



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0027834

(51)⁷ A61K 35/745; A01K 5/00; A01K 7/00; (13) B
A01K 7/02; A23K 10/18; A61K 35/00;
A61K 35/741; A61K 35/742; A61K
35/744; A01G 22/00; A61D 7/00

(21) 1-2016-01766

(22) 27/10/2014

(86) PCT/US2014/062446 27/10/2014

(87) WO2015/061789 30/04/2015

(30) 61/895,775 25/10/2013 US; 14/524,858 27/10/2014 US

(45) 25/04/2021 397

(43) 26/09/2016 342A

(73) NCH CORPORATION (US)

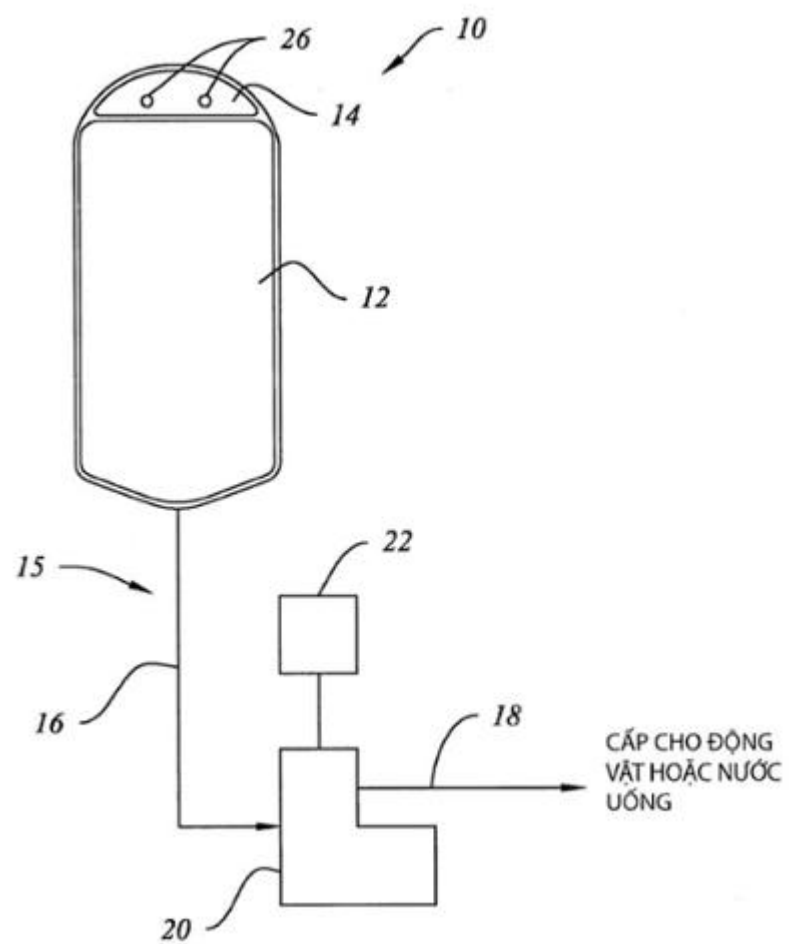
2727 Chemsearch Blvd. Irving, TX 75062, United States of America

(72) BOYETTE, Scott Martell (US); PRUITT, Judith Gayle (US); KNOPE, John
Lawrence (US); DENVIR, Adrian James (GB); GREENWALD, Charles (US);
ERDMAN, Alex (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM HUYỀN PHÙ LỢI KHUẨN ĂN ĐƯỢC QUA ĐƯỜNG MIỆNG

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm lợi khuẩn để điều trị cho động vật, thực vật chứa một hoặc nhiều loài vi khuẩn dạng bào tử, chất làm đặc để tạo thành huyền phù ổn định và tốt hơn, nếu đóng vai trò làm chất xơ hòa tan, một hoặc nhiều axit hoặc muối của axit, và tùy ý, chất khử hoạt tính của nước.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm lợi khuẩn ổn định, bao gồm chế phẩm synbiotic (chế phẩm kết hợp chất xơ hòa tan với lợi khuẩn) và các chế phẩm này được sử dụng cùng với nước uống đã axit hóa, và hệ thống và phương pháp để phân phối chế phẩm này cho động vật và thực vật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Lợi khuẩn đã được sử dụng trong các ứng dụng ở trang trại và lĩnh vực nông nghiệp trong nhiều năm qua. Mục đích chủ yếu của chế phẩm lợi khuẩn là làm chất phụ gia thức ăn, nhưng các mục đích khác bao gồm xử lý chuồng, chăm sóc vết thương cho động vật, xử lý bể, và xử lý nước. Khi được sử dụng làm chất phụ gia thức ăn, chất lợi khuẩn thường được bổ sung một cách trực tiếp vào thức ăn (còn được gọi là vi sinh vật được cho ăn trực tiếp hoặc “DFM” (direct-fed microbials)) và được động vật tiêu thụ. Sản phẩm DFM là sẵn có trên thị trường ở nhiều dạng sản phẩm, bao gồm bột, bột nhão, gel, viên liều cao, và viên nang, mà có thể được trộn vào thức ăn, lớp phủ ngoài cùng, dưới dạng bột nhão, hoặc được trộn vào nước uống hoặc sữa thay thế. Liều lượng thông thường thay đổi theo sản phẩm, từ các ứng dụng liều đơn đến các ứng dụng cho ăn liên tục. Hầu hết các sản phẩm DFM phải được bảo quản trong vùng lạnh, khô tránh nhiệt, ánh nắng mặt trời trực tiếp, và độ ẩm cao để tránh làm hỏng vi khuẩn hoặc làm cho vi khuẩn bị mất hiệu lực khi làm lợi khuẩn. Một số dạng sản phẩm DFM sẵn có trên thị trường chứa bào tử vi khuẩn, cụ thể là loài *Bacillus*, mà được cho là ổn định hơn và có thể có thời gian hiệu lực dài thậm chí trong các điều kiện môi trường khắc nghiệt, như nhiệt độ cao, độ khô và pH khắc nghiệt. Các bào tử này sẽ nảy mầm thành tế bào sinh dưỡng và phát triển khi các điều kiện trở nên thuận lợi. Một vài loài *Bacillus* được Hội quản lý Thuốc và Thực phẩm và Hiệp hội các nhà chức trách quản lý thực phẩm Hoa Kỳ (Association of American Feed Control Officials-AAFCO) phê chuẩn để sử dụng trong sản phẩm DFM tại Mỹ, bao gồm *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. coagulans*, và *B. lentus*. Các quốc gia khác đã phê chuẩn việc sử dụng các loài *Bacillus* khác làm vi sinh vật lợi khuẩn.

Thậm chí các loài vi khuẩn tương đối ổn định được sử dụng trong sản phẩm DFM có thể nhạy với một số điều kiện thường tìm thấy trong các ứng dụng của sản phẩm DFM cho gia súc. Ví dụ, hoạt tính của nước trong thức ăn có thể làm giảm thời gian hiệu lực của dạng vi khuẩn thậm chí ổn định nhất. Một số kỹ thuật là đã biết để giúp làm tăng thời gian hiệu lực của vi khuẩn trong sản phẩm DFM. Bao vi nang là một phương pháp đã biết để làm tăng thời gian hiệu lực của chế phẩm lợi khuẩn được phép sử dụng trong sản phẩm DFM. Ví dụ, patent Mỹ số 6,254,910 bộc lộ hệ phân phối để phân phối các thành phần không ổn định hoặc nhạy, trong đó thành phần không ổn định hoặc nhạy được đồng ép đùn với các thành phần thực phẩm khác sao cho nó được bao nang bên trong các lớp bên ngoài của các thành phần thực phẩm, với mỗi lớp có hàm lượng ẩm cụ thể. Một vài loài lợi khuẩn, bao gồm *Bacillus coagulans*, tốt hơn là ở dạng bào tử, được bộc lộ trong patent '910 làm các thành phần không ổn định hoặc nhạy là thích hợp để bao vi nang để bảo vệ lợi khuẩn và làm tăng khả năng sống sót trong quá trình xử lý và trong các điều kiện môi trường sử dụng. Các kỹ thuật bao vi nang khác bao gồm ép đùn sấy phun, nhũ hóa và tách pha đã được sử dụng, nhưng có kết quả hạn chế và gia tăng chi phí. Một sản phẩm lợi khuẩn được bao nang đã biết, còn được gọi là Bac-In-A-Box, là có thể mua được từ SG Austria (<http://www.sgaustria.com/probiotics>). Kỹ thuật bao vi nang mới hơn sử dụng tạo hình nang gel canxi-alginat dường như cho kết quả hứa hẹn, nhưng vẫn đang trong giai đoạn phát triển và chưa thích hợp cho các ứng dụng trên quy mô công nghiệp.

Tương tự, patent Mỹ số 5,501,857 bộc lộ nang bên trong nang khác chứa loài vi khuẩn, như các loài từ chi *Lactobacillus* hoặc *Bifidobacterium*, trong nang bên trong và các thành phần có lợi khác, như vitamin, trong nang bên ngoài, với mỗi nang được bao bằng vỏ gelatin. Cấu trúc nang lồng nang cho phép sử dụng nhiều thành phần có lợi không tương thích bên trong nang đơn. Các viên nang này có điểm hạn chế là cần phải dùng trực tiếp qua đường miệng cho động vật. Các chế phẩm và phương pháp dùng trực tiếp qua đường miệng được bộc lộ trong WO 2010/079104, WO 2012/167882, và Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2013/0017174. Tuy nhiên, các chế phẩm này nói chung phức tạp và phải được

dùng một cách trực tiếp cho từng động vật, là việc tốn thời gian và có thể gặp khó khăn.

Cũng đã biết cách bổ sung vi khuẩn lợi khuẩn vào nước uống cho động vật sử dụng bình nuôi cấy sinh học để tạo ra vi khuẩn ở trạng thái sinh dưỡng. Phương pháp này được bộc lộ trong patent Mỹ số 4,910,024, mô tả kỹ thuật bình nuôi cấy sinh học và phương pháp để phân phối vi khuẩn lợi khuẩn nhạy nhiệt độ trong điều kiện còn sống, sinh dưỡng cho một lượng lớn động vật nuôi nhằm làm gia tăng việc hấp thụ chất dinh dưỡng một cách hiệu quả và kiểm soát sự tăng sinh của các vi sinh vật gây hại trong đường tiêu hóa của các động vật này. Có một vài hạn chế đối với việc sử dụng bình nuôi cấy sinh học tại chỗ để phân phối lợi khuẩn. Một hạn chế chủ yếu là khó duy trì sự vô trùng hoặc ngăn ngừa sự nhiễm bẩn từ các nguồn vi khuẩn, nấm men, và nấm bên ngoài. Lý tưởng là, nước được sử dụng trong bình nuôi cấy sinh học phải không chứa mầm bệnh và thiết bị này must ngăn ngừa sự lan truyền trong không khí các vi sinh vật không mong muốn, mà có thể phát triển trong thiết bị này và được dùng cho động vật. Các thiết bị này còn yêu cầu nguồn điện và áp suất nước đủ. Ngoài ra, sự phát triển của vi khuẩn trong bình nuôi cấy sinh học là phụ thuộc vào nhiệt độ và thiết bị này cần phải được kiểm soát bằng nhiệt độ để đảm bảo sự phát triển phù hợp của vi khuẩn. Nhiệt độ môi trường bình thường và các biến số của môi trường (như độ ẩm) ở địa điểm tại đó thiết bị này thường được sử dụng, như chuồng gia súc, có thể dẫn đến sự biến đổi phát triển một cách bất lợi và không nhất quán mà không kiểm soát được nhiệt độ và môi trường. Các sản phẩm DFM để phân phối vi khuẩn ở trạng thái sinh dưỡng cho thức ăn hoặc nước uống của động vật còn có thể dễ bị ảnh hưởng bởi môi trường khắc nghiệt trong dạ dày ngay khi động vật ăn và có thể không sống sót để đi đến đường ruột, là nơi lợi khuẩn thường có lợi nhất. Ngoài ra, lượng vi khuẩn cần phải cho động vật ăn vào thời điểm phù hợp và với nồng độ phù hợp để đạt hiệu quả, và điều này là khó có thể đạt được với kỹ thuật phân phối lợi khuẩn hiện hành.

Cũng đã biết hệ thống phân phối dung dịch vô trùng. Ví dụ, patent Mỹ số 5,320,256 bộc lộ hệ thống để phân phối dung dịch vô trùng bao gồm bình chứa chịu áp để bảo quản dung dịch vô trùng, bộ phận phân phối mềm dẻo kéo dài từ

binh chứa này với bộ phận phân phối có phần bên trong rỗng, và một dây van ngắt cho phép phân phối và ngăn ngừa dòng dung dịch hoặc không khí chảy ngược vào hệ thống. Patent '256 không đề cập một cách cụ thể đến việc phân phối chế phẩm lợi khuẩn hoặc phân phối dung dịch vô trùng cho động vật hoặc trong môi trường nông nghiệp. Một ví dụ khác về việc phân phối một cách cụ thể thuốc, vitamin, chất dinh dưỡng, và các chất tương tự to động vật, được tìm thấy trong patent Mỹ số 6,723,076. Hệ thống phân phối được bộc lộ trong patent '076 bao gồm túi có thể xếp lại được, được bịt kín với hai ống mềm dẻo được gắn vào để nạp vào túi và lấy dung dịch từ túi này phân phối cho động vật bằng súng dạng xiranh. Mặc dù hệ thống này giải quyết một vài vấn đề đi kèm với việc phân phối lợi khuẩn, chúng không giải quyết vấn đề liên quan đến tính ổn định môi trường của chế phẩm lợi khuẩn này hoặc phân phối định liều chế phẩm lợi khuẩn này một cách tự động và kiểm soát được cho hệ thống cung cấp thức ăn hoặc nước.

Cũng đã biết cách cung cấp lợi khuẩn cho động vật ở dạng bào tử. Ngoài patent '910 bàn luận trên đây, patent Mỹ số 4,999,193 bộc lộ việc bổ sung bào tử vi khuẩn, cụ thể là *Bacillus cereus* (chủng IP 5832), vào thức ăn hoặc nước uống của động vật. Bào tử đã được biết là có thể chịu được nhiệt độ cao, khiến chúng thích hợp hơn để kết hợp vào thức ăn gia súc trong quá trình sản xuất thức ăn, mà thường liên quan đến nhiệt. Mặc dù việc sử dụng vi khuẩn dạng bào tử giải quyết các vấn đề đi kèm với độ ổn định nhiệt độ, các giải pháp của tình trạng kỹ thuật không đưa ra hệ thống phân phối thỏa đáng có khả năng loại trừ sự nhiễm bẩn bên ngoài trong khi đạt được sự phân phối có kiểm soát theo cách được sử dụng một cách dễ dàng trong các phương tiện hiện hành mà không cần yêu cầu việc trang bị thêm hoặc bổ sung nguồn điện bất kỳ.

Ngoài việc cung cấp lợi khuẩn, cũng đã biết việc cung cấp chất xơ hòa tan kết hợp với lợi khuẩn. Chế phẩm kết hợp này thường được gọi là synbiotic. Ví dụ, WO 2012/027214 bộc lộ chế phẩm kết hợp synbiotic chứa vi khuẩn *Bacillus* dạng bào tử với chất xơ hòa tan hydratecarbon, bao gồm arabinoxylan, arabinoxylan oligosacarit, xyloza, dextrin dạng xơ hòa tan, xơ ngô hòa tan, và polydextroza. Chất xơ hòa tan là hydratecarbon không tiêu hóa hoặc xơ hòa tan mà tạo ra tác dụng sinh lý có lợi đối với vật chủ bằng cách kích thích một cách chọn lọc sự phát

triển hoặc hoạt tính có lợi của vi khuẩn có lợi trong ruột và/hoặc làm giảm các quần thể gây bệnh. Chất xơ hòa tan chịu được axit tiêu hóa trong dạ dày và các enzym tiêu hóa trong dạ dày và ruột non của động vật và có thể đi đến ruột già gần như nguyên vẹn hoặc chỉ bị phân hủy một phần (chứ không phải hòa tan trong nước có mặt trong đường dạ dày-ruột). Khi ở trong ruột già, chất xơ hòa tan tạo ra nguồn thức ăn hydratcacbon cho vi khuẩn có lợi và chịu sự lên men hoàn toàn hoặc một phần trong ruột kết (phần của ruột già tại đó xảy ra việc hấp thụ chất dinh dưỡng bổ sung qua quá trình lên men). Việc lên men xảy ra nhờ tác động của vi khuẩn bên trong ruột kết đối với thức ăn dạng chất xơ hòa tan, tạo ra khí và axit béo mạch ngắn (short-chain fatty acid-SCFA). Việc sản xuất SCFA, như butyric axit, axetic axit, propionic axit, và valeric axit, được gia tăng khi chất xơ hòa tan được bổ sung vào thức ăn gia súc. Các nghiên cứu khoa học đã chỉ ra rằng SCFA có các lợi ích đáng kể đối với sức khỏe. Bằng cách gia tăng các quần thể vi khuẩn có lợi, chất xơ hòa tan cũng tiêu diệt các quần thể vi khuẩn gây bệnh trong ruột kết, như *Clostridia*, *E. Coli*, và *Salmonella*.

Nhiều loại chất xơ hòa tan là đã biết, bao gồm polysacarit, oligosacarit, fructooligosacarit (FOS), galactooligosacarit (GOS), soya-oligosacarit (SOS), xylo-oligosacarit (XOS), pyrodextrin, isomalto-oligosacarit (IMO), và lactuloza. Chất xơ hòa tan dạng xơ ăn được hòa tan trong nước cụ thể còn bao gồm Fructan (inulin), gồm Xanthan (E415), Pectin (E440), Natriumalginat (E401), Kaliumalginat (E402), Amonialginat (E403), Canxialginat (E404), PGA (E405), Aga (E406), và Carageen (E407). Việc ăn các chất xơ hòa tan dạng xơ này có thể thay đổi cách các chất dinh dưỡng và hóa chất khác được hấp thụ qua khối và độ nhớt và còn có thể thay đổi bản chất của các chất trong đường dạ dày-ruột, đã thấy là có khả năng làm tăng các quần thể *Lactobacilli* và *Bifidobacteria* trong ruột và manh tràng của gia súc. Trong các nghiên cứu về gia cầm (cụ thể là các nghiên cứu về gà giò), việc cung cấp chế phẩm kết hợp synbiotic chứa lợi khuẩn và chất xơ hòa tan đã cho thấy làm tăng tỷ lệ lông nhung/tiểu nang (hoặc tỷ lệ giữa độ cao lông nhung:độ sâu tiểu nang). Tỷ lệ lông nhung/tiểu nang là chỉ số về khả năng tiêu hóa có thể của ruột non. Bên trong ruột non xảy ra các giai đoạn cuối cùng của sự tiêu hóa bằng enzym, giải phóng các phân tử nhỏ có khả năng được hấp thụ,

như đường, monosacarit, disacarit, axit amin, dipeptit, và lipit. Toàn bộ việc hấp thụ này và phần lớn sự tiêu hóa bằng enzym diễn ra trên bề mặt tế bào biểu mô của ruột non, và để thích nghi với các quá trình này, cần có diện tích bề mặt niêm mạc khổng lồ. Lông nhung là các phần nhỏ nhô ra (hình ngón tay, hình lông, hình con sâu) từ lớp biểu mô của ruột non. Độ cao của lông nhung được đo từ đỉnh (ngọn) của lông nhung đến điểm giao lông nhung-tiểu nang. Lông nhung được nuôi các mạch máu tại đó máu tuần hoàn hấp thu các chất dinh dưỡng. Tiểu nang là vùng giữa các lông nhung. Độ sâu tiểu nang được xác định là độ sâu của phần lõm vào, hoặc trong nếp gấp của thành, giữa các lông nhung liền kề. Việc đo độ sâu tiểu nang được đo từ đáy hướng lên vùng chuyển tiếp giữa tiểu nang và lông nhung. Diện tích bề mặt lông được tính bằng cách sử dụng công thức, $VW/2 \times \pi \times VL$, trong đó VW là chiều rộng của lông nhung và VL là chiều dài của lông nhung. Diện tích bề mặt càng lớn thì việc hấp thụ chất dinh dưỡng càng nhiều. Đã phát hiện ra rằng việc làm tăng tỷ lệ lông nhung/tiểu nang trong nghiên cứu cộng sinh gia cầm làm tăng việc tiêu hóa và việc hấp thụ chất dinh dưỡng.

Một số nghiên cứu cũng cho thấy tầm quan trọng và các lợi ích của loại hiệp đồng này giữa lợi khuẩn và chất xơ hòa tan và tác dụng trong việc giúp động vật non đạt được hiệu quả phát triển tốt hơn. Các nghiên cứu sử dụng *B. subtilis* làm lợi khuẩn và inulin làm chất xơ hòa tan đã cho thấy chế phẩm kết hợp là hữu hiệu hơn ở lợn và các quần thể gia cầm hơn khi sử dụng *B. subtilis* riêng rẽ. Ví dụ, chế phẩm kết hợp synbiotic này cho thấy việc làm giảm ($P < 0,05$) độ pH của chất bài tiết, độ pH của chất tiêu hóa trong ruột và các chất trong manh tràng so với nhóm đối chứng. Chế phẩm kết hợp này còn điều hòa thành phần hệ vi khuẩn của manh tràng và xương chậu bằng cách làm giảm ($P < 0,05$) số lượng *Clostridium* và *Coliforms* và gia tăng ($P < 0,05$) số lượng *Bifidobacteria* và *Lactobacilli* so với nhóm đối chứng. Trong nghiên cứu khác, phát hiện ra rằng lợn con đã cai sữa có lượng butyrat (SCFA) gia tăng khi được nuôi bằng thức ăn chứa chất xơ hòa tan. Tầm quan trọng của butyrat đối với sự cải thiện của ruột là đã được biết rõ, do đây là chất quyết định để tối ưu hóa việc hấp thụ chất dinh dưỡng.

Vấn đề khác gặp phải trong hệ thống cấp nước cho động vật và thực vật là các quần thể vi khuẩn trong nước uống và hệ thống vận chuyển nước. Nguồn cung

cấp nước đô thị thường có một số lượng vi khuẩn và các nguồn nước địa phương (như bể tại chỗ) có thể chứa vi khuẩn từ đất xung quanh, cá, và nước thải. Các vi khuẩn này là đã biết sẽ tạo ra hoặc góp phần vào việc tạo thành màng sinh học trong hệ thống nước uống. Màng sinh học được tạo thành khi tế bào vi khuẩn gắn vào các bề mặt trong hệ thống nước, như đường ống và đầu/vòi uống nước, và tạo thành màng hoặc lớp nhớt. Các màng sinh học này có thể tích tụ, dẫn đến việc gây tắc nghẽn các bộ phận của hệ thống, hoặc một phần của màng sinh học còn có thể bị vỡ gây ra sự tắc nghẽn bổ sung ở các nơi khác của hệ thống này, mà có thể làm giảm lượng nước cung cấp cho động vật hoặc thực vật. Một phương pháp đã biết để loại bỏ màng sinh học trong hệ thống nước này là xối màng này bằng cách gia tăng áp suất trong đường ống nước. Phương pháp này có thể làm hư hại các bộ phận của hệ thống nước và thường để lại phía sau chất lắng phủ vô cơ từ màng sinh học, mà sẽ dùng làm nơi ẩn náu cho các vi sinh vật và dẫn đến màng sinh học được tái lập. Các sản phẩm xử lý hóa học, như clo và hydro peroxit cũng đã được biết để sử dụng và có khả năng sát trùng tốt; tuy nhiên, các sản phẩm này không có lợi cho sức khỏe của ruột đối với động vật hoặc sức khỏe của đất đối với thực vật và thậm chí có thể gây hại.

Cũng đã biết cách axit hóa nước bằng cách bổ sung một số axit hữu cơ nhất định vào nước. Việc sử dụng nước đã axit hóa là có lợi vì một vài nguyên nhân, bao gồm axit, ở dạng không phân ly, có thể thấm qua vỏ vi khuẩn và phá hủy một số vi sinh vật nhất định, mà có thể làm giảm việc tạo thành màng sinh học trong hệ thống nước, giúp cho việc giữ cho máng, đầu/vòi uống nước sạch sẽ, và có thể làm giảm số lượng vi khuẩn trong nước. Do vi khuẩn trong nước có thể gây bệnh và có thể làm cho động vật bị ốm khi ăn vào, việc làm giảm vi khuẩn trong nước có thể đặc biệt hữu ích dưới ánh sáng của lệnh cấm sử dụng chất kháng sinh ở những vùng địa lý nhất định, như châu Âu. Ngoài ra, khi được động vật ăn vào với lượng đủ để tạo ra độ pH trong dạ dày nhỏ hơn 6, có thể ức chế sự phát triển của các vi sinh vật gây bệnh (từ các nguồn khác, như thức ăn). Thông thường, axit hữu cơ yếu, như axit axetic, axit butyric, axit lactic, và axit sorbic, được sử dụng để axit hóa nước uống. Có rất nhiều hạn chế hoặc khó khăn gặp phải khi axit hóa nước uống. Ví dụ, khó có thể duy trì độ pH ở khoảng mong muốn (nhỏ hơn 7 và thường

là nhỏ hơn 5,5). Việc đưa các axit riêng lẻ vào nước uống thường làm cho độ pH giảm một cách nhanh chóng, mà có thể có tác dụng bất lợi, như giữ nước ít hơn và hình thức bị giảm, bao gồm tỷ lệ chuyển hóa thức ăn thấp hơn và tỷ lệ tăng trọng hàng ngày thấp hơn ở động vật. Ví dụ, trong thời gian mắc bệnh, lợn sẽ bị giảm khả năng hấp thu thức ăn của chúng nhưng vẫn duy trì khả năng hấp thu nước của chúng. Do vậy, nước có thể chấp nhận được là quan trọng đối với sức khỏe GIT của động vật. Việc sử dụng axit còn có thể việc ăn mòn các thành phần kim loại trong hệ thống nước, dẫn đến chi phí thay thế và sửa chữa bổ sung. Để làm giảm tác dụng này, có thể sử dụng hỗn hợp axit hữu cơ để axit hóa nước uống này, do hỗn hợp này có tác dụng đệm làm cho độ pH giảm từ từ. Hỗn hợp hiệp đồng gồm các axit hữu cơ còn có tác dụng chống khuẩn mạnh hơn, vị dễ chịu hơn, và ít ăn mòn hơn so với các axit riêng rẽ. Việc sử dụng nước uống đã axit hóa không đúng cách còn có thể dẫn đến sự tăng sinh các quần thể vi khuẩn và sự phát triển của tảo (mà có thể gây tắc nghẽn thêm hệ thống nước) và làm giảm việc hấp thụ thức ăn (mà có thể làm giảm việc tăng trọng và việc hấp thụ chất dinh dưỡng không đầy đủ). Ngoài ra, một số axit cũng đã biết là làm cho nấm phát triển, mà có thể gây tắc cho các bộ phận của hệ thống và gây bất lợi cho động vật.

Mặc dù đã biết sử dụng các lợi khuẩn một cách riêng hoặc kết hợp với chất xơ hòa tan và sử dụng một cách riêng biệt nước uống đã axit hóa để đem lại các lợi ích sức khỏe cho động vật và để cải thiện độ trong sạch trong hệ thống nước cho thực vật và động vật, trước đây người ta chưa biết cách kết hợp lợi khuẩn, chất xơ hòa tan, và nước uống đã axit hóa với nhau để tạo ra các lợi ích sức khỏe hiệp đồng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm lợi khuẩn ổn định, bao gồm chế phẩm bao gồm lợi khuẩn và chất xơ hòa tan, và hệ thống và phương pháp để phân phối chế phẩm này cho động vật và thực vật, bao gồm phân phối chế phẩm này với nước đã axit hóa để tạo ra các lợi ích bổ sung. Chế phẩm lợi khuẩn chứa bào tử lợi khuẩn đã được tạo huyền phù là ổn định trong khoảng rộng của các điều kiện môi trường, bao gồm sự thay đổi bất thường của nhiệt độ mà thường bắt gặp trong môi trường trang trại và nông nghiệp. Chế phẩm là ổn định nhiệt và sẽ không bị lắng, thay đổi

thành phần hoặc hoạt tính trong các điều kiện khắc nghiệt thường gặp trong quá trình chăn nuôi các động vật này và các quá trình tương tự. Chế phẩm lợi khuẩn được ưu tiên theo sáng chế chứa một hoặc nhiều loài từ giống *Bacillus* ở dạng bào tử, mà ổn định trong các điều kiện bất lợi.

Theo một phương án được ưu tiên, chế phẩm này bao gồm bào tử vi khuẩn, chất hoạt động bề mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,00005 đến 3,0% trọng lượng, chất làm đặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,002 đến 5,0% trọng lượng, và tùy ý, chất axit hóa, axit, hoặc muối của axit (bao gồm các chất được sử dụng làm chất bảo quản hoặc chất ổn định) với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 2,0% trọng lượng, phần còn lại là nước. Theo phương án được ưu tiên khác, chế phẩm này bao gồm bào tử vi khuẩn, chất làm đặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5,0% trọng lượng, axit hoặc muối của axit với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,5% trọng lượng, tùy ý, chất khử hoạt tính của nước với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-20% trọng lượng, và tùy ý, chất axit hóa bổ sung (axit hoặc muối của axit) với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 20%, phần còn lại là nước. Chất axit hóa tùy ý có khả năng làm giảm độ pH của chế phẩm này đến mức có lợi và có thể được sử dụng để axit hóa một lượng nước uống nhỏ khi chế phẩm này được bổ sung vào nước uống theo phương pháp sử dụng được ưu tiên, như được bàn luận cụ thể hơn dưới đây.

Tốt nhất là, bào tử vi khuẩn trong cả hai phương án được ưu tiên ở dạng hỗn hợp bột khô chứa muối (muối bột) với lượng nằm trong khoảng từ 40-60% và bào tử vi khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ 60-40% mà khi kết hợp chiếm khoảng từ 0,1 đến 10% trọng lượng chế phẩm này. Tốt hơn là, chế phẩm này chứa huyền phù bào tử với lượng nằm trong khoảng từ $1,0 \times 10^8$ đến $3,0 \times 10^8$ cfu/ml chế phẩm này, mà khi được pha loãng với nước uống (dùng cho các ứng dụng cung cấp nước cho động vật) tạo ra từ 10^4 đến 10^6 cfu/ml chủng vi khuẩn trong nước uống này. Tốt nhất là, chất làm đặc trong cả hai phương án được ưu tiên là chất còn có vai trò làm chất xơ hòa tan, như gồm xanthan, để tạo ra các lợi ích bổ sung.

Hệ thống và phương pháp để phân phối chế phẩm lợi khuẩn, và tốt hơn là các chế phẩm theo sáng chế và bao gồm chất xơ hòa tan, hoặc các chế phẩm xử lý

khác hoặc dung dịch vô trùng bao gồm bước đóng gói chế phẩm hoặc dung dịch này và đồ chứa và phân phối chúng một cách trực tiếp cho máy trồng cây hoặc nước hoặc trạm cấp sử dụng việc cấp bằng trọng lực hoặc bơm không tiếp xúc dùng pin. Tốt hơn là, chế phẩm hoặc dung dịch được đóng gói vào đồ chứa, tốt nhất là bao hoặc túi có thể xếp lại được với ống được gắn sẵn hoặc có thể gắn vào được (tương tự như túi chứa dịch truyền qua tĩnh mạch hoặc túi Mylar có lỗ phân phối được tích hợp có thể gắn vào ống). Tùy thuộc vào loại đồ chứa được sử dụng, đồ chứa và ống có thể được tiệt trùng hoặc có thể được sử dụng mà không cần tiệt trùng. Bằng cách sử dụng hệ thống theo sáng chế, chế phẩm lợi khuẩn này được bảo vệ không bị nhiễm bẩn bởi các loài vi khuẩn hoặc nấm hoặc các loài tương tự bên ngoài khác, trong khi nó được bảo quản ở địa điểm tiêu thụ trước khi được phân phối cho động vật hoặc thực vật. Chế phẩm hoặc dung dịch được phân phối từ đồ chứa qua ống phân phối cho trạm cấp cho động vật, máng cung cấp nước cho động vật, đường nước uống được điều áp, bể, máy trồng cây, và các loại tương tự. Việc phân phối qua ống được kiểm soát bằng bơm không tiếp xúc hoặc cấp bằng trọng lực với van để kiểm soát dòng chế phẩm. Bơm hoặc van được kiểm soát sao cho dòng chế phẩm có thể được bắt đầu và dừng một cách chọn lọc trong khoảng thời gian nhất định theo nhu cầu để đạt được liều lượng hoặc thể tích xả phù hợp, tùy thuộc vào chế phẩm cụ thể hoặc dung dịch có liên quan và loài động vật hoặc thực vật mà được phân phối chế phẩm hoặc dung dịch này, hoặc đến thời điểm mà liều lượng phù hợp với lịch cho ăn và uống cụ thể. Bơm hoặc van cũng có thể được kiểm soát để đáp ứng lại các kích thích bên ngoài, như sự chuyển động hoặc ánh sáng. Không cần thiết phải xả khí túi có thể xếp lại được, vì vậy các tạp chất trong không khí và vi khuẩn không mong muốn không bị đưa vào đồ chứa thức ăn. Theo một phương án được ưu tiên, van kiểu mở vệt hoặc cơ cấu tương tự được gắn vào đầu ống phân phối để ngăn ngừa tạp chất bất kỳ hoặc vi khuẩn không mong muốn sinh trưởng trong đầu của ống. Cho dù được sử dụng với bơm không tiếp xúc hoặc được cấp bằng trọng lực, tốt hơn là đồ chứa thức ăn được treo ở độ cao đủ phía trên bơm hoặc điểm xả để tạo ra áp suất thủy tĩnh đủ để cấp cho bơm hoặc xả chế phẩm này, và để bảo vệ chúng khỏi bị động vật làm hỏng. Để bảo đảm an toàn cho đồ chứa và bảo vệ nó khỏi các nguy cơ bị làm thủng, có thể tùy ý, đặt

hoặc treo bên trong tủ hoặc vỏ bảo vệ. Hệ và phương pháp để phân phối chế phẩm và dung dịch theo sáng chế là đơn giản và có chi phí thấp và không yêu cầu nguồn nước vô trùng tại chỗ hoặc cung cấp năng lượng điện để hoạt động.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hệ và phương pháp theo sáng chế sẽ được mô tả và giải thích thêm có dựa vào các hình vẽ sau, trong đó:

Fig. 1 là hình chiếu đứng mặt bên theo một phương án của hệ thống phân phối theo sáng chế;

Fig. 2 là hình chiếu đứng mặt bên theo phương án khác của hệ thống phân phối theo sáng chế;

Fig. 3 là hình chiếu đứng mặt bên của đồ chứa khác và ống để dùng cùng với hệ thống phân phối theo sáng chế;

Fig. 4 là hình chiếu phối cảnh phía trước theo phương án được ưu tiên khác của hệ thống phân phối theo sáng chế;

Fig. 5 là hình chiếu phối cảnh phía sau theo phương án của hệ thống phân phối trên Fig. 4;

Fig. 6 là hình chiếu phối cảnh phía trước một phần của hệ thống phân phối trên Fig.4 bên trong vỏ đỡ; và

Fig. 7 là hình chiếu cắt ngang đứng mặt bên của hệ thống phân phối trên Fig.4.

Mô tả chi tiết sáng chế

Chế phẩm lợi khuẩn theo một phương án được ưu tiên của sáng chế bao gồm một hoặc nhiều loài vi khuẩn, chất hoạt động bề mặt, và chất làm đặc, và tùy ý, một hoặc nhiều chất axit hóa, axit hoặc muối hoặc axit để đóng vai trò làm chất bảo quản. Chế phẩm lợi khuẩn theo phương án được ưu tiên khác của sáng chế bao gồm một hoặc nhiều loài vi khuẩn, chất làm đặc, một hoặc nhiều chất axit hóa, axit hoặc muối của axit, và tùy ý, chất hoạt động bề mặt. Theo phương án khác cũng có thể tùy ý, bao gồm chất xơ hòa tan, đến mức chất làm đặc cũng không phải là chất xơ hòa tan hoặc ngoài chất làm đặc bất kỳ là chất xơ hòa tan. Theo phương án khác cũng có thể tùy ý, bao gồm một hoặc nhiều chất khử hoạt tính của nước. Tốt nhất là, chế phẩm theo sáng chế chứa các loài bào tử lợi khuẩn khác nhau đã được

tạo huyền phù, như được mô tả cụ thể hơn dưới đây. Việc sử dụng các loài này ở dạng bào tử làm tăng độ ổn định của các lợi khuẩn trong các điều kiện môi trường khắc nghiệt, cụ thể là sự thay đổi bất thường của nhiệt độ thường xảy ra trong chuồng ngựa, chuồng gia súc, và các môi trường trang trại và nông nghiệp khác.

Chất làm đặc thích hợp được sử dụng trong chế phẩm theo cả hai phương án được ưu tiên. Tốt hơn, nếu chất làm đặc là chất không tách hoặc phân hủy ở các nhiệt độ khác nhau thường tìm thấy trong các môi trường được kiểm soát không theo khí hậu, như chuồng gia súc, trang trại, và nhà trẻ. Chất làm đặc giúp cho việc làm ổn định huyền phù, vì vậy hỗn hợp vi khuẩn vẫn đồng nhất và được phân tán trong toàn bộ thể tích của chế phẩm này và không bị lắng ra khỏi huyền phù. Khi được sử dụng với hệ thống và phương pháp phân phối được mô tả dưới đây, việc này đảm bảo rằng nồng độ của các chất lợi khuẩn được phân bố đều trong toàn bộ đồ chứa sao cho liều lượng chất lợi khuẩn được phân phối vẫn phù hợp hoặc tương đối phù hợp (tùy thuộc vào phương pháp phân phối cụ thể và cơ chế kiểm soát được sử dụng) trong toàn bộ chu kỳ xử lý.

Chất làm đặc được ưu tiên nhất theo phương án bất kỳ là gồm xanthan, mà là polysaccharit gồm có các đơn vị lặp pentasaccharit của glucoza, mannoza, và axit glucuronic và chất xơ hòa tan đã biết. Không giống như một số gồm khác, gồm xanthan rất ổn định trong khoảng nhiệt độ và pH rộng. Gồm xanthan, giống như tất cả các chất xơ hòa tan, giúp làm cân bằng độ pH trong ruột và có khuynh hướng làm chậm việc chuyển động của thức ăn và kéo dài thời gian chuyển tiếp từ miệng đến manh tràng. Việc làm chậm này có thể cho phép bào tử kéo dài thời gian nảy mầm trong dạ dày trước khi đi đến ruột, nhờ đó cho phép sử dụng vi khuẩn dạng bào tử ổn định hơn việc sử dụng vi khuẩn sinh dưỡng mà có thể không sống sót trong các điều kiện môi trường khắc nghiệt hoặc có thể không sống sót trong dạ dày của động vật. Chất làm đặc được ưu tiên khác là gồm acacia, cũng là chất xơ hòa tan đã biết. Các chất làm đặc được ưu tiên khác bao gồm gồm đậu locust, gồm gua và gồm arabic, mà cũng được cho là chất xơ hòa tan. Ngoài các lợi ích của chất xơ hòa tan, các chất xơ này không gắn kết với các khoáng chất và vitamin, và do đó, không hạn chế hoặc gây trở ngại cho việc hấp thụ của chúng và thậm chí có

thể cải thiện việc hấp thụ của một số khoáng chất nhất định, như canxi. Các chất làm đặc khác mà không được coi là chất xơ hòa tan cũng có thể được sử dụng.

Phương án khác có thể tùy ý, bao gồm một hoặc nhiều chất xơ hòa tan, mà tốt hơn là được sử dụng nếu chất làm đặc được sử dụng không phải là chất xơ hòa tan nhưng cũng có thể được sử dụng ngoài chất làm đặc chất xơ hòa tan. Chất xơ hòa tan được phân loại thành disacarit, oligosacarit và polysacarit, và có thể bao gồm Inulin, Oligofructoza, Fructo-oligosacarit (FOS), Galacto-oligosacarit (GOS), trans-Glacto-Oligosacarit (TOS) và Fructo-oligosacarit mạch ngắn (scFOS), Fructo-oligosacarit đậu nành (soyFOS), Gluco-oligosacarit, Glyco-oligosacarit, Lactitol, Malto-oligosacarit, Xylo-oligosacarit, Stachyoza, Lactuloza, Rafinoza. Mannan-oligosacarit (MOS) là chất xơ hòa tan có thể không làm giàu các quần thể vi khuẩn lợi khuẩn, nhưng nó sẽ gắn kết với và loại bỏ các mầm bệnh ra khỏi đường ruột và được cho là kích thích hệ thống miễn dịch.

Tốt hơn, nếu cả hai phương án bao gồm một hoặc nhiều chất axit hóa, axit, hoặc muối của axit để đóng vai trò làm chất bảo quản hoặc để axit hóa chế phẩm này. Các chất bảo quản được ưu tiên là axit axetic, axit xitric, axit fumaric, axit propionic, natri propionat, canxi propionat, axit formic, natri format, axit benzoic, natri benzoat, axit sorbic, kali sorbat, và canxi sorbat. Các chất bảo quản đã biết khác, tốt hơn là các chất bảo quản thực phẩm nói chung được coi là an toàn (generally regarded as safe-GRAS), cũng có thể được sử dụng. Một hoặc nhiều axit được chọn từ các axit hoặc muối của axit cũng có thể được tùy ý bổ sung vào làm chất axit hóa, ngoài lượng bất kỳ được sử dụng làm chất bảo quản. Tùy thuộc vào cơ cấu định liều và môi trường, chất axit hóa tùy ý có thể được sử dụng để axit hóa lượng nước uống nhỏ hơn, như nước trong máng đơn, cỡ nhỏ. Đối với hệ thống nước lớn hơn và gồm nhiều máng hoặc trạm uống nước, ưu tiên sử dụng hệ thống axit hóa riêng biệt do cần một lượng axit hoặc muối hoặc axit lớn hơn để làm giảm độ pH của thể tích nước lớn hơn. Dù không được sử dụng để axit hóa hoàn toàn nước uống, các axit và muối của axit giúp việc làm giảm độ pH của chế phẩm này. Tốt hơn, nếu độ pH của chế phẩm này nằm trong khoảng từ 4,0 đến 7,0. Tốt hơn nữa, nếu nó nằm trong khoảng từ 4,0 đến 5,5 và tốt nhất là khoảng 4,5.

Việc làm giảm độ pH của chế phẩm này có thể có hoạt tính chống vi khuẩn đối với nấm men, nấm mốc, và vi khuẩn gây bệnh.

Một hoặc nhiều chất khử hoạt tính của nước, như natri clorua, kali clorua, hoặc ngô xiro (dung dịch xiro ngô 70%), là tùy ý được sử dụng trong chế phẩm này theo phương án được ưu tiên. Chất khử hoạt tính của nước giúp cho việc ức chế sự phát triển của vi sinh vật, vì vậy bào tử vi khuẩn không bị nảy mầm sớm trong khi chế phẩm này được bảo quản trước thời điểm nó được xả ra nơi tiêu thụ của động vật hoặc thực vật cần được xử lý. Chúng còn giúp cho việc ức chế sự phát triển của vi sinh vật gây ô nhiễm.

Tốt hơn, nếu phương án thứ nhất bao gồm chất hoạt động bề mặt, nhưng nó cũng tùy ý trong phương án thứ hai. Tốt hơn, nếu chất hoạt động bề mặt là chất an toàn cho hệ thống tiêu hóa của động vật, mặc dù các chất hoạt động bề mặt khác có thể được sử dụng với các ứng dụng khác, như phân phối cho thực vật. Tốt nhất, nếu chất hoạt động bề mặt là Polysorbat 80. Mặc dù, các chất hoạt động bề mặt hoặc chất nhũ hóa được phê chuẩn GRAS hoặc AAFCO bất kỳ có thể được sử dụng với phương án bất kỳ, có mối lo là một số động vật có thể không dung nạp tốt tất cả các chất hoạt động bề mặt được phê chuẩn. Bởi vì các lợi ích của chất hoạt động bề mặt là làm ổn định huyền phù vì vậy, cũng có thể thu được hỗn hợp vi khuẩn vẫn đồng nhất và không bị lắng bằng cách sử dụng chất làm đặc, sẽ không cần phải bổ sung chất hoạt động bề mặt vào. Nếu chất hoạt động bề mặt được sử dụng trong chế phẩm này theo phương án thứ hai, tốt hơn là nó được sử dụng với cùng khoảng phần trăm trọng lượng như trong phương án thứ nhất.

Tốt nhất là, loài vi khuẩn được sử dụng trong cả hai phương án là một hoặc nhiều loài từ giống *Bacillus*. Loài vi khuẩn lợi khuẩn được ưu tiên nhất bao gồm các loài sau: *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amylophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus clausii*, *Bacillus firmus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis* var. *natto*, hoặc *Bacillus toyonensis*, nhưng cũng có thể sử dụng loài *Bacillus* bất kỳ được phê chuẩn làm lợi khuẩn trong quốc gia. Tốt hơn, nếu vi khuẩn là ở dạng bào tử, như dạng bào tử ổn định hơn với sự thay đổi bất thường của môi trường, như sự thay đổi của nhiệt độ môi trường. Ngoài ra, so với DFM ở trạng thái sinh dưỡng, bào tử

được cho là có khả năng sống sót trong dạ dày tốt hơn từ khi được động vật ăn đến khi nảy mầm trong ruột, là nơi chúng có lợi. Tốt nhất là, bào tử được sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế là hỗn hợp bột khô bao gồm muối (muối bột) với lượng nằm trong khoảng từ 40-60% và bào tử vi khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ 60-40%. Các bào tử được sấy phun từ chất cô đặc lên men dạng lỏng. Muối được sử dụng để pha loãng bào tử dạng bột được sấy phun nguyên chất đến số đếm bào tử chuẩn trong hỗn hợp bột bào tử cuối cùng. Trong quá trình sản xuất dung dịch lên men, các chủng *Bacillus* khác nhau sẽ phát triển với tốc độ khác nhau, dẫn đến sự thay đổi các số đếm cuối cùng đối với mẻ dung dịch lên men. Dung dịch lên men được ly tâm để cô bào tử trong dung dịch. Tiếp theo, dung dịch đã cô được sấy phun để tạo ra bột chỉ chứa bào tử *Bacillus*. Việc bổ sung muối vào bào tử *Bacillus* dạng bột được sấy phun giúp cho việc chuẩn hóa số đếm hỗn hợp bào tử trên mỗi gam giữa các mẻ với nhau. Cũng có thể sử dụng các dạng bào tử vi khuẩn hoặc hỗn hợp bào tử khác. Tốt nhất là, hỗn hợp bào tử khô được trộn sơ bộ với một phần nước được sử dụng trong chế phẩm này, khoảng từ 3-30% tổng lượng nước, và dung dịch bào tử vi khuẩn thu được được bổ sung vào các thành phần khác, bao gồm lượng nước còn lại. Việc này giúp cho việc phân tán bào tử vi khuẩn trong toàn bộ chế phẩm này.

Tốt hơn, nếu chế phẩm lợi khuẩn theo phương án thứ được ưu tiên nhất theo sáng chế bao gồm bào tử vi khuẩn để tạo ra 10^8 cfu/ml huyền phù bào tử (tốt nhất là nằm trong khoảng từ $1,0 \times 10^8$ đến $3,0 \times 10^8$ cfu/ml chế phẩm, mà, khi được pha loãng trong nước uống tạo ra khoảng 10^4 đến 10^6 cfu/ml nước uống), chất hoạt động bề mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,00005 đến 3,0%, và chất làm đặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,002 đến 5,0%, và tùy ý, một hoặc nhiều axit hoặc muối của axit làm chất bảo quản với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 2,0%. Chế phẩm lợi khuẩn theo phương án thứ hai được ưu tiên theo sáng chế bao gồm bào tử vi khuẩn để tạo ra 10^8 cfu/ml huyền phù bào tử (mà, khi được pha loãng trong nước uống tạo ra khoảng 10^4 đến 10^6 cfu/ml nước uống), chất làm đặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5,0% (tốt hơn là chất còn có vai trò làm chất xơ hòa tan), một hoặc nhiều các chất bảo quản với lượng nằm trong khoảng từ 0,05-0,5%, tùy ý, một hoặc nhiều chất khử hoạt tính của nước với lượng nằm trong

khoảng từ 0,1-20%, và tùy ý, một hoặc nhiều chất axit hóa với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-20%. Phần còn lại của chế phẩm trong cả hai phương án được ưu tiên là nước và tỷ lệ phần trăm ở đây được tính theo trọng lượng. Tốt hơn, nếu sử dụng nước khử ion hoặc cất, để loại bỏ muối hoặc các vi khuẩn bên ngoài, nhưng nước lấy từ vòi hoặc các nguồn nước khác cũng có thể được sử dụng. .

Ví dụ thực hiện sáng chế

Một vài ví dụ về chế phẩm lợi khuẩn theo phương án được ưu tiên theo sáng chế được điều chế và thử nghiệm về các thông số khác nhau. Các chế phẩm này được nêu trong Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1

Thành phần/ Chế phẩm số	1	2	3	4	5	6	7	8
Kali Sorbat	0,33%	0,33%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Axit xitric	0,34%	0,34%	0,1%	0,1%	5,0%	0,1%	0,1%	0,1%
Natri Benzoat	0,33%	0,33%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Axit Benzoic	-	-	-	0,1%	-	0,1%	0,1%	--
Axit Sorbic	-	-	-	0,1%	-	-	0,1%	--
Natri Propionat	-	-	-	-	10,0%	0,1%	-	--
gôm Xanthan	0,2%	0,2%	0,2%	0,3%	0,4%	0,4%	0,5%	0,5%
Natri Clorua	0,2%	0,2%	-	0,2%	-	0,2%	0,1%	0,2%
Natri Clorua	-	-	-	-	-	-	0,1%	0,1%
Hỗn hợp bào tử	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%

Phần còn lại của mỗi chế phẩm là nước (khoảng 1l trong các mẫu này). Nước khử ion được sử dụng trong mỗi chế phẩm, ngoại trừ chế phẩm No. 1, được sử dụng nước lấy từ vòi. Tỷ lệ phần trăm được thể hiện là tính theo trọng lượng. Mỗi chế phẩm được mong muốn có độ pH nằm trong khoảng từ 4,0 đến 5,5, nhưng phát hiện ra rằng một số chế phẩm có trị số độ pH thực thấp hơn mong đợi rất nhiều. Chế phẩm số 1 được mong muốn có độ pH nằm trong khoảng từ 5,0 đến 5,5, nhưng độ pH thực của nó chỉ nằm trong khoảng từ 2,1-2,3, là quá thấp và có thể gây hại cho bào tử, gây ra vấn đề về độ ổn định cho bước đóng gói, và cần phải

tuân thủ các quy định về vận chuyển một cách nghiêm ngặt hơn. Chế phẩm số 1 còn có khả năng đông đặc kém. Chế phẩm số 2 là giống với Chế phẩm số 1, ngoại trừ nguồn nước là khác nhau. Chế phẩm số 2 có độ pH thực nằm trong khoảng từ 2,2-2,3 và còn có khả năng đông đặc kém. Lượng axit và muối của axit trong Chế phẩm số 3 được làm giảm để tăng độ pH và để xác định xem liệu độ đặc được cải thiện trong khi sử dụng cùng lượng chất làm đặc như trong Chế phẩm số 1 và 2. Mặc dù Chế phẩm số 3 được cải thiện hơn Chế phẩm số 1 và 2, nó vẫn có khả năng đông đặc kém và độ pH thực của nó là 6,6, nằm ngoài khoảng trị số đích. Các axit bổ sung được bổ sung vào Chế phẩm số 4 để làm giảm độ pH và chất làm đặc bổ sung được bổ sung vào. Chế phẩm số 4 được cải thiện khả năng làm đặc, nhưng sự cải thiện hơn nữa khả năng làm đặc sẽ là có lợi. Lượng axit trong Chế phẩm số 5 được gia tăng một cách đáng kể, dẫn đến độ pH thực chỉ bằng khoảng 1,0. Lượng axit trong Chế phẩm số 6 bị giảm xuống và chất làm đặc được gia tăng, làm cho chế phẩm quá đặc để nhỏ giọt. Chế phẩm số 7 được gia tăng chất làm đặc và lượng chất khử hoạt tính của nước, nhưng có vấn đề với việc trộn axit benzoic và axit sorbic. Axit benzoic và axit sorbic được loại bỏ trong Chế phẩm số 8. Các chế phẩm số 1-7 cung cấp 2×10^{11} cfu/gm và Chế phẩm số 8 cung cấp 1×10^{11} cfu/gm bào tử vi khuẩn. Trong số các chế phẩm mẫu này, Chế phẩm số 8 là được ưu tiên nhất do nó có khả năng làm đặc thỏa đáng và có độ pH thực vào khoảng $4,5 \pm 0,2$, và sử dụng ít hỗn hợp bào tử hơn.

Tốt hơn, nếu các chế phẩm theo các phương án của sáng chế sử dụng khoảng 0,01% đến khoảng 0,3% hỗn hợp bào tử vi khuẩn và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,03% đến 0,1% hỗn hợp bào tử vi khuẩn. Việc giảm lượng hỗn hợp bào tử được sử dụng sẽ làm giảm một cách đáng kể giá thành của chế phẩm này. Tùy thuộc vào ứng dụng cuối cùng, các lượng hỗn hợp bào tử khác nhau có thể được sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế. Ví dụ, có thể sử dụng hỗn hợp bào tử trong chế phẩm này với tỷ lệ phần trăm nhỏ hơn để dùng cho gà, trong khi có thể sử dụng tỷ lệ phần trăm lớn hơn trong chế phẩm dùng cho lợn.

Thành phần của Chế phẩm 8 được thử nghiệm về thời gian hiệu lực ở các nhiệt độ khác nhau. Mẫu của Chế phẩm số 8 được bọc kín trong túi nilon, như loại được sử dụng trong hệ thống phân phối được ưu tiên như được mô tả dưới đây, và

được bảo quản trong hai tháng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 4-8° C (39-46° F), 30° C (86° F), và 35° C (95° F) để bắt chước khoảng nhiệt độ thông thường mà chế phẩm lợi khuẩn này thường được bảo quản và được sử dụng trong lĩnh vực nông nghiệp. Khi kết thúc tháng đầu tiên của thời gian bảo quản, mỗi mẫu được quan sát và thử nghiệm. Toàn bộ ba mẫu có độ pH vào khoảng 4,5 và đều không có hiện tượng lắng, tách lớp hoặc thay đổi hình thức bất kỳ trong cả ba mẫu, cho thấy các bào tử vi khuẩn vẫn được tạo huyền phù và được phân tán trong toàn bộ chế phẩm này trong thời gian bảo quản. Không có mẫu nào có hiện tượng nhiễm nấm hoặc nhiễm vi khuẩn gram-âm bất kỳ. Vào thời điểm không (khi các mẫu này mới bắt đầu được bảo quản), mỗi mẫu chứa bào tử vi khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ $2,12 \times 10^8$ cfu/ml. Khi kết thúc một tháng thời gian bảo quản, các mẫu chứa bào tử vi khuẩn với lượng $2,09 \times 10^8$ cfu/ml huyền phù bào tử (mẫu có nhiệt độ thấp nhất), $1,99 \times 10^8$ cfu/ml (mẫu có nhiệt độ trung bình), và $2,15 \times 10^8$ cfu/ml (mẫu có nhiệt độ cao). Số đếm vi khuẩn thay đổi một chút ở các mẫu khác nhau, đặc biệt là các mẫu đã được làm đặc; tuy nhiên, các số đếm này được cho là các số đếm so sánh được. Mỗi mẫu được thử nghiệm lại sau khi bảo quản trong hai tháng. Các mẫu này chứa bào tử vi khuẩn với lượng khoảng $2,08 \times 10^8$ cfu/ml (mẫu có nhiệt độ thấp nhất); $2,01 \times 10^8$ cfu/ml (mẫu có nhiệt độ trung bình); và $2,0 \times 10^8$ cfu/ml (mẫu có nhiệt độ cao). Thời gian hiệu lực là khoảng 2×10^8 cfu/ml huyền phù bào tử, vì vậy các mẫu này là trong khoảng thời gian hiệu lực đích sau khi bảo quản trong hai tháng. Kết quả thử nghiệm này chứng minh rằng chế phẩm lợi khuẩn theo phương án được ưu tiên theo sáng chế là ổn định trong một khoảng nhiệt độ, trong đó các bào tử vi khuẩn vẫn sống sót, được tạo huyền phù, và được phân tán trong toàn bộ chế phẩm này. Hỗn hợp bào tử (40-60% là bột bào tử và 60-40% là muối) được sử dụng trong mỗi chế phẩm mẫu là giống nhau, cung cấp ít nhất khoảng 2×10^{11} bào tử/gam. Loài bào tử trong hỗn hợp là *đa chủng Bacillus subtilis* và *Bacillus licheniformis*. Hỗn hợp bột bào tử này được trộn sơ bộ với 100ml nước trong khi khuấy trong 30 phút trước khi bổ sung vào các thành phần khác. Việc trộn sơ bộ với nước giúp cho việc trộn hỗn hợp bào tử với các thành phần khác và phân tán bào tử trong toàn bộ chế phẩm này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hệ thống và phương pháp để phân phối chế phẩm lợi khuẩn, và tốt hơn là chế phẩm lợi khuẩn theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, một cách trực tiếp vào thức ăn hoặc nước uống cho gia súc tại nơi tiêu thụ. Mặc dù ưu tiên sử dụng chế phẩm lợi khuẩn bao gồm một hoặc nhiều loài *Bacillus* theo chế phẩm của sáng chế, hệ thống theo sáng chế có thể được sử dụng với chế phẩm bao gồm các chi khác và loài vi khuẩn khác. Ví dụ, một hoặc nhiều loài từ các chi sau: *Bacillus*, *Bacteriodes*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, và *Propionibacterium* (bao gồm *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amylophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus clausii*, *Bacillus firmus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis* var. *natto*, hoặc *Bacillus toyonensis*, *Bacteriodes ruminicola*, *Bacteriodes ruminicola*, *Bacterioides suis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Pediococcus axitilacticii*, *Pediococcus cerevisiae*, *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus cremoris*, *Enterococcus diacetylactis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus intermedius*, *Enterococcus lactis*, *Enterococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruekii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus curvatus*, *Propionibacterium axitipropionici*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium shermanii*) và/hoặc một hoặc nhiều loài được chọn từ các loài sau: *Leuconostoc mesenteroides*, *Megasphaera elsdenii* có thể được sử dụng cho hệ thống và phương pháp theo sáng chế.

Fig. 1 mô tả một phương án được ưu tiên của hệ thống phân phối 10. Tốt hơn, nếu hệ thống phân phối 10 bao gồm đồ chứa 12, ống 15, bơm không tiếp xúc 20, và bộ điều khiển 22. Tốt hơn, nếu đồ chứa 12 là túi có thể xếp lại được, tương tự như túi tiêm truyền tĩnh mạch, chứa chế phẩm lợi khuẩn này. Tốt hơn, nếu đầu trên 14 của đồ chứa 12 là phần được bịt kín của túi có thể xếp lại được mà qua đó một hoặc nhiều lỗ 26 được tạo ra để thuận tiện cho việc treo đồ chứa 12 bằng móc

hoặc dính ở địa điểm tiêu thụ. Theo cách khác, đồ chứa 12 có thể được treo bằng kẹp hoặc các cơ cấu tương tự và đầu trên 14 có thể bao gồm các mỏm nhô ra ngoài để giúp cho việc giữ chặt đồ chứa 12 vào kẹp đó. Đồ chứa 12 có thể được tiệt trùng, tốt hơn, nếu được tiệt trùng bằng tia UV, trước khi đồ chứa 12 được nạp chế phẩm lợi khuẩn để đảm bảo nó không bị nhiễm bẩn. Một cách tùy ý, không khí có thể được loại bỏ ra khỏi khoảng không phía trên trong đồ chứa, nhưng điều này là không cần thiết. Được gắn vào hoặc có thể gắn vào đầu dưới của đồ chứa 12 là ống 15 có phần thứ nhất 16 được bố trí gần đồ chứa 12 và phần thứ hai 18 được bố trí gần nơi tiêu thụ, tại đó chế phẩm lợi khuẩn sẽ được phân phối. Ống 15 có thể được tích hợp với đồ chứa 12 hoặc được gắn sẵn vào đồ chứa 12, như đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết đến, trước khi vận chuyển đến vị trí sử dụng. Ống 15 cũng có thể được tiệt trùng, tốt hơn, nếu được tiệt trùng bằng tia UV, trước khi vận chuyển. Khi được tích hợp với hoặc được gắn sẵn vào đồ chứa 12, tốt hơn, nếu đầu xa của phần ống 18 được bịt kín bằng nút hoặc nắp tháo ra được, hoặc có thể bao gồm van, làm kín đồ chứa 12 khi nó được nạp chế phẩm lợi khuẩn. Nút hoặc nắp sẽ được tháo ra được hoặc van được mở khi chế phẩm lợi khuẩn này sẵn sàng để được phân phối vào thời điểm sử dụng.

Ống 15 đi qua bơm không tiếp xúc 20, như bơm nhu động, sẽ cho phép chế phẩm lợi khuẩn được bơm từ đồ chứa 12 qua ống 15 để phân phối tại nơi tiêu thụ mà không cần bất kỳ việc tiếp xúc có nguy cơ lây nhiễm với bơm hoặc môi trường bên ngoài, trong đó sử dụng hệ thống 10. Tốt hơn, nếu đồ chứa 12 xếp xuống khi nó bị hút kiệt bởi tác động bơm mà không cần mở lỗ thông không khí. Tốt hơn, nếu bơm 20 được chạy bằng pin sao cho không cần nguồn điện bên ngoài, làm cho có thể bổ sung một cách dễ dàng hệ thống 10 vào các vị trí cho gia súc ăn hoặc uống hiện hành, nhưng cũng có thể được thích ứng để nối với ổ điện hoặc nguồn điện bên ngoài khác.

Tốt hơn, nếu đồ chứa 12 được treo phía trên bơm 20 ở độ cao đủ để tạo ra áp suất cột nước cần để phân phối chế phẩm lợi khuẩn này cho đầu vào trên bơm 20. Tốt nhất là, đầu dưới của đồ chứa 12 sẽ được treo phía trên đầu vào bơm 20 ít nhất là 6 in. Tốt hơn, nếu đầu xa của phần ống 18 bao gồm van “mở vệt” hoặc cơ cấu tương tự để ngăn ngừa sự nhiễm bẩn bất kỳ do việc chảy ngược vào trong ống.

Đầu xa của phần ống 18 còn có thể bao gồm kết cấu xịt hoặc phân tán được thiết kế để phân phối chế phẩm lợi khuẩn này theo kiểu rộng hơn. Kiểu phân tán rộng hơn là được đặc biệt ưu tiên nếu chế phẩm lợi khuẩn này được phân phối vào nước uống tù, máng nước hoặc thức ăn lớn, thức ăn gia súc khô, hoặc vật liệu làm chuồng hoặc ổ của động vật để phân tán chế phẩm này trên diện tích bề mặt lớn hơn. Kiểu phân tán rộng hơn còn có thể tránh được việc bão hòa thức ăn khô bằng hơi ẩm. Đầu xa của phần ống 18 cũng có thể được tách thành nhiều ống hoặc được gắn vào ống góp để thuận tiện cho việc phân phối chế phẩm lợi khuẩn này đến nhiều vị trí, như nhiều máng uống nước bên trong chuồng gia súc.

Tốt hơn, nếu bộ điều khiển 22 được nối với bơm 20 để khởi động định kỳ tác động bơm. Bộ điều khiển 22 có thể chứa một hoặc nhiều cơ chế kiểm soát để kích hoạt bơm 20, như thiết bị bấm giờ đơn giản để khởi động bơm 20 trong khoảng thời gian hoặc chu kỳ đã cho trong khoảng thời gian đã định. Ví dụ, bộ điều khiển 22 có thể là thiết bị bấm giờ được lập trình để khởi động bơm 20 for chu kỳ 60 giây mỗi sáu giờ. Cũng có thể sử dụng các cơ chế kiểm soát khác ngoài hoặc thay cho thiết bị bấm giờ. Ví dụ, máy phát hiện chuyển động có thể được sử dụng cùng với thiết bị bấm giờ để khởi động bơm 20 trong chu kỳ 60 giây khi sự chuyển động được phát hiện trong khoảng thời gian đã định. Cơ cấu này would cho phép chế phẩm lợi khuẩn này được phân phối cho nước uống hoặc thức ăn của động vật khi sự có mặt của động vật được phát hiện bởi sự chuyển động. Điều này có ưu điểm hơn thiết bị bấm giờ chỉ kiểm soát cơ chế, mà có thể phân phối chế phẩm lợi khuẩn này khi không có mặt động vật và có thể dẫn đến việc lãng phí lợi khuẩn. Vì khuẩn trong chế phẩm lợi khuẩn theo sáng chế có thể sống sót trong nhiều giờ sau khi được phân phối, vì vậy chúng dường như vẫn sống sót khi động vật đi tới chỗ lấy thức ăn hoặc nước uống, thậm chí nếu nó được phân phối khi chưa có động vật, do đó phân phối khi động vật có mặt không phải là yếu tố quyết định. Bộ điều khiển 22 cũng có thể được thiết kế để cảm nhận các điều kiện ánh sáng môi trường (như ánh sáng ban ngày hoặc ánh sáng ban ngày nhân tạo, khi động vật thường ăn hoặc uống nhiều hơn) hoặc nhiệt độ, hoặc các biến số khác mà có thể gặp phải tại nơi tiêu thụ. Việc cảm nhận các điều kiện này có thể làm cho

chế phẩm lợi khuẩn được phân phối vào thời điểm khi động vật hoạt động và thức ăn hoặc uống nhiều hơn để tránh lãng phí chế phẩm lợi khuẩn này.

Bộ điều khiển 22 cũng có thể được thiết kế để cảm nhận thẻ RFID, hoặc các kỹ thuật tương tự, được gắn vào động vật. Bộ điều khiển 22 có thể đọc tín hiệu từ thẻ RFID, xác định xem động vật nào xuất hiện, và kích hoạt bơm một cách chọn lọc để phân phối chế phẩm lợi khuẩn này nếu động vật này cần nhận lợi khuẩn. Điều này có thể đặc biệt hữu ích nếu mong muốn cung cấp lợi khuẩn cho các động vật nhất định, nhưng không được cho là cần thiết đối với khác động vật, mà không cần yêu cầu việc dùng viên nang hoặc tiêm riêng biệt. Việc sử dụng thẻ RFID còn có thể cho phép hệ thống này theo dõi thời gian động vật xuất hiện tại điểm ăn hoặc uống nước, mà có thể được sử dụng để tính toán bao nhiêu lợi khuẩn đã được ăn. Cơ chế kiểm soát khác có thể được sử dụng theo sáng chế, như đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết đến. Tốt hơn, nếu bộ điều khiển 22 được chạy bằng pin sao cho không cần nguồn điện bên ngoài, khiến cho dễ bổ sung hệ thống 10 vào các vị trí cho gia súc ăn hoặc uống hiện hành, nhưng cũng có thể được thích ứng để nối với ổ điện hoặc nguồn điện bên ngoài khác. Bộ điều khiển 22 có thể được tích hợp với bơm 20 và không cần phải là một thành phần riêng biệt của hệ thống 10.

Fig. 2 mô tả phương án được ưu tiên của hệ thống phân phối 110. Hệ thống phân phối 110 dựa vào trọng lực để phân phối chế phẩm lợi khuẩn, chứ không phải hệ thống bơm. Tốt hơn, nếu hệ thống phân phối 110 bao gồm đồ chứa 112, ống 115, van 124, và bộ điều khiển 122. Tốt hơn, nếu đồ chứa 112 là túi có thể xếp lại được, tương tự như đồ chứa 12. Tốt hơn, nếu ống 115 bao gồm phần thứ nhất 116 được bố trí gần đồ chứa 112 và phần thứ hai 118 được bố trí gần nơi tiêu thụ, là nơi chế phẩm lợi khuẩn này sẽ được phân phối. Hơn là đi qua bơm không tiếp xúc, như trong hệ thống 10, van 124 được bố trí dọc theo chiều dài của ống 115 (tách phần 116 ra khỏi 118). Các dấu hiệu được mô tả trên đây cho đồ chứa 12 và ống 15 cũng áp dụng được cho đồ chứa 112 và ống 115. Tốt hơn, nếu van 124 là van kẹp, nhưng cũng có thể sử dụng các loại van khác. Việc khởi động van 124 từ vị trí mở sang đóng được kiểm soát bằng bộ điều khiển 122. Các cơ chế kiểm soát khác nhau cho bộ điều khiển 122 là giống với cơ chế cho bộ điều khiển 22. Khi chế

phẩm lợi khuẩn này trong đồ chứa 112 được phân phối, áp suất cột nước sẽ thay đổi và lượng lợi khuẩn được phân phối sẽ thay đổi theo thời gian trừ khi bộ điều khiển 122 được lập trình để giữ van mở lâu hơn hoặc để mở với tần số cao hơn khi thể tích của chế phẩm lợi khuẩn bên trong đồ chứa 112 giảm. Để cho đơn giản, bộ điều khiển 122 có thể được lập trình cho áp suất cột nước mong đợi thấp nhất. Các biến số trong chương trình có thể được đặt theo độ cao tại đó treo đồ chứa 112. Tốt nhất là, đầu dưới của đồ chứa 112 sẽ được treo phía trên mức phân phối tại đầu phần ống 118 ít nhất là 6 in. Tốt hơn, nếu bộ điều khiển 122 được chạy bằng pin sao cho không cần nguồn điện bên ngoài, khiến cho dễ dàng bổ sung hệ thống 110 vào các vị trí cho gia súc ăn hoặc uống hiện hành, nhưng cũng có thể được thích ứng để nối với ổ điện hoặc nguồn điện bên ngoài khác.

Như được thể hiện trên Fig. 3, thể hiện một cấu hình khác về đồ chứa và ống thích hợp để dùng cùng với hệ thống 10, 110, hoặc 210 (như được bàn luận dưới đây). Đồ chứa 212 bao gồm vòi 228 được sản xuất đồng bộ hoặc được gắn sẵn. Tốt hơn, nếu vòi 228 được bịt kín bằng nắp tháo ra được trong quá trình vận chuyển và bảo quản. Tốt hơn, nếu vòi 228 có các đường ren ăn khít với các đường ren bên trong nắp này sao cho có thể tháo nó một cách dễ dàng khi chế phẩm lợi khuẩn bên trong đồ chứa 212 sẵn sàng để phân phối. Theo cách khác, vòi 228 có thể có nút hoặc nắp tháo ra được để bịt kín đồ chứa 212, mà không cần yêu cầu việc sử dụng nắp. Tốt hơn, nếu ống 215 bao gồm đầu trên 216 bao gồm bộ nối 232 được thiết kế để phù hợp với vòi 228 to cho phép sự lưu thông chất lỏng giữa đồ chứa 212 và ống 215 qua vòi 228. Tốt hơn, nếu bộ nối 232 bao gồm các đường ren phù hợp với các đường ren trên vòi 228. Trước khi vận chuyển, tốt hơn là ống 215 được tiệt trùng, tốt hơn, nếu được tiệt trùng bằng tia UV, và cả hai đầu ống 215 được bịt kín để ngăn ngừa sự nhiễm bẩn trong quá trình vận chuyển và bảo quản. Các nút có thể được tháo ra khi ống 215 được gắn vào đồ chứa 212 và sẵn sàng để phân phối chế phẩm lợi khuẩn này. Đồ chứa 212 và ống 215 có thể được sử dụng với các bộ phận khác của hệ thống phân phối 10, 110, hoặc 210, tùy thuộc vào mong muốn ứng dụng cấp bằng bơm hoặc cấp bằng trọng lực. Các dấu hiệu được mô tả trên đây cho ống 15, như van mở vệt hoặc vòi phun, cũng có thể được sử dụng cho ống 215. Còn tốt hơn nữa, nếu đồ chứa 212 bao gồm đầu trên 214 tạo

thành phần được bịt kín qua đó một hoặc nhiều lỗ 226 được tạo ra để thuận tiện cho việc treo đồ chứa 212 bằng móc hoặc đinh ở địa điểm tiêu thụ. Theo cách khác, đồ chứa 212 có thể được treo bằng kẹp hoặc cơ cấu tương tự và đầu trên 214 có thể bao gồm mỏm nhô ra ngoài để giúp cho việc giữ chặt đồ chứa 212 vào kẹp đó.

Như được thể hiện trên Fig. 4-7, là phương án được ưu tiên khác của hệ thống phân phối 210 theo sáng chế. Hệ thống phân phối 210 là tương tự với hệ thống phân phối 110 ở chỗ nó dựa vào trọng lực để phân phối chế phẩm lợi khuẩn hoặc các chất lỏng khác, chứ không phải hệ thống bơm. Hệ thống phân phối 210 được bổ sung ưu điểm là cho phép điều chỉnh thể tích liều bằng cách sử dụng van kiểu pittông được khởi động bằng động cơ đơn giản để thay đổi thể tích liều dựa trên thời gian hoạt động của động cơ này. Tốt hơn, nếu hệ thống phân phối 210 bao gồm đồ chứa 212, van định lượng 234, cơ cấu gắn van 240, động cơ 252, cam 254, và cơ cấu gắn động cơ 264. Đồ chứa 212 là tương tự đồ chứa được thể hiện trên FIG. 3, nhưng có thể sử dụng các đồ chứa và cơ cấu khác để gắn đồ chứa được sử dụng với hệ thống 210, van định lượng 234 và ống phân phối (tương tự như ống 216). Tốt hơn, nếu đồ chứa 212 được treo ở vị trí cao, như đã được bàn luận đối với đồ chứa 112 của hệ thống 110. Đồ chứa 212 bao gồm vòi 228 có thể nối được về mặt lưu thông chất lỏng với van định lượng 234. Tốt hơn, nếu van định lượng 234 là hệ thống pittông dung tích liều bao gồm phần trên 236, phần dưới 235, và pittông 224. Phần trên 236 được gắn vào vòi 228 để tạo thành nút không thấm dịch. Phần trên 236 có thể chứa các đường ren ăn khít với các đường ren trên vòi 228 để nối hai bộ phận với nhau. Dòng chất lỏng từ đồ chứa 212 được điều chỉnh bằng pittông 224, mà nó được khởi động bằng động cơ 252 và cam 254, như được mô tả dưới đây. Mỗi bơm đẩy pittông 224 để phân phối một lượng chất lỏng từ đồ chứa 212. Tốt hơn, nếu phần dưới 235 được thiết kế để cho phép pittông 224 được chèn vào thân của phần dưới 235 và để sự chuyển động trượt của pittông 224 đi vào và ra khỏi phần dưới 235 do pittông 224 được khởi động bằng cam 254 để phân phối một lượng chất lỏng.

Tốt hơn, nếu cơ cấu gắn van 240 bao gồm đế gắn van 242, thanh trượt van 246, và giá đỡ pittông 248. Tốt hơn, nếu đế 242 bao gồm một hoặc nhiều rãnh 244,

trong đó một hoặc nhiều phần nhô ra tương ứng 247 trên thanh trượt van 246 được chèn vào để gắn thanh trượt van 246 vào đế 244 theo cấu hình trượt được. Tốt hơn, nếu giá đỡ pittông 248 được nối với thanh trượt van 246 và được thiết kế để phù hợp với một phần thân của pittông 224, sao cho khi thanh trượt van 246 trượt lên hoặc xuống so với đế 242, pittông 224 trượt lên hoặc xuống tương ứng so với phần dưới 235. Sự chuyển động trượt của thanh trượt van 246 được khởi động bằng cam 254. Tốt hơn, nếu cam 254 bao gồm thân quay tròn 256 và trục 258 được bố trí ở giữa và được nối với thân quay tròn 256 và bộ nối trục thứ nhất 262 ở một đầu và với bộ nối trục thứ hai 260 tại đầu còn lại. Bộ nối trục thứ nhất 262 cho phép trục 258 quay khi thân quay tròn 256 quay. Bộ nối trục thứ hai 260 nối trục cam 258 với thanh trượt van 246 qua khe hở kéo dài 250 trên đế gắn van 242. Cam 254 được nối với động cơ 252 bằng trục truyền động 253. Động cơ 252 và trục truyền động 253 lái thân quay tròn 256 quay, mà nó được chuyển thành chuyển động tuyến tính của thanh trượt van 246 dọc theo chiều dài của khe 250 qua trục cam 258 và bộ nối trục thứ hai 260. Khi thanh trượt van 246 chuyển động lên và xuống so với đế gắn 242, giá đỡ van 248 và do đó, pittông 224 cũng chuyển động lên và xuống, mà nó khởi động việc mở hoặc đóng van 234 để bắt đầu hoặc dừng dòng chế phẩm lợi khuẩn hoặc các chất lỏng khác từ đồ chứa 212. Ống (tương tự như ống 215, mà có thể bao gồm tất cả các dấu hiệu được mô tả trên đây cho ống 15) để dẫn chế phẩm lợi khuẩn này hoặc các chất lỏng khác từ đồ chứa 212 đến điểm phân phối, như máng nước, được bố trí qua lỗ 249 trên giá đỡ 248, để cho phép sự lưu thông chất lỏng qua van 234 khi van 234 ở vị trí mở.

Tốt hơn, nếu động cơ 252 là động cơ bánh răng một chiều đơn giản có cơ cấu định giờ bên trong, nhưng cũng có thể sử dụng các loại động cơ khác. Cơ cấu định giờ khởi động động cơ 252 để làm chuyển động pittông 224 để mở van 234 trong khoảng thời gian đã định và tiếp theo, khởi động lại động cơ 252 để đóng van 234. Theo cách khác, động cơ này có thể chạy liên tục trong một khoảng thời gian, lặp lại việc mở và đóng van 234 cho đến khi liều lượng mong muốn của chất lỏng từ đồ chứa 212 được phân phối, tiếp theo, ngắt cho đến thời gian chu trình đã định tiếp theo. Chu kỳ mở và đóng van 234 có thể lặp lại định kỳ, như 24 giờ một lần, 8 giờ một lần, hoặc khoảng chu kỳ được chọn bất kỳ khác cần cấp liều lượng

lợi khuẩn mong muốn hoặc các chất lỏng khác từ đồ chứa 212. Tốt nhất là, cơ cấu định giờ có thể điều chỉnh bởi người sử dụng hoặc bao gồm nhiều quyền lựa chọn việc định giờ chu kỳ mà có thể được lựa chọn bởi người sử dụng để đạt được sự kích hoạt và phác đồ liều mong muốn. Động cơ 252 cũng có thể được nối riêng với bộ điều khiển, tương tự như bộ điều khiển 122, và một số cơ chế kiểm soát khác nhau giống với bộ điều khiển 22 hoặc 122. Các loại van khác, như van solenoid được kiểm soát bằng thiết bị bấm giờ lập trình được, cũng có thể được sử dụng với hệ thống theo sáng chế để đo liều lượng chất lỏng trong chu kỳ đã cho để đạt được tỷ lệ liều lượng mong muốn.

Cơ cấu gắn động cơ 264 đỡ động cơ 252 và cho phép nó được gắn chặt vào cấu trúc thích hợp bất kỳ trong diện tích mà tại đó chất lỏng được xả ra. Tốt hơn, nếu một hoặc nhiều khe 266 được bố trí trong toàn bộ cơ cấu gắn 264 để cho phép nó được gắn chặt bằng vít hoặc cơ cấu gắn thông thường bất kỳ. Tốt nhất là, hệ thống 210 được bố trí trong vỏ 270 và cơ cấu gắn 264 có thể giữ chặt tấm đáy bên trong của vỏ 270. Vỏ 270 được thể hiện một phần trên FIG. 6. Tốt hơn, nếu vỏ 270 bao gồm các thành 272 ở bề mặt bên cạnh, phía trước, đằng sau, trên đỉnh và dưới đáy, nhưng thành phía trước, trên đỉnh và dưới đáy không được thể hiện trên FIG. 6. Tốt hơn, nếu thành phía trước hoặc trên đỉnh là tháo ra được hoặc cửa hoặc nắp mở được để cho phép tiếp cận phần bên trong vỏ 270 để cho phép thay thế đồ chứa 212 và các bộ phận khác của hệ thống này 210, nếu cần. Tốt hơn, nếu vỏ 270 bao gồm nhiều tai đỡ 274 được kéo dài vào trong từ một hoặc nhiều thành 272, tốt hơn, nếu từ thành bên 272, để giúp cho việc đỡ và giữ chặt đồ chứa 212 bên trong vỏ 270. Tốt hơn, nếu cái hãm vò 276 cũng được cung cấp để cho phép lỏng vò 228 và để giúp cho việc đỡ đồ chứa 212 bên trong vỏ. Móc hoặc kẹp cũng có thể được được bố trí trên thành nóc hoặc gần đầu trên của thành phía sau của vỏ 270 để treo đồ chứa 212 bên trong vỏ 270 bằng cách sử dụng lỗ 226 hoặc bằng cách kẹp vào đầu trên 214 của đồ chứa 212. Vỏ 270 bảo vệ đồ chứa 212 không bị làm thủng do vô tình và có thể tạo ra một số tác dụng bảo vệ động cơ này 252 (hoặc các loại bộ điều khiển khác) khỏi các điều kiện môi trường ở vị trí sử dụng. Tốt nhất là, đồ chứa và bộ điều khiển được sử dụng với hệ thống 10 và 110 được bố trí bên trong tủ hoặc vỏ, như vỏ 270 được thể hiện trên FIG. 6, để tạo ra tác dụng bảo vệ bổ

sung cho các bộ phận này. Tốt hơn, nếu vỏ 270 hoặc các tử khác được bố trí ở vị trí cao (cụ thể là đối với hệ thống 110 và 210, dựa vào việc cấp bằng trọng lực) và được gắn chặt vào thành hoặc cấu trúc tương tự. Các bộ phận khác của hệ thống 10, 110, hoặc 210 cũng có thể được đặt bên trong vỏ 270 hoặc các tử khác.

Đồ chứa 12, 112, và 212 được thiết kế để được loại bỏ và thay thế bằng đồ chứa mới 12, 112, hoặc 212 khi hàm lượng lợi khuẩn được tiêu thụ toàn bộ hoặc gần như toàn bộ trong qua các chu kỳ định liều lặp lại. Tốt hơn, nếu ống 15 và 115 được gắn sẵn vào đồ chứa hoặc được tích hợp với đồ chứa và được loại bỏ một cách tương tự ở đầu chu kỳ đồ chứa. Tốt hơn nữa, nếu ống 215 được loại bỏ và ống 215 mới được sử dụng với mỗi đồ chứa 212 mới, nhưng ống 215 có thể được sử dụng lại với đồ chứa mới nếu muốn. Kích thước và thể tích của đồ chứa thức ăn chứa chế phẩm lợi khuẩn, chế phẩm xử lý hoặc khác dung dịch vô trùng có thể được tính toán theo môi trường sử dụng. Thông thường, đồ chứa 12, 112, hoặc 212 sẽ được định cỡ để chứa 1 lít đến 25 lít chế phẩm lợi khuẩn, chế phẩm xử lý hoặc dung dịch vô trùng khác. Mặc dù liều lượng có thể thay đổi, tùy thuộc vào các điều kiện môi trường, loại cơ cấu cấp được sử dụng, và loại và số lượng động vật có liên quan, việc cung cấp một lít chế phẩm lợi khuẩn theo sáng chế được bổ sung vào nước uống sẽ là đủ để cung cấp cho mỗi con lợn $5,4 \times 10^9$ bào tử mỗi ngày trong 30 ngày hoặc có thể cung cấp cho 2.000 con gà với tỷ lệ 10^6 bào tử/con mỗi ngày trong 50 ngày. Việc này cho phép sử dụng đồ chứa có kích thước nhỏ hơn trong hầu hết các ứng dụng, mà dễ dàng sử dụng bởi một người, nhưng có thể yêu cầu việc thay thế thường xuyên hơn với đồ chứa mới để cung cấp thêm chế phẩm lợi khuẩn. Cũng có thể sử dụng đồ chứa có kích thước lớn hơn và đồ chứa 12, 112, hoặc 212 có thể được đặt bên trong tử hoặc vỏ khác (như vỏ 270 được thể hiện trên FIG. 6) để giúp trợ giúp cho kích thước và trọng lượng của đồ chứa hoặc có thể thay thế bên trong chai hoặc thùng lớn hơn, nếu cần.

Hệ thống 10, 110, and 210 có thể được sử dụng để phân phối lợi khuẩn và/hoặc chế phẩm synbiotic cho thức ăn, nước uống, khu vực ổ hoặc chuồng của động vật. Khi được phân phối cho khu vực ổ và chuồng, chế phẩm lợi khuẩn này bào tử sẽ cạnh tranh với vi khuẩn gây bệnh, và có thể phân hủy các chất hữu cơ, do đó sẽ khử mùi. Tốt nhất là, hệ thống 10, 110, và 210 được sử dụng để phân phối

lợi khuẩn và/hoặc chế phẩm synbiotic cho nước uống của động vật. Thông thường, nước uống được phân phối trong máng bằng dòng nước chảy. Điểm phân phối ở đầu phần ống 18 hoặc 118 hoặc đầu tương tự của ống 215 có thể nằm tại đầu của máng sao cho chế phẩm lợi khuẩn này có thể chảy xuôi dòng để đi đến nhiều vị trí cho động vật uống. Các bộ phận khác có thể được bổ sung vào hệ thống này để gia tăng khả năng kiểm soát thức ăn của lợi khuẩn. Ví dụ, lưu lượng kế để định phần tỷ lệ cấp lợi khuẩn cho lưu lượng nước hoặc ống khuếch tán để góp tỷ phần chế phẩm lợi khuẩn này cho lưu lượng nước có thể được sử dụng. Khi được sử dụng cho trạm uống nước tĩnh, riêng biệt, bộ cảm biến mực nước có thể được kết hợp vào hệ thống. Khi kết hợp với bộ điều khiển, bộ cảm biến nước có thể theo dõi việc uống nước của động vật để xác định lượng lợi khuẩn được ăn. Thông tin này có thể được sử dụng làm một phần của chương trình tối ưu hóa cho công việc chăn nuôi. Loại hệ thống này cũng hữu ích cho vật nuôi trong nhà, thường có bát nước riêng. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được các cải biến cần có để kết hợp các dấu hiệu này.

Về hệ thống 10, lượng hoặc tỷ lệ chế phẩm lợi khuẩn được phân phối hoặc cấp sẽ là hàm của tốc độ bơm, thời gian của bơm chu kỳ, và kích thước ống được sử dụng. Về hệ thống 110, lượng hoặc tỷ lệ lợi khuẩn được phân phối hoặc cấp sẽ là hàm của thời gian mở van, áp suất cột nước, và kích thước ống được sử dụng. Về hệ thống 210, lượng hoặc tỷ lệ lợi khuẩn được phân phối hoặc cấp sẽ là hàm của số lần bơm hoặc thời gian mở van, áp suất cột nước, và kích thước ống được sử dụng. Độ nhớt của chế phẩm lợi khuẩn này còn có thể tác động đến lượng hoặc tốc độ phân phối chế phẩm này. Liều lượng mong muốn của chế phẩm lợi khuẩn này sẽ thay đổi tùy thuộc vào lợi khuẩn được sử dụng và loài động vật hoặc thực vật cụ thể có liên quan. Ví dụ, lợn cỡ lớn hoặc “xuất chuồng” thường được cho là cần một lượng lợi khuẩn cao là có lợi. Lợn có trọng lượng thông thường nằm trong khoảng từ 145 đến 224 pao (65-100kg) sẽ uống trung bình 9 lít nước mỗi ngày. Liều DFM *Bacillus* đề xuất là khoảng 5×10^9 cfu/con lợn/ngày/9 lít nước. Chế phẩm lợi khuẩn, như chế phẩm theo sáng chế, có thể cung cấp khoảng $5,5 \times 10^5$ cfu/ml đến khoảng $6,0 \times 10^5$ cfu/ml. Liều trong cả tháng, một lít chế phẩm lợi khuẩn sẽ cung cấp khoảng 32 ml/ngày và cung cấp số đếm bào tử vào khoảng 6,0

$\times 10^5$ cfu/ml hoặc tổng số $5,4 \times 10^9$ bào tử/ngày – là lượng cần cho mỗi con lợn. Do đó, việc cung cấp một lít sẽ kéo dài khoảng một tháng cho một con lợn trong khoảng trọng lượng này. Lợn nhỏ hơn hoặc gà hoặc các loại động vật khác sẽ thường yêu cầu liều lợi khuẩn nhỏ hơn, mà có thể làm cho việc cung cấp một lít sẽ kéo dài lâu hơn hoặc đủ cho việc cấp liều cho số lượng động vật lớn hơn. Một số yếu tố có thể làm thay đổi con số này, mà chỉ nhằm mục đích ví dụ và không giới hạn phạm vi của sáng chế. Ví dụ, khi được phân phối vào máng nước có dòng nước chảy, lưu lượng nước còn có thể tác động đến liều mà mỗi động vật uống được từ máng này. Do động vật phát triển, liều lợi khuẩn mong muốn cũng gia tăng. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu cách xác định liều mong muốn, và cách điều chỉnh các thông số của hệ thống theo sáng chế để đạt được các liều này, sao cho phân phối lượng chế phẩm lợi khuẩn hữu hiệu cho động vật hoặc thực vật tiêu thụ lợi khuẩn này.

Mặc dù được mô tả sơ bộ trong bản mô tả này về trạm cấp nước và thức ăn cho động vật, hệ thống theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để phân phối lợi khuẩn cho thực vật bằng cách phân phối cho máy trồng cây hoặc đất xung quanh thực vật, bể nước hoặc thùng chứa nước, hoặc cho loài thủy sinh, như trong ao hoặc bể cá. Hệ thống theo sáng chế được thiết kế để có thể được lập trình và tái lập trình một cách dễ dàng tại nơi tiêu thụ để điều chỉnh lượng lợi khuẩn được phân phối để đạt được liều lợi khuẩn mong muốn dựa trên các biến số hiện có.

Nói chung, việc quá liều không phải là vấn đề đối với động vật hoặc thực vật có liên quan, nhưng có thể dẫn đến việc lãng phí chế phẩm lợi khuẩn, do đó làm tăng giá thành có liên quan. Ngoài ra, khi được sử dụng với chế phẩm lợi khuẩn theo sáng chế, vi khuẩn vẫn có thể sống sót trong một vài giờ sau khi được phân phối từ hệ thống, và thậm chí có thể nảy mầm trong nước uống này hoặc ao hoặc bể cá, nếu đó là nơi tiêu thụ mà sẽ phân phối lợi khuẩn. Mặc dù mục đích của sáng chế là đề xuất hệ thống và phương pháp phân phối một cách tối đa và hữu hiệu chế phẩm lợi khuẩn cho động vật hoặc thực vật mong đợi, chứ không phải chế phẩm này sẽ bị lãng phí vì chúng không được tiêu thụ trước khi vi khuẩn không còn sống sót, thời gian phân phối và liều lượng không cần phải chính xác.

Tốt nhất là, hệ thống 10, 110, và 210 được sử dụng để phân phối lợi khuẩn và/hoặc chế phẩm synbiotic cho nước uống cho động vật cùng với nước uống đã axit hóa. Như nêu trên, chế phẩm lợi khuẩn theo sáng chế có thể bao gồm chất axit hóa bổ sung mà có thể được sử dụng để axit hóa nước được phân phối cho động vật. Bởi vì kích thước của đồ chứa lợi khuẩn thường tương đối nhỏ, việc sử dụng đồ chứa chứa chế phẩm lợi khuẩn để axit hóa nước uống chỉ khả thi cho các trường hợp quy mô nhỏ bao gồm máng hoặc trạm uống nước đơn lẻ, cỡ nhỏ. Khi hệ thống cấp nước quy mô lớn hơn được sử dụng, tốt hơn nếu hệ thống axit hóa riêng biệt được sử dụng cùng với hệ thống 10, 110, hoặc 210. Một số sản phẩm axit hóa là sẵn có trên thị trường, như Vevo Vital, Acid LAC, Selko-pH, Lupro-COD NA, và Amasil NA. Nói chung, chúng được sử dụng với hệ thống định liều/bơm, như hệ thống có thể mua được từ Dosatron.

Mặc dù chất axit hóa sẵn có trên thị trường (mà có thể chứa một axit hoặc hỗn hợp các axit hoặc muối của axit) có thể được sử dụng cùng với hệ thống 10, 110, hoặc 210, axit hoặc muối của axit được ưu tiên sử dụng để axit hóa nước uống này sẽ dựa trên hoạt tính chống vi khuẩn của chúng. Ví dụ, axit axetic ức chế sự phát triển của *E. coli* và *Salmonella*; axit propionic và axit sorbic là chất chống nấm (nấm men, nấm mốc) và có hoạt tính chống vi khuẩn đối với *E. coli* (bao gồm ETEC), *Coliforms*, và *Salmonella*; axit lactic còn có hoạt tính chống vi khuẩn cao đối với *E. coli* (bao gồm ETEC), *Coliforms*, và *Salmonella*, tuy nhiên nó có thể được chuyển hóa bằng nhiều loại nấm men và nấm mốc; axit fumaric có hoạt tính chống vi khuẩn đối với *E. coli* (bao gồm ETEC), *Coliforms*, và *Clostridia*; axit xitric và benzoic có hoạt tính chống vi khuẩn đối với *E. coli* (bao gồm ETEC) và *Coliforms*. Nhiều muối thông thường của các axit này, như canxi format, canxi propionat, kali diformat, kali sorbat, natri butyrat, natri benzoat, và natri format, cũng có hoạt tính chống vi khuẩn tương tự. Tốt nhất là, axit được lựa chọn để axit hóa nước uống có độ pH thấp hơn trị số pKa sao cho dạng không phân ly sẽ chiếm ưu thế. Dạng không phân ly là mong muốn vì nó có thể thâm qua thành tế bào của vi khuẩn gây bệnh, mà không cần việc tác động bất lợi đến vi khuẩn có lợi trong chế phẩm lợi khuẩn này. Nhiều trong số các chất axit hóa được bao gồm trong danh sách các chất bảo quản hoặc chất axit hóa được ưu tiên để sử dụng với chế

phẩm lợi khuẩn theo sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được rằng, sự khác nhau về tỷ lệ liều của chất axit hóa được sử dụng, tùy thuộc vào số lượng, loại, tuổi, và kích thước của động vật, các điều kiện môi trường và thời vụ (do động vật sẽ thường dùng nhiều nước trong thời gian nhiệt độ cao và trong thời gian có ánh sáng ban ngày hoặc ánh sáng ban ngày nhân tạo). Tốt nhất là, nước trong hệ thống nước được thử nghiệm để xác định độ pH của nó trước khi bổ sung chất axit hóa bất kỳ vào và lượng chất axit hóa được bổ sung vào được điều chỉnh dựa trên phép đo cơ bản đó. Điều này giúp tránh được việc bổ sung quá nhiều (mà có thể gây hại cho động vật và các thiết bị của hệ thống nước) hoặc quá ít chất axit hóa (mà sẽ loại bỏ các lợi ích cho một trong số hoặc cả hệ thống nước và động vật). Tốt hơn, nếu axit hoặc muối của axit được bổ sung vào nước uống với lượng đủ để đạt được độ pH nằm trong khoảng từ 4,5 đến 6,5, tốt nhất là nằm trong khoảng từ 4,5 đến 5,0.

Một lợi ích bổ sung của việc sử dụng chế phẩm DFM theo sáng chế là nhiều loài *Bacillus*, sẽ sống sót qua đường ruột và vẫn sống sót trong phân ở dạng bào tử hoặc sinh dưỡng. Các vi khuẩn có lợi này trong phân giúp làm giảm mùi đi kèm với chất thải của động vật. Mặc dù chế phẩm xử lý chứa vi khuẩn có thể được áp dụng một cách trực tiếp cho chất thải động vật, như đồng phân, chuồng và ổ để khử mùi, vấn đề thường gặp phải là khó có thể phân phối một cách thỏa đáng và đồng đều các vi khuẩn xử lý trên khắp các bề mặt có chất tạo ra mùi, và cụ thể là để phân bố vi khuẩn xử lý trong toàn bộ đồng phân. Nhờ có việc xử lý vi khuẩn trong phân động vật bằng ứng dụng DFM giúp cho việc phân phối đồng đều evenly các vi khuẩn có lợi trong toàn bộ phân và trong toàn bộ đồng phân hoặc các phương tiện bảo quản.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cũng sẽ hiểu được khi đọc bản mô tả này là có thể thực hiện các cải biến và thay đổi chế phẩm lợi khuẩn và phương pháp và hệ thống để phân phối chế phẩm lợi khuẩn trong phạm vi của sáng chế và dự định là phạm vi của sáng chế được bộc lộ trong bản mô tả này chỉ bị giới hạn bởi cách hiểu theo nghĩa rộng nhất của các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm huyền phù lợi khuẩn ăn được qua đường miệng để điều trị cho động vật, chế phẩm này bao gồm:

nước;

một hoặc nhiều loài *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amylophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus firmus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis* var. *natto*, hoặc *Bacillus toyonensis* ở dạng bào tử;

một hoặc nhiều axit xitric, benzoic, sorbic, fumaric, hoặc propionic hoặc muối của các axit này; và

chất làm đặc;

trong đó chế phẩm này bao gồm ít hơn 1% tổng lượng của một hoặc nhiều axit hoặc muối của axit theo khối lượng của chế phẩm;

trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 4,5 đến 5,5; và

trong đó toàn bộ các thành phần trong chế phẩm này đáp ứng tiêu chuẩn được coi là an toàn (GRAS) của Hoa Kỳ và chế phẩm này được bảo quản ổn định với các vi khuẩn còn lại ở dạng bào tử trong quá trình bảo quản trong ít nhất một tháng.

2. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 4,5 đến 4,7.

3. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó chất làm đặc là một hoặc nhiều chất được chọn từ gồm xanthan, gồm acacia, gồm của hạt cây bồ kết ba gai, gồm guar hoặc gồm arabic.

4. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó chế phẩm này là chất lỏng bao gồm số bào tử vi khuẩn nằm trong khoảng từ $1,0 \times 10^8$ đến $1,0 \times 10^{10}$ cfu/ml chế phẩm, chất làm đặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5,0% khối lượng, và một hoặc nhiều axit hoặc muối của axit với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,5% theo tổng khối lượng.

5. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 4, trong đó chế phẩm này bao gồm hai hoặc nhiều axit trong số các axit xitric, benzoic, sorbic, fumaric, hoặc propionic hoặc muối của các axit này.

6. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 5, trong đó các vi khuẩn ở trong hỗn hợp bào tử vi khuẩn bao gồm natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 40% đến 60% và một hoặc nhiều loài *Bacillus* ở dạng bào tử với lượng nằm trong khoảng từ 40% đến 60%, tỷ lệ phần trăm được tính theo tổng khối lượng hỗn hợp bào tử vi khuẩn.
7. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn bao gồm chất hoạt động bề mặt.
8. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 7, trong đó chất hoạt động bề mặt là polysorbat 80.
9. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 4, trong đó chế phẩm này còn bao gồm chất khử hoạt tính của nước.
10. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 9, trong đó chất khử hoạt tính của nước là một hoặc nhiều chất được chọn từ natri clorua, kali clorua, hoặc dung dịch xiro ngô 70%.
11. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn bao gồm kali clorua với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,3% khối lượng.
12. Chế phẩm theo lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó chất làm đặc là chất xơ hoà tan.
13. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó các vi khuẩn ở trong hỗn hợp bào tử vi khuẩn bao gồm natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 40% đến 60% và một hoặc nhiều loài *Bacillus* ở dạng bào tử với lượng nằm trong khoảng từ 40% đến 60%, tỷ lệ phần trăm được tính theo tổng khối lượng hỗn hợp bào tử vi khuẩn.
14. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 7, trong đó toàn bộ các thành phần trong chế phẩm này được trộn đồng nhất và các bào tử vi khuẩn được tạo huyền phù trong chế phẩm.
15. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó các vi khuẩn bao gồm một hoặc nhiều loài *Bacillus amylophilus*, *Bacillus mesentericus*, hoặc *Bacillus toyonensis* ở dạng bào tử.
16. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó axit hoặc muối của axit bao gồm:
axit xitric;
axit benzoic hoặc natri benzoat; và
axit sorbic hoặc kali sorbat.
17. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 13, trong đó chế phẩm này bao gồm:

- hỗn hợp bào tử vi khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10%;
- axit sorbic, muối của nó, hoặc tổ hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-0,33%;
- axit xitric, muối của nó, hoặc tổ hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-0,34%;
- axit benzoic, muối của nó, hoặc tổ hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-0,33%;
- gôm xanthan với lượng nằm trong khoảng từ 0,2-0,5%;
- chất hoạt động bề mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,00005% đến 3,0%; và
- natri clorua, kali clorua hoặc tổ hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-0,3%,
- toàn bộ các tỷ lệ phần trăm được tính theo khối lượng của chế phẩm.
18. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 17, trong đó tổng lượng axit hoặc muối của chúng là nhỏ hơn hoặc bằng 0,5%.
19. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 13, trong đó hỗn hợp bào tử bao gồm chủng *Bacillus subtilis* và *Bacillus licheniformis* ở dạng bào tử với lượng nằm trong khoảng từ 2×10^8 đến 2×10^{11} bào tử trên gam.
20. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 13, trong đó chế phẩm này bao gồm hỗn hợp bào tử vi khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10%.
21. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 20, trong đó các bào tử được sấy phun từ chất cô đặc lên men dạng lỏng và trong đó chế phẩm này còn bao gồm chất hoạt động bề mặt.
22. Chế phẩm huyền phù lợi khuẩn ăn được qua đường miệng để điều trị cho động vật, chế phẩm này bao gồm:
- hỗn hợp bào tử vi khuẩn chứa muối và một hoặc nhiều loài *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amylophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus firmus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis* var. *natto*, hoặc *Bacillus toyonensis* ở dạng bào tử với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 10%;
- tổng số của một hoặc nhiều axit hoặc muối của axit với lượng nằm trong khoảng từ 0,3% đến 1%; và

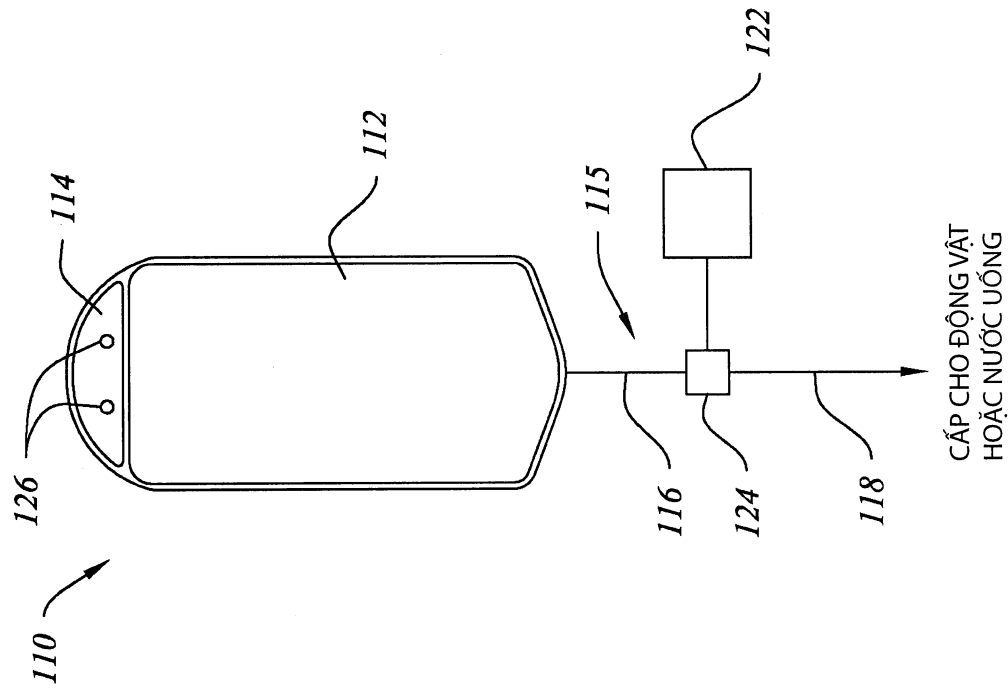
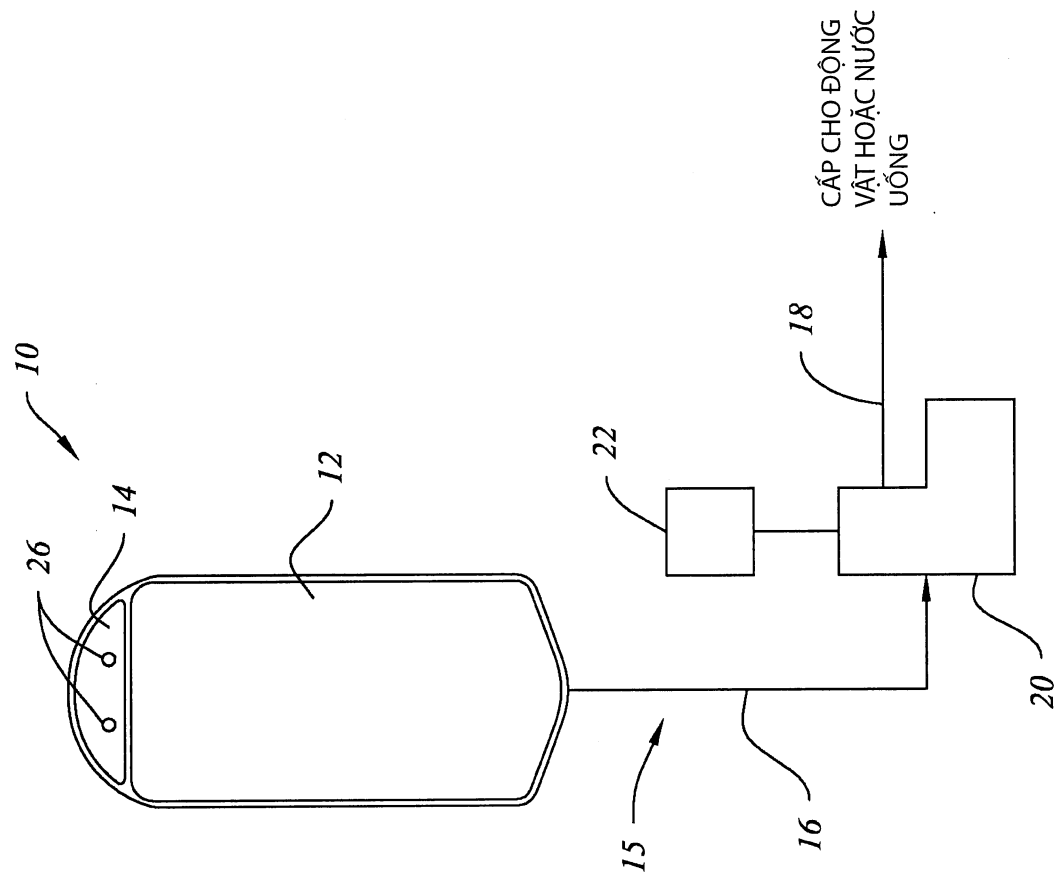
- chất làm đặc với lượng nằm trong khoảng từ 0,2% đến 0,5%;
- natri clorua, kali clorua, hoặc tổ hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-0,3%;
- chất hoạt động bề mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,00005% đến 3,0%; và
- nước với lượng nằm trong khoảng từ 86,2% đến 98,4%;
- trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 4,5 đến 5,5;
- trong đó toàn bộ các thành phần trong chế phẩm này đáp ứng tiêu chuẩn được coi là an toàn (GRAS); và trong đó toàn bộ các tỷ lệ phần trăm được tính theo khối lượng của chế phẩm.
23. Chế phẩm huyền phù lợi khuẩn ăn được qua đường miệng theo điểm 22, trong đó axit hoặc muối của axit là hai hoặc nhiều axit trong số các axit xitric, benzoic, sorbic, fumaric, hoặc propionic hoặc muối của các axit này.
24. Chế phẩm huyền phù lợi khuẩn ăn được qua đường miệng theo điểm 22, trong đó chế phẩm này bao gồm axit sorbic, muối của nó, hoặc tổ hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-0,33%; axit xitric, muối của nó, hoặc tổ hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-0,34%; và axit benzoic, muối của nó, hoặc tổ hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1-0,33%;
- trong đó chất làm đặc là gồm xanthan; và
- trong đó chất hoạt động bề mặt là polysorbat 80.
25. Chế phẩm huyền phù lợi khuẩn ăn được qua đường miệng theo điểm 22, trong đó hỗn hợp bào tử vi khuẩn chứa muối, một hoặc nhiều chủng *Bacillus licheniformis* ở dạng bào tử, và một hoặc nhiều chủng *Bacillus subtilis* ở dạng bào tử.
26. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 22, trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 4,5 đến 4,7.
27. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó chế phẩm này bao gồm ít nhất hai axit hoặc muối của axit và trong đó ít nhất một trong số các axit hoặc muối của axit này là axit sorbic hoặc muối của axit sorbic hoặc axit benzoic hoặc muối của axit benzoic.
28. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 22, trong đó ít nhất một vài vi khuẩn vẫn ở trạng thái bào tử trong chế phẩm này khi nó được động vật ăn.

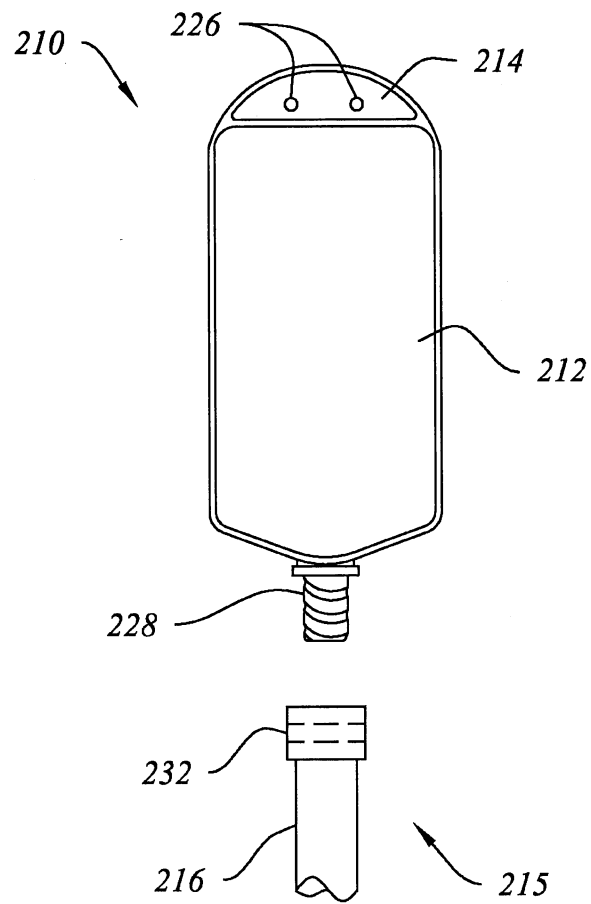
29. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó ít nhất một vài vi khuẩn vẫn sống ở trạng thái bào tử hoặc trạng thái sinh dưỡng trong phân của động vật sau khi ăn chế phẩm này.

30. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 1, trong đó chế phẩm này có thể bảo quản được lên đến hai tháng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 39°F đến 95°F (3,8°C-35°C) mà không bị lắng hoặc phân lớp các thành phần và có số đếm bào tử tương đương với số đếm khi chế phẩm này mới được tạo ra.

31. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 30, trong đó chế phẩm này có thể bảo quản được lên đến hai tháng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 39°F đến 46°F (3,8°C-7,7°C) mà không bị lắng hoặc phân lớp các thành phần và có số đếm bào tử tương đương với số đếm khi chế phẩm này mới được tạo ra.

32. Chế phẩm lợi khuẩn theo điểm 19, trong đó chế phẩm này có thể bảo quản được lên đến hai tháng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 39°F đến 95°F (3,8°C-35°C) mà không bị lắng hoặc phân lớp các thành phần và có số đếm bào tử tương đương với số đếm khi chế phẩm này mới được tạo ra.



*FIG. 3*

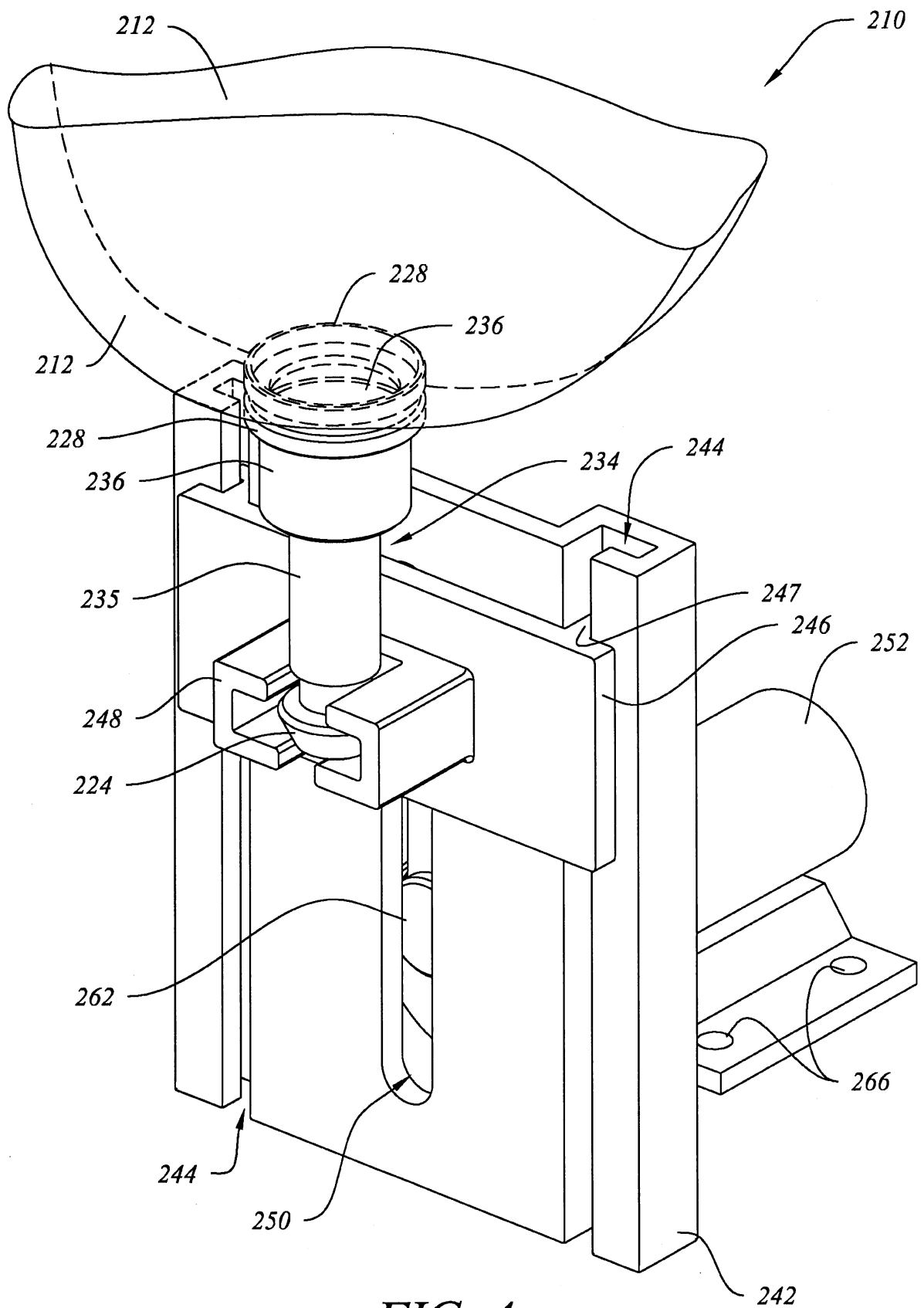


FIG. 4

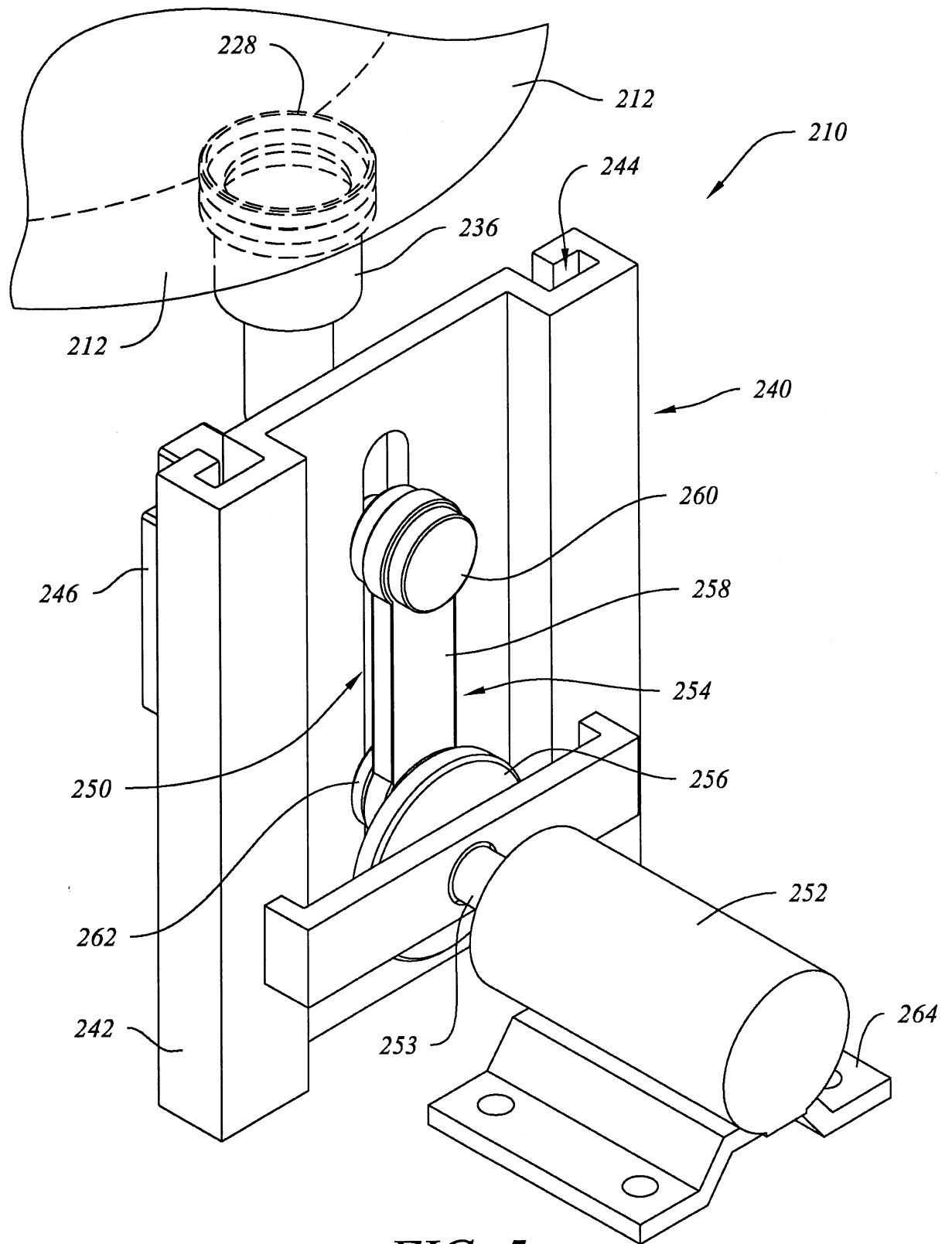


FIG. 5

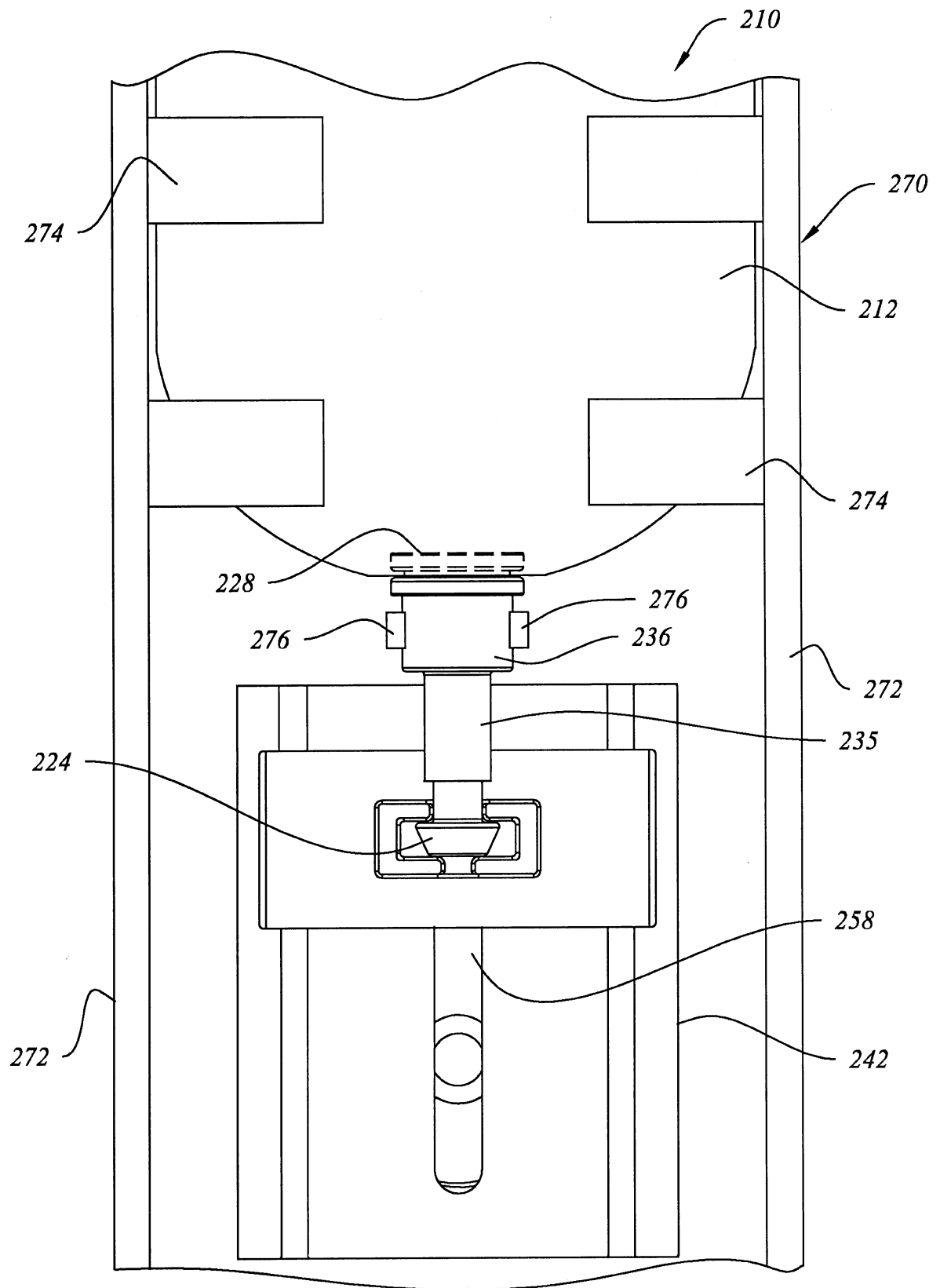


FIG. 6

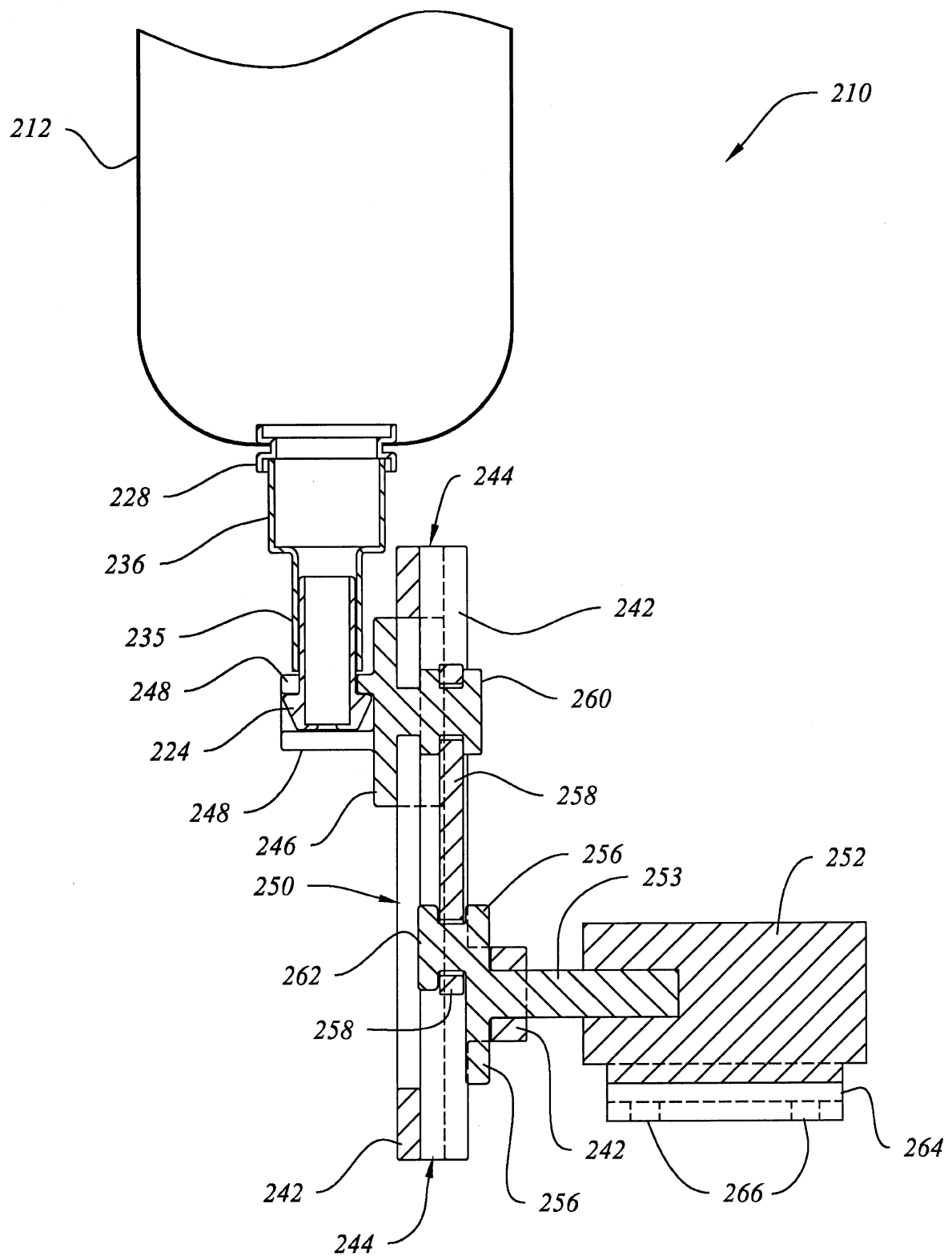


FIG. 7