



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101511363 B

(45) 授权公告日 2013. 10. 02

(21) 申请号 200780033462. 1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2007. 06. 29

A61K 31/47(2006. 01)

(30) 优先权数据

(56) 对比文件

60/807, 152 2006. 07. 12 US

CN 1615730 A, 2005. 05. 18, 参见全文.

11/676, 457 2007. 02. 19 US

US 5698244 A, 1997. 12. 16, 参见权利要求

(85) PCT申请进入国家阶段日

1、14, 说明书第 2 栏第 3 段、第 3 栏第 4-5 段、第 4 栏 2-3 段、第 5 栏第 2-4 段.

2009. 03. 09

审查员 韩征

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/072436 2007. 06. 29

(87) PCT申请的公布数据

W02008/008637 EN 2008. 01. 17

(73) 专利权人 诺华丝国际股份有限公司

地址 美国密苏里州

(72) 发明人 M·巴斯克斯-阿诺 G·R·鲍曼

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 柯珂 郭文洁

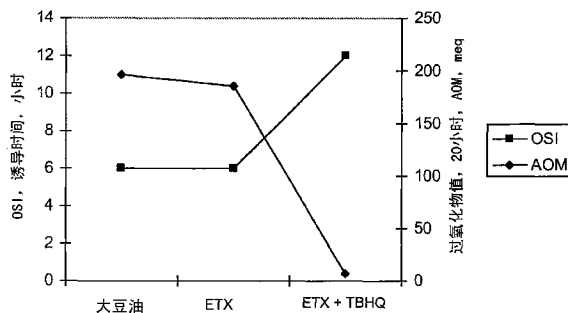
权利要求书1页 说明书35页 附图7页

(54) 发明名称

用于具有脂肪源的反刍动物饲料配给的抗氧化剂组合

(57) 摘要

本发明提供了一种能有效稳定反刍动物饮食中使用的不动类型脂肪的抗氧化剂的组合。当所述抗氧化剂组合被加入反刍动物饲料配给或水源时它通常能提高营养素如纤维和蛋白质的消化, 促进瘤胃发酵, 促进微生物生长, 提高微生物效率, 提高产乳量和 / 或乳脂含量, 改善反刍动物的抗氧化状态, 以及削弱某些脂肪在反刍动物中的副作用。



1. 包含喹啉化合物的第一抗氧化剂和不同于第一抗氧化剂的第二抗氧化剂组合用于制备降低给反刍动物喂食非惰性脂肪源相关不良瘤胃作用的饲料的用途,其特征在于,所述第一抗氧化剂是6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉,所述第二抗氧化剂是叔丁基氢醌。

2. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述第一抗氧化剂和第二抗氧化剂被配制成液体组合物。

3. 如权利要求2所述的用途,其特征在于,所述液体组合物包含40-75重量%的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉以及1-20重量%的叔丁基氢醌。

4. 如权利要求2所述的用途,其特征在于,所述液体组合物包含60-70重量%的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉以及1-10重量%的叔丁基氢醌。

5. 如权利要求2所述的用途,其特征在于,所述液体组合物还包含10-30重量%的至少一种溶剂载体。

6. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述第一抗氧化剂和第二抗氧化剂被制成干燥组合物。

7. 如权利要求6所述的用途,其特征在于,所述干燥组合物包含30-70重量%的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉以及1-10重量%的叔丁基氢醌。

8. 如权利要求6所述的用途,其特征在于,所述干燥组合物包含45-55重量%的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉以及3-7重量%的叔丁基氢醌。

9. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述第一抗氧化剂和所述第二抗氧化剂被加入反刍动物的供水中给其喂食。

10. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述第一抗氧化剂和所述第二抗氧化剂被作为反刍动物饲料配给的一部分给其喂食。

11. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述第一抗氧化剂和所述第二抗氧化剂作为同一组合物的一部分基本同时喂食给反刍动物。

12. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述第一抗氧化剂和所述第二抗氧化剂作为不同组合物的一部分依次喂食给反刍动物。

13. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,以饲料配给的干物质计,所述非惰性脂肪源占1-10%。

14. 如权利要求13所述的用途,其特征在于,所述非惰性脂肪选自下组:植物衍生脂肪,鱼衍生脂肪,动物衍生脂肪,含油种子,酒糟,以及它们的组合。

15. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述反刍动物选自肉牛,乳牛或绵羊。

16. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述反刍动物是乳牛。

17. 如权利要求16所述的用途,其特征在于,以饲喂原样为基础,喂食给所述乳牛20至250ppm的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉作为其饲料配给的一部分。

18. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述反刍动物是肉牛。

19. 如权利要求18所述的用途,其特征在于,以饲喂原样为基础,喂食给所述肉牛50至250ppm的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉作为其饲料配给的一部分。

用于具有脂肪源的反刍动物饲料配给的抗氧化剂组合

发明领域

[0001] 本发明通常提供了一种用于反刍动物饲料配给 (feed ration) 的抗氧化剂的组合。当所述抗氧化剂组合被喂食给反刍动物时能降低饮食中自由基的形成、提高营养素的消化、以及优化动物瘤胃内的发酵。此外,本发明还提供了提高产乳量和 / 或乳脂含量,改善反刍动物的抗氧化状态以及降低与给反刍动物喂食非惰性脂肪源相关的不良瘤胃作用的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 脂肪是能量的集中来源,在牛和其他反刍动物的饲料配给中加入脂肪已是标准操作。然而脂肪易氧化,氧化是一种降低其营养价值并产生具有不愉快气味和味道的挥发性化合物的降解过程(即,酸败)。氧化速率随不饱和度(或碳碳双键的数目)增加。在脂肪氧化过程中,除去双键附近碳原子上的不稳定氢原子会形成自由基。得到的自由基易被氧攻击而形成自由基过氧化物,后者然后作为进一步氧化的催化剂。因此,脂肪的氧化分解是自催化的,引起连锁反应并形成不需要的分解产物。

[0004] 给反刍动物,尤其是乳牛喂食氧化脂肪可能会导致自由基在动物体内累积并加剧动物对氧化应激的敏感性。此外,大量的(氧化的和非氧化的)不饱和或不饱和脂肪会与瘤胃内的微生物群相互作用,阻断纤维降解和微生物生长。由于某些脂肪的潜在负面影响,因此已开发了反刍动物惰性脂肪。惰性脂肪(Inert fat)是具有较高饱和度的脂肪酸、与钙形成复合物的脂肪酸或被包裹的脂肪。然而无论如何使它们变为惰性,惰性脂肪都非常昂贵。

[0005] 由于饲料是反刍动物生产中的主要花费,因此需要在它们的配给中添加比较便宜的非惰性脂肪,如植物油、植物油和动物脂肪的混合物,或者喂食中高脂肪含量的成分,如酒糟。然而需要稳定这些脂肪。稳定并抑制用于反刍动物饮食中的脂肪来源氧化的一种方法是在饲料中加入抗氧化剂。一种最有效的抗氧化剂是乙氧喹(6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉,以商品名 AGRADO® 出售),它被广泛用作饲料添加剂的抗氧化剂或防腐剂。尽管有效,但乙氧喹通常作为鱼油和动物脂肪的抗氧化剂更有效,而对于控制植物衍生油类的氧化不十分有效。而且,膳食抗氧化剂通常仅用于控制脂肪源储存过程中的氧化,而不用来控制脂肪源被喂食给反刍动物后的氧化。因此,本领域迫切需要能有效控制各种脂肪源所衍生的脂肪和油脂氧化的新型抗氧化剂配方。

发明内容

[0006] 因此,本发明的各个方面涉及一种降低与喂食反刍动物脂肪源相关的不良瘤胃作用的方法。该方法包括给反刍动物喂食与包含喹啉化合物的第一抗氧化剂和不同于第一抗氧化剂的第二抗氧化剂组合的脂肪源。

[0007] 本发明的其他方面和特征一部分是显而易见的,一部分将在下文中描述。

[0008] 附图简述

[0009] 图 1 显示抗氧化剂掺合物能给大豆油提供提高的抗氧化保护。绘出了未添加抗

氧化剂的大豆油、添加了乙氧喹 (ETX) 的大豆油以及添加了乙氧喹和叔丁基氢醌掺合物 (ETX+TBHQ) 的大豆油的油稳定性 (OSI) 诱导时间 (方框) 和过氧化值 (菱形)。

[0010] 图 2 显示抗氧化剂掺合物能提高黄色油脂的抗氧化保护。绘出了未添加抗氧化剂的黄色油脂、添加了乙氧喹 (ETX) 的黄色油脂以及添加了乙氧喹和叔丁基氢醌掺合物 (ETX+TBHQ) 的黄色油脂的油稳定性 (OSI) 诱导时间 (方框) 和过氧化值 (菱形)。

[0011] 图 3 显示了两种抗氧化剂在稳定湿酒糟 (WDG) 时的协同活性。绘出了未添加抗氧化剂的 WDG、添加了乙氧喹和叔丁基氢醌掺合物 (ETX+TBHQ) 的 WEG、添加了乙氧喹 (ETX) 的 WDG 以及添加了叔丁基氢醌 (TBHQ) 的 WDG 的油稳定性 (OSI) 诱导时间。

[0012] 图 4 显示抗氧化剂 - 乙氧喹和叔丁基氢醌 - 能稳定掺合油 (玉米油、鱼油和黄色油脂的混合物) 中的 Ω -3 和 Ω -6 脂肪酸。显示了氧化前 (对照) 以及不存在抗氧化剂氧化后 (氧化的) 和存在抗氧化剂氧化后 (A) 三种情况下 Ω -3 脂肪酸 (实线) 和 Ω -6 脂肪酸 (柱) 的百分比。

[0013] 图 5 显示抗氧化剂 - 乙氧喹和叔丁基氢醌 - 能稳定掺合油 (玉米油、鱼油和黄色油脂的混合物) 中的二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。显示了氧化前 (对照) 以及不存在抗氧化剂氧化后 (氧化的) 和存在抗氧化剂氧化后 (A) 三种情况下 EPA (实线) 和 DHA (柱) 的百分比。

[0014] 图 6 为显示抗氧化剂 - 乙氧喹和叔丁基氢醌 - 能稳定种子中油的柱状图。以每千克不含抗氧化剂的谷物 (灰色柱) 和含抗氧化剂的谷物 (黑色柱) 中脂肪的过氧化物毫克当量 (meq) 表示过氧化物值。图 A 代表亚麻子的值。图 B 代表湿酒糟的值。

[0015] 图 7 显示抗氧化剂 - 乙氧喹和叔丁基氢醌 - 能稳定湿酒糟 (WDG) 中的不饱和脂肪酸。显示了亚油酸 C18:2 (柱) 和亚麻酸 C18:3 (实线) 的百分比。

[0016] 发明详述

[0017] 已发现抗氧化剂的组合能有效防止用于反刍动物饮食的不同类型脂肪 (例如, 植物衍生油类、植物油 / 脂肪和其他油 / 脂肪的掺合物, 或酒糟) 的氧化。具体说, 抗氧化剂的组合防止这些脂肪氧化比单用等摩尔量的任一抗氧化剂的总活性更有效。还已经发现, 如实施例中所述, 本发明的抗氧化剂组合能有效削弱膳食脂肪对瘤胃内发酵的不良影响。所述抗氧化剂组合能提高反刍动物的营养素消化、纤维素消化、干物质摄入、抗氧化状态、产乳量和 / 或乳脂含量, 且这些作用与膳食脂肪的氧化程度无关。有利地, 本发明的抗氧化剂组合提供了给反刍动物喂食脂肪源, 尤其是非惰性脂肪源的方式, 同时削弱了通常与给反刍动物喂食这些脂肪相关的不良瘤胃作用。

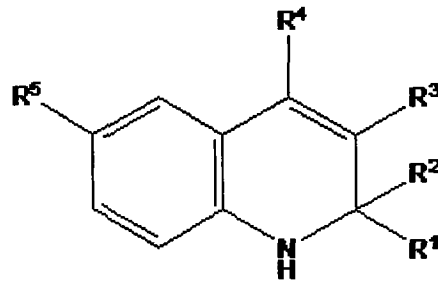
[0018] (I) 抗氧化剂组合

[0019] 本发明的一个方面提供了包含至少两种不同抗氧化剂的抗氧化剂组合。本发明的抗氧化剂组合可被制成反刍动物饲料添加剂或制成预混合料。一般地, 所述组合的第一抗氧化剂是喹啉化合物, 所述第二抗氧化剂不同于第一抗氧化剂。示例性的抗氧化剂组合应配制成, 第一抗氧化剂能比第二抗氧化剂更有效地降低动物脂肪或鱼类脂肪的氧化, 而第二抗氧化剂能比第一抗氧化剂更有效地降低植物脂肪如植物油的氧化。当采用这种方式配制抗氧化剂的组合时, 可将各种脂肪源, 包括含有相对较高不饱和脂肪酸的脂肪源用于反刍动物饲料配给或水源而不会对瘤胃发酵产生不良影响。

[0020] (a) 第一抗氧化剂

[0021] 包含在组合内的第一抗氧化剂是喹啉化合物。一般地,该喹啉化合物将是取代的 1,2-二氢喹啉。适用于本发明的取代的 1,2-二氢喹啉化合物一般具有式 (I):

[0022]



(I)

[0023] 式中:

[0024] R¹、R²、R³ 和 R⁴ 独立选自氢或具有 1 至约 6 个碳原子的烷基;和

[0025] R⁵ 是具有 1 至约 12 个碳原子的烷氧基。

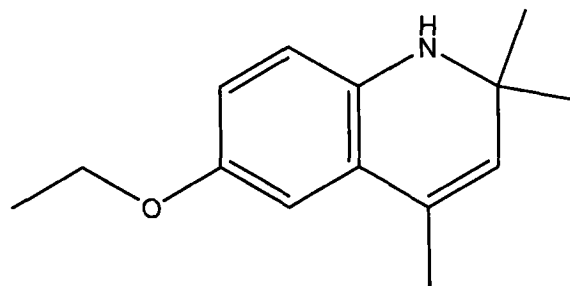
[0026] 在另一个实施方式中,所述取代的 1,2-二氢喹啉将具有式 (I),式中:

[0027] R¹、R²、R³ 和 R⁴ 独立选自氢或具有 1 至约 4 个碳原子的烷基;和

[0028] R⁵ 是具有 1 至约 4 个碳原子的烷氧基。

[0029] 在一个优选的实施方式中,所述取代的 1,2-二氢喹啉将是下式所示的 6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉:

[0030]



[0031] 化合物 6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉通常被称为乙氧喹,以商品名 agrado® 出售。本发明还包括乙氧喹和具有式 (i) 的其他化合物的盐。乙氧喹和具有式 (i) 的其他化合物可购自诺华丝国际股份有限公司 (novus international, inc.) 或按照本领域通常已知方法制备,所述方法例如美国专利号 4,772,710 中描述的方法,该专利通过引用全文纳入本文。

[0032] (b) 第二抗氧化剂

[0033] 所述第二抗氧化剂不同于第一抗氧化剂。各种抗氧化剂都适用于本发明的抗氧化剂组合。一般地,所述第二抗氧化剂不是表面活性剂。在一些实施方式中,所述第二抗氧化剂可以是给自由基加质子而中断氧化反应的自由基链从而使它们失活的化合物。或者,所述第二抗氧化剂可以是清除活性氧中间体的化合物。在其它实施方式中,所述第二抗氧化剂可以是与金属催化剂整合的化合物。在其它实施方式中,所述第二抗氧化剂可以是合成化合物,半合成化合物,或天然(或源自天然的)化合物。

[0034] 合适的抗氧化剂包括,但不限于:抗坏血酸及其盐,抗坏血酸棕榈酸酯,抗坏血

酸硬脂酸酯,阿诺西默(anoxomer),n-乙酰半胱氨酸,异硫氰酸苄酯,间氨基苯甲酸,邻氨基苯甲酸,对氨基苯甲酸(paba),丁羟茴醚(bha),丁羟甲苯(bht),咖啡酸,角黄素(canthaxantin), α -胡萝卜素, β -胡萝卜素,beta-carotene, β -脱辅基-类胡萝卜素(beta-apo-carotenoidic acid),鼠尾草酚,香芹酚,儿茶素十六烷基棕榈酸酯,绿原酸,柠檬酸及其盐,丁香提取物,咖啡豆提取物,p-香豆酸,3,4-二羟基苯甲酸,n,n'-二苯基-p-苯二胺(dppd),二月桂醇亚硫基二丙酸酯,二硬脂醇亚硫基二丙酸酯,2,6-二-叔丁基苯酚,十二烷醇棕榈酸酯,依地酸,柔花酸,异抗坏血酸,异抗坏血酸钠,七叶亭,七叶苷,6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉,棕榈酸乙酯,乙基麦芽酚,乙二胺四乙酸(edta),桉树提取物,丁子香酚,阿魏酸,类黄酮(例如,儿茶素,表儿茶素,表儿茶素棕榈酸酯(epicatechin gallate),表儿茶酸(egc, epigallocatechin),表儿茶酸没食子酸酯(egcg, epigallocatechingallate),多酚表儿茶酸-3-没食子酸酯,黄酮(例如,芹菜配基,白杨黄素,四羟基黄酮,黄酮醇(例如,橡精,杨梅黄酮,daemfero),黄烷酮,皮亭,延胡索酸,棕榈酸,龙胆提取物,葡糖酸,甘氨酸,愈创木胶、陈皮素, α -羟苄次膦酸,羟基辛可宁酸,羟基戊二酸,氢醌,n-羟基琥珀酸,羟基酪醇(hydroxytyrosol),羟基脲,米糠提取物,乳酸及其盐,卵磷脂,卵磷脂柠檬酸盐,r- α -硫辛酸,叶黄素,番茄红素,苹果酸,麦芽酚,5-甲氧基胺,棕榈酸甲酯,柠檬酸甘油一酯,柠檬酸单异丙酯,桑色素, β -萘黄酮,去甲二氢愈疮木酸(ndga),棕榈酸辛酯,草酸,棕榈酰柠檬酸酯,吩噻嗪,磷脂酰胆碱,磷酸,磷酸盐,植酸,植基泛色烯醇(phytylubichromel),西班牙甘椒(pimento)提取物,棕榈酸丙酯,多磷酸盐,槲皮素,反-白藜芦醇,迷迭香提取物,迷迭香酸,鼠尾草提取物,芝麻酚,水飞蓟素,芥子酸,琥珀酸,硬脂醇柠檬酸酯,丁香酸,酒石酸,麝香草酚,生育酚类(即 α -、 β -、 γ -和 δ 生育酚),生育三烯酚类(即 α -、 β -、 γ -和 δ 生育三烯酚),酪醇,香兰酸(vanilic acid),2,6-二-叔丁基-4-羟甲基苯酚(即ionox 100),2,4-(三-3',5'-二-叔丁基-4'-羟苄基)-均三甲苯(即ionox 330),2,4,5-三羟基丁酰苯,泛醌,叔丁基氢醌(tbhq),硫二丙酸,三羟基丁酰苯,色胺,酪胺,尿酸,维生素K及衍生物,维生素q10,小麦胚芽油,玉米黄素,或它们的组合。

[0035] 示例性的第二抗氧化剂包括合成的酚类化合物,如tbhq、bha、或bht;棕榈酸衍生物,如棕榈酸正丙酯;维生素C衍生物,如抗坏血酸棕榈酸酯;卵磷脂;和维生素E化合物,如 α -生育酚。在一个优选的实施方式中,所述第二抗氧化剂将是tbhq。

[0036] (c) 抗氧化剂组合的配方

[0037] 适用于本发明的合适的抗氧化剂组合包含至少一种i(a)中详细描述的喹啉化合物和至少一种i(b)中详细描述的第二抗氧化剂。在一些实施方式中,该组合可以仅包含两种不同抗氧化剂。在其它实施方式中,该组合可以包含至少三种不同抗氧化剂。在其他实施方式中,该组合可以包含四种或更多不同抗氧化剂。合适的抗氧化剂组合的非限制性例子列于表a(即将第一列中的第一抗氧化剂与第二列中的第二抗氧化剂组合以形成本发明的抗氧化剂组合)。

[0038] 表A

[0039]

第一抗氧化剂	第二抗氧化剂
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	抗坏血酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	抗坏血酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	抗坏血酸棕榈酸酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	抗坏血酸硬脂酸酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	阿诺西默 (anoxomer)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	N-乙酰半胱氨酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	异硫氰酸苄酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	间氨基苯甲酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	邻氨基苯甲酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	对氨基苯甲酸 (PABA)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	丁羟茴醚 (BHA)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	丁羟甲苯 (BHT)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	咖啡酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	角黄素
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	α -胡萝卜素
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	β -胡萝卜素
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	beta-carotene
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	β -脱辅基-类胡萝卜酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	鼠尾草酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	香芹酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	儿茶素
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	十六烷基榕酸酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	绿原酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	柠檬酸

6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	柠檬酸盐
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	丁香提取物
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	咖啡豆提取物
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	p-香豆酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	3,4-二羟基苯甲酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	N,N'-二苯基-p-苯二胺 (DPPD)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	二月桂醇亚硫基二丙酸酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	二硬脂醇亚硫基二丙酸酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	2,6-二-叔丁基苯酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	十二烷醇癸酸酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	依地酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	柔花酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	异抗坏血酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	异抗坏血酸钠
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	七叶亭
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	七叶苷
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	癸酸乙酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	乙基麦芽酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	乙二胺四乙酸 (EDTA)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	桉树提取物
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	丁子香酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	阿魏酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	类黄酮
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	表儿茶酸 (EGC)

6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	表儿茶酸没食子酸酯 (EGCG)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	黄酮
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	黄酮醇
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	黄烷酮
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	皮亭
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	富马酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	鞣酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	龙胆提取物
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	葡糖酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	甘氨酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	愈创木胶
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	陈皮素
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	α -羟苄次磷酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	羟基辛可宁酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	羟基戊二酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	氢醌
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	N-羟基琥珀酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	羟基酪醇
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	羟基脲
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	乳酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	乳酸盐
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	卵磷脂
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	卵磷脂柠檬酸盐
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	R- α -硫辛酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	叶黄素

6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	番茄红素
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	苹果酸
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	苹果酸盐
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	麦芽酚
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	5- 甲氧色胺
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	柠檬酸甲酯
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	柠檬酸甘油一酯
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	柠檬酸甘油一酯
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	桑色素
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	β - 萘黄酮
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	去甲二氢愈疮木酸 (NDGA)
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	柠檬酸辛酯
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	草酸
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	草酸盐
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	棕榈酰柠檬酸酯
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	吩噻嗪
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	磷脂酰胆碱
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	磷酸
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	磷酸盐
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	植酸
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	植基泛色烯醇 (phytylubichromel)
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	西班牙甘椒提取物
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	柠檬酸丙酯
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	多磷酸盐
6- 乙氧基 -1,2- 二氢 -2,2,4- 三甲基嘧啶	槲皮素

6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	反-白黎芦醇
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	米糠提取物
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	迷迭香提取物
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	迷迭香酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	鼠尾草提取物
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	芝麻酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	水飞蓟素
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	芥子酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	硬脂醇柠檬酸酯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	琥珀酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	丁香酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	酒石酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	酒石酸盐
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	麝香草酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	生育酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	生育三烯酚
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	酪醇
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	香兰酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	2,6-二-叔丁基-4-羟甲基苯酚(即 Ionox 100)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	2,4-(三-3',5'-二-叔丁基-4'-羟苄基)-均三甲苯(即 Ionox 330)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	2,4,5-三羟基丁酰苯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	泛醌
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	叔丁基氢醌(TBHQ)
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	硫二丙酸

6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	三羟基丁酰苯
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	色胺
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	酪胺
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	尿酸
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	维生素 K
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	维生素 Q10
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	小麦胚芽油
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	玉米黄素
6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉	上述任何一种的衍生物

[0040] 在一个示例性实施方式中,所述抗氧化剂组合是6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉与本文详细描述的任何一种天然抗氧化剂。在进一步的示例性实施方式中,所述抗氧化剂组合是6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉和BHA。再在另一个示例性实施方式中,所述抗氧化剂组合是6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉和BHT。在进一步的示例性实施方式中,所述抗氧化剂组合是6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉和TBHQ。如实施例中所详述,6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉与TBHQ的组合保护油类和脂肪免遭氧化的时间通常长于单用等摩尔量的任一抗氧化剂的总活性。6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉和TBHQ的组合以商品名AGRADO PLUS®出售。

[0041] 熟练技术人员将了解,抗氧化剂组合中所包含的第一抗氧化剂的浓度和第二抗氧化剂的浓度可以并且将根据具体抗氧化剂、饲料配给中脂肪源的含量和类型、以及将喂食该组合的反刍动物的种类和年龄而改变。非限制性例子是,当所述反刍动物是肉牛时,喂食给动物的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉的含量可以占其饲料配给的约50-250ppm,或者约140-160ppm。在一个示例性实施方式中,喂食给肉牛的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉将为150ppm。进一步的例子是,当所述反刍动物是乳牛时,喂食给动物的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉的含量可以占其饲料配给的约20-250ppm,或者约55-75ppm。在一个示例性实施方式中,喂食给乳牛的6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉将为65ppm。抗氧化剂组合的其他示例性配方详细描述于章节I(d)、(e)以及实施例中。

[0042] (d) 液体组合物

[0043] 当将本发明的抗氧化剂组合配制成组合物时,其可以是液体组合物或干燥组合物。对于抗氧化剂组合包括液体组合物的实施方式,该组合物通常包含选自极性溶剂、非极性溶剂或两者的组合的溶剂载体。

[0044] 一般来说,当组合中的抗氧化剂是水溶性抗氧化剂时采用极性溶剂。极性溶剂合适的例子包括,但不限于:甘油,异丙醇,乙醇,丙二醇,赤藓醇,木糖醇,山梨醇,麦芽糖醇,甘露醇,水,或它们的混合物。在一个实施方式中,所述极性溶剂是甘油。极性溶剂的浓度

取决于组合中抗氧化剂的组合。通常,极性溶剂的体积百分比约为 5-50%。极性溶剂的体积百分比可以约为 5%、10%、15%、20% 或 25%。

[0045] 液体组合物也可包含非极性溶剂。通常,当组合中的抗氧化剂是脂溶性抗氧化剂时采用非极性溶剂。非极性溶剂合适的例子包括,但不限于:甘油单酯,甘油二酯,植物油,或它们的组合。甘油单酯和甘油二酯可从植物油中蒸馏得到或者可通过酯化反应合成。所述植物油可以是玉米油,大豆油,菜籽油,棉籽油,棕榈油,花生油,红花油,和葵花籽油。在一个实施方式中,所述非极性溶剂可以是玉米油。在另一个实施方式中,所述非极性溶剂可包含甘油单酯和玉米油。非极性溶剂的浓度将取决于组合中抗氧化剂的组合。通常,非极性溶剂的体积百分比约为 5-50%。非极性溶剂的体积百分比可以为 5%、10%、15%、20% 或 25%。

[0046] 非限制性例子是,本发明的液体组合物可含有约 40-75 重量%的 6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉,约 1-20 重量%的叔丁基氢醌,以及约 10-30 重量%的至少一种溶剂载体。在另一个实施方式中,所述液体组合物可含有约 60-70 重量%的 6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉,约 1-10 重量%的叔丁基氢醌,以及约 10-30 重量%的至少一种溶剂载体。在一个示例性实施方式中,所述液体组合物可含有约 65 重量%的 6-乙氧基-1,2-二氢-2,2,4-三甲基喹啉,约 7 重量%的叔丁基氢醌,约 7 重量%的柠檬酸,约 19 重量%的丙二醇,以及约 2 重量%的玉米油。

[0047] (e) 干燥组合物

[0048] 或者,可将所述抗氧化剂组合制成干燥组合物。一般地,当制成干燥组合物时,可使用一种或多种载体。在一个示例性实施方式中,所述干燥组合物是可流动的。本文中,“可流动的”表示基本上可以自由流动且基本上不会结块。

[0049] 一些无机载体适合用于本发明来配制抗氧化剂的干燥组合物。所述无机载体将通常呈颗粒状,它可以是多孔的,并且在生物学上通常是惰性的。本文中,如果某无机载体在给予动物后无毒且不会产生明显的免疫反应则是生物惰性的。合适的无机载体的非限制性例子包括天然和再生矿物质。一类优选的矿物质载体是硅酸盐类。用于本发明的硅酸盐可选自以下硅酸盐亚类:岛状硅酸盐、链状硅酸盐、链状硅酸盐、环状硅酸盐、页状硅酸盐和网状硅酸盐。合适的岛状硅酸盐的例子包括:硅酸铝,碱式硅酸铁镁锰铝,碱式硼硅酸钙,碱式硅酸铍铝,硅酸铁,硅酸镁,硅酸铈铁铍,硅酸铝铁,硅酸钙铁,硅酸钙铝,硅酸镁铝,硅酸铬钙,碱式硼硅酸钙,硅酸铝,硅酸镁铁,硅酸铍,硅酸钙钛,硅酸锌和硅酸锆。合适的链状硅酸盐的例子包括:碱式硅酸铍,硼硅酸钙,碱式硅酸铝铁钙铈铈,碱式硅酸钙铝,碱式硅酸钙铁铝,碱式硅酸钙铝,和碱式硅酸钙铁。合适的链状硅酸盐的非限制性例子包括:硅酸钠钛,硅酸钙,硅酸铁,硅酸钙钠镁铝铁钛,硅酸钙镁,硅酸镁,硅酸钙铁,硅酸镁铁,硅酸钠铝铁,硅酸锂铝,硅酸锰铁镁钙,碱式硅酸钠锰钙,碱式硅酸铜,硅酸钙,碱式硅酸钙镁铁,碱式硅酸镁铁,碱式硅酸铁镁,碱式硅酸钾铁钛,和碱式硅酸钙铁锰。合适的环状硅酸盐的例子包括:硼硅酸钙镁铁锰铝,硅酸钾锂钙钛锆,硅酸钡钛,硅酸铍铝,硅酸镁铝,硅酸钾钠铁镁铝,碱式硅酸钠镁铝硼,和硅酸钾钠锂铁锰铝。合适的页状硅酸盐的例子包括:水合硅酸钾钠钙,水合硅酸钙钒,水合碱式硅酸氢铜铝,碱式硅酸铁镁铝,碱式硅酸铁镁铝,碱式硅酸锂铝,碱式硅酸铝,碱式硅酸镁,水合碱式硅酸钙,氟化碱式硅酸钾铁镁铝,氟化碱式硅酸钾锂铝,氟化碱式硅酸钾铝,氟化碱式硅酸钾镁铝,碱式硅酸钙铝,和碱式硅酸铁镁。合适的网状硅酸盐的例子包括:硅

酸钠铝,硅酸钠钙铝,硅酸钙铝,硅酸钙钠铝,硅酸钠钙铝,硅酸钾铝,硅酸钠钙,二氧化硅,碳酸硅酸钠钙铝,氯化硫化硫酸硅酸钠钙铝,氯化硅酸钠铝,硫酸碳酸氯化硅酸钙钠铝,水合硅酸钠铝,水合硅酸钙铝,水合硅酸钡钾铝,和水合硅酸钠钙铝。在一个优选实施方式中,所述无机物是二氧化硅或膨润土钠。根据该实施方式,无机载体可以是化合物的混合物,如上述硅酸盐中任何一种或多种的混合物。

[0050] 本领域技术人员将了解,所述无机载体的粒度以及无机载体的浓度能够并且将是可变的。通常,无机载体的平均粒度可以为约 50-1000 微米。在另一个实施方式中,无机载体的平均粒度可以为约 100-500 微米。在另一个实施方式中,无机载体的平均粒度可以为约 100-200 微米。在另一个实施方式中,干燥组合体中所含无机载体的浓度可以占干燥组合体干重的约 0.1-0.5%。在又一实施方式中,干燥组合体中所含无机载体的浓度可以占干燥组合体干重的约 1.0-5.0%。在另一个实施方式中,干燥组合体中所含无机载体的浓度可以占干燥组合体干重的约 2.5-15.0%。

[0051] 一个非限制性的例子是,本发明的干燥组合体可含有占干重约 30-70% 的 6-乙氧基 -1,2-二氢 -2,2,4-三甲基喹啉,占干重约 1-10% 的叔丁基氢醌,以及占干重约 0.1-15% 的载体。在另一个实施方式中,所述干燥组合体可包含占干重约 45-55% 的 6-乙氧基 -1,2-二氢 -2,2,4-三甲基喹啉,占干重约 3-7% 的叔丁基氢醌,以及占干重约 0.1-15% 的载体。在一个示例性实施方式中,该干燥组合体由占干重约 50% 的 6-乙氧基 -1,2-二氢 -2,2,4-三甲基喹啉、占干重约 5% 的叔丁基氢醌、占干重约 5% 的柠檬酸以及占干重约 10% 的碳酸钙构成。

[0052] (II) 饲料预混合料或添加剂

[0053] 本发明的另一方面包括含有本发明的抗氧化剂组合的反刍动物饲料预混合料或饲料添加剂。一般地,所述预混合料将被加入各种谷物浓缩物和草料配方以配制反刍动物饲料配给。技术人员将了解,具体的预混合料配方可以并且将根据饲料配给以及要喂食该饲料配给的动物而改变。除了本发明的抗氧化剂组合,所述预混合料可以进一步任选包含下述物质中的一种或多种:天然氨基酸混合物,天然氨基酸类似物如甲硫氨酸的羟基类似物 (“HMTBA”),补充蛋白质,补充脂肪,维生素及其衍生物,酶,兽药,激素,有效微生物,有机酸,防腐剂,以及调味剂。

[0054] 在一个实施方式中,所述饲料预混合料可包含一种或多种氨基酸。根据配方,氨基酸的合适例子包括丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、以及缬氨酸。可用作饲料添加剂的其他氨基酸包括,例如(但不限于),N-酰基氨基酸,羟基同系化合物,以及它们的生理上可接受的盐,如氨基酸的盐酸盐、硫酸氢盐、铵盐、钾盐、钙盐、镁盐和钠盐。

[0055] 在一个优选的实施方式中,所述抗氧化剂组合可与甲硫氨酸的羟基类似物 (“HMTBA”) 组合形成饲料预混合料。合适的甲硫氨酸的羟基类似物包括 2-羟基 -4(甲硫基)丁酸(由密苏里州圣路易斯的诺华丝国际股份有限公司以商品名 ALIMET® 出售)、其盐、酯、酰胺和寡聚物。HMTBA 的代表性盐包括铵盐、化学计量和超化学计量的碱土金属盐(例如,镁盐和钙盐),化学计量和超化学计量的碱金属盐(例如,锂盐、钠盐和钾盐),以及化学计量和超化学计量的锌盐。HMTBA 的代表性酯包括 HMTBA 的甲基、乙基、2-丙基、丁基

和 3- 甲基丁基酯。HMTBA 的代表性酰胺包括甲基酰胺、二甲基酰胺、乙基甲基酰胺、丁基酰胺、二丁基酰胺、和丁基甲基酰胺。HMTBA 的代表性寡聚物包括其二聚体、三聚体、四聚体以及包含更多重复单元的寡聚物。

[0056] 在又一实施方式中,所述饲料预混合料包含补充蛋白质。补充蛋白质的例子包括大豆粉,家禽血粉,鱼粉,肉粉和粗制大豆蛋白。

[0057] 在另一个实施方式中,所述饲料预混合料包含脂肪源。所述脂肪源可以是非惰性脂肪。所述脂肪源可以是非惰性脂肪。非惰性脂肪的非限制性例子包括:植物衍生油类(例如,菜籽油、玉米油、棉籽油、棕榈油、花生油、红花油、大豆油和葵花籽油),鱼油(例如,鲱鱼油、凤尾鱼油、长鳍金枪鱼油、鳕鱼肝油、青鱼油、湖红点鲑油、鲭鱼油、鲑鱼油、和沙丁鱼油),动物脂肪(例如,家禽脂肪、牛脂、黄油、猪油和鲸脂),黄色油脂(即,餐馆的废弃油脂和的炼油植物的低级脂肪),以及它们的组合。非惰性脂肪源也可以是高脂产品,如鱼粉(例如,鲱鱼粉、凤尾鱼粉、青鱼粉、青鳕鱼粉、鲑鱼粉、金枪鱼粉和白鲑鱼粉),含油种子(例如,油菜籽、棉籽、亚麻子、亚麻籽、皂角子、芝麻子、大豆、和葵花籽),或酒糟(例如,干酒糟及其可溶物(DDGS)和湿酒糟)。所述脂肪源可以是反刍动物惰性脂肪。反刍动物惰性脂肪的合适例子包括棕榈脂肪酸的钙盐(例如,MEGALAC®),饱和的游离脂肪酸(例如,Energy Booster 100),或氢化牛脂(例如,ALIFET®)。一些市售旁路脂肪描述于,例如,美国专利号 5,182,126 ;5,250,307 ;5,391,787 ;5,425,963 ;和 5,456,927,其中披露了 C14-C22 脂肪酸,它们的甘油酯,或它们的盐,其中包括但不限于棕榈酸、油酸、亚油酸、硬脂酸和月桂酸化合物。

[0058] 在又一实施方式中,所述饲料预混合料包含维生素或维生素衍生物。合适的维生素及其衍生物的例子包括:维生素 A,维生素 A 棕榈酸酯,维生素 A 乙酸酯, β -胡萝卜素,维生素 D(例如,D₂、D₃和 D₄),维生素 E,亚硫酸氢钠甲萘醌,维生素 B(例如,硫胺素,盐酸硫胺素,核黄素,烟酸,烟酰胺,泛酸钙,泛酸胆碱,烟酸吡哆醇,氰钴胺,生物素,叶酸,对氨基苯甲酸),维生素 K,维生素 Q,维生素 F 和维生素 C。

[0059] 在另一个实施方式中,所述饲料预混合料包含一种或多种酶。酶的合适例子包括蛋白酶、淀粉酶、脂酶、纤维素酶、木聚糖酶、果胶酶、植酸酶、半纤维素酶和其他生理上有效的酶。

[0060] 在又一实施方式中,所述饲料预混合料包含批准用于反刍动物的药物。合适的兽药的非限制性例子包括:抗生素,如四环素类(例如,氯四环素和土霉素),氨基糖型,离子载体(例如,莫能菌素钠、维吉霉素和班贝霉素)和大环内酯类抗生素。

[0061] 在另一实施方式中,所述饲料预混合料包含激素。合适的激素包括雌激素、己烯雌酚、己雌酚、酪蛋白(tyroprotein)、糖皮质激素、胰岛素、高血糖素、胃泌素、降钙素、生长激素和高特拉廷(goitradien)。

[0062] 在进一步的实施方式中,所述饲料预混合料包含有效微生物。合适的有效微生物的例子包括活的和死的酵母培养物,可将其制成益生元(probiotic)。例如,这种酵母培养物包含以下一种或多种:嗜酸乳酸杆菌(Lactobacillus Acidophilus),嗜热双歧杆菌(Bifedobact Thermophilum),长双歧杆菌(Bifedobat Longhum),粪链球菌(Streptococcus Faecium),酿酒酵母(Sacchomyces cerevisiae),短小芽胞杆菌(Bacillus pumilus),枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis),藓样芽胞杆菌

(*Bacilluslicheniformis*), 嗜酸乳酸杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*), 干酪乳酸杆菌 (*Lactobacillus casei*), 屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*), 两歧双歧杆菌 (*Bifidobacterium bifidum*), 丙酸丙酸杆菌 (*Propionibacterium acidipropionici*), 费氏丙酸杆菌 (*Propionibacterium freudenreichii*), 米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 和假长双歧杆菌 (*Bifidobacterium Pseudolongum*)。

[0063] 在另一个实施方式中,所述预混合料将包含有机酸。合适的有机酸包括苹果酸、丙酸和延胡索酸。

[0064] 在另一实施方式中,所述饲料预混合料包含提高饲料配给可口性的物质。这种物质的合适例子包括天然甜味剂如糖蜜,以及人工甜味剂如糖精和阿斯巴特。

[0065] 技术人员将了解,可包含在本发明的预混合料中的任何物质可单用或彼此联用。这些添加物的浓度将取决于具体应用,但通常将为干物质重量的约 0.0001-10%,更优选为约 0.001-7.5%,最优选为约 0.01-5%。

[0066] (III) 动物饲料配给和水源

[0067] 本发明进一步的方面包括含有抗氧化剂组合或含抗氧化剂组合的预混合料的动物饲料配给或水源。可将所述饲料配给制成满足各种反刍动物的营养要求。各种反刍动物的典型饲料配给的非限制性例子如下文详细描述。

[0068] (a) 饲料成分

[0069] 可用于本发明以满足反刍动物维持能量需求的饲料成分可包括通常提供给反刍动物消耗的饲料成分。这种饲料成分的例子包括:草料、谷物、饲料粉、饲料浓缩物、维生素、矿物质等等。由于本发明的抗氧化剂组合可有效降低动物或鱼衍生脂肪以及植物衍生脂肪的氧化,因此许多脂肪源都可用于本发明典型配给中。

[0070] 草料产品是饲料成分,如新鲜(牧草或植被)、干燥或青贮状态的植株,并且可偶然包含少量谷物(例如,在收获后保留在收获的玉米植株中的玉米粒)。草料包括在作为本发明饲料的一部分提供给反刍动物之前已经收获和任选发酵的植株。因此,草料包括干草、窖藏半干草料和青贮料。干草的例子包括收获的草,这种草可以与所喂食的反刍动物出自相同场地或者从遥远地点运送到喂食地点。干草的非限制性例子包括苜蓿草、百慕大草(*Bermuda grass*)、巴荷草(*bahia grass*)、林坡草(*limpo grass*)、黑麦草、小麦草、牛毛草、三叶草等等,以及可能是提供反刍动物饲料配给的反刍动物当地的其他草品种。

[0071] 如果草料质量相对较高(即,含有相当水平的可代谢营养素,从而可在达到其消耗量之前满足反刍动物的自身营养需要并维持能量需求)是有利的。如果草料质量低,则反刍动物不能将其充分代谢以达到所需性能效果(例如,满足其营养需求和/或维持能量需求),这不仅会损害草料本身的营养益处,而且还会使反刍动物感觉过饱,并有可能阻止它消耗充足的营养素。

[0072] 窖藏半干草料是一种通过收获草类作物同时使汁液保留在植株内而天然发酵的草料产品。然后以不透气的方​​式储存收获的草或草堆以使其发酵。发酵过程将植株内的糖转化成酸从而降低了收获草料的 pH 并得以保存草料。

[0073] 青贮料类似于窖藏半干草料,是一种从收获、储存和发酵的绿色草类作物,例如玉米和高粱植株制造的草料产品。先将这些作物的茎干和整体碾碎,然后收获谷物。将植物材料储存在槽、储存袋、料斗内或堆放起来以使材料发酵,从而降低植物材料的 pH 并得以

保存直到喂食。

[0074] 草料产品还包括高纤原料和植物废料,如绿色碎料 (green chop)、玉米秆、植株的茎干等等。

[0075] 谷物产品包括玉米、玉米谷蛋白粉、大豆、大豆粉、小麦、大麦、燕麦、高粱、黑麦、水稻、以及其他谷物和谷物粉。

[0076] 饲料浓缩物是高能量低粗纤维的反刍动物饲料。浓缩物还包括用来增强饲料添加混合物营养价值的一种或多种成分的来源,如维生素和矿物质。

[0077] 所述脂肪源可以是非惰性脂肪,如植物油,鱼油,动物脂肪,黄色油脂,鱼粉,含油种子,酒糟,或其混合物。非惰性脂肪的非限制性例子见第 II 部分。所述脂肪源也可以是如上文第 II 部分中详细描述的反刍动物惰性脂肪。脂肪源通常占全部饲料配给干物质的约 1-10%,更优选为约 2-6%,最优选为约 3-4%。

[0078] 反刍动物饲料中可任选包含其他成分以便为反刍动物提供额外营养素。任选成分的例子包括尿素、维生素、矿物质等等。尿素为瘤胃内细菌提供能用来合成细菌蛋白质的非蛋白质氮源。也可根据需要排除这些成分以便为反刍动物提供满足它们营养需求的定制饲料配给。

[0079] (b) 饲料配给

[0080] 本发明的饲料配给通常制成能满足特定反刍动物的营养素和能量需求。许多常见反刍动物饲料成分的营养素和能量含量已经过测量并且公众可得。国家研究委员会 (The National Research Council) 出版的书籍中包括常见反刍动物饲料成分以及它们各自的营养素和能量含量测量值的表格。此外,提供了依据牛体重的用于牛生长和育肥 (finishing) 的营养素和维持能量估算值。国家科学院 (National Academy of Sciences), 肉牛的营养素需求 (Nutrient Requirements of Beef Cattle), 附表 1-19, 192-214, (国家科学院出版社 (National Academy Press), 2000); 乳牛的营养素需求 (Nutrient Requirements of Dairy Cattle) (2001), 将它们分别全文纳入本文。本领域技术人员可利用这一信息来预测肉牛和乳牛生长的营养素和维持能量需求,以及决定反刍动物饲料成分的营养素和能量含量。

[0081] 在一个实施方式中,所述饲料配给被制成供乳牛使用。实践中,反刍动物通常是定量喂养的,通常称为总混合配给 (TMR, total mixed ration), 其由草料部分和颗粒浓缩物部分构成。可使用本文详细描述的本领域已知的任何材料和谷物浓缩物。技术人员将了解,乳牛的饲料配给可以并且将随奶牛的生长阶段而显著改变。本文中,生长阶段不仅表示乳牛无奶或有奶,而且表示乳牛无哺乳期或泌乳期的持续时间。产奶期的标志包括:前 35 天无奶,称为“前期 (far off)”;后 21 天无奶,称为“关闭期 (close-up)”;泌乳期的第 0-14 天称为“初期 (fresh)”;泌乳期的第 14-80 天称为“峰值期 (peak intake)”;以及泌乳期的第 200-330 天。乳牛的前 35 天无哺乳期、泌乳期的第 0-14 天以及泌乳期的第 14-80 天的合适配给如下。

[0082] 乳牛无哺乳期前 35 天的合适乳牛饲料的例子如下:

		占总饲料组成的重量百分比 (基于干重)
	成分	
[0083]	粉碎玉米	8.0
	小麦秸秆	8.5
	苜蓿干草	38.0
	玉米青贮料	41.0
	痕量矿物质盐	4.5

[0084] 乳牛泌乳期第 0-14 天的合适乳牛饲料配给的例子如下：

		占总饲料组成的重量百分比 (基于干重)
	成分	
[0085]	粉碎玉米	8.0
	大豆粉(44%)	7.5
	苜蓿干草	17.0
	玉米青贮料	47.0
	痕量矿物质盐	4.5

[0086] 乳牛泌乳期第 14-80 天的合适乳牛饲料配给的例子如下：

		占总饲料组成的重量百分比 (基于干重)
	成分	
[0087]	粉碎玉米	15.0
	大豆粉(44%)	13.0
	苜蓿干草	22.0
	玉米青贮料	21.0
	酒糟	8.0
	全棉籽	10.0
	豆壳	6.5
	痕量矿物质盐	4.5

[0088] 饲料配给也可制成满足非乳牛,尤其是肉牛的营养需求。肉牛膳食中各类组分的百分比(即谷物与粗饲料之比)取决于具体动物的膳食需求。例如,通常喂食给中间期或生长期肉牛的饲料组合物可包含：

		占总饲料组成的重量百分比 (基于干重)
	成分	
[0089]	脱水苜蓿粉	25.0
	棉籽壳	5.0
	粉碎玉米	60.0
	大豆粉(44%)	3.0
	碳酸钙	1.0
	三聚磷酸钠	0.5
	蔗糖糖蜜	5.0
	痕量矿物质盐	0.5

[0090] 中间期膳食的能量/粗饲料之比居中,被喂食给处于生长阶段的牛。中间期膳食之后将替换成能量较高的育肥膳食直到牛可以被屠宰。典型的育肥膳食可包括：

成分	占总饲料组成的重量百分比 (基于干重)
脱水苜蓿粉	5.0
棉籽壳	10.0
[0091] 粉碎玉米	74.8
大豆粉(44%)	3.0
碳酸钙	0.7
三聚磷酸钠	0.3
蔗糖糖蜜	5.0

[0092] 本申请中引用的所有出版物、专利、专利申请和其他参考资料通过引用全文纳入本文,这就如同已将各出版物、专利、专利申请或其他参考资料专门而单独表明通过引用纳入本文。

[0093] (IV) 提高营养素消化和改进反刍动物性能的方法

[0094] 本发明的再另一个方面包括使用本发明组合物喂食反刍动物的方法。具体说,提供了提高营养素消化或改进反刍动物性能参数的方法。该方法包括将章节 (I) 所述的抗氧化剂组合或章节 (II) 所述的含有抗氧化剂组合的预混合料喂食给已被喂食或可被喂食脂肪源的动物。在一个示例性实施方式中,所述脂肪源包含非惰性脂肪源。

[0095] 给反刍动物提供抗氧化剂组合可提高瘤胃内发酵。提高的瘤胃内发酵可提高纤维素的消化、提高蛋白质的消化以及改善微生物生长和效能。提高的纤维素消化或降解表明加入抗氧化剂组合能降低与瘤胃膳食中含有非惰性脂肪相关的副作用。本文中,当将本发明的抗氧化剂组合以饲料配给喂食给反刍动物时,其能使膳食中含有较高量的非惰性脂肪同时能减轻在喂食该类脂肪时通常观察到的不良瘤胃作用。或者,在某些实施方式中,有可能用非惰性脂肪完全替代饲料中的惰性脂肪。喂食抗氧化剂组合还能改善干物质摄取 (DMI)。此外,由于所述抗氧化剂组合还能改善动物的抗氧化状态,因此动物不易遭受氧化应激。给乳牛喂食抗氧化剂组合还有可能提高产乳量、乳脂含量和脂肪改良奶 (fat corrected milk)。

[0096] 定义

[0097] “DM” 是干物质的缩写。

[0098] 术语“脂肪源”在文中表示含有至少一种脂质的分子。

[0099] 术语“改善的抗氧化状态”在文中表示动物清除其体内自由基的抗氧化能力得到改善。

[0100] 术语“脂质”在文中表示不溶于水但溶于有机溶剂(例如,醚、氯仿、己烷等)的物质。简单脂质的一个例子是甘油三酯。甘油三酯主要发现于谷物、含油种子和动物脂肪。甘油三酯的基本结构是一个甘油单元和三个脂肪酸单元。

[0101] 术语“不良瘤胃作用”在文中表示膳食脂肪和脂肪酸通过减缓瘤胃微生物群生长和活性而对其造成的毒害作用,这种作用可导致,例如,纤维素和蛋白质的消化降低。

[0102] 术语“营养素”在文中表示实现反刍动物存活、生长、生产、繁殖和/或健康中的一种或多种通常所必需的化学物质。例如,营养素包括水、能量(例如,碳水化合物、蛋白质和脂质)、蛋白质(例如,含氮化合物)、矿物质和维生素。

[0103] Ppm 代表百万分之一。

[0104] 术语“反刍动物”在文中表示具有多分隔胃的成年和未成年动物,包括但不限于牛、绵羊、鹿、山羊、麝、公牛、水牛、长颈鹿和骆驼。例如,牛和绵羊的胃有四个隔室,其中包括瘤胃、网胃、瓣胃和皱胃。

[0105] 由于对上述化合物、产品和方法做出的各种改变都不会背离本发明的范围,因此上面的描述和下面的实施例中提到的所有物质都是举例说明而非限制。

[0106] 实施例

[0107] 以下非限制性例子例举了本发明的各种实施方式。

[0108] 实施例 1 抗氧化剂掺合物和单独的抗氧化剂在稳定油类或脂肪中的功效

[0109] 该研究的目的是比较乙氧喹 (ETX) 和叔丁基氢醌 (TBHQ) 的掺合物与单独的 ETX 或单独的 TBHQ 在防止大豆油、黄色油脂和湿酒糟氧化中的功效。ETX 和 TBHQ 组合以商品名 AGRADO PLUS[®] 购得 (诺华丝国际股份有限公司; 圣路易斯, 密苏里州)。AGRADO PLUS[®] 是 65% 乙氧喹、7% 叔丁基氢醌、7% 柠檬酸、19% 丙二醇和 2% 玉米油的掺合物。ETX 制品以商品名 AGRADO[®] 和 SANTOQUIN[®] 购得 (诺华丝国际股份有限公司; 圣路易斯, 密苏里州)。

[0110] 方法采用活性氧法 (AOM) 和 / 或油稳定性指标 (OSI) 法评估脂质材料的稳定性。AOM 使空气以特定流速、温度和浓度条件通过油或脂肪样品鼓泡来测量油或脂肪的稳定性。这些试验采用的温度为 98°C。在间歇期通过用碘滴定来测定处理过程中产生的过氧化物和过氧化氢。AOM 值被定义为 20 小时后每千克脂肪中过氧化物的毫克当量 (meq/kg)。数值越低则油或脂肪越稳定。

[0111] OSI 法类似于 AOM 法,也是使空气通过恒温样品。这些试验采用的温度为 110°C。使空气通过样品之后经去离子水容器鼓泡。脂质氧化产生的挥发性酸溶于水并提高其电导率。连续监测水的电导率,OSI 值被定义为电导率变至预定值所需的小时数。OSI 值越高则油或脂肪越稳定。

[0112] 结果。评估了不存在抗氧化剂 (对照) 或存在 500ppm ETX 或 500ppm ETX+TBHQ 时大豆油的氧化稳定性。如图 1 所示,ETX+TBHQ 组合将 OSI 诱导时间延长至 12 小时,而对照和单独 ETX 的诱导时间约为 6 小时。同样,存在 ETX+TBHQ 时大豆油受到氧化应激的过氧化值 (接近 0) 远低于单独存在 ETX 时大豆油受到的应激 (约 11meq)。

[0113] 图 2 展示了类似的数据,显示与仅存在 500ppm ETX 时相比,存在 500ppm ETX+TBHQ 时黄色油脂的 OSI 诱导时间增加、AOM 过氧化物水平降低。在存在 500ppm ETX、100ppm TBHQ、以及 500ppm ETX+100ppm TBHQ 掺合物时使湿酒糟接受氧化应激。图 3 显示了 ETX+TBHQ 组合的协同稳定作用。用该组合处理的酒糟的 OSI 诱导时间远高于单用 ETX 和单用 TBHQ 的 OSI 诱导时间总和。

[0114] 这些数据揭示,乙氧喹和 TBHQ 的组合在稳定脂质材料中的功效远高于单用乙氧喹。

[0115] 实施例 2 乙氧喹和叔丁基氢醌的组合能稳定用于反刍动物饮食中的油和脂肪

[0116] 该研究的目的是评价乙氧喹和 TBHQ 的组合稳定用于牛膳食中的非惰性油和脂肪的能力。

[0117] 方法。测定人工氧化应激前后五种不同食用油或脂肪来源的氧化程度和脂肪酸曲线。所述油或脂肪为:玉米油 (co),大豆油 (so);鲱鱼油 (fo);黄色油脂 (yg);以及玉

米油、鱼油和黄色油脂的掺合物 (bo)。各种油或脂肪的品质通过氧化程度 (初始过氧化值, ipv) 来确定。初始过氧化值测量的是脂质氧化最初阶段形成的过氧化物和过氧化氢的浓度。用碘离子滴定测量每千克脂肪中过氧化物的毫克当量 (meq/kg)。

[0118] 在不存在或存在 500ppm agrado plus® 时对油或脂肪施以人工氧化应激 (见实施例 1)。油或脂肪的稳定性采用实施例 1 所述的 aom 和 osi 法估算。Aom 采用的温度为鲱鱼鱼油 55℃, 其他油和脂肪为 98℃。Osi 法采用的温度为鲱鱼鱼油 70℃, 其他油和脂肪 110℃。每种油或脂肪样品测定三次。

[0119] 测定不存在或存在抗氧化剂时 aom 人工应激之前和之后 20 小时的脂肪酸曲线。测定脂肪酸曲线 (fap) 时采用装备有火焰电离检测器 (flame ionization detector) 和 30m×0.25mm(0.2 μm 膜) supelco 2380 烧结二氧化硅毛细柱 (supelco 2380 fused silica capillary column) 的 hp5890a gc (安捷伦科技有限公司 (agilent technologies, inc.); 圣克拉拉 (santa clara), 加州)。注射器和检测器温度分别维持在 250℃ 和 260℃。载体气为氦气 (20cm/s), 入口压力为 104kpa。柱温编程为 140℃ 3 分钟, 然后以 2℃ / 分升至 220℃, 并在 220℃ 维持 2 分钟。与内标 (c17:0) 比较将峰值量化。

[0120] **结果。**掺合的油、鲱鱼鱼油和黄色油脂的初始过氧化物水平高 (数据未显示) 揭示这些脂质在施以任何人工应激之前已氧化。所有脂质来源在人工环境下易于氧化 (表 1)。存在抗氧化剂掺合物时, 所有脂质来源显示在人工环境下 20 小时后 aom 值显著降低 (表 1)。尽管抗氧化剂能显著降低掺合油 (bo) 样品的氧化, 但 aom 值仍旧高于 20meq/kg, 这是通常接受的酸败阈值。这显示掺合油制品比任何同系油或脂肪源更难稳定。所有测试油和脂肪的 osi 值显著升高 (表 1)。该值从掺合油的 3 小时升高至鱼油的 41.9 小时。

[0121] 表 1: 平均活性氧法和氧化应激后的油稳定性指标值

[0122]

	活性氧法 20 小时 (meq/kg 脂肪)		
	ETX + TBHQ	对照	LSMSE
玉米油	4.7 ^a	120.6 ^b	8.3
掺合油	106.6 ^a	138.9 ^b	
鱼油	3.9 ^a	252.6 ^b	
大豆油	11.8 ^a	237.3 ^b	
黄色油脂	17.1 ^a	238.4 ^b	

	油稳定性指标 (小时)		
	ETX + TBHQ	对照	LSMSE
玉米油	17.2 ^a	8.1 ^b	1.2
掺合油	3.7 ^a	0.7 ^b	
鱼油	44.7 ^a	2.8 ^b	
大豆油	15.2 ^a	6.3 ^b	
黄色油脂	11.7 ^a	4.3 ^b	

^{a,b} 一行中不同字母的平均值显著不同 (P < 0.05)。

[0123] 氧化导致测试油和脂肪的脂肪酸曲线被显著修饰。存在抗氧化剂时, 掺合油、大豆油和黄色油脂的亚油酸 (C18:2) 和亚麻酸 (C18:3) 浓度得以维持, 而氧化脂质中这些脂肪

酸的浓度显著降低（表 2）。不存在抗氧化剂时掺合油、鱼油、大豆油和黄色油脂中棕榈酸（C16:0）和硬脂酸（C18:0）的浓度也显著升高，而存在抗氧化剂时这些脂肪酸的浓度未升高（数据未显示）。

[0124] 表 2：用或不用抗氧化剂时氧化应激前后所选脂肪酸的百分比

[0125]

	油酸(C18:1)			LSMSE
	对照	ETX + TBHQ	氧化的	
玉米油	27.5 ^a	27.6 ^a	28.2 ^b	0.2
掺合油	22.6 ^a	24.7 ^b	26.5 ^c	
鱼油	9.8 ^a	9.8 ^a	10.8 ^b	
大豆油	27.8 ^a	27.9 ^a	30.5 ^b	
黄色油脂	30.3 ^a	30.4 ^a	34.1 ^b	

	亚油酸(C18:2)			LSMSE
	对照	ETX + TBHQ	氧化的	
玉米油	57.7 ^a	57.7 ^a	56.7 ^b	0.3
掺合油	33.4 ^a	32.8 ^a	30.6 ^b	
鱼油	1.4	1.5	1.4	
大豆油	50.2 ^a	49.7 ^a	46.1 ^b	
黄色油脂	40.6 ^a	40.7 ^a	34.4 ^b	

	亚麻酸(C18:3)			LSMSE
	对照	ETX + TBHQ	氧化的	
玉米油	1	1	0.9	0.3
掺合油	2.7 ^a	2.2 ^{ab}	1.9 ^b	
鱼油	3.0 ^a	2.0 ^b	2.1 ^b	
大豆油	6.1 ^a	6.1 ^a	4.8 ^b	
黄色油脂	5.0 ^a	5.0 ^a	3.2 ^b	

^{a,b,c} 一行中不同字母的平均值显著不同(P < 0.05).

[0126] 氧化鱼油中高不饱和 Ω -3 不饱和脂肪酸，二十二碳六烯酸 (DHA ;C22:6) 的水平显著降低（占总脂肪的 5.4%）。然而，抗氧化剂的存在能防止这种降低（占总脂肪的 7.4%，对照为占总脂肪的 7.5%）。氧化的掺合油 / 脂肪中所有 Ω 3 和 Ω 6 脂肪酸的浓度降低，而抗氧化剂使氧化部分逆转（图 4）。同样，氧化应激过程中掺合油 / 脂肪中 Ω -3 脂肪酸，二十碳五烯酸 (EPA, C20:5) 和 DHA 的浓度降低，而抗氧化剂缩小了降低的幅度（图 5）。

[0127] 这些数据表明，乙氧喹和 TBHQ 的抗氧化剂组合显著提高了某些油和脂肪抵抗极端氧化应激的能力。这些抗氧化剂能维持或显著降低不饱和脂肪酸如亚麻酸和亚油酸以及高不饱和 Ω 3 和 Ω 6 脂肪酸尤其是 EPA 和 DHA 的氧化。

[0128] 实施例 3 乙氧喹和 TBHQ 的组合能防止固体饲料中脂肪酸的氧化

[0129] 牛膳食中约 50% 的脂质来自补充油和脂肪之外的饲料。棉籽、酒糟、大豆产品或鱼粉等饲料对于总膳食脂质有显著贡献。来自这些成分的脂质大多含有高水平的易被氧化的不饱和脂肪酸。例如，来自乙醇工业的酒糟是非常不稳定的不饱和脂肪酸的来源。蒸馏期

间的加热处理以及湿酒糟的高含水量加剧了不饱和脂肪酸的氧化过程。最终结果是酒糟中的脂肪高度氧化且不稳定。该研究的目的是确定 ETX+TBHQ 组合稳定湿酒糟 (WDG) 或亚麻子中的脂质的功效。

[0130] 方法。在存在或不存在乙氧喹和 TBHQ 掺合物 (AGRADO PLUS®) 时采用基本如实施例 1 所述的活性氧法 (AOM) 测定 WDG 或亚麻子中脂肪的氧化稳定性。液体抗氧化剂制剂含有 65% ETX、7% TBHQ、7% 柠檬酸、19% 丙二醇和 2% 玉米油。干燥抗氧化剂植基含有 50% ETX、5% TBHQ、5% 柠檬酸和 10% 碳酸钙。

[0131] 结果。存在 ETX+TBHQ 时亚麻子中脂肪酸的氧化降低 (图 6A)。同样, ETX+TBHQ 组合能降低湿酒糟中过氧化物和过氧化氢的形成 (图 6B)。

[0132] 如实施例 1 所述, 在不存在或存在抗氧化剂掺合物时分析氧化前后湿酒糟的脂肪酸曲线。氧化应激期间亚油酸 (C18:2) 和亚麻酸 (C18:3) 浓度降低, 但抗氧化剂掺合物能防止这种下降 (图 7)。

[0133] 通过弹式量热法测量不存在或存在抗氧化剂时氧化的谷物的能量含量。测量时, 将样品加热至 90°C 并将氧气经样品鼓泡。相对于新鲜脂质样品, 能量含量降低了 35%, 但存在抗氧化剂能量值得以保持。抗氧化剂的保护效力非常关键, 因为氧化不仅降低了油和脂肪的能量和生物值, 而且造成其他脂基成分如纤维素和色素的氧化。因此, 这些发现表明可将乙氧喹和 TBHQ 的组合加入乳牛和肉牛的最终膳食以防止饲料中脂肪酸和维生素的氧化。

[0134] 实施例 4 使用有或没有抗氧化剂的新鲜或氧化脂肪膳食时瘤胃发酵期间的营养素消化

[0135] 自由基和氧化应激对瘤胃微生物的影响仍旧未知。该研究的目的是使用连续培养发酵罐来评价喂食不存在或存在膳食抗氧化剂的新鲜脂肪或氧化脂肪对营养素消化率的影响。

[0136] 试验膳食。配制泌乳期配给以实现 40kg/天的产乳量, 其预计的日产乳指数为 24kg/天。膳食成分和营养素组成示于表 3。该膳食由 52% 草料和 48% 浓缩混合物构成, 以干物质计, 所述混合物中含有 3% 试验脂肪。该试验脂肪由不稳定的不饱和脂肪的掺合物构成; 该掺合物中含有 33% 鱼油、33% 玉米油、26% 大豆油和 7% 不可食的牛脂。92°C 将空气经试验脂肪鼓泡 24 小时将半数脂肪氧化, 其过氧化值达到 215meq/kg (表 4)。

[0137] 表 3: 试验膳食的成分和营养素组成 (%)

[0138]

项目	处理 ¹			
	FF	FF + AO	OF	OF + AO
<i>成分:</i>				
苜蓿窖藏半干草料	4.56	4.56	4.56	4.56
玉米 青贮料	28.12	28.12	28.12	28.12
混合干草	19	19	19	19
大豆粉 44	15.58	15.58	15.58	15.58
玉米谷蛋白粉	0.66	0.66	0.66	0.66
豆壳	3.8	3.8	3.8	3.8
大麦片	5.22	5.22	5.22	5.22
玉米片	17.48	17.48	17.48	17.48
新鲜脂肪	3.00	3.00	0.00	0.00
氧化脂肪	0.00	0.00	3.00	3.00
尿素	0.66	0.66	0.66	0.66
氧化镁	0.01	0.01	0.01	0.01
磷酸二钙	0.28	0.28	0.28	0.28
碳酸氢钠	0.97	0.97	0.97	0.97
石灰石	0.28	0.28	0.28	0.28
TMin 盐	0.19	0.19	0.19	0.19
ADE 混合物	0.11	0.11	0.11	0.11
维生素 E	0.06	0.06	0.06	0.06
抗氧化剂掺合物	0	0.01	0	0.01

[0139]

营养素:

粗蛋白	18.3	18.6	18.8	18.5
可溶性蛋白 (%粗蛋白)	35.7	31.5	34.8	35.6
中性去污剂纤维 (neutral detergent fiber)	28.3	28.6	27.2	29
酸性去污剂纤维 (acid detergent fiber)	18.1	18.4	18	17.9
非结构性碳水化合物 (淀粉 + 糖)	31.8	31.1	31.9	31.6
淀粉	25.8	25.2	26	25.7
糖	6	5.9	5.9	5.9
醚提取物	5.6	5.5	5.4	5.5
灰分	6.2	6	5.8	6.2
适量非纤维类碳水化合物	41.6	41.4	42.8	41
C12:0	0.09	0.10	0.10	0.10
C14:0	1.23	2.10	2.16	1.16
C14:1	0.03	0.00	0.00	0.06
C15:0	0.18	0.17	0.19	0.17
C16:0	14.96	14.87	15.35	15.36
C16:1	2.36	2.50	2.54	2.53
C18:0	3.37	3.29	3.41	3.46
顺-C18:1	18.87	18.84	19.26	19.27
C18:2	38.57	38.87	38.65	37.94
C18:3	5.08	5.11	5.08	4.99
C20:0	0.53	0.54	0.54	0.56
C21:0	0.45	0.45	0.36	0.38
顺-9, 反-11 C18:2(CLA) ²	0.16	0.14	0.12	0.13
C22:0	0.40	0.36	0.40	0.42
C20:4	0.19	0.20	0.16	0.17
C20:5	2.74	2.81	2.14	2.21
C24:0	0.27	0.44	0.17	0.16
C22:6	1.54	1.55	1.07	1.13
其他脂肪酸	8.98	7.66	8.31	9.79
总脂肪酸	4.51	4.44	4.12	4.49

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; FF + AO = 新鲜脂肪+ 抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; OF + AO = 氧化脂肪+ 抗氧化剂.

² 共轭亚油酸

[0140] 有四种不同膳食处理方法:a)3%未添加抗氧化剂的新鲜非氧化脂肪 (FF-AO); b)3%新鲜非氧化脂肪 +100mg/kg 膳食抗氧化剂 (FF+AO); c)3%未添加抗氧化剂的氧化脂肪 (OF-AO); 和 d)3%氧化脂肪 +100mg/kg 膳食抗氧化剂 (OF+AO)。所述膳食抗氧化剂 (AO) 由 65%乙氧喹、7% TBHQ、7%柠檬酸、19%丙二醇和 2%玉米油的液体掺合物构成。恰在混合膳食之前在试验脂肪中加入膳食抗氧化剂,加入量为 100mg/kg。膳食在喂食之间于 0°C 保存,并在喂食前使其恢复室温。用过氧化值以及脂肪酸曲线的变化(表 4)来评价加入抗氧化剂前两种试验脂肪的品质和稳定性。

[0141] 表 4 :新鲜和氧化脂肪的过氧化值和脂肪酸曲线

[0142]

	新鲜脂肪(FF)	氧化脂肪(OF)
过氧化值(meq/kg 脂肪)	3.5	215
C14:0(%)	3.6	3.8
C16:0(%)	14.6	15.8
C18:0(%)	4.0	4.3
C18:1(%)	21.7	22.9
C18:2(%)	35.0	34.5
C18:3(%)	3.6	3.1
C20:5(%)	5.1	3.6
C22:6(%)	2.4	1.7
总 Ω 6(%)	35.96	34.97
总 Ω 3(%)	12.38	9.98

[0143] 连续培养系统。采用 Hoover 等 (J. Animal Sci. (1976) 43 :528-534) 所述的 12 单元双流连续培养系统。瘤胃接种物获自有两根瘤胃插管的泌乳荷尔斯坦因乳牛。将两种样品混合后接种到 1,164-mL 发酵罐内。在发酵罐内自动加入试验膳食 (经研磨可通过 4-mm 筛), 每天 2 次, 共 10 天, 相当于每 12 小时一次。连续注入 Weller 和 Pilgrim 所述人造唾液 (British J. Nutr. (1974) 32 :341-350), 使培养期的液体稀释率达到每小时 12%。所有处理一式三份连续培养 10 天。连续培养条件如下: 液体稀释率液体稀释率 :12% / 小时, 固体保留时间 :24 小时, 摄食量 100g 干物质 / 天, 发酵温度 39°C, pH 每 0.5 小时记录一次。前 7 天用于平衡。最后 3 天将流出液收集在冰浴 (ice batch), 混合并保留 1L 样品供分析。在第 10 天收集最终的流出液, 然后使发酵罐的内容物沉降并取上层液体用于微生物分析。

[0144] 化学分析。用烘箱 100°C 干燥饲料 24 小时以确定其干物质量。将 34-40g 流出液样品以 30,000x g 离心 45 分钟 (Lean 等 (2005) J. Dairy Sci. 88 :2524-2536) 以确定流出液中干物质的量。测定消化率时将消化的干物质 (DMD) 和消化的有机物 (OMD) 对微生物干物质和有机物进行校正。采用标准方法 (Goering 和 VanSoest (1991) Agric. Handbook No. 379, ARS, USDA ;Crawford (1983) J. Dairy Sci. 66 :1881-1890) 测定饲料和连续培养流出液内中性去污剂纤维含量和酸性去污剂纤维含量。采用标准方法测定饲料、流出液以及细菌、氨和醚提取物的总氮。采用气相色谱 (Lean 等 (2005) J. Dairy Sci. 88 :2524-2536) 分析挥发性脂肪酸。采用 Zinn 和 Owens (Can. J. Anim. Sci. (1986) 66 :157-166) 描述的方法测定流出液和细菌中嘌呤的浓度。采用 Smith (Wisconsin Agric. Exp. Stn. Res. (1969) Rep. 41) 描述的方法测定饲料和流出液中的糖和淀粉, 但还原糖采用铁氰化物测定。

[0145] 按 Kramer 等 (Lipids (1997) 32 :1219-1228) 的描述将发酵罐流出样品冻干并用甲醇钠 / 甲醇 HCl 转化成甲酯。用装备有火焰电离检测器和 30m×0.25mm (0.2 μ m 膜) Supelco 2380 烧结二氧化硅毛细柱的 HP5890A GC (安捷伦科技有限公司) 分析发酵罐流出脂肪酸。注射器和检测器温度分别维持于 250°C 和 260°C。载体气为氦气 (20cm/s), 入口压力为 104kpa。柱温编程为 140°C 3 分钟, 然后以 2°C / 分升至 220°C, 并在 220°C 维持 2 分钟。与内标 (C17:0) 比较将峰值量化。

[0146] **统计分析**。采用 SAS (SAS 研究所 (SAS Institute), 2003) 的 GLM 程序分析变量将数据以完全随机设计进行分析。脂肪类型以及存在膳食抗氧化剂的主效应以 2×2 阶乘阵列检测。当 p 值小于 0.05 且 p 值趋势小于或等于 0.1 以及高于 0.05 时认为有显著差异。

[0147] **结果**。分析营养素的消化率并将结果示于表 5; 显著值用黑体表示。与新鲜脂肪膳食相比, 氧化脂肪膳食中粗蛋白的消化降低 ($P < 0.01$)。然而, 存在抗氧化剂能恢复氧化脂肪膳食中粗蛋白的消化。尽管脂肪源对中性去污剂纤维的消化没有影响, 但抗氧化剂能显著提高新鲜和氧化脂肪膳食中中性去污剂纤维的消化 ($P < 0.02$)。氧化脂肪膳食内酸性去污剂纤维的消化趋于高于新鲜脂肪膳食 ($P < 0.08$)。再者, 在任何脂肪源内加入抗氧化剂能提高酸性去污剂纤维的消化 ($P < 0.04$)。这些发现提示, 加入抗氧化剂能降低脂肪对纤维素消化的不良影响。

[0148] 表 5: 不同膳食的营养素消化率

[0149]

项目	处理 ¹				P-值		
	FF- AO	OF- AO	FF + AO	OF + AO	脂肪	AO	脂肪 x AO
消化, %							
干物质	67.4	69.8	69.5	70.9	0.49	0.56	0.86
有机物	61.0	61.8	65.0	63.1	0.76	0.17	0.47
粗蛋白	97.9	87.5	98.5	93.0	0.01	0.22	0.33
中性去污剂纤维	35.7	40.1	46.0	45.2	0.51	0.02	0.35
酸性去污剂纤维	44.0	50.0	50.9	54.0	0.08	0.04	0.53
非结构性碳水化合物 (淀粉 + 糖)	69.5	70.7	69.4	69.0	0.72	0.43	0.45
总碳水化合物 消化的/天(g/d)	32.2	33.5	34.8	34.9	0.47	0.05	0.534

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; FF + AO = 新鲜脂肪+ 抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; OF + AO = 氧化脂肪+ 抗氧化剂

[0150] 对挥发性脂肪酸进行分析显示, 有和没有抗氧化剂的氧化脂肪膳食内丁酸产量升高 (表 6)。任何其他挥发性脂肪酸的产率或摩尔比没有区别 (表 6)。同样, 平均发酵 pH 在任何处理下都没有改变。

[0151] 表 6: 挥发性脂肪酸和 pH 分析

[0152]

项目	处理 ¹				P-值		
	FF- AO	OF- AO	FF + AO	OF + AO	脂肪	AO	脂肪 x AO
总的挥发性脂肪酸 (毫摩尔/天)	385	397	396	386	0.87	0.99	0.22
醋酸	205	206	207	209	0.76	0.61	0.99
丙酸	109	114	115	104	0.62	0.70	0.22
异丁酸	3.1	3.0	2.7	2.9	0.93	0.04	0.19
丁酸	53	59	52	58	0.02	0.66	0.97
摩尔%:							
醋酸	53.3	52.0	52.4	54.0	0.85	0.57	0.17
丙酸	28.4	28.8	29.1	26.9	0.46	0.62	0.30
异丁酸	0.79	0.74	0.69	0.74	0.99	0.14	0.16
丁酸	13.8	14.8	13.2	15.0	0.02	0.61	0.39
A-P 比	1.89	1.82	1.81	2.02	0.52	0.61	0.24
平均 pH	6.29	6.14	6.15	6.18	0.27	0.32	0.10

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; FF + AO = 新鲜脂肪+抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; OF + AO = 氧化脂肪+抗氧化剂.

[0153] 实施例 5 使用有或没有抗氧化剂的新鲜或氧化脂肪膳食时瘤胃发酵期间的微生物效率

[0154] 该研究的目的是使用连续培养发酵罐评价喂食不存在或存在膳食抗氧化剂的新鲜脂肪或氧化脂肪对瘤胃发酵期间微生物效率的影响,所述效力通过氮代谢监测。

[0155] 方法。试验膳食、连续培养系统以及化学分析如实施例 4 所述。

[0156] 结果。分析了不同处理对氮分配和微生物效率的影响,结果示于表 7,显著值用黑体表示。相比新鲜脂肪膳食,存在氧化脂肪膳食时的微生物生长显著降低 ($P < 0.03$)。然而,氧化脂肪膳食的旁路氮 (By-pass nitrogen) 显著升高,导致氧化脂肪处理中的非氨氮水平较高。加入抗氧化剂能增加新鲜和氧化脂肪膳食的微生物生长 ($P < 0.09$)。因此,新鲜脂肪膳食 + 抗氧化剂导致微生物氮多于任何其他处理。加入抗氧化剂能降低两种脂肪处理的氨水平 ($P < 0.06$)。

[0157] 表 7:处理对氮分配、微生物生长和微生物效率的影响

[0158]

项目	处理 ¹				P-值		
	FF- AO	OF- AO	FF + AO	OF + AO	脂肪	AO	脂肪 x AO
消化的粗蛋白, %	97.9	87.5	98.5	93.0	0.01	0.22	0.34
非氨 N, g/d	2.59	2.69	2.68	2.69	0.01	0.01	0.01
氨 N, mg/d	18.93	17.98	17.58	16.62	0.16	0.06	0.99
旁路 N, g/d	0.07	0.41	0.05	0.23	0.01	0.21	0.31
微生物 N, g/d	2.52	2.28	2.63	2.47	0.03	0.09	0.66
效率:							
Mic.N/DMD ²	37.4	32.7	38.1	34.8	0.03	0.39	0.63
Mic.N/OMD ³	43.8	39.2	43.1	41.8	0.10	0.54	0.32
Mic.N/CHOD ⁴	78.4	68.2	75.7	71.0	0.08	0.99	0.48
饲料 N, % ⁵	79.7	78.4	81.3	81.0	0.26	0.01	0.49
TVFA/CHOD ⁶	12.01	11.88	11.38	11.08	0.53	0.06	0.80
TVFA/Mic.N ⁷	153	175	150	158	0.05	0.16	0.30

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; FF + AO = 新鲜脂肪+抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; OF + AO = 氧化脂肪+抗氧化剂.

² 每千克消化的干物质(DMD)产生的微生物氮(Mic.N)的克数。

³ 每千克消化的总有机物(OMD)产生的微生物氮(Mic.N)的克数。

⁴ 每千克消化的总碳水化合物(CHOD)产生的微生物氮(Mic.N)的克数。

⁵ 转化成微生物氮的消化的饲料氮(N), %

⁶ 每千克消化的碳水化合物(CHOD)产生的总挥发性脂肪酸(TVFA)的摩尔数。

⁷ 产生的每千克微生物氮(Mic.N)所产生的总挥发性脂肪酸(TVFA)的摩尔数。

[0159] 所有处理中的微生物效率菌高,可能是由于消化的碳水化合物含量低(见表5)和微生物氮的总产率高。然而,与氧化脂肪膳食相比,新鲜脂肪膳食在一定程度上导致微生物氮/消化的干物质、有机物和总碳水化合物单位较高(表7)。尽管在统计学上不显著,在氧化脂肪膳食中加入抗氧化剂提高了微生物效率。存在抗氧化剂时微生物氮中饲料氮的掺入显著提高,而这与脂肪源无关。与抗氧化剂对氨水平、饲料氮效率以及微生物生长的正面效果不同,抗氧化剂能降低两种脂肪源下生长的微生物的氮含量($P < 0.02$)(表8)。

[0160] 表8:处理对微生物组成的影响

[0161]

项目	处理 ¹				P-值		
	FF- AO	OF- AO	FF + AO	OF + AO	脂肪	AO	脂肪 x AO
氮, %	9.89	9.73	9.68	9.48	0.05	0.02	0.81
灰分, %	8.76	10.19	9.03	13.71	0.13	0.33	0.39
RNA-氮, 占总氮的%	10.27	10.83	10.09	10.47	0.24	0.49	0.81

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; FF + AO = 新鲜脂肪+抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; OF + AO = 氧化脂肪+抗氧化剂.

[0162] 实施例6使用有或没有抗氧化剂的新鲜或氧化脂肪时瘤胃发酵期间的脂肪酸代谢

[0163] 该研究的目的是使用连续培养发酵罐评价喂食不存在或存在膳食抗氧化剂的新鲜脂肪或氧化脂肪对瘤胃发酵期间脂肪酸代谢的影响。

[0164] 方法。 试验膳食、连续培养系统以及化学分析如实施例 4 所述。

[0165] 结果。 在加热氧化的长链不饱和脂肪酸期间通过空气鼓泡进行试验脂肪的氧化，反映为相比于新鲜脂肪，氧化脂肪中 EPA(C20:5) 和 DHA(C22:6) 浓度较低以及过氧化物水平较高（见上表 4）。两种脂肪类型脂肪酸曲线的差异反映为最终膳食中的脂肪总量和脂肪酸浓度。氧化脂肪膳食所含长链脂肪酸如 C21:0、CLA、C20:4、C20:5、C24:0 和 C22:6 的浓度低于新鲜脂肪膳食（见上表 3）。

[0166] 流出液中的脂肪酸会随脂肪膳食的类型以及存在或不存在抗氧化剂而改变，如表 9 详细描述。与加入氧化脂肪膳食的发酵罐相比，加入新鲜脂肪膳食的发酵罐流出液的 C16:0(P < 0.02)、C18:0(P < 0.01)、C22:0(P < 0.08) 和 C24:0(P < 0.007) 较低，而流出液的反-C18:1(P < 0.05)、EPA(P < 0.037) 和其他不饱和脂肪酸(P < 0.012) 较高。通常，与氧化脂肪膳食相比，新鲜脂肪膳食流出液的不饱和脂肪酸增加(P < 0.06) 而流出液的饱和脂肪酸降低(P < 0.01)。膳食中存在抗氧化剂能降低所有膳食中流出液的 C18:3(P < 0.076)，同时降低氧化脂肪膳食中流出液的 DHA(P < 0.01)。

[0167] 表 9: 处理对混合瘤胃微生物连续培养的流出液中脂肪酸日流出量的影响

[0168]

项目 mg/d	处理					P-值		
	FF	OF	FF + AO	OF + AO	SE	AO	脂肪	AO*脂肪
C _{16:0}	677.32	705.05	664.78	725.72	13.49	0.77	0.01	0.25
C _{16:1}	59.85	53.45	61.33	57.64	5.45	0.62	0.38	0.81
C _{18:0}	192.96	299.20	198.63	273.39	26.11	0.71	0.01	0.56
反-C _{18:1}	1,408.29	1,235.12	1,447.66	1,366.72	61.00	0.19	0.07	0.47
顺-C _{18:1}	380.34	395.03	394.45	426.51	16.77	0.21	0.21	0.61
C _{18:2}	339.70	340.39	329.08	354.01	20.17	0.94	0.54	0.56
C _{20:0}	19.72	19.61	19.45	21.12	0.61	0.34	0.24	0.18
C _{18:3}	62.60	64.39	50.61	52.08	6.16	0.08	0.79	0.97
顺-9-反								
11C _{18:2} CLA ²	17.71	14.38	13.57	10.11	3.51	0.26	0.36	0.98
C _{22:0}	19.38	21.59	21.14	22.52	0.81	0.14	0.06	0.63
C _{20:5}	39.71	22.42	36.53	24.69	3.69	0.90	0.01	0.48
C _{24:0}	16.37	17.23	16.86	19.87	0.54	0.02	0.01	0.08
C _{22:6}	26.22	34.12	31.75	15.09	3.68	0.10	0.26	0.01
其他 FA ³	846.33	769.03	801.52	810.95	14.49	0.93	0.05	0.02
不饱和 FA ⁴	1,963.72	1,774.40	1,982.26	1,890.38	73.39	0.38	0.09	0.52
饱和 FA ⁵	987.76	1185.39	983.01	1130.53	27.54	0.31	0.01	0.38

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; FF + AO = 新鲜脂肪+ 抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; OF + AO = 氧化脂肪+抗氧化剂。

² CLA= 共轭亚油酸

³ FA=脂肪酸

⁴ 不饱和 FA 包括: C_{14:1}, C_{16:1}, 同分异构体-C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3}, CLA, C_{22:1}, C_{20:5}, 和 C_{22:6}

⁵ 饱和 FA 包括: C_{12:0}, C_{14:0}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{18:0}, C_{20:0}, C_{21:0}, C_{22:0}, 和 C_{24:0}

[0169] 计算从流出液中回收的膳食脂肪酸的比例时将流出液中脂肪酸的流出除以脂肪

酸的日喂食量(表 10)。氧化脂肪膳食中从流出液中回收的 C16:0 ($P < 0.01$)、C18:0 ($P < 0.068$)、C24:0 ($P < 0.0001$) 以及主要饱和脂肪酸总和 ($P < 0.001$) 的比例明显高于新鲜脂肪膳食。膳食中存在抗氧化剂降低了从流出液中回收的 C18:3 ($P < 0.05$) 以及主要饱和脂肪酸总和 ($P < 0.033$) 的比例。观察到当不同脂肪源中存在抗氧化剂时某些脂肪酸的回收率明显不同。存在抗氧化剂时,氧化脂肪膳食中 C22:0、DHA 和其他脂肪酸的回收率降低,但在新鲜脂肪膳食中回收率无变化(例如,DHA)或升高(例如,C22:0 和其他脂肪酸)。然而,存在抗氧化剂时,新鲜脂肪膳食中 C24:0 的回收率降低,但在氧化脂肪膳食中却升高。

[0170]

表 10: 处理对混合瘤胃微生物连续培养流出液中脂肪酸回收率的影响

项目 g/100g	处理 ¹				SE	P-值		
	FF- AO	OF- AO	FF + AO	OF +AO		AO	脂肪	AO x 脂肪
C16:0	100.4	111.6	100.7	105.2	2.0	0.18	0.01	0.14
C16:1	56.3	51.2	55.3	55.7	4.9	0.89	0.35	0.96
C18:0	126.8	212.9	135.9	175.9	17.4	0.44	0.01	0.22
顺-C18:1	44.7	49.8	47.2	49.3	2.0	0.63	0.10	0.46
C18:2	19.5	21.4	19.1	20.8	1.2	0.67	0.17	0.95
C20:0	83.0	88.7	81.3	84.4	2.6	0.28	0.13	0.62
C18:3	27.3	30.8	22.3	23.2	2.7	0.05	0.45	0.65
顺-9-反-11-C18:2 (CLA)	249.5	298.3	211.0	179.3	60.6	0.23	0.89	0.53
C22:0	106.7	132.5	132.1	118.2	4.6	0.26	0.24	0.01
C20:5(EPA)	32.1	25.4	29.3	24.9	3.1	0.60	0.12	0.73
C24:0	134.0	246.8	85.9	285.5	3.6	0.23	0.01	0.01
C22:6(DHA)	37.6	77.1	46.3	29.7	5.7	0.01	0.07	0.01
其他脂肪酸	208.9	224.8	235.7	184.5	3.9	0.12	0.01	0.01
不饱和脂肪酸 ²	62.6	62.5	63.8	61.5	2.4	0.96	0.62	0.67
饱和脂肪酸 ³	97.5	122.3	95.0	110.9	2.7	0.03	0.01	0.14

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; FF + AO = 新鲜脂肪+抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; OF + AO = 氧化脂肪+抗氧化剂。

² 不饱和脂肪酸包括: C14:1, C16:1, 同分异构体-C18:1, C18:2, C18:3, CLA, C22:1, EPA, 和 DHA。

³ 饱和脂肪酸包括: C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0 和 C24:0。

[0171] 这些数据表明,氧化脂肪膳食能降低粗蛋白的消化率,降低微生物蛋白质合成,同时降低不饱和脂肪酸的流出。加入抗氧化剂乙氧喹和 TBHQ 能逆转或减轻这些效应。

[0172] 实施例 7 喂食存在和不存在抗氧化剂的新鲜和氧化脂肪对乳牛泌乳的影响

[0173] 该研究的目的是评价喂食不存在或存在膳食抗氧化剂组合的新鲜或氧化大豆油对中至晚期泌乳乳牛产乳量和抗氧化状态的影响。给中至晚期的泌乳小母牛喂食四种膳食中的一种 6 周,期间监测产乳量和其他性能参数。抗氧化状态通过测量血浆内抗氧化酶类的活性来确定。

[0174] 处理和试验设计。将 44 只初次分娩的中至晚期泌乳荷尔斯坦因乳牛养在纽约云

杉港研究牧场 (Spruce Haven Research facility) 的隔离畜棚内,并在 175 泌乳日 (DIM, day in milk) 随机分配处理方法。研究包括以下四项处理:a) 在膳食中加入 2% 的新鲜的非氧化大豆油 (FF);b) 在膳食中加入 2% 新鲜的非氧化大豆油 +100mg/kg 膳食抗氧化剂 (FF+AO);c) 在膳食中加入 2% 的氧化大豆油 (OF);和 d) 在膳食中加入 2% 的氧化大豆油 +100mg/kg 膳食抗氧化剂 (OF+AO)。所述膳食抗氧化剂由乙氧喹和叔丁基氢醌 (AGRADO PLUS[®], 诺华丝国际股份有限公司;圣路易斯,密苏里州) 的液体掺合物构成。研究的前 15 天给所有牛随意喂食含 2% 新鲜不稳定大豆油 (FF) 的对照膳食 (表 11)。在此此间,测量个体的日泌乳量和饲料摄取。适应期结束时记录身体状况评分 (BCS)、体重 (BW) 和血样并作为辅助变量 (covariate)。然后用四种处理膳食 (表 12) 中的一种喂食这些牛 6 周。处理分配时综合考虑 DIM、获得辅助变量期间的产乳量以及身体状况评分。试验膳食由 58% 草料和 42% 浓缩混合物构成,所述混合物以干物质 (DM) 计含有 2% 试验脂肪。遵照 NRC 2001 的推荐和目前的工业实践用 Cornell-Penn-Minor (CPM) 模型配制膳食。试验脂肪由不稳定的大豆油构成。92°C 下将空气经试验脂肪鼓泡 24 小时将半数脂肪氧化,使其过氧化值达到 240meq/kg (方法 Cd 12-57;AOCS,1997)。新鲜脂肪的过氧化值为 0.5meq/kg。恰在混合膳食之前在试验脂肪中加入膳食抗氧化剂 (AO) 掺合物,以膳食计加入量达到最终膳食的 100mg/kg。新鲜的和氧化的大豆油在喂食 2 天前保持冷冻。

[0175] 表 11:基础膳食的组成

成分	%干物质(DM)
玉米青贮料 2004	47.07
窖藏半干草料, 第二茬 2005	10.51
细磨玉米	10.51
大豆粉 49	12.61
玉米酒糟	2.18
SoyPlus	1.47
碳酸氢钠	0.96
碳酸钙	0.91
Geobond	0.51
玉米谷蛋白粉	0.43
鱼粉	0.44
血粉	0.44
尿素	0.24
盐	0.27
氧化镁	0.31
MonoCal 21	0.24
Celmanax	0.19
碘 270	0.09
Dynamate	0.05
维生素 E 20000	0.06
KeyDyPrmx2.5	0.4
甜菜浆糖丸	8.40
大豆油	2.00
Alimet	0.08

[0176]

[0177] 表 12: 膳食分析, 占干物质的%

组分	处理膳食			
	FF	OF	FF + AO	OF + AO
粗蛋白(CP)	17.8	18.0	18.1	18.2
可溶性蛋白(% CP)	38.6	43.8	36.3	37.6
中性去污剂纤维(NDF)	31.1	32.1	31.9	31.5
酸性去污剂纤维(ADF)	18.8	18.7	19.7	18.8
[0178] 非结构性碳水化合物(NSC ¹)	29.9	30.9	28.8	30.4
淀粉	24.5	25.5	23.3	24.9
糖	5.4	5.4	5.5	5.5
醚提取物	4.6	5.2	4.8	4.8
灰分	7.6	7.6	7.5	7.5
非纤维类碳水化合物(NFC ²)	38.9	37.0	37.7	38.0

¹NSC = 淀粉 + 糖
² 计算出的 NFC

[0179] 性能监测和样品采集。每天记录每只奶牛的提供的饲料量以及未被吃掉的饲料量 (orts)。每天记录每只奶牛上午和下午的产乳量。每周, 根据每次挤奶时产生的奶量将 24 小时内取得的个体奶样混合并通过红外分光光度法 (ND 公司 (NYDHIA), 伊萨卡镇 (Ithaca), 纽约) 分析牛奶中的蛋白质和脂肪含量。

[0180] 每两周取一次血样以评价氧化应激状态。喂食 2 小时后用肝素血浆管从每只乳牛的尾静脉获得血样, 立即置于冰上, 然后 1,000g 离心 10 分钟。取血浆上清液冷冻, 随后用凯门化学制品公司 (Cayman Chemical Company, 安阿伯 (AnnArbor), 密歇根州) 提供的测定试剂盒 (目录号 706002) 来分析超氧化物歧化酶 (SOD), 用卡尔生物化学公司 (Calbiochem, 达姆施塔特 (Darmstadt), 德国)) 提供的试剂盒 (目录号 615700) 分析总的抗氧化状态 (TAS), 用凯门化学制品公司提供的测定试剂盒 (目录号 703102) 分析谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX), 以及用卡尔生物化学公司提供的测定试剂盒分析丙二醛 (malondialdehyde) (MDA)。在整个研究中都对奶牛的日健康状况进行监测。

[0181] 每周测量总混合配给 (TMR) 的干物质含量。每两周取一次浓缩物和青贮料样品并每月混合一次, 然后冷冻供日后分析。在整个研究期间草料来源维持稳定。如实施例 4 所述分析饲料样品中的粗蛋白 (CP)、中性去污剂纤维 (NDF)、酸性去污剂纤维 (ADF)、乙醇。

[0182] 统计学。该研究被设计为是完全随机的, 并以 2×2 阶乘处理阵列重复测量, 主效应为脂肪类型 (FF 和 OF) 和存在或不存在 AO。采用 SAS[®] (SAS 研究所, 2003) 的 MIXED 程序重复测量, 将数据作为完全随机设计进行分析。重复测量状态以周为单位, 以处理的牛作为误差项。分析辅助变量时使用预处理测量值。P 值小于 0.05 以及 P 值趋势小于或等于 0.1 及高于 0.05 表示有显著差异 (在表中用黑体表示)。

[0183] 结果。数据分析显示膳食内的脂肪类型 (新鲜脂肪和氧化脂肪) 几乎未导致差异, 但有或没有抗氧化剂的膳食之间差异显著。表 13-15 中的数据展示了各种处理方法: 无抗氧化剂 (-AO), 有抗氧化剂 (+AO), 有新鲜脂肪 (FF), 以及有氧化脂肪 (OF)。

[0184] 喂食 AO 的乳牛的产乳量和牛奶成分显示显著变化 (表 13)。乳牛对 AO 的反应包

括:干物质摄取 (DMI) ($P = 0.007$), 3.5%脂肪改良奶 (3.5FCM) ($P = 0.01$), 以及乳脂产率 ($P = 0.01$) 显著增加, 而乳蛋白质含量降低 ($P = 0.03$) (表 13)。存在 A0 时乳产率有增加趋势 ($P = 0.08$)。喂食 OF 降低了 DMI ($P = 0.04$), 同时提高了乳脂肪产率 ($P = 0.02$)。

[0185] 在为期 6 周的研究期间, 产乳量 ($P = 0.0003$)、3.5FCM ($P = 0.04$)、DMI ($P = 0.003$) 和蛋白质产率 ($P = 0.0001$) 逐渐降低, 而 BW ($P = 0.0001$) 和 BCS ($P = 0.02$) 则提高, 反映用于试验的乳牛处于泌乳期的中至晚期 (175DIM)。乳脂肪含量、乳脂肪产率以及乳蛋白质含量以周为单位没有变化。以周为单位, 对于除 BW 外的任何性能参数, 未观察到膳食处理相互作用。在试验结束时, 喂食 OF 的乳牛有最低 BW ($P = 0.05$)。

[0186] 观察到喂食 A0 的乳牛的抗氧化状态有显著改变 (表 14)。喂食 A0 的乳牛的天抗氧化状态 (TAS) 高于未喂食 A0 的乳牛 ($P < 0.002$), 且与喂食的脂肪类型无关。TAS 水平在有 A0 时随时间提高, 但在没有时降低 ($P = 0.0009$)。脂肪类型对血浆 TAS 没有影响, 但观察到显著的周 \times A0 \times 脂肪类型效应 ($P = 0.003$)。在试验结束时, 喂食 A0+OF 的乳牛显示 TAS 提高最多 ($0.42 \pm 0.04\text{mM}$), 而喂食不含 A0 的 OF 的乳牛显示 TAS 值最低 ($0.07 \pm 0.04\text{mM}$)。

[0187]

表 13: 处理对产乳量和牛奶成分的影响

项目	处理 ¹					P-值			
	-AO	+AO	FF	OF	SE ²	AO	脂肪	AO x 脂肪	周
产乳量, kg/d	27.38	28.12	27.79	27.71	0.29	0.08	0.84	0.92	0.0003
FCM, kg/d	27.32	28.36	27.59	28.10	0.28	0.01	0.202	0.26	0.04
DMI, kg/d	20.28	20.91	20.83	20.36	0.16	0.0073	0.04	0.35	0.0029
BW, kg	627.67	631.40	632.42	626.65	3.55	0.458	0.255	0.98	0.0001
BCS	3.64	3.57	3.60	3.61	0.04	0.076	0.904	0.75	0.02
牛奶成分:									
脂肪%	3.49	3.56	3.48	3.57	0.04	0.25	0.14	0.14	0.27
脂肪产率, kg/d	0.95	1.00	0.95	1.00	0.02	0.01	0.02	0.24	0.22
蛋白质%	3.03	2.96	3.00	2.99	0.03	0.03	0.68	0.15	0.15
蛋白质产率, kg/d	0.82	0.83	0.83	0.83	0.01	0.57	0.92	0.12	0.001

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; +AO =有抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; -AO = 无抗氧化剂

² 标准差

[0188]

表 14: 处理对血浆参数的影响

项目:	处理 ¹										P-值		
	-AO	+AO	FF	OF	SE ²	AO	脂肪	AO x 脂肪	周 脂肪	周 x AO	周 x 脂肪	周 x AO x 脂肪	
TAS ³ , mM	0.17	0.24	0.21	0.20	0.01	0.002	0.53	0.27	0.04	0.23	0.0009	0.003	
MDA ⁴ , uM	10.03	10.21	9.66	10.58	0.43	0.76	0.144	0.69	0.05	0.68	0.17	0.03	
GPX ⁵ , nmol/mg 蛋白质	50.91	75.57	57.43	69.06	4.4	0.009	0.05	0.81	0.04	0.03	0.21	0.25	
SOD ⁶ , U/mg 蛋白质	0.023	0.023	0.021	0.025	0.008	0.549	0.0007	0.047	0.125	0.203	0.529	0.758	

¹ 处理: FF= 新鲜脂肪; +AO =有抗氧化剂; OF = 氧化脂肪; -AO = 无抗氧化剂

² 标准差

³ TAS = 血浆的总抗氧化状态

⁴ MDA = 血浆中的丙二醛

⁵ GPX = 谷胱甘肽过氧化物酶活性

⁶ SOD = 血浆中的超氧化物歧化酶

[0189] 在试验过程中,血浆 MDA 值从 10.98 降至 $9.54 \pm 0.46 \mu M$ ($P = 0.005$)。观察到显著的周 x 脂肪类型 x AO 效应 ($P = 0.03$)。与其余处理相比,试验中喂食无 AO 的 OF 膳食的

乳牛在第 2 周 ($13.27 \pm 0.9 \mu\text{M}$) 和第 6 周 ($10.9 \pm 0.9 \mu\text{M}$) 有最高 MDA 水平。

[0190] 喂食 OF 与 FF 时,在膳食中加入 A0 能升高血浆 GPX 活性 ($P = 0.009$),但该效应只在 6 周试验结束时观察到 ($P = 0.07$)。喂食 OF 使血浆 SOD 活性升高 ($P = 0.0007$),喂食 OF+A0 时有最大值 ($P = 0.05$)。

[0191] 结论。喂食 OF 减少了摄食,对产乳量没有影响,但提高了乳脂肪产率。在不存在 A0 时喂食 6 周 OF 提高了血浆 MDA 和 GPX 活性,但降低了乳牛的血浆抗氧化状态。喂食 A0 能逆转这些效应中的大多数并提供其他益处。喂食 A0 不仅提高了干物质摄取、产乳量、乳脂肪产率和脂肪改良奶,而且改善了血浆抗氧化状态和抗氧化酶活性,这些效应与喂食给乳牛的脂肪的氧化程度无关。

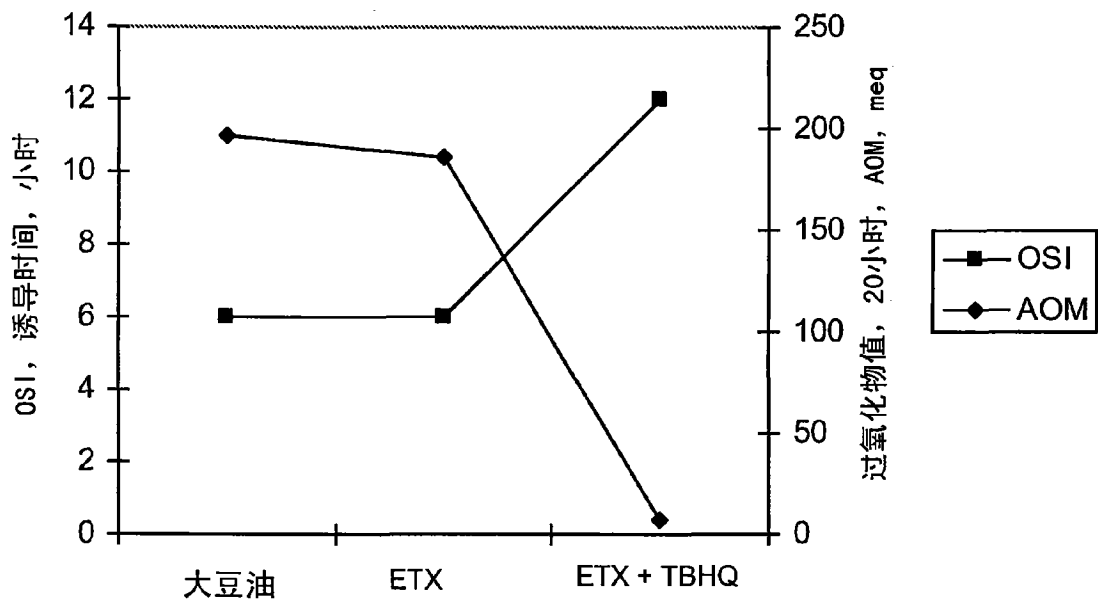


图 1

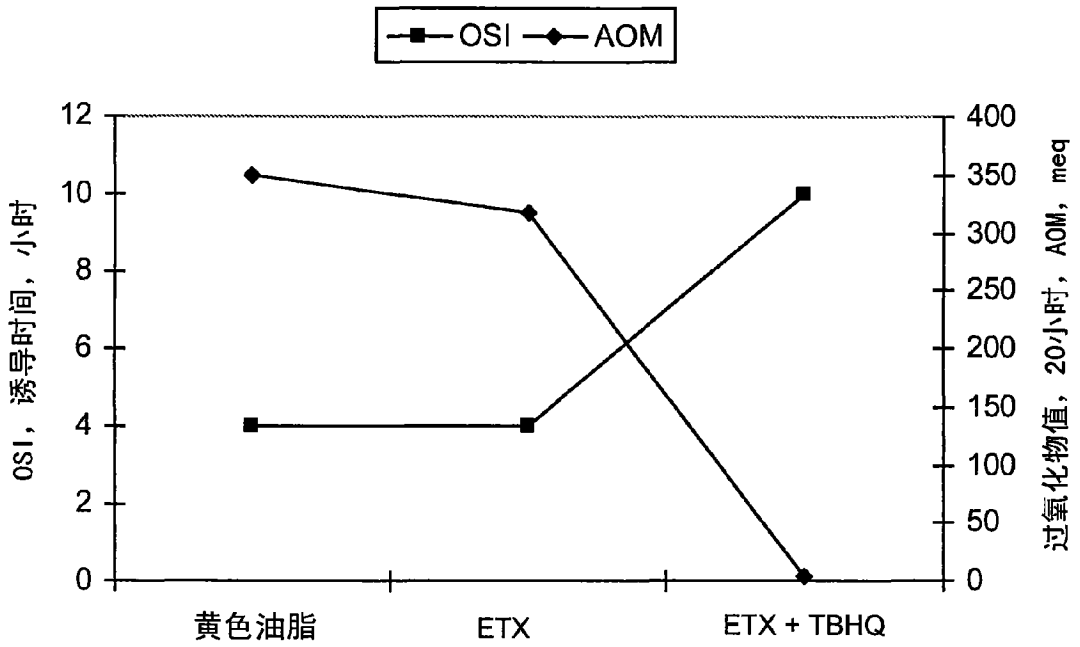


图 2

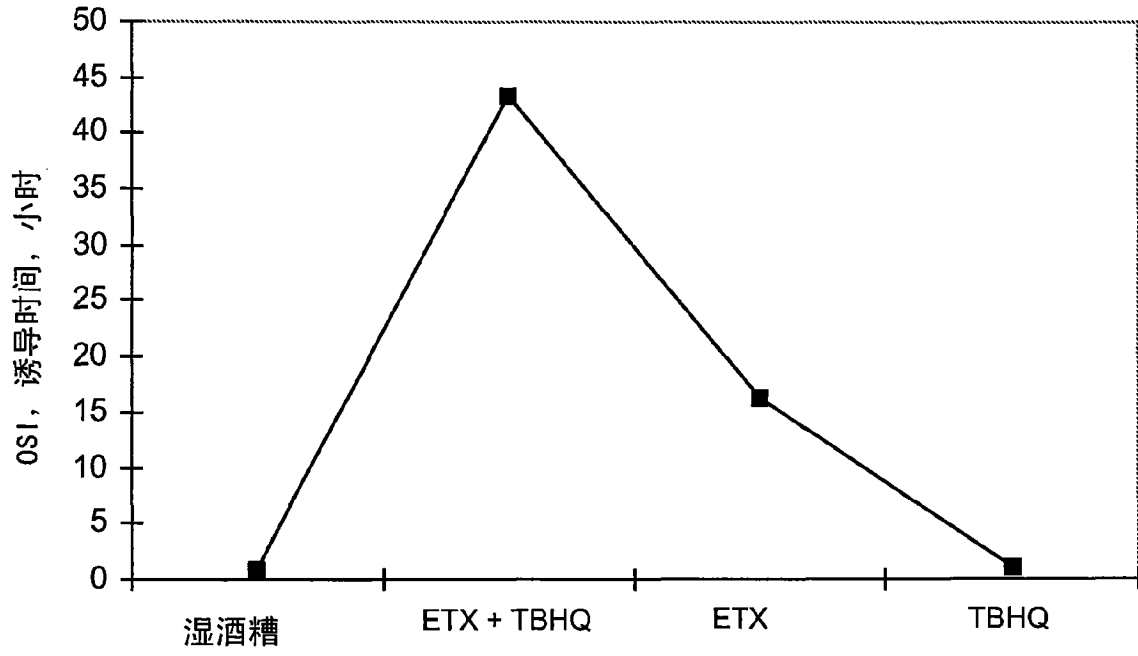


图 3

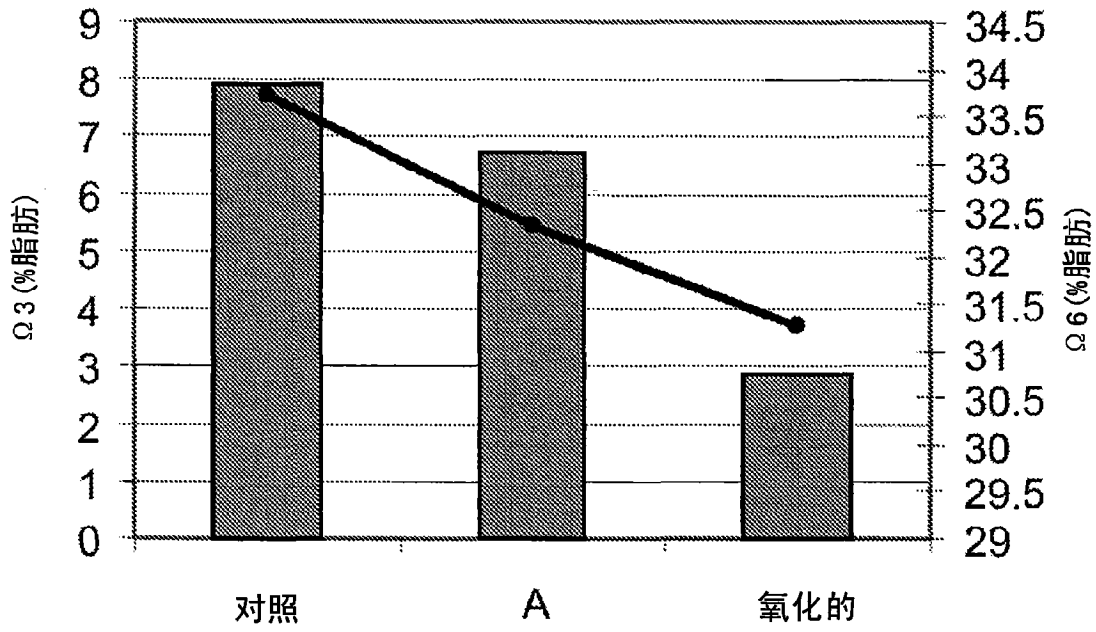


图 4

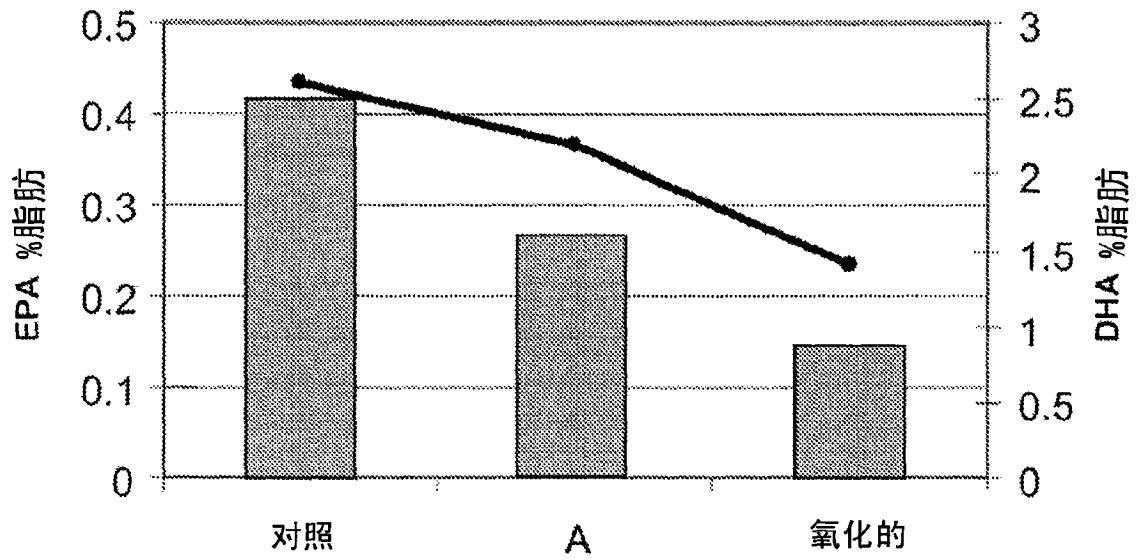


图 5

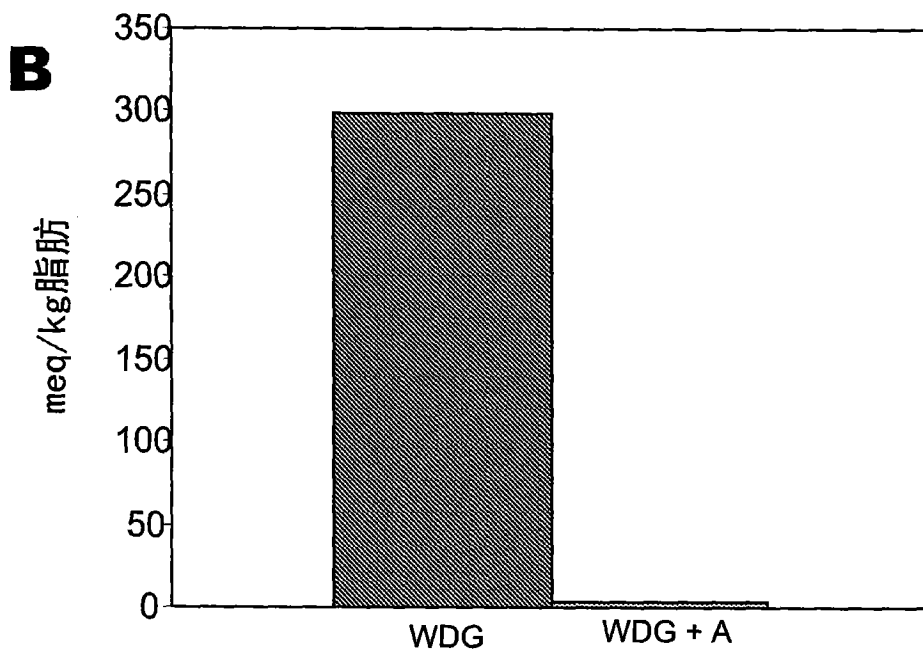
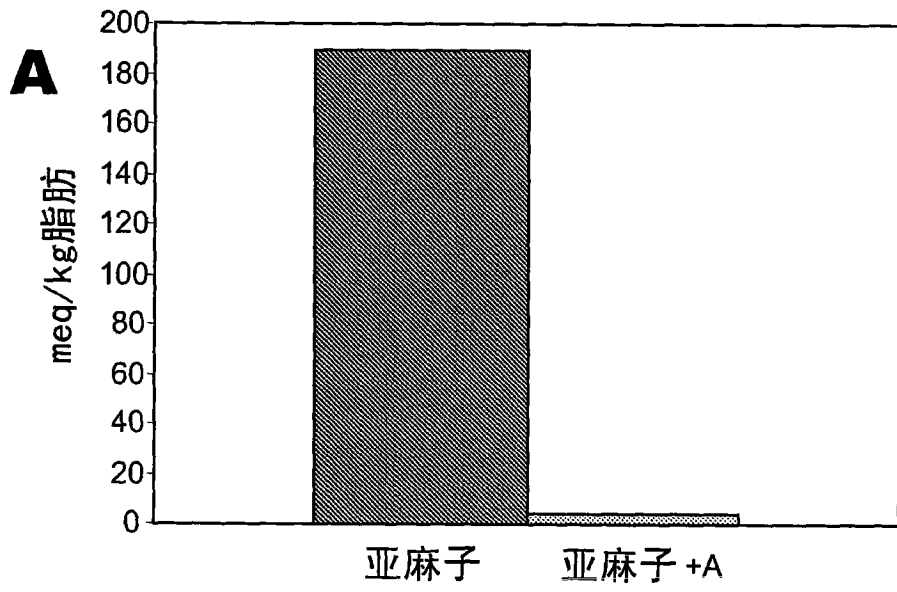


图 6

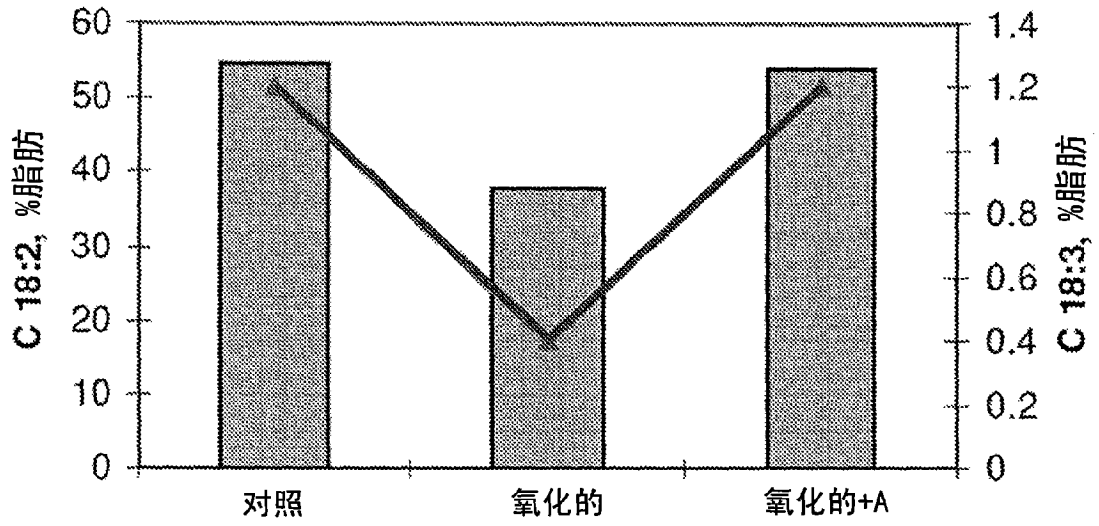


图 7