



(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)



1-0032100

(51)⁷ A23K 1/18; C07C 229/76

(13) B

(21) 1-2016-01018

(22) 17/06/2014

(86) PCT/US2014/042608 17/06/2014

(87) WO2015/047476 02/04/2015

(30) 14/034,851 24/09/2013 US

(45) 25/05/2022 410

(43) 25/10/2016 343A

(73) Zinpro Corporation (US)

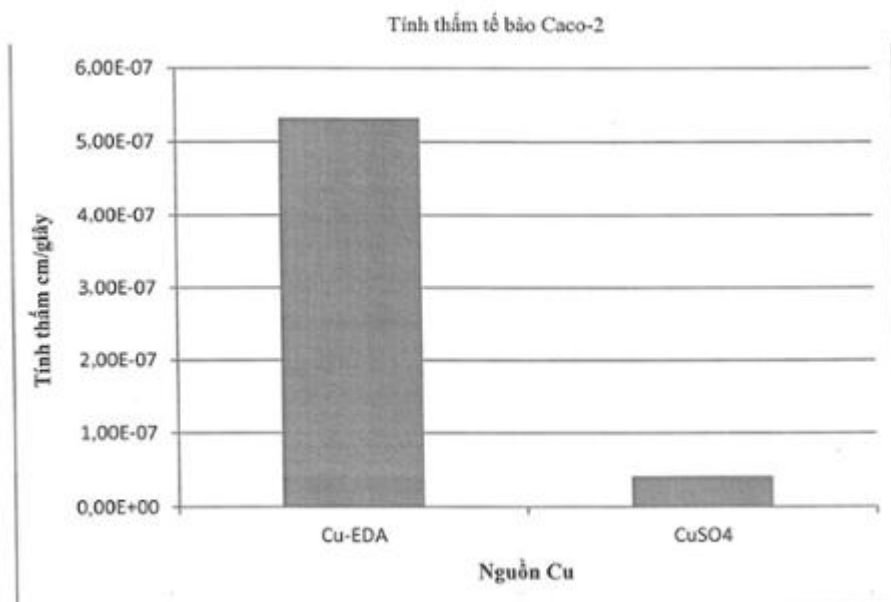
10400 Viking Drive, Suite 240, Eden Prairie, Minnesota 55344, United States of America

(72) Peter A. STARK (US); Cory Shawn KENDING (US).

(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) PHƯƠNG PHÁP BỔ SUNG DINH DƯỠNG BẰNG CÁC CHẤT KHOÁNG VI LƯỢNG CHO CHẾ ĐỘ ĂN CỦA VẬT NUÔI

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp bổ sung dinh dưỡng bằng các chất khoáng vi lượng ở dạng dễ hấp thụ và có tính khả dụng sinh học cao cho chế độ ăn của vật nuôi.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến thành phần và phương pháp bổ sung dinh dưỡng bằng các chất khoáng vi lượng cho chế độ ăn của vật nuôi ở dạng dễ hấp thụ và có tính khả dụng sinh học cao.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sự có mặt của các kim loại cần thiết đôi khi được gọi là khoáng vi lượng, với lượng đủ và ở dạng có giá trị sinh học trong chế độ ăn là cần thiết để duy trì sức khỏe của vật nuôi và gia cầm. Do các kim loại cần thiết như đồng, sắt, mangan, và kẽm thường thiếu hụt trong các nguyên liệu thức ăn thông thường, lượng bổ sung của các chất dinh dưỡng này thường được thêm vào thức ăn của gia súc và gia cầm. Nhiều phụ gia thức ăn chăn nuôi thương mại đã được phát triển để cung cấp các kim loại cần thiết ở dạng dễ hấp thụ về mặt sinh học. Bậc giá trị sinh học của các chất dinh dưỡng thường được gọi là “tính khả dụng sinh học”. Tính khả dụng sinh học của các kim loại cần thiết phụ thuộc vào các tính chất vật lý và/hoặc hóa học của dạng chất mà kim loại có mặt trong chế độ ăn. Tính khả dụng sinh học của các kim loại bổ sung tăng là có lợi vì nó cho phép việc sử dụng các kim loại ở nồng độ thấp trong chế độ ăn mà vẫn đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của vật nuôi, trong khi giảm những tác hại tiềm tàng của các kim loại này ở nồng độ cao đối với vật nuôi và môi trường.

Một số sản phẩm thương mại có sẵn chứa các nguyên tố vi lượng có tính khả dụng sinh học cao hơn nguồn kim loại vô cơ tương ứng. Tính khả dụng sinh học tăng lên là do sự kết hợp của kim loại với phân tử hữu cơ, thường được gọi là phối tử. Sự kết hợp hay liên kết này dẫn đến làm tăng việc hấp thụ sử dụng các kim loại có lợi ở vật nuôi, tức là tăng tính khả dụng sinh học. Sự tăng tính khả dụng sinh học của các nguyên tố thiết yếu trong các sản phẩm này là kết quả của việc tăng độ hòa tan, độ ổn định trong đường ruột, tăng cường sự hấp thụ trong tuần hoàn và/hoặc cải thiện việc sử dụng trong trao đổi chất.

Các dạng sản phẩm khác nhau có chứa các nguyên tố vi lượng kết hợp với phối tử hữu cơ được bán sẵn. Dựa vào tính chất của phối tử được sử dụng trong việc sản xuất các sản phẩm, chúng có thể được phân thành các nhóm khác nhau. Trong một loại sản phẩm, amino axit được sử dụng như là các phối tử hình thành các phức hợp hoặc chelat

với kim loại. Các ví dụ của những sản phẩm này được mô tả trong các patent Mỹ số 3.941.818; 3.950.372; 4.067.994; 4.83.898 4.900.561; 4.948.594; 4.956.188; 5.061.815; 5.278.329; 5.583.243; và 6.166.071. Nhóm các chất phụ gia thức ăn thứ hai bao gồm các muối kim loại của axit cacboxylic chuỗi ngắn chẳng hạn như axit propionic (xem patent Mỹ số 5.591.878, 5.707.679, 5.795.615 và 5.846.581). Nhóm các chất phụ gia nguyên tố vi lượng thứ ba được phân loại theo Các quan chức kiểm soát thức ăn Mỹ (The American Feed Control Officials) như proteinat kim loại và được định nghĩa là “sản phẩm tạo ra từ sự tạo chelat của muối tan với amino axit và/hoặc protein thủy phân một phần”. Các ví dụ của những sản phẩm này được mô tả trong các patent Mỹ số 3.440.054, 3.463.858, 3.775.132, 3.969.540, 4.020.158, 4.076.803, 4.103.003, 4.172.072 và 5.698.724.

Người được ủy quyền chung của đơn hiện tại trong quá khứ đã tổng hợp và sáng chế ra các phức hợp kim loại của các axit như là nguồn các nguyên tố cần thiết có tính khả dụng sinh học cao hơn. Sau đây là các ví dụ về những sáng chế này: Patent Mỹ số 3.941.818; 3.950.372; 4.021.569; 4.039.681; và 4.067.994 công bố với tỉ lệ 1:1 các phức hợp của anpha amino axit, tốt hơn là DL-methionin với các kim loại chuyển tiếp là kẽm, crôm, mangan và sắt. Sự hình thành các phức hợp tương tự với L-methionin được công bố trong patent Mỹ số 5.278.329. Patent Mỹ số 4.900.651 và 4.948.594 công bố phức hợp đồng của anpha amino axit chứa các nhóm amino ở tận cùng. Phức hợp của đồng, mangan, kẽm và sắt với anpha axit cacboxylic hydroxyl béo được công bố trong patent Mỹ số 4.956.188 và 5.583.243. Patent Mỹ số 4.670.269 và 4.678.854 công bố phức hợp của coban với axit polyhydroxy cacboxylic chẳng hạn như axit glucoheptanoic. Phức hợp của L-lysin amino axit với các nguyên tố vi lượng được công bố trong patent Mỹ số 5.061.815. Hiệu quả của các hợp chất được mô tả trong các sáng chế này đã được chứng minh từ các dữ liệu được cung cấp trong một số các bằng sáng chế và trong các công bố khoa học và báo cáo kỹ thuật.

Các sáng chế nêu trên mô tả việc sử dụng các amino axit tự nhiên hoặc tổng hợp tinh khiết. Theo patent Mỹ số 5.698.724, người được ủy quyền đơn hiện tại đã công bố sự tổng hợp của các phức hợp các nguyên tố cần thiết với các amino axit tự nhiên bằng quá trình thủy phân protein. Từ lúc sáng chế này được công bố, một số lượng lớn các nguyên cứu thực tế đã chứng minh rằng các kim loại từ các phức hợp này có khả dụng sinh học cao hơn các kim loại từ các nguồn vô cơ.

Etylen diamin (EDA) được biết đến nhiều trong lĩnh vực hóa học và là khối liên kết cho nhiều hợp chất và polyme. Đây cũng là phối tử quan trọng đối với sự tạo phức kim loại. Như vậy, nó đã được đã biến đổi hóa học để tạo thành một trong những chất tạo chelat tốt nhất và nổi tiếng nhất, EDTA (axit atylendiame tetraxetic). Việc tìm ra phối tử tốt đối với sự tạo phức hóa học của kim loại là hoàn toàn khác so với việc tìm ra phối tử tốt đối với sự chuyển phát dinh dưỡng của kim loại cho các vật nuôi cho hiệu quả năng suất vật nuôi. Có nhiều nhân tố quyết định liệu phối tử có hiệu lực đối với việc cung cấp khoáng chất cho vật nuôi. Thông thường khó có thể đánh giá hiệu quả của phối tử kim loại được cho từ khoáng chất vô cơ là nguồn khoáng dinh dưỡng sống. Nhiều nhân tố xác định liệu những nguồn kim loại vô cơ phù hợp để cung cấp nguồn khả dụng sinh học của các khoáng vi lượng. Chất mang tốt đối với khoáng vi lượng phải là phân tử hữu cơ cung cấp độ tan ở các điều kiện sinh lý, độ ổn định trong axit dạ dày; nó phải có khả năng được hấp thụ nguyên vẹn qua thành ruột, và nó phải giải phóng khoáng vi lượng vào trong cơ thể vật nuôi để sử dụng, chứ không phải là bài tiết nó.

Sự tăng lên về hiệu suất hay hiệu quả của khoáng vi lượng hữu cơ phải được xác định bằng những nghiên cứu lựa chọn cẩn thận để chắc chắn rằng người ta đang xác định đáp ứng hiệu suất so với đáp ứng khoáng chất. Thông thường cần có so sánh hàm lượng của kim loại tương tự so với đối chứng vô cơ. Yêu cầu sự hấp thụ nguyên vẹn phức hợp kim loại - phối tử được coi là khoáng vi lượng hữu cơ. Nếu sự phân ly xảy ra trước khi hấp thụ, điều này sẽ không mang lại kỳ vọng những khác biệt hiệu suất so với các khoáng vô cơ.

Cùng với tất cả điều này trong ý tưởng, khoáng vi lượng hữu cơ hiệu quả phải được hòa tan và ổn định ở các điều kiện sinh lý và khoáng chất phải được hấp thụ nguyên vẹn. Các phối tử chung mà được sử dụng trong lĩnh vực dinh dưỡng vật nuôi là axit propionic, các amino axit, các axit hydroxy, các proteinat, v.v..

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo đó, mục tiêu chính của sáng chế là cung cấp phối tử phân tử nhỏ tốt hơn của các kim loại đồng, sắt, kẽm và mangan ở dạng có thể hấp thụ cao, hòa tan ở các điều kiện sinh lý, ổn định trong axit dạ dày, được hấp thụ nguyên vẹn và có thể giải phóng khoáng cho vật nuôi chứ không phải bài tiết chúng.

Mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp các phối tử kim loại như trên ở dạng dễ xử lý và thực hiện, và dễ sử dụng để bổ sung.

Phương pháp và cách thức để thực hiện các mục tiêu trên cũng như các mục tiêu khác sẽ trở nên rõ ràng từ mô tả chi tiết của sáng chế.

Sử dụng các phức hợp kim loại etylen diamin, tốt hơn là đồng, kẽm, sắt và mangan ở dạng có thể hấp thụ cao đối với dinh dưỡng vật nuôi.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện đồ thị của tính thấm tế bào đối với Cu-EDA.

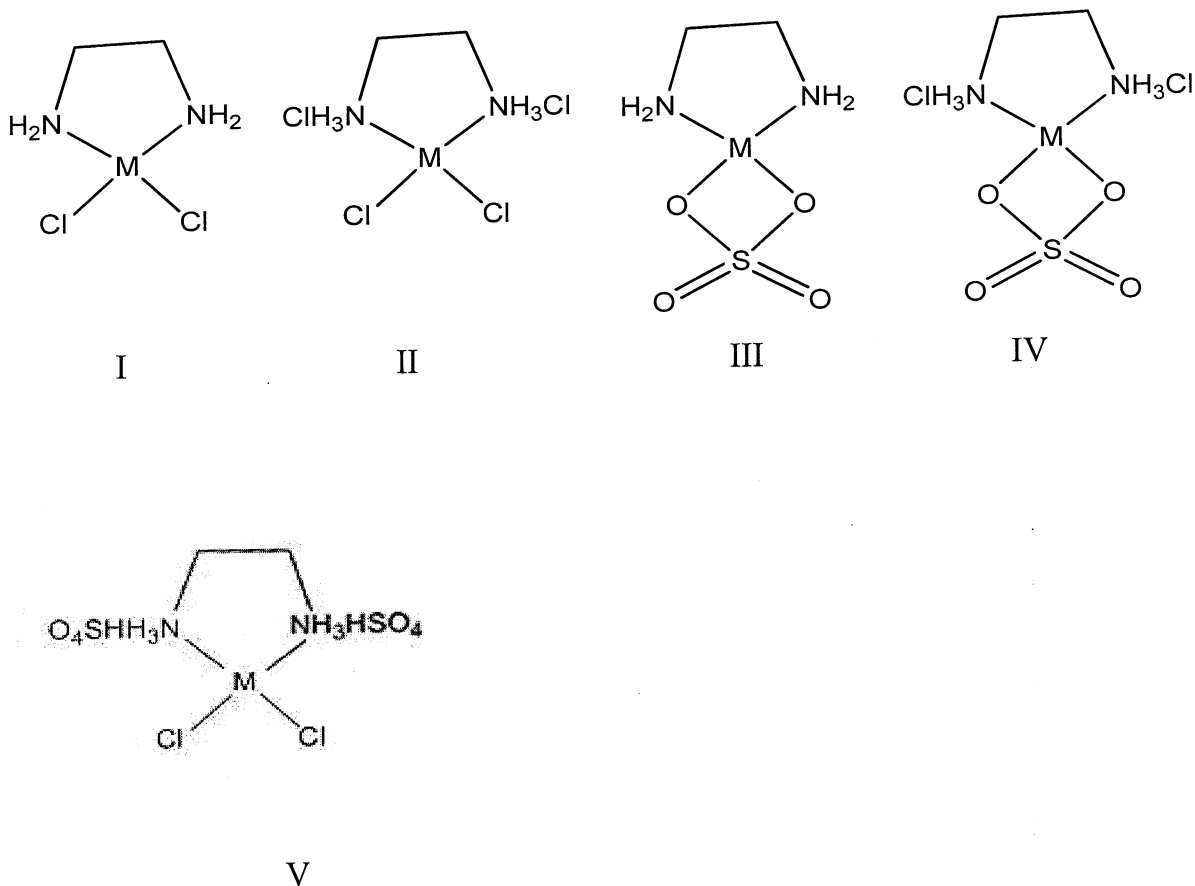
Fig.2 thể hiện đồ thị các kết quả so sánh ở gia cầm đối với Zn-EDA, ZnO và cát.

Fig.3 thể hiện đồ thị so sánh các dữ liệu ở cừu theo ví dụ 9 và 16.

Mô tả chi tiết sáng chế

Điều quan trọng cần lưu ý là các phối tử bán hữu cơ theo sáng chế là etylen diamin đơn, không phải là axit diamin tetraaxetic (ETDA) hay các phân tử lớn hơn khác. Điều này quan trọng vì các phân tử nhỏ hơn có nghĩa là số lượng ít hơn và tăng khả năng hấp thụ thành công với tỉ lệ cao qua đường ruột và tiêu hóa vào trong hệ thống sinh học của vật nuôi, chứ không phải chỉ đơn giản là thông qua hệ thống bài tiết ra ngoài. Tất nhiên, nếu diễn ra sau đó, điều này chỉ đơn giản là lãng phí mà không có bất kỳ lợi ích dinh dưỡng nào đối với vật nuôi.

Theo như hiểu biết của tác giả, EDA không được sử dụng như là phối tử phân phối các kim loại mặc dù nó được biết đến nhiều như là tác nhân tạo phức kim loại. Có một số ưu điểm so với các kỹ thuật trước đó đối với các phối tử kim loại hữu cơ. Kích thước nhỏ cho phép nồng độ kim loại cao hơn so với các phối tử khác. Nó là phức hợp ổn định trong khi một số các dạng phối tử hữu cơ khác tạo thành là quá yếu chẳng hạn như các axit hydroxyl và các axit mạch thẳng. Etylen diamin khắc phục được những vấn đề này. Rất khó để dự đoán chất nào sẽ là khoáng vi lượng hữu cơ hữu ích. Điều này dễ dàng để biết được chất sẽ không hoạt động do các vấn đề về độ tan và độ ổn định nhưng liệu phức hợp có thể được hấp thụ hay phải được xác định thông qua các thí nghiệm. Do kích thước nhỏ, độ hòa tan và sự hấp thụ của nó đáp ứng tất cả các yêu cầu cho một phức hợp khoáng vi lượng hữu cơ hiệu quả. Cấu trúc chung của những phức hợp là như sau:



Ion đối lập sẽ thay đổi tùy thuộc vào nguyên liệu kim loại được sử dụng trong công thức. Ví dụ, ZnCl_2 sẽ có các ion đối lập clorua và ZnSO_4 sẽ có gốc sulfat. Các kim loại tốt hơn là Zn, Fe, Mn, Cu. Tùy thuộc vào các điều kiện tổng hợp mà phức hợp có thể được làm từ các amin tự do cũng như các amin được proton hóa. Những cấu trúc này thể hiện amin được proton hóa (II, IV, và V) cũng sẽ hoạt động. Ion đối lập có thể là bất kỳ anion mà sử dụng để cân bằng điện tích và cung cấp phối tử trung gian. Tuy nhiên, thích hợp và tốt nhất là clorua hoặc anion bisulfat (trong amin như cấu trúc V). Thuật ngữ “ion đối lập” được sử dụng ở đây để đề cập đến cả ion đối lập với kim loại và ion đối lập với nitơ nếu nó được proton hóa.

Có thể sử dụng các sản phẩm trong dạng chất mang tự do hoặc cùng với chất mang không độc. Những chất mang thích hợp bao gồm: canxi hydro phophat, canxi cacbonat, silica, bã lõi ngô, nước sữa, xenluloza và các sợi gỗ khác và đường bột hoặc bất kỳ hỗn hợp các chất ở trên.

Trong các ví dụ sau đây sự điều chế và sử dụng bổ sung dinh dưỡng, được minh chứng đối với các phối tử EDA của kẽm, đồng, sắt và mangan, và chúng được so sánh cùng với các nguồn vô cơ để chứng minh tính khả dụng sinh học đối với các phân tử

nhỏ.

Các ví dụ được thực hiện như là minh họa và không giới hạn. Trong khi chủ đơn chỉ sử dụng EDA cùng với bốn kim loại được đề cập đến ở đây, các dạng khác cũng có thể được thực hiện, chẳng hạn như là crôm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1:

Kẽm EDA clorua

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - kẽm(II) clorua

Hòa tan EDA (100ml, 1,5mol) vào trong 1L nước dI và đun nóng đến 50°C. Bổ sung axit hydrocloric (437,5ml, 5,25mol) vào dung dịch và khuấy trong vòng 15 phút. Bổ sung kẽm oxit (50,3g, 1,5mol) vào một phần và khuấy trong vòng 45 phút hoặc đến khi vẫn hòa tan hết. Sau khi hoàn thành, sấy khô phản ứng trong chân không thu được chất rắn màu trắng (khối lượng thu được là 314g).

ICP:27% Zn

^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 3,23 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1598, 1574, 1493, 1444 cm^{-1}

Phân tích phát hiện: C, 9,79; H, 3,73; N, 11,13; Cl, 51,24.

Ví dụ 2:

Kẽm EDA clorua

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - kẽm(II) clorua

Hoàn tan EDA dihydroclorua (22g, 0,16mol) vào trong 200ml nước dI và đun nóng đến 40°C. Bổ sung kẽm clorua (23,6ml, 0,16mol) vào dung dịch mà đã được hòa tan vào bình riêng biệt. Đun nóng dung dịch trong 2 giờ ở 40°C và khuấy liên tục. Sau khi hoàn thành, sấy khô phản ứng trong chân không thu được chất rắn màu trắng (khối lượng thu được là 34g).

ICP:26% Zn

^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 3,40 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1581, 1486, 1465 cm^{-1}

Phân tích phát hiện: C, 8,97; H, 3,55; N, 10,21; Cl, 52,36.

Ví dụ 3:

Kẽm EDA sulfat

1,2 Diaminoetan dihydrosulfuric - kẽm(II) sulfat

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C. ZnSO₄heptahydrat (143g, 0,5mol) được tạo huyền phù với 50ml nước dī trong các bình riêng biệt và khuấy cùng với thanh khuấy từ trong 5 phút. Bổ sung dịch huyền phù vào trong một phần của bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung dung dịch H₂SO₄ (36N, 28ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 1,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu trắng (khối lượng thu được là 127g).

ICP:20,9% Zn

¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 3,39 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1595, 1573, 1490, 1473 cm⁻¹

Phân tích phát hiện: C, 7,55; H, 3,07; N, 8,64; S, 19,37.

Ví dụ 4:

Đồng EDA clorua

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - đồng(II) clorua

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C. Đồng clorua dihydrat (85,24g, 0,5mol) được tạo huyền phù với 50ml nước dī trong các bình riêng biệt và khuấy cùng với thanh khuấy từ trong 5 phút. Bổ sung dịch huyền phù vào trong một phần của bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung dung dịch HCl (12N, 83ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 1,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu xanh lam nhạt (khối lượng thu được là 100g).

ICP:21,4% Cu

¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 3,24 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1573, 1493 cm⁻¹

Phân tích phát hiện: C, 10,42; H, 3,89; N, 11,76; Cl, 53,40.

Ví dụ 5:

Đồng EDA clorua

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - đồng(II) clorua

Hoàn tan EDA dihydroclorua (100g, 0,76mol) vào trong 600ml nước dī và đun nóng đến 40°C. Bổ sung đồng clorua (100,76, 0,76mol) vào dung dịch mà đã được hòa tan vào bình riêng biệt. Đun nóng dung dịch trong 2 giờ ở 60°C và khuấy liên tục. Sau

khi hoàn thành, sấy khô phản ứng trong chân không thu được chất rắn màu trắng (khối lượng thu được là 178g).

ICP:23,54% Cu

^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 3,17 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1576, 1502 cm^{-1}

Phân tích phát hiện: C, 9,12; H, 3,77; N, 10,36; Cl, 52,73.

Ví dụ 6:

Đồng EDA clorua - CuO

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - đồng(II) clorua

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C . Bổ sung đồng oxit (39,8g, 0,5mol) vào trong một phần bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung dung dịch HCl (12M, 166ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 2,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu vàng nhạt (khối lượng thu được là 143g).

ICP:23,68% Cu

IR (KBr): 1571, 1495 cm^{-1}

Phân tích phát hiện: C, 8,16; H, 3,53; N, 9,18; Cl, 51,73.

Ví dụ 7:

Đồng EDA sulfat

1,2 Diaminoetan dihydro sulfat - Đồng(II) sulfat

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C . Đồng sulfat pentahydrat (124,9g, 0,5mol) được tạo huyền phù với 50ml nước dī trong các bình riêng biệt và khuấy cùng với thanh khuấy từ trong 5 phút. Bổ sung dịch huyền phù vào trong một phần của bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung dung dịch H_2SO_4 (36N, 28ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 1,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu xanh lam (khối lượng thu được là 180g).

ICP:17,9% Cu

^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 3,22 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1616, 1545, 1507, 1486 cm^{-1}

Phân tích phát hiện: C, 6,09; H, 4,22; N, 6,81; S, 15,89.

Ví dụ 8:

Sắt EDA sulfat

1,2 Diaminoetan dihydro sulfat - sắt(II) sulfat.

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C. FeSO₄ heptahydrat (139,01g, 0,5mol) được tạo huyền phù với 50ml nước dī trong các bình riêng biệt và khuấy cùng với thanh khuấy từ trong 5 phút. Bổ sung dịch huyền phù vào trong một phần của bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung dung dịch H₂SO₄ (36N, 28ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 1,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu xanh lá cây nhạt (khối lượng thu được là 153,74g).

ICP: 16,1% Fe

IR (KBr): 1611, 1530, 1509 cm⁻¹

Phân tích phát hiện: C, 6,45; H, 3,50; N, 7,24; S, 20,09.

Ví dụ 9:

Sắt EDA clorua

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - sắt(II) clorua

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C. Sắt(II) clorua pentahydrat (99,4g, 0,5mol) được tạo huyền phù với 50ml nước dī trong các bình riêng biệt và khuấy cùng với thanh khuấy từ trong 5 phút. Bổ sung dịch huyền phù vào trong một phần của bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung dung dịch HCl (12N, 83ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 1,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu xanh lá cây nhạt (khối lượng thu được là 111g).

ICP: 22,7% Fe

IR (KBr): 1617, 1509 cm⁻¹

Phân tích phát hiện: C, 8,72; H, 3,62; N, 9,88; Cl, 50,44.

Ví dụ 10:

Mangan EDA clorua

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - mangan(II) clorua

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C. Mangan clorua pentahydrat (99g, 0,5mol) được tạo huyền phù với 50ml nước dī trong các bình riêng biệt và khuấy cùng với thanh khuấy từ trong 5 phút. Bổ sung dịch huyền phù vào trong một phần của bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung

dụng dịch HCl (12N, 83ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 1,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu hồng nhạt (khối lượng thu được là 119g).

ICP: 21,7% Mn

IR (KBr): 1620, 1616, 1511, 1505 cm^{-1}

Phân tích phát hiện: C, 9,12; H, 3,85; N, 10,42; Cl, 53,65.

Ví dụ 11:

Mangan EDA clorua - MnO

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - mangan(II) clorua

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C. Bổ sung mangan oxit (43,5g, 0,5mol) vào trong một phần bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung dung dịch HCl (12N, 166ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 2,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu hồng (khối lượng thu được là 131g).

ICP: 25,08% Mn

IR (KBr): 1617, 1590, 1509 cm^{-1}

Phân tích phát hiện: C, 8,57; H, 3,61; N, 9,57; Cl, 48,51.

Ví dụ 12:

Mangan EDA sulfat

1,2 Diaminoetan dihydro sulfat - mangan(II) sulfat.

Hòa tan EDA (33ml, 0,5mol) trong 250ml nước dī và đun nóng đến 50°C. MnSO_4 monohydrat (84,5g, 0,5mol) được tạo huyền phù với 50ml nước dī trong các bình riêng biệt và khuấy cùng với thanh khuấy từ trong 5 phút. Bổ sung dịch huyền phù vào trong một phần của bình phản ứng. Làm sạch huyền phù bằng cách bổ sung dung dịch H_2SO_4 (36N, 28ml) đậm đặc. Sau đó đun nóng dung dịch trong 1,5 giờ ở 50°C và rồi làm bay hơi trong lò chân không thu được chất rắn màu hồng (khối lượng thu được là 146g).

ICP: 16,5% Mn

IR (KBr): 1675, 1638, 1609, 1532 cm^{-1}

Phân tích phát hiện: C, 7,09; H, 3,30; N, 8,10; S, 19,78.

Ví dụ 13:

Kẽm EDA clorua - (MeOH)

1,2 Diaminoetan - kẽm(II) clorua

Hòa tan kẽm(II) clorua (102g, 0,75mol) trong 800ml metanol ở 60°C tạo thành dung dịch trong. Do tính chất tỏa nhiệt của phản ứng, nên bổ sung từ từ etylendiamin (50ml, 0,75mol) vào dung dịch. Ngay lập tức dung dịch kết tủa tạo thành chất rắn màu trắng nhạt và khuấy dịch nổi thêm một giờ. Lọc và sấy khô chất rắn màu trắng trong lò chân không (khối lượng thu được là 115g).

^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 3,01 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1573 cm^{-1}

ICP: 32,7% Zn

Phân tích phát hiện: C, 12,34; H, 4,19; N, 14,2; Cl 35,83

Ví dụ 14:

Đồng EDA clorua - (MeOH)

1,2 Diaminoetan - đồng(II) clorua

Hòa tan đồng(II) clorua dihydrat (56g, 0,33mol) trong 800ml metanol ở 60°C tạo thành dung dịch màu xanh ngọc. Do tính chất tỏa nhiệt của phản ứng, nên bổ sung từ từ etylendiamin (22ml, 0,33mol) vào dung dịch. Ngay lập tức dung dịch kết tủa tạo thành chất rắn màu xanh trời nhạt và khuấy dịch nổi thêm một giờ. Lọc và sấy khô chất rắn màu xanh da trời nhạt trong lò chân không (khối lượng thu được là 61g)

^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 3,16 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1570 cm^{-1}

ICP: 33,4% Cu

Phân tích phát hiện: C, 12,44; H, 4,13; N, 14,14; Cl 36,16

Ví dụ 15:

Mangan EDA clorua - (MeOH)

1,2 Diaminoetan - mangan(II) clorua

Hòa tan mangan(II) clorua (55g, 0,44mol) trong 500ml metanol ở 60°C tạo thành dung dịch màu nâu nhạt. Do tính chất tỏa nhiệt của phản ứng, nên bổ sung từ từ etylendiamin (29,4ml, 0,44mol) vào dung dịch. Ngay lập tức dung dịch kết tủa tạo thành chất rắn màu nâu nhạt và khuấy dịch nổi thêm một giờ. Lọc và sấy khô chất rắn màu xanh da trời nhạt trong lò chân không trước khi phân tích (khối lượng thu được là 67g).

IR (KBr): 1591, 1510 cm^{-1}

ICP: 22% Mn

Phân tích phát hiện: C, 15,08; H, 4,84; N, 13,28; Cl 30,77

Ví dụ 16:

Sắt EDA clorua - (MeOH)

1,2 Diaminoetan - sắt(II) clorua (20788 - 115) - MeOH

Hòa tan sắt(II) clorua tetrahydrat (50g, 0,25mol) trong 500ml metanol ở 60°C tạo thành dung dịch màu xanh lá cây đậm. Do tính chất tỏa nhiệt của phản ứng, nên bổ sung từ từ etylendiamin (16,8ml, 0,25mol) vào dung dịch. Ngay lập tức dung dịch kết tủa tạo thành chất rắn màu xanh lá cây đậm và khuấy dịch nổi thêm một giờ. Sau khi lọc và sấy khô trong lò chân không, chất rất mà xanh lá cây đậm chuyển thành chất rắn màu đỏ đậm (khối lượng thu được là 38g).

^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 3,17 (bề rộng s, 4H)

IR (KBr): 1510 cm^{-1}

ICP: 26,5% Fe

Phân tích phát hiện: C, 12,16; H, 5,03; N, 10,89; Cl 32,31

Ví dụ 17:

Kẽm EDA-clorua sulfat

1,2 Diaminoetan dihydroclorua - kẽm(II) sulfat

Hoàn tan EDA hydroclorua (22g, 0,16mol) vào trong 100ml nước dī và đun nóng đến 50°C. Bổ sung kẽm sulfat heptahydrat (50,3g, 0,17mol) vào dung dịch. Dung dịch được khuấy ở 50°C thêm 2 giờ. Sau khi hoàn thành, sấy khô phản ứng trong chân không thu được chất rắn màu trắng (khối lượng thu là 58g).

ICP: 22,5% Zn

IR (KBr): 1595, 1574, 1491, 1474 cm^{-1}

Ví dụ 18:

Chuyển Cu^{2+} vào trong dung dịch đệm muối Hank (Hanks Buffered Salt Solution - HBSS) pH từ 5,5 đến 7,4 ở 37°C. Nồng độ Cu^{2+} là 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Mỗi điểm dữ liệu là giá trị trung bình của ba giá trị xác định. Sử dụng mẫu môi trường tế bào Caco-2 (ung thư tuyến biểu mô đại trực tràng không đồng nhất ở người - heterogeneous human epithelial colorectal adenocarcinoma), mà được nhận biết bởi FDA để mô tả kiểu hấp thụ thuốc. Nạp dung dịch thử nghiệm với các nồng độ thích hợp của sản phẩm ở trên mặt đỉnh (phần tử cho). Các mẫu được cho (2500 μL) và mẫu tiếp nhận được giữ tại 0, 3 và 6 giờ sau đó bằng cách bổ sung 2500 μL dung dịch cho mới vào trong bên cho hoặc 2500 μL đệm mới vào trong bên nhận. Hàm lượng kim loại được đo bằng ICP-OES.

Fig.1 thể hiện kết quả bằng đồ thị và chứng tỏ ưu thế rõ ràng của Cu-EDA hơn CuSO₄.

Ví dụ 19:

Thử nghiệm trên cừu

Cho cừu viên thuốc 250mg chứa kẽm ở dạng ZnSO₄ tại thời điểm 0. Sau đó 6 giờ, cho chúng viên thuốc khác không chứa kẽm (cát) ở dạng kẽm oxit hoặc Zn-EDA. Nồng độ kẽm huyết thanh cao nhất và cao hơn trong khoảng thời gian dài hơn với Zn-EDA so với các điều trị khác. Các kết quả đánh giá được trình bày trong Fig.2.

Ví dụ 20:

Thử nghiệm với gia cầm

Các vật nuôi là gà trống Cobb. Thử nghiệm được bắt đầu với vật nuôi 1 ngày tuổi. Sử dụng ZnSO₄ như là mẫu so sánh với 80ppm kẽm từ ZnSO₄. Zn-EDA thay thế 40ppm kẽm, như vậy có 40ppm Zn từ ZnSO₄ và 40ppm Zn từ Zn-EDA và được so sánh với 80ppm Zn từ ZnSO₄. Sử dụng máy phân tích các chế độ ăn thực tế đối với gà. Chúng chứa 500ftu phytaza và enzym NSP (không phải là enzym phân hủy polysaccharit dạ dày). Mặt phẳng dinh dưỡng được tạo mục tiêu là ở số phần trăm thống kê AgriStat's 75th. Thử nghiệm được thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên. Lặp lại 12 lần đối với mỗi điều trị và mỗi lần lặp lại thực hiện với 21 con gia cầm.

Bảng 1 sau đây cho thấy các dữ liệu đại diện cho thử nghiệm với gia cầm là gà trống Cobb. Điều đó chứng tỏ cách thức có ý nghĩa thống kê cải thiện sự chuyển hóa thức ăn và giảm tỉ lệ tử vong khi thực hiện sáng chế.

Bảng 1:

Điều trị	Trọng lượng cơ thể (Kg)	Thức ăn chuyển hóa	Tỉ lệ tử vong, %
Kẽm sulfat ^a	2,212	1,531	4,71
Zn-EDA ^{bc}	2,200	1,500	1,81
Giá trị-P	0,160	0,031	0,214

^a lượng kẽm bổ sung trong chế độ ăn = 80ppm

^b thay thế 40ppm Zn từ nguồn kẽm sulfat

^c hàm lượng Zn trong ZnEDA là 24,1

Trong các ví dụ sau đây, tiêm viên thuốc cho cừu như ở Ví dụ 19 và sau đó đo sự hấp thụ máu ở các khoảng thời gian khác nhau. Đối với một số lý do khoảng nồng độ

tại 30 giờ dường như là điểm được quan sát tốt nhất đối với sự khác biệt dựa trên các thí nghiệm trước đó với EDA.

Ví dụ 21:

Thử nghiệm Fe-EDA (Ví dụ 9) và Fe-EDA (Ví dụ 16) đối với sự hấp thụ sắt trong máu so sánh với việc tiêm thuốc chứa FeSO_4 . Có thể nhìn thấy trong Fig.3, các mẫu Fe-EDA tốt hơn ở mọi khoảng so với sắt sulfat vô cơ, đáng chú ý nhất là tại 30 giờ.

Ví dụ 22:

Thực hiện các thử nghiệm tương tự như trong Ví dụ 19 và 21 với MnSO_4 so sánh với Mn-EDA của Ví dụ 10. Tại tất cả các điểm hấp thụ magan trong máu ở cừu nồng độ nhỏ hơn các phối tử thử nghiệm khác. Điều này có thể là đặc trưng của chính Mn. Tuy nhiên, dữ liệu tại 30 giờ đã cho thấy sự khác biệt đáng kể so với MnSO_4 vô cơ.

Thời điểm 30 giờ

MnSO_4 24

Mn-EDA (Ví dụ 10) 33

Theo như trên, có thể thấy rằng sáng chế đã hoàn thành tất cả các mục tiêu đã định.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp bổ sung dinh dưỡng bằng các chất khoáng vi lượng cho chế độ ăn của vật nuôi bao gồm:

cung cấp cho vật nuôi một lượng bổ sung khoáng vi lượng nhỏ nhưng hiệu quả của phối tử kim loại etylen diamin (EDA) có công thức:



trong đó M là kim loại được chọn từ nhóm bao gồm kẽm, sắt, đồng và mangan, EDA là etylen diamin có chứa kim loại, X đại diện cho ion đối lập được chọn để cung cấp cho kim loại trung tính và/hoặc phối tử.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vật nuôi là gia súc hoặc gia cầm.
3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó trước khi cho ăn, trộn phối tử trung tính etylen diamin với chất mang không độc.
4. Phương pháp theo điểm 3, trong đó chất mang được chọn từ nhóm bao gồm đường, chất lên men có thể hòa tan, hạt thức ăn, bột lõi ngô, xenluloza, và nước sữa.
5. Phương pháp theo điểm 4, trong đó lượng bổ sung của phức hợp kim loại nêu trên cho chế độ ăn phải đủ để đáp ứng nhu cầu cần thiết hằng ngày của vật nuôi đối với các kim loại chọn lọc.

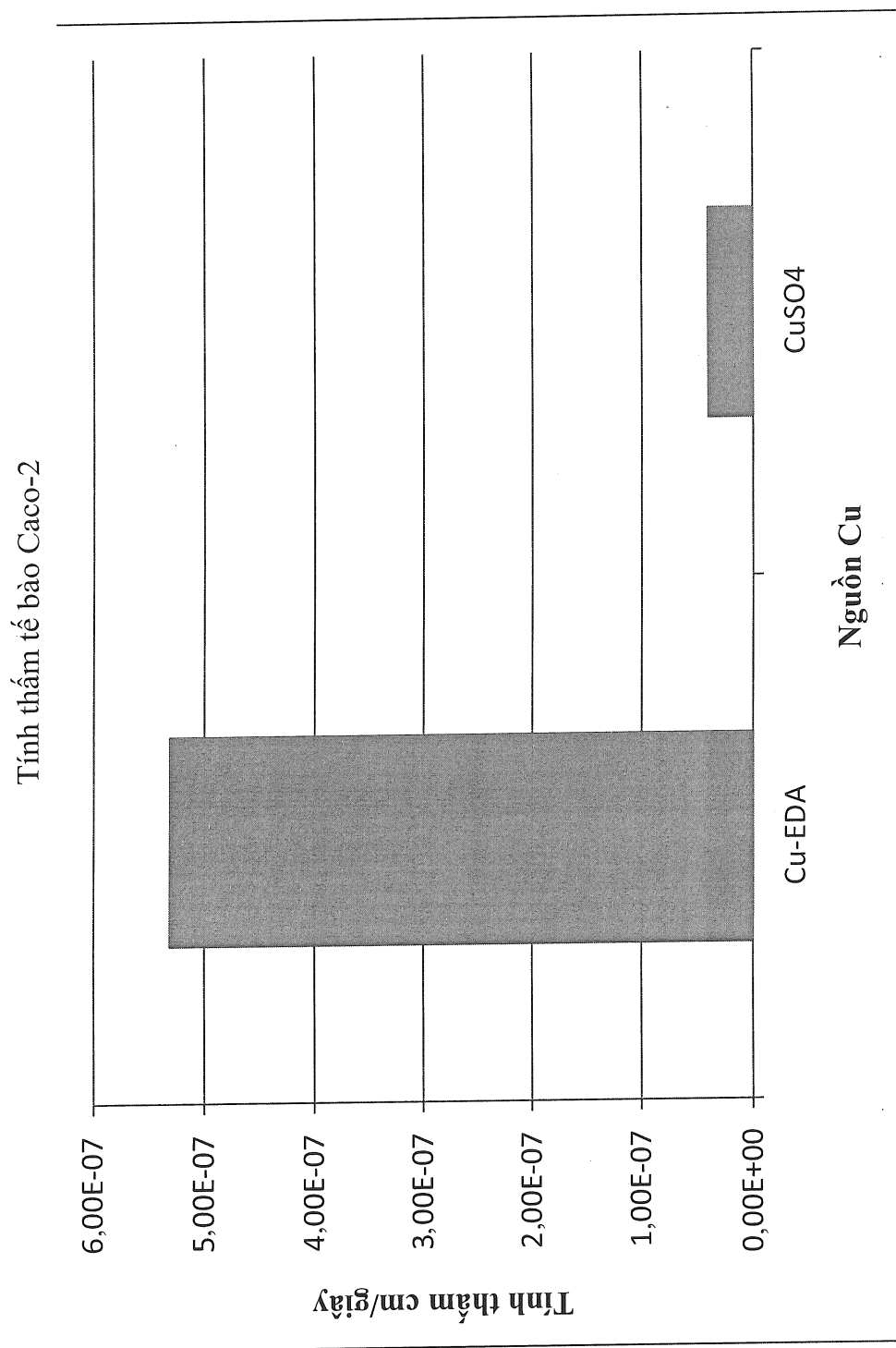


Fig.1

Thử nghiệm trên cừ

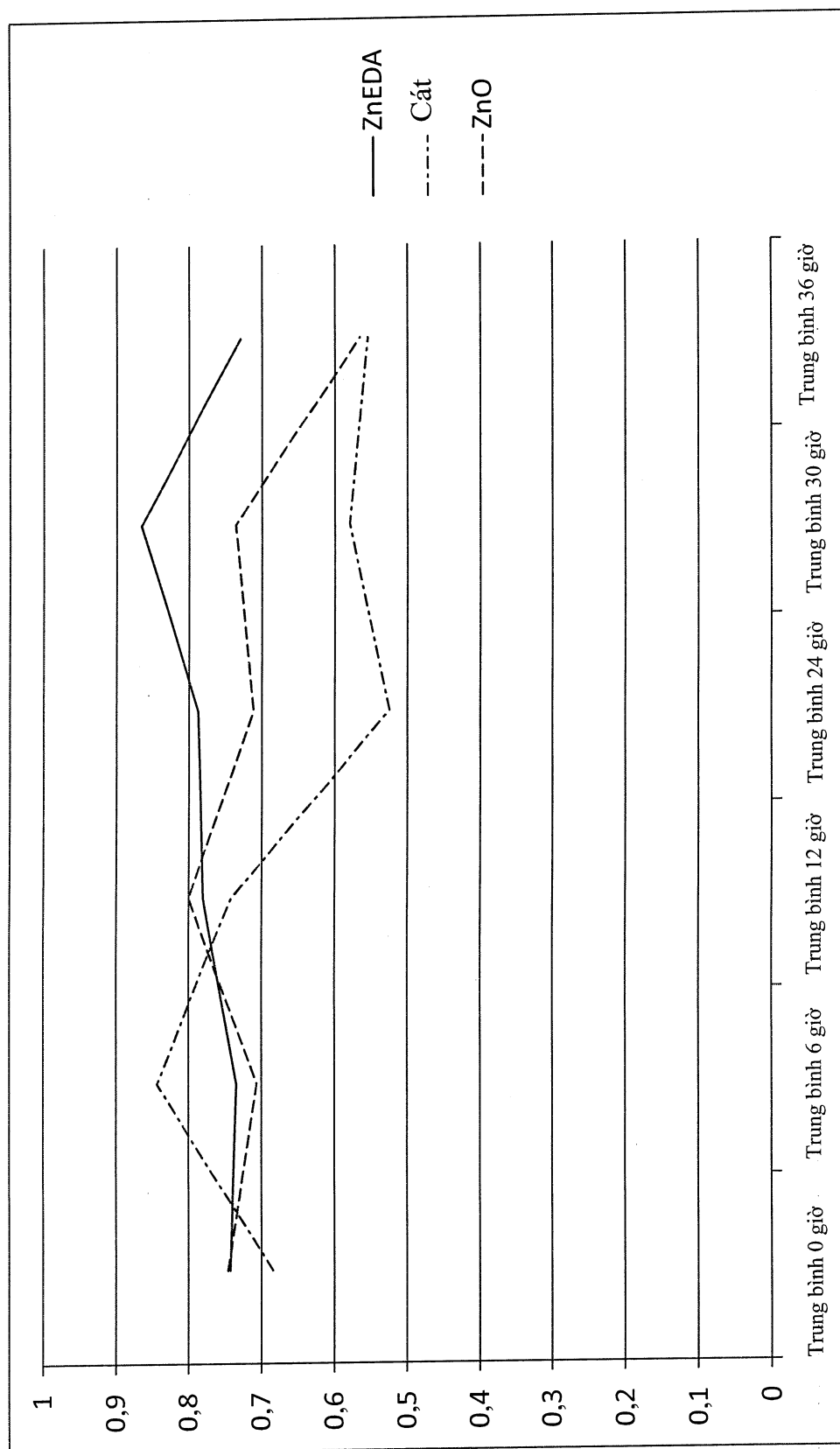


Fig.2

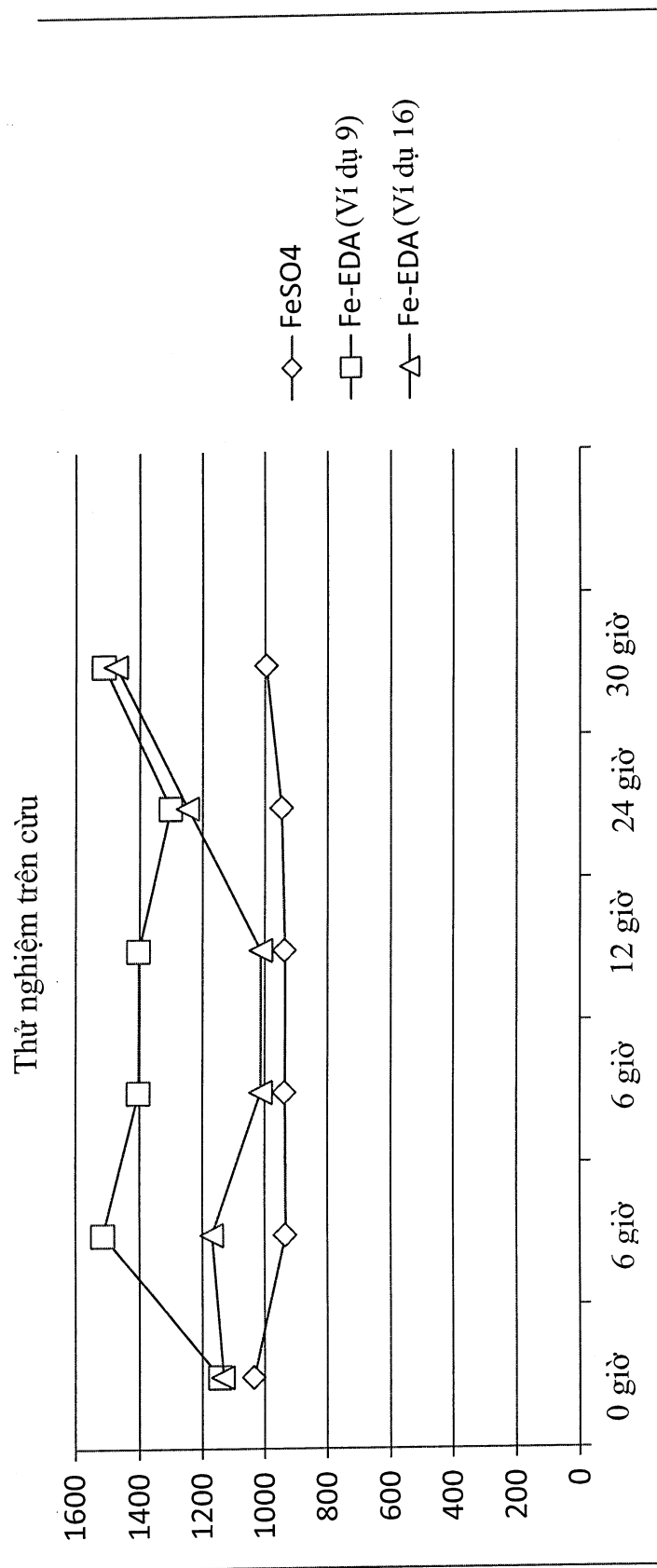


Fig.3