулярную массу (M_n) вплоть до 2000 дальтон и вплоть до 11 фенилпропановых звеньев на среднее число звеньев, и где указанная лигниновая фракция имеет коэффициент полидисперсности от 1,25 до 6.

Наиболее предпочтительными воплощениями являются также такие, где указанная лигниновая фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу (M_w) от 150 дальтон до 2500 дальтон и от 2 до 13 фенилпропановых звеньев на среднюю массу, а среднечисловую молекулярную массу (M_n) вплоть до 2000 дальтон и вплоть до 11 фенилпропановых звеньев на среднее число звеньев, и где указанная лигниновая фракция имеет коэффициент полидисперсности от 1,25 до 6.

В особенно предпочтительных воплощениях по настоящему изобретению указанная лигниновая фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу (M_w) от 800 дальтон до 1500 дальтон и 4-8 фенилпропановых звеньев на среднюю массу, а среднечисловую молекулярную массу (M_n) от 300 до 700 дальтон и 2-4 фенилпропановых звена на среднее число звеньев. В этих особенно предпочтительных воплощениях в указанной лигниновой фракции наиболее распространенными фенилпропановыми звеньями являются звенья, образованные из кониферилового спирта, в то время как менее распространенными звеньями являются фенилпропановые звенья, образованные из синапилового спирта.

Лигниновая фракция может быть в твердой или жидкой форме.

Когда лигниновая фракция находится в твердой форме, то указанная твердая форма может представлять собой таблетку, минитаблетку, микротаблетку, гранулу, микрогранулу, пеллет, форму в виде множества частиц, микронизированный аэрозоль или

порошок.

Когда лигниновая фракция находится в жидкой форме, то указанная жидкая форма представляет собой раствор в растворителе.

Подходящими растворителями являются вода, гликоли, спирты, полиспирты, органические кислоты и их комбинации.

Предпочтительными растворителями являются вода, метанол, этанол, *n*-пропанол, изопропанол, *n*-бутанол, изобутанол, аллиловый спирт, 1,2-пропиленгликоль, 1,3-пропиленгликоль, 1,2-этиленгликоль, полиэтиленгликоль (ПЭГ), глицерин, молочная кислота, полимолочная кислота и их смеси.

Более предпочтительными растворителями являются вода, 1,2-пропиленгликоль, 1,3-пропиленгликоль, 1,2-этиленгликоль, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и их смеси.

В наиболее предпочтительных воплощениях растворителем является вода.

Предпочтительно, когда лигниновая фракция находится в жидкой форме, тогда указанная жидкая форма имеет рН 8-11, более предпочтительно 9,5-10,5.

В предпочтительных воплощениях лигниновую фракцию используют в количестве вплоть до 10 кг на одну тонну корма для животных, более предпочтительно, 1-5 кг на одну тонну корма для животных.

Согласно дополнительному аспекту, настоящее изобретение также относится к пищевой добавке, содержащей лигниновую фракцию для описанного выше применения и подходящие пищевые носители.

Указанная пищевая добавка может быть в твердой или жидкой форме.

Когда пищевая добавка находится в твердой форме, то указанная твердая форма может представлять собой таблетку, минитаблетку, микротаблетку, гранулу, микрогранулу, пеллет, форму в виде множества частиц, микронизированный аэрозоль или порошок.

Когда пищевая добавка находится в твердой форме, то указанная твердая форма содержит вплоть до 99 масс.% лигниновой фракции, предпочтительно, 5-90 масс.% лигниновой фракции.

Когда пищевая добавка находится в жидкой форме, то указанная жидкая форма может представлять собой раствор, эмульсию, дисперсию, суспензию, гель, капли или спрей.

Когда пищевая добавка находится в жидкой форме, то указанная жидкая форма содержит вплоть до 50 масс.% лигниновой фракции, предпочтительно, 0,1-25 масс.% лигниновой фракции. Это означает, что композиция представляет собой концентрат,

который может быть подходящим образом разбавлен в воде или, при желании, смешан с кормом для животных непосредственно перед применением.

Подходящими носителями являются подкисляющие агенты, регулирующие кислотность агенты, противоагломераты, антиоксиданты, наполнители, придающие устойчивость агенты, гелеобразующие агенты, покрывающие агенты, модифицированные крахмалы, секвестранты, загустители, подсластители, разбавители, растворители, дезагрегирующие агенты, глиданты, красители, связующие вещества, смазывающие вещества, стабилизаторы, адсорбенты, консерванты, увлажняющие агенты, ароматизаторы, пленкообразующие вещества, эмульгаторы, увлажняющие агенты, антиадгезивы и их смеси.

В предпочтительных воплощениях пищевая добавка дополнительно содержит лигниную фракцию, содержащую фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу 3500-5500 дальтон по результатам измерений с использованием гель-проникающей хроматографии, где указанные фрагменты содержат вплоть до 40 фенилпропановых звеньев на среднюю массу. Предпочтительно, чтобы пищевая добавка дополнительно включала в себя лигниную фракцию, содержащую фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу 4000-5000 дальтон по результатам измерений с использованием гель-проникающей хроматографии, где указанные фрагменты содержат вплоть до 35 фенилпропановых звеньев на среднюю массу.

В других предпочтительных воплощениях пищевая добавка дополнительно содержит по меньшей мере одну смоляную кислоту. Предпочтительно, указанная смоляная кислота представляет собой абиетиновую кислоту, дегидроабиетиновую кислоту, палюстровую кислоту, неоабиетиновую кислоту, пимаровую кислоту, изопимаровую кислоту, сандракопимаровую кислоту или их сложный эфир, или их простой эфир, или их соль с щелочным либо щелочноземельным металлом, или их смесь.

Предпочтительно, пищевая добавка содержит вплоть до 10 масс.% указанной по меньшей мере одной смоляной кислоты, более предпочтительно вплоть до 7 масс.% из расчета на массу пищевой добавки.

Смоляные кислоты присутствуют в хвойных деревьях, и существует три основных вида продуктов на основе смоляных кислот, а именно, канифоль таллового масла (TOR), экстракционная канифоль и живичная канифоль. TOR представляет собой фракцию смоляной кислоты, выделенную посредством вакуумной перегонки из неочищенного таллового масла (СТО), которое получают в ходе варки целлюлозы. СТО получают посредством подкисления неочищенного мыла таллового масла или неочищенного

сульфатного мыла (TOS). TOS отделяют от варочной жидкости, часто называемой черным ликером, на целлюлозном заводе во время процесса варки целлюлозы. Экстракционная канифоль представляет собой фракцию, выделяемую путем перегонки с водяным паром или другими способами из сухостойных деревьев, пней, сучьев и т.д., а живичная канифоль представляет собой фракцию смолы, которая получена путем перегонки с водяным паром или выделена другими способами из смолы, собранной из живого дерева методом, часто называемым подсачиванием.

Вещества, содержащие смоляные кислоты и полученные вакуумной перегонкой из неочищенного таллового масла, включают дистиллированное талловое масло (DTO), жирную кислоту таллового масла (TOFA) и талловый пек (TOR). DTO содержит 10-40% смоляных кислот. Обычно СТО содержит 15-70% смоляных кислот, и как правило самые низкие содержания смоляных кислот как правило получают при варке целлюлозы из древесины смешанных пород.

Следует понимать, что термин «канифоль таллового масла» или «TOR» относится к композиции, полученной путем перегонки неочищенного таллового масла и дальнейшей очистки перегнанного таллового масла. Обычно TOR содержит 60-99% (масс./масс.) смоляных кислот.

Следует понимать, что термин «экстракционная канифоль» относится к композиции, полученной путем перегонки или другими способами из сухостойных деревьев, пней, сучьев и так далее. Обычно экстракционная канифоль содержит 50-99% (масс./масс.) смоляных кислот.

Следует понимать, что термин «живичная канифоль» относится к композиции, полученной путем перегонки или выделенной другими способами из смолы, собранной из живого дерева. Обычно живичная канифоль содержит 50-99% (масс./масс.) смоляных кислот.

Следует понимать, что термин «дистиллированное талловое масло» или «DTO» относится к композиции, полученной путем перегонки неочищенного таллового масла и дальнейшей очистки перегнанного таллового масла. Обычно DTO содержит 10-60% (масс./масс.) смоляных кислот.

Композиция на основе смоляных кислот, такая как TOR, экстракционная канифоль, живичная канифоль, СТО, TOS и DTO, также может быть приготовлена путем смешивания одной или нескольких композиций на основе смоляных кислот с одной или несколькими композициями на основе жирных кислот в форме масел или жиров. Получаемыми производными смоляных кислот являются, например, сложные эфиры,

простые эфиры или соли щелочных металлов.

Известно, что смоляные кислоты проявляют многочисленные свойства, такие как антибактериальные, противовоспалительные, антиоксидантные и свойства, препятствующие образованию бактериальных биопленок. Однако смоляные кислоты нестабильны во времени, особенно в твердых формах, поскольку они подвергаются окислению, спонтанному самовоспламенению и слёживанию.

Неожиданно обнаружено, что, когда указанную по меньшей мере одну смоляную кислоту смешивают с лигниновой фракцией по изобретению, то полученная смесь, будучи либо в твердой, либо в жидкой форме, оказывается очень стабильной во времени и не подвергается окислению, благодаря этому можно в полной мере использовать преимущества, обусловленные свойствами смоляных кислот. Это означает, что в полученной пищевой добавке, содержащей лигниновую фракцию по изобретению, не только смоляные кислоты предохраняются от разложения, но также наблюдается синергетический противовоспалительный эффект, обусловленный наличием лигниновой фракции и смоляных кислот.

Кроме того, пищевая добавка также может содержать по меньшей мере одну соль щелочного или щелочноземельного металла и (C₁₂-C₂₄)-жирной кислоты, по меньшей мере одно жирное масло или их смесь. Присутствие этих жирного масла или соли дают возможность лучше сольюбилизировать смоляные кислоты, когда предпочтительна жидкая форма пищевой добавки.

Предпочтительно, чтобы указанная соль щелочного или щелочноземельного металла представляла собой соль лития, натрия, калия, магния, кальция или их смесь.

Предпочтительно, чтобы указанной (C₁₂-C₂₄)-жирной кислотой являлась лауриновая кислота (C₁₂), тридекановая кислота (C₁₃), миристиновая кислота (C₁₄), пентадекановая кислота (C₁₅), пальмитиновая кислота (C₁₆), маргариновая кислота (C₁₇), стеариновая кислота (C₁₈), олеиновая кислота (C_{18:1}), линолевая кислота (C_{18:2}), α-линоленовая кислота (C_{18:3}), γ-линоленовая кислота (C_{18:3}), нонадекановая кислота (C₁₉), арахидиновая кислота (C₂₀), генэйкозановая кислота (C₂₁), бегеновая кислота (C₂₂), трикозановая кислота (C₂₃), лигноцериновая кислота (C₂₄), стеаридоновая кислота (C_{18:4}), эйкозапентаеновая кислота (C_{20:5}), докозагексаеновая кислота (C_{22:6}), дигомо-γ-линоленовая кислота (C_{20:3}), арахидоновая кислота (C_{20:4}), адреновая кислота (C_{22:4}), пальмитинолеиновая кислота (C_{16:1}), вакценовая кислота (C_{18:1}), полиновая кислота (C_{20:1}), элаидиновая кислота (C-*транс*-18:1), гондоиновая кислота (C_{20:1}), эруковая кислота (C_{22:1}), нервоновая кислота (C_{24:1}), мидовая кислота (20:3) или их смесь.

В предпочтительных воплощениях указанная по меньшей мере одна соль щелочного или щелочноземельного металла и (C_{12} - C_{24})-жирной кислоты представляет собой пальмитат кальция, лаурат кальция, олеат кальция, кальциевое мыло из пальмового масла или их смесь.

Предпочтительно, чтобы указанное по меньшей мере одно жирное масло представляло собой конопляное масло, каноловое масло, подсолнечное масло, оливковое масло, кукурузное масло, пальмовое масло, кокосовое масло, сосновое масло, хлопковое масло, масло ростков пшеницы, соевое масло, сафлоровое масло, льняное масло, тунговое масло, касторовое масло, масло соевых бобов, арахисовое масло, рапсовое масло, масло кунжутного семени, масло из проростков риса, рыбий жир, китовый жир, жир морских животных или их смесь.

Предпочтительно, чтобы пищевая добавка содержала указанную по меньшей мере одну соль щелочного или щелочноземельного металла и (C_{12} - C_{24})-жирной кислоты, по меньшей мере одно жирное масло или их смесь в количестве 1-100 кг на одну тонну пищевой добавки.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных с целью улучшения качества и срока хранения мяса, получаемого от сельскохозяйственных животных. В частности, настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения качества и срока хранения мяса, получаемого от сельскохозяйственных животных.

В настоящем изобретении подразумевается, что термин «сельскохозяйственные животные» включает как жвачных, так и нежвачных животных. Жвачные животные представляют собой травоядных млекопитающих с четырехкамерным желудком, которые переваривают в иных случаях неперевариваемое растительное вещество путем ферментации его в этом сложном желудке и которые жуют жвачку (они отрыгивают комочки наполовину переваренного растительного вещества и повторно его жуют, чтобы измельчить перед тем, как проглотить опять). К ним относятся коровы, овцы, козы, олени, антилопы, жирафы и верблюды, а также их близкие родственники, такие как зубры, овцебыки, окапи и ламы. Нежвачными животными, в том числе псевдожвачными животными, являются свиньи, лошади, куры, кролики, индейки, утки, гуси, перепела, фазаны, куропатки, а также рыбы и моллюски. Это означает, что пищевую добавку по изобретению можно с пользой использовать также и для кормления рыб и моллюсков, т.е.

в аквакультуре.

Неожиданным образом было обнаружено, что мясо сельскохозяйственных животных, в корм которых вводили пищевую добавку по изобретению, оказывалось превосходного качества, поскольку естественная тенденция мяса к утрате со временем красной и желтой окраски неожиданно и существенно ослабевала, при одновременном резком увеличении срока хранения и свежести мяса, т.е. даже до 7 суток и более. Без связи с какой-либо теорией полагают, что высокоэффективные антиоксидантные свойства лигниновой фракции по изобретению позволяют препятствовать процессу окисления на поверхности мяса, противодействуя ввиду этого изменениям окраски и позволяя сохранить свежесть и пищевые качества мяса в течение более длительных периодов времени в дополнение к указанным выше антипатогенным свойствам.

Цвет представляет собой важный фактор, который обычно используется как показатель качества в мясной промышленности и научных исследованиях, касающихся мяса. Сообщалось, что цвет представляет собой один из наиболее важных атрибутов качества мяса и оказывает существенное влияние на решение о покупке, поскольку потребители расценивают изменение цвета как признак отсутствия свежести и качественного состояния мяса. Хотя воспринимаемое потребителями качество не обязательно совпадает с качеством в объективном понимании, в любом случае это может привести к значительным экономическим потерям на рынке свежего мяса. Цвет также важен с экономической точки зрения, указывая на качество для потребителей, предпочитающих покупать мясо красного, а не коричневого цвета, поскольку промышленность теряет деньги в случае нежелательного цвета мяса. Как продемонстрировано в приведенных ниже примерах, пищевая добавка по изобретению позволяет сохранять весьма удовлетворительные уровни красной и желтой окраски свежего мяса в течение продолжительных периодов времени.

Согласно следующему аспекту настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении самок сельскохозяйственных животных с целью улучшения надоев и качества молока, получаемого от самок сельскохозяйственных животных. В частности, настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении самок сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения надоя и качества молока, получаемого от самок сельскохозяйственных животных.

Неожиданным образом было обнаружено, что самки сельскохозяйственных животных, в корм которых вводили пищевую добавку по изобретению, давали молоко

превосходного качества и в большем количестве в сутки, как показано в приведенных далее примерах. Фактически, эффект от введения пищевой добавки в корм дающих молоко коров очевиден, с точки зрения отдельных результатов и временных рамок, и основан на следующих наблюдениях относительно количества и качества производимого молока:

- на увеличении концентрации общих полифенолов в молоке;
- на увеличении ежесуточного надоя молока в расчете на одного животного;
- на уменьшении, в острой фазе, числа соматических клеток;
- на увеличении абсорбционной способности в отношении свободных радикалов (TEAC).

Приведенные выше результаты очень важны, при этом максимальное значение концентрации общих полифенолов составляет примерно 250%, увеличение общего производства молока составляет +20,8%, снижение числа соматических клеток составляет -31%, и увеличение TEAC составляет +33%.

Следует также отметить, что эти характеристики обозначают особую синхронизацию, концентрируя точки максимума в районе 15-17-х суток обработки.

Также отмечено, что применение добавки по изобретению создало условия для пролонгирования ее преимуществ в течение по меньшей мере 2 недель после прекращения применения. Благоприятный эффект начинал уменьшаться примерно через 20 суток, что подтверждалось повторным увеличением числа соматических клеток в молоке.

Типичное коровье молоко содержит только следы полифенолов, поэтому следует оценить, что неожиданным образом молоко, полученное от коров, в корм которых добавляли пищевую добавку по изобретению, содержит полифенолы в концентрации до 460 мг/л. Учитывая, что потребность человека в полифенолах составляет 820 мг/сутки, а потребление молока человеком в среднем составляет 250 мл/сутки, вклад полифенолов, который дает молоко по изобретению, составляет 114 мг; в то время как обычно, как уже указано, он близок к нулю.

Согласно дополнительному аспекту настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных с целью улучшения фертильности сельскохозяйственных животных. В частности, настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения фертильности сельскохозяйственных животных.

Неожиданным образом было обнаружено, что сельскохозяйственные животные, в

корм которых вводили пищевую добавку по изобретению, продемонстрировали значительное улучшение коэффициента фертильности, как в случае самцов, так и в случае самок сельскохозяйственных животных.

В частности, в случае самок сельскохозяйственных животных, таких как коровы, фертильность увеличилась в плане зачатия после осеменения (по меньшей мере на +15%) и продолжительности периода репродуктивности, между тем как в случае самцов сельскохозяйственных животных, таких как быки и буйволы, фертильность увеличилась в плане качества спермы, параметров репродуктивности и продолжительности периода репродуктивности.

Согласно следующему аспекту настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных с целью снижения выделения метана без нарушения эффективности пищеварения или руминации. В частности, настоящее изобретение относится к пищевой добавке для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для снижения выделения метана без нарушения эффективности пищеварения или руминации.

Выделение парникового газа метана сельскохозяйственными животными является более сильным, чем считалось ранее, что создает дополнительную проблему в борьбе с глобальным потеплением. Пересмотренные расчеты количества метана, выделяемого из расчета на одну голову крупного рогатого скота, показывают, что общее выделение сельскохозяйственными животными в 2011 году было на 11% больше, чем по оценкам, основанным на данных Межправительственной группы экспертов ООН по изменению климата (IPCC). Помимо природных источников, таких как торфяники, заболоченная местность и термиты, приблизительно две трети от общего количества метана образуется в результате деятельности людей двумя путями: посредством утечки газа без запаха и цвета во время добычи и транспортировки угля, нефти и особенно природного газа; и примерно в равной степени в результате отрыжки или изрыгания жвачными животными, такими как коровы и овцы, а также в результате разложения органических отходов, особенно на свалках. По данным IPCC на долю метана в 2015 году приходилось примерно 16% от общего выделения парниковых газов. Метан как парниковый газ является гораздо более сильнодействующим, чем CO_2 , улавливая большую часть солнечного излучения, но он сохраняется в атмосфере в течение более короткого промежутка времени. С учетом этого ученые полагают, что через 100-летний период у этого газа «потенциал в плане глобального потепления» будет в 28 раз выше, чем у углекислого газа. Было отмечено, что

выделение метана сельскохозяйственными животными более резко возросло в быстро развивающихся регионах Азии, Латинской Америки и Африки. В отличие от этого в США и Канаде рост резко замедлился.

Ввиду этого очень высоко оценивается возможность снижения общего выделения метана жвачными сельскохозяйственными животными, и одновременно очень неожиданным оказался тот факт, что применение лигниновой фракции по изобретению позволяет достичь этой цели без нарушения эффективности пищеварения или руминации, как продемонстрировано в приведенных ниже примерах.

Предпочтительно, пищевую добавку вводят жвачным животным в ежесуточной дозировке, содержащей вплоть до 100 г лигниновой фракции по изобретению, более предпочтительно 20-80 г лигниновой фракции.

Следует также понимать, что все сочетания предпочтительных аспектов использования лигниновой фракции по изобретению, а также пищевой добавки и их применений, которые указаны выше, должны рассматриваться так, как описано в данной заявке.

Все сочетания предпочтительных аспектов использования лигниновой фракции по изобретению, пищевой добавки и соответствующие применения, изложенные выше, следует понимать так, как описано в данной заявке.

Ниже в иллюстративных целях приведены рабочие примеры по настоящему изобретению.

ПРИМЕРЫ

Значения M_w и M_n в этих примерах измерены с использованием гель-проникающей хроматографии согласно приведенной далее методике.

Реагенты и материалы

- Элюент: 0,1 М раствор NaOH, скорость потока 0,5 мл/мин.
- Калибровка для детектора коэффициента отражения (RI): стандарты пуллулана, M_p : 100000-1080 (шесть стандартов), где M_p представляет собой молекулярную массу, соответствующую максимуму пика.

- Калибровка для ультрафиолетового (УФ) детектора (280 нм): стандарты PSS (натриевая соль полистиролсульфоната), M_p 65400-891 (шесть стандартов). Стандарты растворяют в воде особой чистоты, концентрация должна составлять приблизительно 5 мг/мл. Вводимый объем составляет 20 мкл.

- Образцы контроля качества: используют лигнин с известным M_w -распределением.

Оборудование и приборы

- Автосэмплер Ultimate 3000 от Dionex, колоночный модуль и насос.
- Диодно-матричный детектор Ultimate 3000 от Dionex.
- Детектор коэффициента отражения: Shodex RI-101.
- Колонки: колонки PSS MCX: предколонка и две аналитические колонки: 1000 Å (0,1 мкм) и 100000 Å (10 мкм), материал колонки представляет собой матрицу сульфонированного сополимера дивинилбензола.
- Шприц-фильтры (0,45 мкм) и стеклянные флаконы для стандартных (STD) образцов. Фильтрация образцов:

бесшприцевое фильтровальное устройство Mini-Uniprep с фильтрами из политетрафторэтилена (PTFE) и нейлона (0,45 мкм). Для предварительной фильтрации - шприц-фильтр (5 мкм), при необходимости.

- Мерные колбы.

Методика

- Приготовление элюента

В идеале вода, используемая для приготовления элюентов, должна представлять собой деионизованную воду высокого качества с высоким удельным сопротивлением (18 МΩ·см или лучше), содержащую как можно меньше растворенного углекислого газа. Вода не должна содержать загрязнений биологической природы (например, бактерий и плесневых грибов) и твердых частиц.

- Промывка иглы смесью 10% MeOH-вода.
- Жидкие образцы

Жидкие образцы в сильной щелочи разбавляют в отношении 1:100 и фильтруют с использованием шприц-фильтров из PTFE (0,45 мкм) во флаконы. Твердые образцы лигнина растворяют, разбавляют в 0,1 М растворе NaOH и фильтруют с использованием шприц-фильтров из PTFE (0,45 мкм). Готовые образцы загружают в автосэмплер. Вводимый объем составляет 20 мкл. После проведения анализа образцов, для очистки колонки в нее вводят 1 М раствор NaOH таким же образом, как и образец.

Параметры прибора

- Скорость потока 0,5 мл/мин
- Элюент 0,1 М раствор NaOH
- Температура термостата для колонок 30°C
- Изократический режим
- Время хроматографирования 48 минут
- Твердые образцы

Твердые образцы (лигнин) сушат в течение ночи в сушильном шкафу при 60°C, при необходимости. В мерную колбу емкостью 10 мл отвешивают приблизительно 10 мг образца. Образец растворяют и разбавляют в 0,1 М растворе NaOH и объем доводят до риски. Образец фильтруют через фильтры из PTFE (0,45 мкм). Если образец не растворяется должным образом, его можно поместить в ультразвуковую водяную баню или можно отфильтровать с использованием шприц-фильтра (5 мкм).

- Стандартные образцы для калибровки

В мерную колбу емкостью 10 мл отвешивают приблизительно по 50 мг каждого стандарта, добавляют воду особой чистоты и объем доводят до риски. Стандарты фильтруют, используя шприц-фильтры из PTFE (0,45 мкм). После пропускания калибровочных образцов результаты калибровки объединяют, обрабатывают и сохраняют. Калибровочная кривая представляет собой линейную калибровку 1-го порядка.

- Образцы контроля качества

Что касается образцов лигнина, то в качестве образца контроля качества используют лигнин с известным M_w -распределением. Лигнин растворяют в 0,1 М растворе NaOH, и его концентрация составляет приблизительно 1 мг/мл.

ПРИМЕР 1

Органосольвентный лигнин, полученный из древесины бука (*Fagus sylvatica*), подвергали катализируемой основанием деполимеризации («BCD»). Процесс BCD осуществляют при 280°C и 250 бар (25 МПа) в течение 8 минут при pH 12-14. Полученный лигниновый продукт состоял из жидкой фракции и твердой фракции.

Затем эти фракции разделяли.

Жидкая лигниновая фракция представляла собой масло и имела следующие характеристики:

Отдельный вид: *Fagus sylvatica*

M_w 100-300 Да (1-2 фенилпропановых звена)

фенолы	0%
гваяколы	15-20%
сиринголы	50-60%
катехолы и метоксикатехолы	5-10%
олигомеры/неизвестные соединения	15-30%

Твердая лигниновая фракция имела следующие характеристики:

Отдельный вид: *Fagus sylvatica*

M_w 800-1500 Да (4-8 фенилпропановых звеньев)

M_n 300-700 Да (2-4 фенилпропановых звена)

Природа ОН-групп:

алифатические соединения	0,2-0,4 ммоль/г
карбоновые кислоты	0,3-0,5 ммоль/г
конденсированные соединения и сиринголы	1,0-2,0 ммоль/г
гваяколы	0,4 ммоль/г
катехолы и ОН-группы <i>n</i> -фенолов	1,0-1,8 ммоль/г

Пример 1a

50 г масляной лигниновой фракции (5% масс./масс.), описанной выше, смешивали с 950 г 1,3-пропиленгликоля и нагревали при 40-50°C.

Смесь охлаждали до комнатной температуры, получая в результате этого вязкий раствор (кратко обозначаемый как «LMW12»).

Пример 1b

100 г твердой лигниновой фракции (10% масс./масс.), описанной выше, смешивали в горячем состоянии с 800 г 1,3-пропиленгликоля и 100 г NH_4OH (с 30%-ным раствором).

Смесь охлаждали до комнатной температуры и затем фильтровали, получая в результате этого черный раствор (кратко обозначаемый как «LMW11»).

Пример 1c

100 г твердой лигниновой фракции (10% масс./масс.), описанной выше, смешивали в горячем состоянии с 835 г 1,3-пропиленгликоля и 65 г KOH (с 20%-ным раствором).

Смесь охлаждали до комнатной температуры и затем фильтровали, получая в результате этого черный раствор (кратко обозначаемый как «LMW10»).

ПРИМЕР 2

Приведенную ниже лигниновую фракцию экстрагировали из крафт-целлюлозного черного щелока, при этом указанная лигниновая фракция имела следующие далее характеристики.

Общее содержание твердых веществ > 95%

Отдельный вид: сосна южная

M_w 4400-5000 Да (24-28 фенилпропановых звеньев)

M_n 1200-1300 Да (6-7 фенилпропановых звеньев)

Природа ОН-групп:

алифатические соединения	2,1 ммоль/г
--------------------------	-------------

карбоновые кислоты	0,5 ммоль/г
конденсированные соединения и сингголы	1,7 ммоль/г
гваяколы	2,0 ммоль/г
катехолы и ОН-группы <i>n</i> -фенолов	4,0 ммоль/г

Пример 2а

100 г лигниновой фракции (10% масс./масс.), описанной выше, смешивали в горячем состоянии с 840 г 1,3-пропиленгликоля и 60 г NH₄OH (с 30%-ным раствором).

Смесь охлаждали до комнатной температуры и затем фильтровали, получая в результате этого черный раствор (кратко обозначаемый как «OX11»).

Пример 2b

100 г лигниновой фракции (10% масс./масс.), описанной выше, смешивали в горячем состоянии с 840 г 1,3-пропиленгликоля и 60 г NaOH (с 30%-ным раствором).

Смесь охлаждали до комнатной температуры и затем фильтровали, получая в результате этого черный раствор (кратко обозначаемый как «OX10»).

ПРИМЕР 3

Антимикробную активность продуктов из примера 1 оценивали с использованием *in vitro* теста на чувствительность к антимикробным препаратам методом микроразведений в бульоне (протокол CLSI - Института клинических и лабораторных стандартов). Минимальные ингибирующие концентрации (MIC) 4-х продуктов (бланк, LMW 12, LMW 11, LMW 10) определяли в многолуночных планшетах, при этом бланк представляет собой один только 1,3-пропиленгликоль.

Антимикробную активность продуктов тестировали на микроорганизмах (бактериях и грибах), перечисленных ниже.

Специфическая скрининговая биопроверка

Бактерии

- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella enteritidis*
- *Campylobacter jejuni*

Грибки

- *Candida albicans*

Результаты

Соединения тестировали как таковые и после подведения pH до 7 и 8.

Все тесты проводили в трех повторах, получая очень похожие результаты ингибирования.

Эти результаты суммированы в приведенных ниже таблицах.

Минимальная концентрация (мкг/мл) лигниновой фракции для каждого продукта, при которой подавляется рост бактерий					
	<i>E. coli</i>	<i>S. enterditiis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. jejuni</i>
Бланк	6,25	6,25	12,5	3,12	н.а.
Бланк pH 7	18,7	18,7	6,25	18,7	н.а.
Бланк pH 8	12,5	12,5*	12,5	12,5	12,5
LMW12	0,19	2,34	0,29	0,29	25
LMW12 pH 7	2,34	1,17	0,09	0,78	25
LMW12 pH 8	0,78	0,78	0,09	0,19	12,5
LMW11	0,19	0,048	0,09	0,19	0,39
LMW11 pH 7	2,34	2,34	1,56	0,09	0,39
LMW11 pH 8	3,12	1,56	0,39	0,19	0,78
LMW10	0,59	0,19	0,15	0,19	0,19
LMW10 pH 7	0,59	0,19	0,15	0,19	0,19
LMW10 pH 8	0,78	1,56	0,09	0,09	0,78

н.а. означает «данные отсутствуют».

Минимальная концентрация (мкг/мл) лигниновой фракции для каждого продукта, при которой подавляется рост грибка	
	<i>C. albicans</i>
Бланк	12,5
Бланк pH 7	18,7
Бланк pH 8	12,5
LMW12	1,56
LMW12 pH 7	2,34
LMW12 pH 8	1,56
LMW11	1,56
LMW11 pH 7	2,34
LMW11 pH 8	1,56
LMW10	4,69
LMW10 pH 7	4,69

LMW10 pH 8	1,56
------------	------

ПРИМЕР 4. Определение минимальной ингибирующей концентрации

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИС) лигниновой фракции из примера 1b оценивали в отношении 5 пробиотических микроорганизмов с использованием теста *in vitro* на чувствительность к антимикробным препаратам методом микроразведений в бульоне (протокол CLSI - Института клинических и лабораторных стандартов).

Использовали следующие микроорганизмы: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* и *Saccaromyces boulardii*.

Для всех тестов готовили положительный контроль в отношении антимикробной активности, используя цефтриаксон (для бактерий) или флуконазол (для дрожжей). Результаты суммированы в приведенных ниже таблицах. Образцы разбавляли и для разных разведений проводили оценку роста (+) и ингибирования роста (-). В серой ячейке представлена минимальная концентрация, при которой наблюдается ингибирование роста (МИС).

Lactobacillus plantarum:

МИС, % (об./об.)															
25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	0,098	0,048	0,024	0,012	0,006	0,003	0,0015	0,00075
-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

где 0,78% (об./об.) соответствует 780 мкг/мл;

Lactobacillus rhamnosus:

МИС, % (об./об.)															
25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	0,098	0,048	0,024	0,012	0,006	0,003	0,0015	0,00075
-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

где 0,78% (об./об.) соответствует 780 мкг/мл;

Lactobacillus acidophilus:

МИС, % (об./об.)															
25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	0,098	0,048	0,024	0,012	0,006	0,003	0,0015	0,00075
-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

где 0,78% (об./об.) соответствует 780 мкг/мл;

Enterococcus faecium:

МИС, % (об./об.)															
25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	0,098	0,048	0,024	0,012	0,006	0,003	0,0015	0,00075
-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

где 6,25% (об./об.) соответствует 6250 мкг/мл;

Saccaromyces boulardii:

МИС, % (об./об.)															
25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	0,098	0,048	0,024	0,012	0,006	0,003	0,0015	0,00075
-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

где 25% (об./об.) соответствует 25000 мкг/мл.

На основании приведенного выше ясно, что лигниновая фракция по изобретению не оказывает отрицательного воздействия на пробиотические микроорганизмы.

ПРИМЕР 5. Определение пробиотической активности

Лигниновая фракция из примера 1b также проявляла пробиотическую активность в отношении *E. faecium*.

Тестирование пробиотической активности лигниновой фракции из примера 1b проводили для концентраций ниже соответствующего значения МИС, полученного в отношении пробиотических бактерий *E. faecium*.

Концентрации лигниновой фракции, использованные для пробиотического теста:

лигниновая фракция из примера 1b (г/л) - <i>E. faecium</i>					
3,7	2,5	1,9	1,25	0,9	0,62

Количественную оценку пробиотической активности (пробиотического индекса) проводили с использованием уравнения, по которому сравнивали рост пробиотических и энтеробактерий (*E. coli*, *S. typhimurium*) в присутствии лигниновой фракции из примера 1b.

Пробиотический индекс рассчитывали так, как приведено ниже:

Пробиотический индекс =

$$\left[\left(\frac{\text{пробиотические } \left(lg_{\text{мл}}^{\text{к.о.е}} \right) \text{ на пребиотиках на 24 ч} - \text{пробиотические } \left(lg_{\text{мл}}^{\text{к.о.е}} \right) \text{ на пребиотиках на 0 ч}}{\text{пробиотические } \left(lg_{\text{мл}}^{\text{к.о.е}} \right) \text{ на глюкозе на 24 ч} - \text{пробиотические } \left(lg_{\text{мл}}^{\text{к.о.е}} \right) \text{ на глюкозе на 0 ч}} \right) \right] -$$

$$\left[\left(\frac{\text{энтеро } \left(lg_{\text{мл}}^{\text{к.о.е}} \right) \text{ на пребиотиках на 24 ч} - \text{энтеро } \left(lg_{\text{мл}}^{\text{к.о.е}} \right) \text{ на пребиотиках на 0 ч}}{\text{энтеро } \left(lg_{\text{мл}}^{\text{к.о.е}} \right) \text{ на глюкозе на 24 ч} - \text{энтеро } \left(lg_{\text{мл}}^{\text{к.о.е}} \right) \text{ на глюкозе на 0 ч}} \right) \right],$$

где первый член указывает на рост пробиотических бактерий, в то время как второй член указывает на рост энтеробактерий; при этом КОЕ означает «колониеобразующие единицы».

Пробиотическое соединение способно избирательно усиливать рост конкретных пробиотических бактерий в отличие от энтеробактерий, которые не используют данное соединение для улучшения роста, поэтому значение пробиотического индекса выше 0 указывает на пробиотическую активность.

Результаты по пробиотической активности (в качестве энтеробактерии

использовали *S. thyphimurium*):

<i>E. faecium</i>			
Лигниновая фракция из примера 1b (г/л)	1,9	1,25	0,9
Пребиотический индекс	2,2	0,4	0,3

ПРИМЕР 6. Применение лигниновой фракции для кормления крупного рогатого скота

План эксперимента, обращение с животными, отбор образцов мяса и анализ

Испытание проводили на 40 самцах крупного рогатого скота, случайным образом поделенных на 2 группы, одну как контрольную группу и одну как экспериментальную группу. Для обеих групп использовали корм с одним и тем же кормовым коэффициентом, состоящий из промышленного корма (из расчета 2% от живого веса) в смеси с сеном без ограничения. Перед началом испытания всех животных взвешивали и в соответствии с их живым весом подразделяли на две группы, чтобы получить одинаковый средний живой вес в начале испытания. Испытание длится 120 суток, через 120 суток проводили забой животных. Экспериментальной группе в отличие от контрольной группы один раз в сутки давали лигниновую фракцию из примера 1b в количестве 35 г на одно животное в первые 90 суток и 70 г на одно животное в следующие 30 суток.

Всех животных ежемесячно взвешивали чтобы оценить конечный живой вес, ежемесячный прирост веса и коэффициент конверсии корма. Кроме того, во время испытания также отбирали образцы крови для оценки числа клеток крови и биохимического профиля.

Животных перевозили и забивали на скотобойне, одобренной Европейским сообществом, в соответствии с законами Европейского сообщества о благополучии животных во время транспортировки (1/2005EC) и постановлением Европейского сообщества о защите коммерческих животных во время забоя (1099/2009EC). Незамедлительно после забоя туши хранили при 4°C в течение 24 ч. После этого отбирали образцы мышцы *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL; длиннейшая мышца грудного и поясничного отдела позвоночника) между 13-м и 18-м грудными позвонками (примерно 4 кг для каждого образца) для проведения анализа.

Мясо каждого животного хранили при 4°C и в процессе его выдерживания измеряли колориметрические параметры на 3-и, 6-е, 9-е и 14-е сутки. Цвет поверхности мяса определяли в соответствии с системой определения цвета CIE L*, a*, b* (CIE, 1976), используя колориметр Minolta CR-300 (источник света D65; Minolta Camera Co. Ltd.,

Osaka, Japan). Измерения коэффициента отражения проводили, начиная с угла наблюдения 0° с использованием импульсной ксеноновой дуговой лампы с поверхностью считывания диаметром 8 мм. Для каждого образца мяса проводили три измерения в трех разных точках. Для каждой точки выполняли три измерения, используя поворот детектирующей системы на 90° по сравнению с предыдущим положением, получая в общей сложности девять измерений на один образец. Колориметр калибровали с применением системы цветового пространства Hunter-lab, используя белый цвет ($L^* = 99,2$; $a^* = 1,0$; $b^* = 1,9$). Эти значения a^* и b^* использовали для определения цветности, соответствующей выражению $(a^2+b^2)^{1/2}$, и тона окраски ($^\circ$), соответствующего выражению $\tan^{-1}(b/a)$, в соответствии с De Palo и др. ("Colour changes in meat of foals as affected by slaughtering age and post-thawing time", 2012, Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 25, 1775-1779).

Кроме этого измеряли реологические параметры. Значение pH регистрировали, используя переносной pH-метр со стеклянным электродом, форма которого позволяет легко проникать в мясо (Carlo Erba pH 710; Carlo Erba Reagenti, Milano, Italy). Перед каждым измерением pH-метр автоматически калибровали в соответствии с температурой мышц и используя растворы со значениями pH 4 и 7 (Crison, Lainate, Italy). Измеряли водоудерживающую способность (WHC), потери при тепловой обработке и силы сдвига Уорнера-Брацлера (WBSF), как описано De Palo и др. ("Effect of nutritive level on carcass traits and meat quality of INDH foals", 2014, Animal Science Journal, 85, 780-786).

Кроме того, чтобы оценить общее выделение газа в течение 24 часов, проводили эксперимент с расщеплением *in vitro*.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Далее изложены наиболее интересные результаты, касающиеся качества мяса, в частности колориметрического профиля и выделения газа при расщеплении *in vitro*.

В частности, как представлено на Фиг. 1, показанная интенсивность красной окраски у двух групп оказалась разной. Мясо, полученное от представителей крупного рогатого скота, которых кормили с добавлением лигниновой фракции, показало более интенсивную красную окраску в продолжение всего периода выдерживания, вплоть до 14-х суток. В недавно опубликованной работе влияние рациона питания на цвет мышц было объяснено либо изменением запаса гликогена, либо скоростью охлаждения, либо накоплением антиоксидантов, все это в конечном итоге может быть связано с присущими мышцам фундаментальными внутренними характеристиками цвета. Обычно, в процессе выдерживания наблюдается уменьшение интенсивности красной окраски с демонстрацией

тенденции к снижению. Это не относится к случаю образцов мяса из экспериментальной группы. Уменьшение интенсивности красной окраски поверхностного слоя мяса обусловлено биохимическими явлениями, происходящими в результате воздействия воздуха на отвечающий за окраску пигмент миоглобина. Окисление миоглобина является причиной процессов потемнения мяса. В случае экспериментальной группы добавление антиоксиданта в корм животных приводит к получению более интенсивной красной окраски у мяса, что также положительно оценивается потребителями.

На Фиг. 2 показана тенденция развития желтой окраски. Для животных из контрольной группы была продемонстрирована тенденция к снижению этого показателя в отличие от животных, которые получали антиоксидант, для которых продемонстрирована стабильность желтой окраски, без каких-либо ее изменений в процессе выдерживания. Желтая окраска тесно связана с количеством и качеством внутримышечного жира. С учетом одинакового принимаемого корма, и аналогичного прироста массы и живого веса при забое, и с учетом одинакового химического состава мяса никаких различий в содержании внутримышечного жира между этими двумя группами обнаружено не было. По-другому, эти различия могут быть обусловлены разным качеством внутримышечного жира, обусловленным различными профилями жирных кислот. Фактически, различия в стабильности желтой окраски возможно могут быть обусловлены развитием процессов окисления липидов после высвобождения липолитических ферментов во внеклеточные полости и обусловлены окислительно-восстановительными процессами в мышечных волокнах.

На Фиг. 3 показаны результаты измерений общего выделения газа (в мл) в течение 24 часов при расщеплении *in vitro* под действием рубцовой жидкости. В случае животных из экспериментальной группы в течение всего периода времени продемонстрировано меньшее количество выделенного газа, составляющее в целом 2864 мл по сравнению с 3545 мл для контрольной группы, следовательно, неожиданное уменьшение количества газа примерно на 20%. В разных исследованиях показано, действие некоторых антиоксидантов, используемых при кормлении коров, заключалось в подавлении размножения микробов с ослаблением при этом пищеварительной активности. В результате этого происходит снижение производства как молока, так и мяса, ввиду более низкой пищеварительной активности в рубце. В случае экспериментальной группы более слабое выделение газа неожиданным образом не приводило к более низкому производству мяса, учитывая отсутствие изменения для этих групп в живом весе при забое, ежемесячном приросте массы и выходе мясной туши в процентах после разделки. По этой

причине считается, что выделяемый в меньшем количестве газ может представлять собой газообразный метан с учетом того, что снижение содержания летучих жирных кислот должно приводить к меньшей конверсии в мясо и, следовательно, к меньшему живому весу.

ПРИМЕР 7. Оценка фертильности сельскохозяйственных животных и оценка качества молока, получаемого от коров, которым давали корм с лигниновой фракцией по изобретению

Цель этого тестирования заключалась в применении лигниновой фракции из примера 1b для улучшения здоровья стада коров, повышения экономических показателей и качества молока.

Продолжительность тестирования: 28 суток, с добавлением по 30 граммов в сутки на одну корову.

Описание экспериментальной выборки

Стадо коров фризской породы состояло в среднем из 85 дойных коров, 20 яловых коров и соответствующего общего приплода.

Дойные коровы содержались в удобном строении, оборудованном стойлами с соломой как во внутренней части, так и во внешней части, покрытыми навесом.

Осеменение яловых коров осуществляли в стационарном помещении, расположенном близко к соломенным подстилкам в зоне отдыха и приемки, в центральном загоне для выгула и крытом стойбище для зоны кормления.

Во всех зонах достаточно места для движения и отдыха и имеется доступ к кормушке.

Компания, отслеживающая достижения генетики, делает правильный выбор, ориентированный на долговечность одежды (garments) и улучшение качества молока.

Состав универсального корма отдельной группы:

- кукурузный силос,
- сено люцерны (закупленное),
- кукурузная мука,
- сено с постоянного пастбища,
- соя, ядро,
- добавки и буферные растворы (tampons).

В 2014 г. произведено: 114 тонн молока на одну корову (источник данных AIA).

Состояние здоровья стада на начало тестирования

Стадо поступило после очень критического лета, характеризующегося очень

длительным теплым периодом продолжительностью примерно 50-60 суток, без дождей, с очень высокими температурами и особенно высокой влажностью. И хотя были использованы все возможные системы кондиционирования окружающей среды, у коров отмечали различные признаки ухудшения переваривания, приводящие к:

- снижению общего производства молока,
- уменьшению содержания казеина и жира в молоке,
- наличию большего количества случаев хромоты;
- прогрессирующему увеличению числа клеток, которое достигало максимального значения в 577000 клеток.

Фертильность коров: негативное влияние с затруднениями, связанными с высокой температурой и низкой степенью оплодотворения.

Примечания

Опыт: обобщение для всего стада коров в период лактации общей численностью в 77 голов.

Средняя продолжительность всего периода лактации колебалась от 180 до 185 суток.

На начало тестирования состояние здоровья стада не было оптимальным:

- некоторые представители крупного рогатого скота только что перенесли грипп, характеризующийся диареей и сниженным аппетитом;
- у 7 коров имеется хромота средней степени тяжести.

Нет никакой проблемы для постепенного введения лигниновой фракции в смешанный универсальный корм, потребление постепенно увеличивалось и стабилизировалось после 1-й недели.

Последствия: быстрое выздоровление тех животных, у которых отмечались признаки недомогания по причине гриппа и хромоты, что подтверждено врачом-ортопедом.

Увеличился прием пищи, незамедлительно возросло производство молока и улучшился физический тонус животных.

Число соматических клеток (SCC), мониторинг которых постоянно проводился в данной компании, либо фермером на молочной ферме посредством сбора данных относительно качества, снизилось от начального количества 240/250 тысяч клеток до 120 тысяч на 2-й неделе и достигло стабильного количества около 140/150 тысяч клеток к концу тестирования.

Кратко: в результате регулировки содержания жира и казеина в молоке наблюдали

возврат к более подходящим для данной компании значениям.

Улучшение статуса общего состояния здоровья стада.

Улучшение общей фертильности.

Показатели производства молока

- Производство молока начинается в 0-е сутки со значения 27,83 л/голова, достигая к 35-м суткам максимального значения 33,41 л/голова.

- Увеличение ежесуточного производства на одну голову, зарегистрированное на 35-е сутки с начала введения лигниновой фракции, составило +20,08% на одну голову по сравнению с начальным производством.

- В целом, скорость увеличения производства составила +138 г/голова в сутки.

Максимальное ежесуточное увеличение в абсолютном выражении фиксировали на 16-17-е сутки (+2,43 л/голова).

Показатели качества молока:

- увеличение концентрации общих полифенолов в молоке;
- увеличение ежесуточного производства молока из расчета на одного животного;
- уменьшение, в острой фазе, числа соматических клеток;
- увеличение абсорбционной способности в отношении свободных радикалов (TEAC).

Приведенные выше результаты очень важны, при этом максимальное значение концентрации общих полифенолов составляет примерно 250%, увеличение общего производства молока составляет +20,8%, снижение числа соматических клеток составляет -31%, и увеличение TEAC составляет +33%.

Следует также отметить, что эти характеристики обозначают особую синхронизацию, концентрируя точки максимума в районе 15-17-х суток обработки.

Также отмечено, что применение добавки по изобретению создало условия для пролонгирования ее преимуществ в течение по меньшей мере 2 недель после прекращения применения. Благоприятный эффект начинал уменьшаться примерно через 20 суток, что подтверждалось повторным увеличением числа соматических клеток в молоке.

Типичное коровье молоко содержит только следы полифенолов, поэтому следует оценить, что неожиданным образом молоко, полученное от коров, в корм которых добавляли пищевую добавку по изобретению, содержит полифенолы в концентрации до 457 мг/л. Учитывая, что потребность человека в полифенолах составляет 820 мг/сутки, а потребление молока человеком в среднем составляет 250 мл/сутки, вклад полифенолов, который дает молоко по изобретению, составляет 114 мг; в то время как обычно, как уже

указано, он близок к нулю.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Лигниновая фракция для применения в качестве антипатогенного агента в пищевой добавке для человека и животных для предупреждения и лечения инфекций, вызываемых пищевыми патогенами, где указанная лигниновая фракция содержит фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу вплоть до 2500 дальтон по результатам измерений с использованием гель-проникающей хроматографии, причем указанные фрагменты содержат вплоть до 13 фенилпропановых звеньев на среднюю массу.

2. Лигниновая фракция для применения по п. 1, представляющая собой антипатогенный агент против пищевых патогенов, включающих *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, без отрицательного воздействия на пробиотические микроорганизмы.

3. Лигниновая фракция для применения по п. 1 или 2, содержащая фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу от 150 дальтон до 2500 дальтон, причем указанные фрагменты содержат вплоть до 12 фенилпропановых звеньев с учетом усреднения по массе.

4. Лигниновая фракция для применения по любому из п.п. 1-3, содержащая фрагменты, имеющие среднечисловую молекулярную массу вплоть до 2000 дальтон по результатам измерений с использованием гель-проникающей хроматографии, причем указанные фрагменты содержат вплоть до 11 фенилпропановых звеньев с учетом усреднения по числу звеньев.

5. Лигниновая фракция для применения по п. 4, содержащая фрагменты, имеющие среднечисловую молекулярную массу от 150 дальтон до 1000 дальтон.

6. Лигниновая фракция для применения по любому из п.п. 1-5, где лигниновую фракцию используют в количестве вплоть до 10 кг на одну тонну корма для животных, более предпочтительно 1-5 кг на одну тонну корма для животных.

7. Пищевая добавка, содержащая лигниновую фракцию для применения по любому из п.п. 1-6 и подходящие пищевые носители.

8. Пищевая добавка по п. 7, дополнительно включающая лигниновую фракцию, содержащую фрагменты, имеющие средневесовую молекулярную массу 3500-5500 дальтон по результатам измерений с использованием гель-проникающей хроматографии, причем указанные фрагменты содержат вплоть до 40 фенилпропановых звеньев с учетом усреднения по массе.

9. Пищевая добавка по п. 7 или 8, дополнительно содержащая по меньшей мере одну смоляную кислоту, представляющую собой абиетиновую кислоту, дегидроабиетиновую кислоту, палюстровую кислоту, неоабиетиновую кислоту, пимаровую кислоту, изопимаровую кислоту, сандракопимаровую кислоту или их сложный эфир, или их простой эфир, или их соль с щелочным либо щелочноземельным металлом, или их смесь.

10. Пищевая добавка по любому из п.п. 7-9, дополнительно содержащая по меньшей мере одну соль щелочного или щелочноземельного металла и (C₁₂-C₂₄)-жирной кислоты, по меньшей мере одно жирное масло или их смесь.

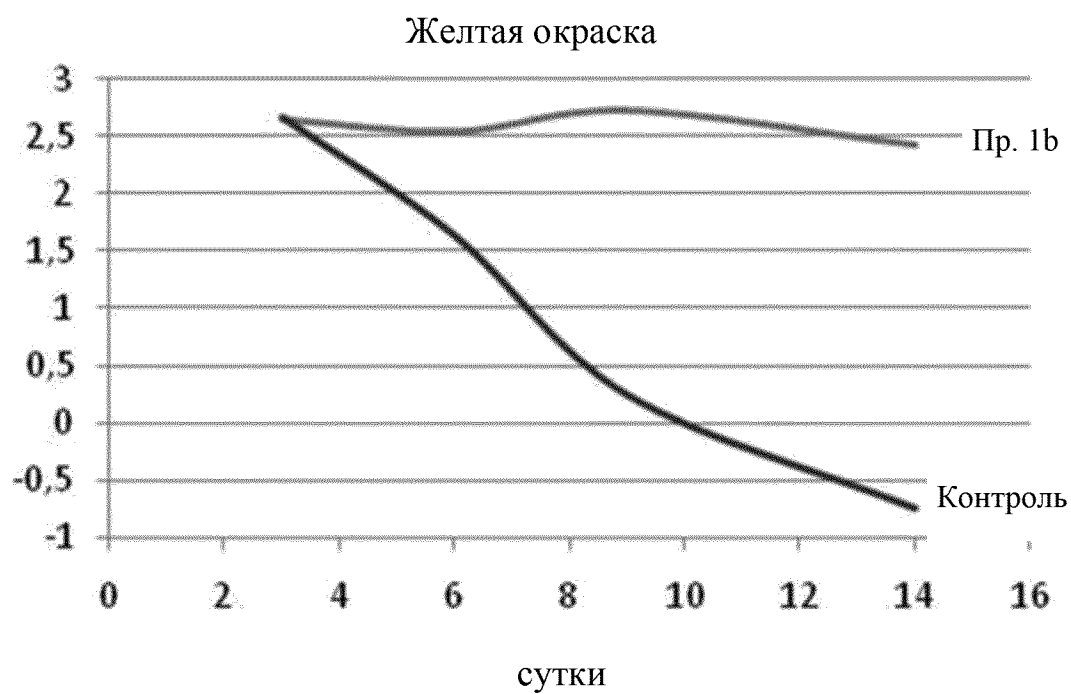
11. Пищевая добавка по любому из п.п. 7-10 для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения качества и срока хранения мяса, получаемого от сельскохозяйственных животных.

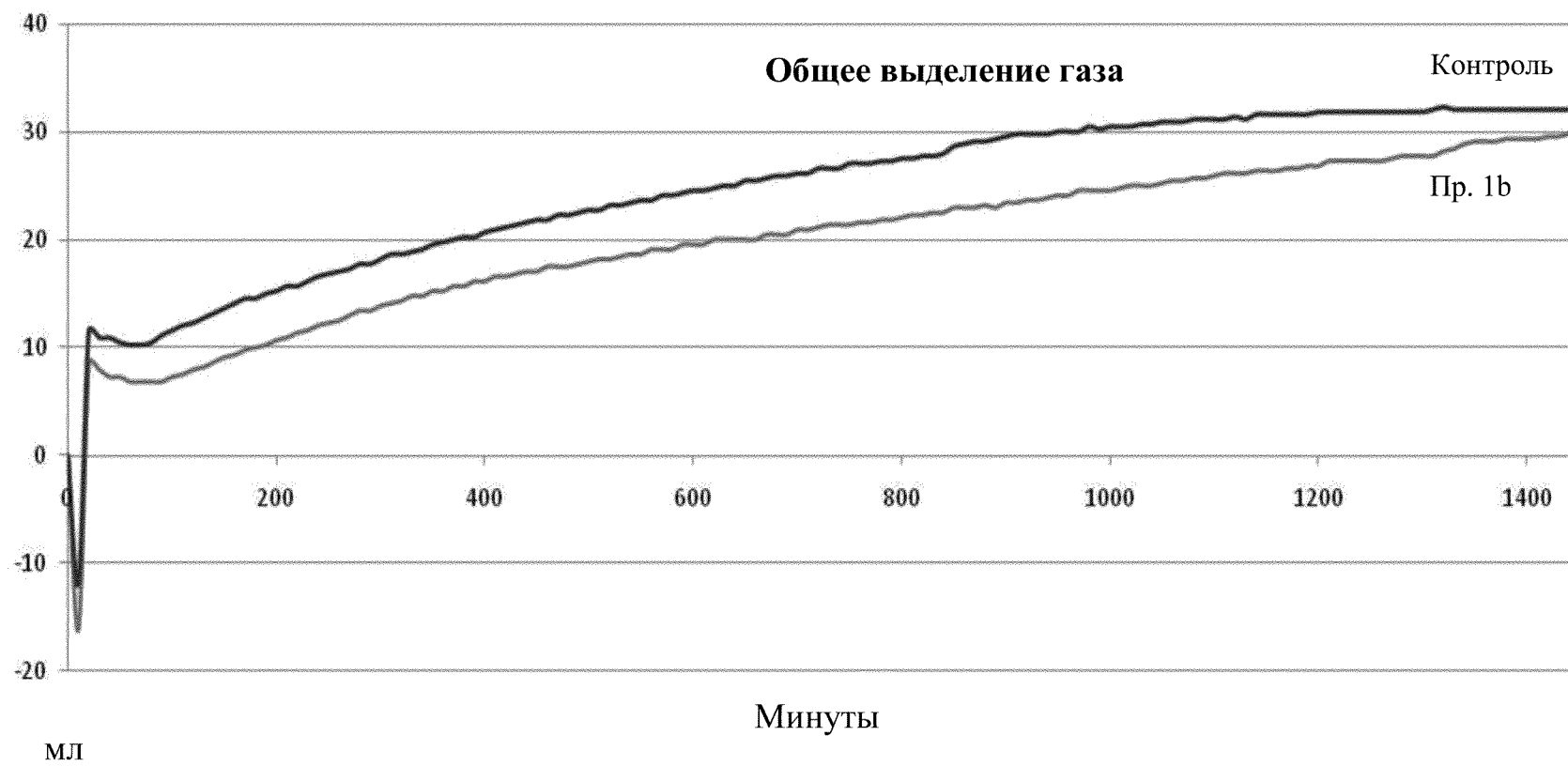
12. Пищевая добавка по любому из п.п. 7-10 для применения в кормлении самок сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения надоя и качества молока, получаемого от самок сельскохозяйственных животных.

13. Пищевая добавка по любому из п.п. 7-10 для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для улучшения фертильности сельскохозяйственных животных.

14. Пищевая добавка по любому из п.п. 7-10 для применения в кормлении сельскохозяйственных животных, где указанную пищевую добавку вводят в количестве, эффективном для снижения выделения метана без нарушения эффективности пищеварения или руминации.

15. Пищевая добавка для применения по любому из п.п. 11-14, где указанную пищевую добавку вводят жвачным животным в суточной дозировке, содержащей вплоть до 100 г лигниновой фракции, предпочтительно 20-80 г лигниновой фракции.





Фиг.3