



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2016 00833

(22) Data de depozit: 15/11/2016

(41) Data publicării cererii:  
30/05/2018 BOPI nr. 5/2018

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
BIOLOGIE ȘI NUTRIȚIE ANIMALĂ - IBNA  
BALOTEȘTI, CALEA BUCUREȘTI NR. 1,  
BALOTEȘTI, IF, RO

(72) Inventatori:  
• OLTEANU MARGARETA,  
ȘOS. PANTELIMON NR. 92, BL. 211, AP. 9,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;

• CRISTE RODICA DIANA,  
STR. VALEA IALOMIȚEI NR. 2A, BL. 417,  
SC.D, AP.151, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• PANAITE TATIANA DUMITRA,  
BD. IULIU MANIU NR. 71, BL. 4, SC. 2,  
AP. 56, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• ROPOTA MARIANA, ȘOS. PANTELIMON  
NR. 99, BL. 402A, SC. 1, ET.2, AP. 33,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;  
• BUNDUC VASILE,  
STR. COSTACHE NEGRI NR. 8, SC. A,  
AP. 2, BACĂU, BC, RO

(54) SOLUȚIE NUTRIȚIONALĂ CU ULEI DIN SÂMBURI  
DE STRUGURI PENTRU MENȚINEREA ÎN TIMP A CALITĂȚII  
FURAJELOR ȘI OUĂLOR DE GĂINĂ ÎMBOGĂȚITE ÎN ACIZI  
GRAȘI POLINESATURAȚI

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție nutrițională pentru găini ouătoare. Compoziția conform invenției este constituită, în procente masice, din 5% șrot de in, 2% ulei de sămburi de struguri, 53,37% porumb, 11,41% șrot de soia, 14,67% șrot de floarea-soarelui, 0,16% metionină, 0,21% lizină, 10,47% carbonat de calciu, 1,29% fosfat dicalcic, 0,37% sare, 0,05% colină, 1%

premix, având un conținut de acizi polinesaturați de 62,83 g/100 g total acizi grași, și o valoare de 6,21 a raportului acizi grași polinesaturați  $\omega$  6/acizi grași polinesaturați  $\omega$  3.

Revendicări: 3  
Figuri: 4



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	a 2016 00833
Data depozit .....	15-11-2016

59

## **Solutie nutritionala cu ulei din samburi de struguri pentru mentinerea in timp a calitatii furajelor si oualor de gaina imbogatite in acizi grasi polinesaturati**

### **Domeniul tehnic la care se referă invenția: Zootehnie**

Inventia se refera la o noua solutie furajera pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri folosita pentru mentinerea in timp a calitatii furajelor si oualor imbogatite in acizi grasi polinesaturati.

Alimentele de astazi nu sunt destinate doar satisfacerii foamei si oferirii de nutrienti necesari intretinerii functiilor vitale, ci si pentru prevenirea bolilor relationate nutritional, imbunatatirea statusului fizic si mental al consumatorilor. Asa ca daca pana acum cativa ani toate eforturile in inovatie ale producatorilor de oua, atat pe plan intern cit si international, se indreptau catre cresterea productivitatii, in ultimii ani s-a observat o preocupare din ce in ce mai accentuata in domeniul inovatiei pentru producerea de oua care sa se adreseze unor categorii de consumatori interesati de alimentele care pot sa aiba un efect benefic asupra sanatatii. Printre alimentele a caror consum poate fi benefic pentru pastrarea sanatatii si a calitatii vietii consumatorilor se numara si ouale imbogatite in acizi grasi polinesaturati. Consumul acestor oua de catre oameni are efecte benefice, in special asupra parametrilor lipidici. Includerea unor materii prime bogate in acizi grasi polinesaturati in hrana gainilor cum sunt: semintele, sroturile sau extractele de oleaginoase, algele, poate determina imbogatirea oualor in acizi grasi polinesaturati, in special acizi grasi omega 3.

Dezavantajul folosirii in furajarea gainilor ouatoare a nutreturilor combinate imbogatite in acizi grasi polinesaturati il reprezinta ca si pentru ouale bogate in acesti acizi faptul ca se dezvolta un mediu adecvat pentru rancezirea furajelor si implicit oxidarea lipidica a oualor. Procesul de rancezire deterioreaza calitatea furajelor dar si a oualor reducand astfel acceptarea lor de catre consumatori. Astfel a aparut necesitatea utilizarii in ratiile furajere a antioxidantilor, in special cei naturali, care datorita continutului mare de polifenoli au rolul de a bloca oxidarea prin reactia lor cu radicalii liberi.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia revendicata consta in flosirea unei noi solutii nutritionale pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri, folosita pentru mentinerea in timp a calitatii furajelor si oualor imbogatite in acizi grasi polinesaturati. Termenul de solutie nutritionala se refera la o noua reteta furajera pentru gaini si la calitatea nutretului combinat fabricat conform acestei retete. Fata de o furajare conventionala, noua solutie nutritionala propusa pentru brevetare

este imbogatita in materii prime vegetale bogate in acizi grasi polinesaturati si contine ca si antioxidant o materie prima furajera naturala.

Avantajele pe care le prezinta inventia revendicata se refera la o solutie nutritionala pentru gaini ouatoare, eficace in mentinerea in timp a calitatii furajelor si oualor de gaina imbogatite in acizi grasi polinesaturati, aliment cu implicatii semnificative in cresterea calitatii vietii consumatorilor prin prevenirea instalarii bolilor relationate nutritional.

Inventia revendicata poate fi obtinuta la scara industriala fiind adresata producatorilor de furaje in vederea diversificarii productiei ca expresie a asumarii responsabilitatii privind asigurarea calitatii si sigurantei alimentelor.

Prezentam in continuare cateva aspecte legate de importanta antioxidantilor si a formei sub care se regasesc in nutreturile bogate in acizi grasi polinesaturati cu care se furajeaza pasarile.

Funcțiile speciale ale celulelor organismului animal necesita nutrienti specifici pentru indeplinirea lor. Fiziologia umana necesita ca nutrienti: vitamine, macroelemente minerale, microelemente minerale, 8 aminoacizi esentiali si 2 acizi grasi polinesaturati esentiali fara de care viata ar fi imposibila. Acestia au fost denumiti vitamina F: acidul linoleic si alfa-linolenic, acidul docosahexaenoic fiind conditionat esential. Îmbogățirea alimentelor de origine animala in acizi grasi polinesaturati se poate realiza prin utilizarea in hrana animalelor a unor rații care includ materii prime bogate in acest tip de acizi (Criste et al., 2009). Grasimile cu acizi grasi polinesaturati sunt foarte sensibile la reactiile de oxidare pe perioada depozitarii si este posibil sa devina rancede la temperaturi ridicate. Prezenta grasimilor si a uleiurilor in retetele pasarilor ofera un mediu adecvat pentru rancezire, iar nutrientii din furaje au capacitatea de a reactiona cu oxigenul pentru a forma radicali liberi. Rancezirea deterioreaza valoarea nutritiva a furajelor si astfel se produc pierderi economice prin influenta negativa asupra performantelor si sanatatii pasarilor. Grasimea oxidata din ratie creste expunerea la radicali liberi, inducand un stres in intestin si crescand cerintele de antioxidanti pentru prevenirea deteriorarilor tisulare. Odata cu cresterea nivelului de acizi grasi in ratiile animalelor de ferma cresc atat susceptibilitatea membranelor celulare la inductia stresului oxidativ in organismul animal (Miret et al., 2003), cat si susceptibilitatea produselor animaliere (carne, oua) la oxidarea lipidica, reducand astfel acceptarea lor de catre consumator (Sparks, 2006). Stresul oxidativ constituie un mecanism care produce daune biologice in organisme vii (Mezes et al., 1997; Avanzo et al., 2001). Rancezirea oxidativa reprezinta una dintre principalele cauze ale deteriorarii furajelor si a calitatii alimentelor provenite de la pasarile hranite cu astfel de furaje. Acest fapt a condus la necesitatea completarii ratiilor, mai ales a celor bogate in acizi grasi polinesaturati, cu antioxidanti, care au rolul de a inhiba oxidarea.

Antioxidantii (AOX) sunt capabili de a incetini/bloca procesele oxidative. Cei mai utilizati in industria producatoare de furaje sunt antioxidantii de sinteza care provin din structuri fenolice,

precum hidroxianizol butilat (BHT), terțiar butilic hidroxi chinonă (TBHQ) și galatul de dodecil, propil și octil. Compușii fenolici exercită o activitate antioxidantă ridicată cu prin trei mecanisme: activitatea de baleiaj a radicalilor liberi (Zheng et al, 2009), activitatea de chelatare – metal - tranziție (Andjelkovic et al, 2006), și / sau capacitatea de extincție a oxigenului singlet (Mukai colab., 2005). S-a demonstrat că efectul sistemic al AOX nu se restricționează la un efect „*in vivo*”, de vreme ce poate persista în țesuturi *post mortem*, protejând prezenta PUFA în carne (Bartov and Borstein, 1977). Însa, în prezent, consumatorii au devenit circumspecți cu privire la utilizarea substanțelor sintetice atât în hrana pasărilor cât și ca aditivi alimentari, preferând produsele naturale și alimentele cu o înaltă valoare nutrițională, fără componente sintetice.

Antioxidanții naturali sunt substanțe chimice cu caracteristici diferite care sunt prezente pe scară largă în plante. Antioxidanții naturali pot proteja biologic importante componente celulare implicate în procesele oxidative cauzate de speciile reactive de oxigen (ROS) (Su *et al.*, 2007). Cel mai important antioxidant natural este considerat  $\alpha$ -tocoferolul. Totuși, vitamina E folosită în industria furajelor se obține pe scară industrială, la prețuri ridicate.

Eficiența antioxidantilor depinde de doza administrată. Într-o concentrație scăzută până la moderată aceștia fiind capabili de a conferi avantaje, în timp ce, într-o concentrație foarte ridicată se pot comporta ca pro-oxidanți, datorită implicării lor în reacțiile de inițiere și, ca urmare, pot avea efecte daunatoare pe termen lung .

Prezența unor antioxidanți precum vitamina E, vitamina C, carotenoizii și extractele de ierburi poate fi benefică în prevenirea efectelor defavorabile (Fellenberg și Speisky, 2006).

Extracte, frunze uscate și /sau alte părți ale oregano, rozmarin și cimbru au fost adăugate în rațiile pasărilor pentru a se studia performanțele, producția de ouă și calitatea, precum și stabilitatea oxidativă a carnii de pasare (Botsoglou et al., 2005; Botsoglou et al., 2007; Florou-Paneri et al., 2006; Giannenas et al., 2005).

Studiile efectuate în ultimul timp arată că în rațiile pasărilor se pot folosi ca antioxidanți subproduse vitivitice cum ar fi: tescovina din struguri care este produsă în cantități mari (Su *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2013; Juśkiewicz *et al.*, 2015), extractele (Iacopini *et al.*, 2008; Brewer, 2011) sau uleiurile (Celik *et al.*, 2011; Choupani *et al.*, 2013).

Yilmaz și Toledo (2004) au demonstrat că flavonoidele abundă în samburii și cojile de struguri, demonstrând o importantă capacitate antioxidantă. Asadar, este normal să presupunem că produsele derivate din struguri (turte de coji și semințe), precum vinul, sucul din struguri, reprezintă surse naturale de polifenoli, mai precis flavonoide. Din conținutul total de polifenoli existenți în struguri, cea mai mare pondere se regăsește în samburi, în jur de 60-70%, urmata de pielite, în jur de 28-35% și pulpa sub 10% (Shi et al., 2003).

Polifenolii din struguri sufera cateva reactii chimice in perioada de procesare si depozitare, incluzand polimerizarea si depolimerizarea, reactia enzimatica si copigmentarea. Hatzidimitrioua et al. (2007) au aratat ca are loc o scadere a continutului de fenoli din samburii de struguri in timpul depozitarii. Principalul subprodus rezultat in urma procesului de vinificatie este tescovina. Acest subprodus din struguri este o sursa bogata in polifenoli (Kammerer et al., 2004; Katalinić et al., 2010). Extractele dietetice de struguri au inhibat oxidarea lipidica din plasma sobolanilor hraniti cu ratii bogate in PUFA n-3, ceea ce demonstreaza ca sunt absorbiti compusii fitochimici din extract, actionand ca antioxidanti (Gladine et al., 2007)

Choupani et al. (2013) au investigat efectul unor surse uleioase – ulei de soia, de masline si de samburi de struguri, asupra calitatii oului si colesterolului din galbenus. In acest scop au utilizat 96 de gaini Leghorn, cu varsta de 139 saptamani, impartite in 4 loturi experimentale. Retetele gainilor au fost suplimentate cu 3% ulei de masline (E1), 3 % ulei soia (E2) si 3 % ulei seminte de struguri (E3). Nu au existat diferente semnificative intre loturile experimentale privind productia de oua, unitatea Haugh, greutatea si grosimea cojii, culoarea galbenusului si concentratia de colesterol din galbenus. Rezultatele au aratat insa o crestere medie semnificativa a greutatii oului la loturile experimentale comparate cu martorul. De asemenea, Filardi et al. (2005) au observat ca utilizand ulei de soia sau de samburi de struguri in hrana gainilor ouatoare, nu determina aparitia unor diferente semnificative in productia de oua.

Efectele extractului de seminte de struguri asupra performantelor gainilor si continutului de colesterol din oua, au fost cercetate de Hu et al. (2013). Acestia au realizat un studiu pe 450 gaini Lohmann-White cu varsta de 40 saptamani, impartite in 5 loturi experimentale. Nivelele de includere a extractului de seminte de struguri au fost de 0, 100, 200, 400 si 800 mg/kg. Suplimentarea cu 800 mg/kg a scazut semnificativ consumul mediu zilnic fara a influenta greutatea oului, iar 100 mg/kg extract a crescut semnificativ procentul de ouat. Grosimea cojii oului a crescut semnificativ prin suplimentarea cu 400 si 800 mg/kg extract de seminte de struguri, iar nivelul de 800 mg/kg a determinat o crestere semnificativa a inaltimii albusului, fara a influenta unitatea Haugh si culoarea galbenusului. Continutul de colesterol din galbenus a scazut semnificativ la toate loturile experimentale fata de lotul martor. Hu et al. (2013) recomanda utilizarea unui nivel de 100 mg/kg extract de seminte de struguri pentru scaderea semnificativa a colesterolului din galbenus si cresterea procentului de ouat. Su et al. (2008) au testat efectele includerii turtelor de seminte de struguri in dieta animalelor monogastrice. Acestia au suplimentat ratiile gaiilor ouatoare cu 6 % turte de seminte de struguri, si au observat o imbunatatire a productiei de oua.

*Solutia nutritionala pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri, folosita pentru mentinerea in timp a calitatii furajelor si oualor imbogatite in acizi grasi polinesaturati, propusa pentru brevetare, fost elaborata tinand cont de urmatoarele:*

- gainile ouatoare sunt capabile sa ajusteze consumul de furaj conform cerintelor de nutrienti, in mod deosebit cele de energie.

- cerintele nutritionale pentru gaini ouatoare (NRC, 1994) si recomandările producatorului hibridului TETRA pe care s-a organizat testarea experimentală.

- nutrețurile combinate pentru pasari trebuie sa fie sarace in celuloza din cauza particularitatilor anatomice si functionale ale tubului digestiv pe care le are pasarea

*Solutia nutritionala pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri, folosita pentru mentinerea in timp a calitatii furajelor si oualor imbogatite in acizi grasi polinesaturati* are reteta furajera structurata pe materii prime furajere conventionale (porumb, grau, srot soia, srot de floarea soarelui si ulei vegetal) si include, in mod particular:

- srot de in, o materie prima furajera de origine vegetala si care este deosebit de bogata in acizi grasi polinesaturati

- uleiul extras din samburi de struguri care datorita continutului de oligomeri proantocianici are un efect antioxidant mare. Conținutul total de fenoli variaza între 59  $\mu\text{g/g}$  și 115,5  $\mu\text{g/g}$  GAE. Capacitatea antioxidantă este cuprinsă între 0,07 mmoli echivalenți Trolox / g și 2,2 mmoli echivalenți Trolox /g.

#### **Testarea intr-un experiment desfasurat pe gaini ouatoare a eficacitatii noii solutii nutritionale pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri in mentinerea in timp a calitatii furajelor si oualor imbogatite in acizi grasi polinesaturati**

Experimentul s-a derulat timp de 4 saptamani pe un efectiv de 60 gaini din hibridul TETRA, in varsta de 67 saptamani. Pasarile au fost cantarite individual, formandu-se doua loturi (martor si experimental) omogene din punct de vedere al greutatii corporale: 2008,7 $\pm$  27,90 kg /gaina la lotul M (martor); 1993,48  $\pm$  44,84 kg/ gaina la lotul E (experimental).

Pasarile au fost cazate intr-o hala experimentală cu microclimat controlat. Parametrii de microclimat (temperatura medie de 22.35 $\pm$ 1.74  $^{\circ}\text{C}$  si o umiditate de 57.06 $\pm$ 5.59 %) s-au incadrat in limitele prevazute in ghidul hibridului TETRA. Programul de iluminat al halei experimentale a fost de 16 ore lumina/ 24 h, in conformitate cu ghidul de crestere al hibridului TETRA.

Apa si furajul au fost administrate ad libitum. Solutiile nutritionale folosite pentru cele doua loturi au avut retete furajere cu aceeasi structura de baza (tabelul 2). Diferenta dintre nutrețul combinat folosit in furajarea lotului experimental (E) si cel folosit la martor (M) a fost data de includerea in reteta lotului experimental a unei surse furajere bogata in acizi grasi (srotul de in) si a uleiului din samburi de struguri cu rol de antioxidant natural (tabelul 1). Srotul de in a avut 71.59 g

acizi grasi polinesaturati/ 100 g total acizi grasi iar dintre acesti 56,41 g/100 g acizi grasi sunt acizi grasi polinesaturati omega 3.

Tabelul 1- Caracterizarea uleiului din samburi de struguri

Specificatie	Valori
Continutul de polifenoli (mg EAG / g)	0.252
Capacitatea antioxidanta (mM echivalenti Trolox / g)	0.71
Indicele peroxid (ml tiosulfat 0.1 N/g grasime)	0.58
Aciditatea grasimii (mg KOH / g grasime)	13.1
Reactia Kreiss	negativ

Premixul utilizat la fabricarea nutreturilor combinate, a fost un premix conventional fabricat la IBNA Balotesti - statia Zooforturi.

Tabelul 2 - Structura retetelor utilizate in experiment

Ingrediente	M	E
Porumb	38.65	53.37
Grau	20	-
Srot soia	18.88	11.41
Srot floarea soarelui	7	14.67
Ulei	2.25	-
Srot In	-	5
Ulei samburi struguri	-	2
Metionina	0.11	0.16
Lizina	-	0.21
Carbonat	10.5	10.47
Fosfat	1.2	1.29
Sare	0.36	0.37
Colina	0.05	0.05
Premix A6 (IBNA)	1	1
Total	100	100

Pe toata perioada experimentală au fost monitorizati parametrii bioproductivi: consumul mediu zilnic, consumul specific, greutatea medie a oualor si intensitatea la ouat. Din fiecare nutret combinat s-a fabricat o singura sarja furajera din care au fost recoltate probe in vederea stabilirii calitatii lor nutritionale prin determinarea compozitiei chimice primare, a indicilor de degradare ai grasimii si a statusului oxidativ.



Pe parcursul celor 4 săptămâni experimentale, au fost recoltate 72 de oua în două serii de câte 36 de oua. Astfel, s-au recoltat 36 de oua (18 oua/lot) în a doua săptămână de la începerea furajării și 36 de oua (18 oua/lot) în ultima săptămână (a 4-a). Din fiecare serie de oua recoltate după ce s-au efectuat pe fiecare ou măsurătorile privind parametrii fizici de calitate, ouale au fost sparte și s-au constituit câte 6 probe/lot (3oua/proba) de galbenus pentru determinări chimice privind valoarea nutrițională. Din probele de galbenus s-au efectuat determinări privind concentrațiile de: acizi grași și statusul oxidativ. Pentru a evalua păstrarea calitatii oualor în timp, în ultima săptămână s-au mai recoltat câte 72 de oua /lot care au fost păstrate la temperatura camerei, respectiv la frigider (+4°C), timp de 15 zile, respectiv 30 zile de la sfârșitul experimentului. Pe aceste oua s-au făcut măsurători fizice pentru a determina valorile unității Haugh care este unul dintre indicatorii gradului de prospetime.

Metodele folosite pentru determinările realizate din furaje și oua sunt prezentate mai jos:

-*substanța uscată (SU)* s-a determinat prin metoda gravimetrică, conform standardului SR ISO 6496:2001. Aparatele folosite: balanța analitică Sartorius (Gottingen, Germania) și etuva BMT model ECOCELL Blueline Comfort (Neuremberg, Germania);

-*proteina brută (PB)* s-a determinat prin metoda de mineralizare în bloc și distilare cu abur (metoda Kjeldahl), conform standardului SR EN ISO 5983-2:2010, Aparatele folosite au fost: digester TM AUTO și sistem semiautomat KJELTEC auto 2300 – Tecator (Suedia);

-*grasime brută (GB)* s-a determinat prin metoda extracției într-un solvent organic, conform standardului SR ISO 6492:2001. Aparatele folosite: balanța analitică Sartorius (Gottingen, Germany); etuva BMT model ECOCELL Blueline Comfort (Neuremberg, Germany) și sistemul SOXTEC-2055 -Tecator (Suedia);

-*celuloza brută (CB)* s-a determinat prin metoda cu filtrare intermediară, conform standardului SR EN ISO 6865:2002. Aparatele folosite: balanța analitică Sartorius (Gottingen, Germany); etuva BMT model ECOCELL Blueline Comfort (Neuremberg, Germania) și sistemul FIBERTEC - Tecator 2010 (Suedia);

-*cenusa (Cen)* s-a determinat prin metoda gravimetrică, conform standardului SR EN ISO 2171:2010. Aparatele folosite: balanța analitică Sartorius (Gottingen, Germany) și cuptor de calcinare Caloris CL 1206;

-*indicele de aciditate a grăsimii* s-a determinat prin metoda volumetrică, conform standardului STAS 12266-84. S-a folosit o microbiureta de 10ml.

-*indicele de peroxid* s-a determinat prin metoda volumetrică, conform standardului STAS 12266-84. S-a folosit o microbiureta de 10ml și o baie de apă Julabo SW 23;

-*reactia Kreiss* este o metoda calitativă de stabilire a gradului de rancezire a grăsimii. S-a folosit o microbiureta de 10ml.



-*acizii grasi* s-au determinat prin metoda gazcromatografica, conform standardului SR CEN ISO/TS 17764-2: 2008. Aparatul folosit: gaz cromatograf Perkin Elmer-Clarus 500, dotat cu sistem de injecție în coloană capilară, având faza staționară cu polaritate ridicată (BPX70: 60m x 0,25mm diametrul interior si 0,25 $\mu$ m grosime film); sau faze cianopril cu polaritate ridicată care dau o rezoluție similară pentru diferiți izomeri geometrici (THERMO TR-Fame: 120m x 0,25mm ID x 0,25 $\mu$ m film);

-*pentru determinarea concentratiei de polifenoli si a capacitatii antioxidante*, din probele de furaje si oua, supuse analizei, s-a efectuat mai intai o extractie a compusilor fenolici in metanol acidificat (metanol:HCl=80:20). Omogenatul a fost apoi centrifugat de 2 ori la 10000 RCF, timp de 15 min, la temperatura camerei, iar supernatantul final (extractul metanolic) obtinut s-a păstrat, la +4°C, pana la intrarea in analiza. Aparatele folosite: agitator orbital Heidolph Unimax 1010, Microstirrer Vepl Scientific, centrifuga Eppendorf 5810R, balanta RADWAG AS220/C/2 (10-220 mg) si PS600/C/2 (0,01-600 g) si pH metru WTW Senix-HW;

-*conținutul de polifenoli din extractele metanolice* s-a determinat prin metoda spectrofotometrica, conform metodei descrise de Mihailovic et al. (2013), modificata. Aparatul folosit a fost un spectrofotometru UV-VIS Thermo Scientific.

-*determinarea capacității antioxidante a extractelor metanolice* s-a determinat prin metoda DPPH, spectrofotometrica propusa de Marxen et al. (2007). Aparatul folosit a fost un Spectrofotometru UV-VIS Analytik Jena Specord 250 Plus cu carusel termostatat.

Pentru stabilirea parametrilor fizici ai oualor recoltate pe parcursul derularii experimentului, s-au facut masuratori cu aparate etalonate si calibrate: greutatea oului si a componentelor sale (balanta Kerm, precizie 0,001); intensitatea culorii exprimata valoric pe scara La Roch de la 1 la 15 (aparat de tip analizor Egg Analyzer TM); prospetimea oului masurata prin valoarea indicelui Haugh; grosimea cojii (Egg Shell Thicknes Gauge); rezistenta la spargere a cojii de ou (Egg Force Reader).

### Rezultate si discutii

Dupa fabricarea nutreturilor combinate, din fiecare sac in care s-a pus furaj au fost recoltate probe de nutret combinat, fiind extrase aproximativ 500 g furaj combinat /lot in vederea analizelor chimice. Compozitia chimica primara a nutreturilor combinate fabricate este prezentata in tabelul 3 si indica faptul ca ambele nutreturi sunt echilibrate energo-proteic, asigurand necesarul de nutrienti pentru varsta si categoria pasarilor in conformitate cu ghidul de crestere al hibridului TETRA.

Tabelul 3 - Compozitia chimica primara a nutreturilor combinate  
(exprimata la substanta uscata)

	<b>M</b>	<b>E</b>
Substanta uscata, %	89.65	89.74
Energia metabolizabila, kcal/kg	2720.00	2720.00
Proteina bruta, %	16.65	16.48
Grasime bruta, %	3.50	3.63
Celuloza bruta, %	4.51	4.71
Cenusa, %	11.99	12.74
Calciu, %	4.10	4.22
Fosfor total, %	0.64	0.65
Sodiu, %	0.16	0.16
Clor, %	0.27	0.32
Lizina, %	0.77	0.77
Metionina, %	0.38	0.42
Met.+cist., %	0.67	0.67

Rezultatul determinarilor privind profilul de acizi grasi in functie de gradul de saturare (tabelul 4) arata ca nutretul combinat pentru gainile lotului E a avut concentratia de acizi grasi polinesaturati mai mare cu precizarea ca acizii omega 3 au fost de aproximativ 7 ori mai mari decat in nutretul lotului M. Acest aport de acizi grasi omega 3 a fost adus in nutretul lotului E de catre srotul de in.

Tabelul 4- Profilul de acizi grasi din nutreturile combinate  
in functie de gradul de saturare

<b>Specificatie</b>	<b>M</b>	<b>E</b>
SFA *	12.63	14.11
MUFA *	30.05	23.60
PUFA *	57.28	62.83
UFA *	87.33	85.89
SFA / UFA	0.145	0.164
PUFA / MUFA	1.906	2.724
Ω3 *	1,24	8,71
Ω6 *	56.05	54.12
Ω6/Ω3	45.37	6,21
SFA= acizi grasi saturati; MUFA=acizi grasi mononesaturati; PUFA=acizi grasi polinesaturati; UFA= total acizi grasi nesaturati; Ω3- acizi grasi polinesaturati omega 3; Ω6- acizi grasi polinesaturati omega 6; * = g / 100g total acizi grasi		

Avand in vedere nivelul ridicat de acizi grasi polinesaturati in nutretul lotului E, in acest nutret a fost introdus si ulei de samburi de struguri (tabelul 2) in calitate de antioxidant natural. Rezultatele obtinute la determinarea statusului oxidativ din nutreturile combinate testate sunt prezentate ilustrativ in figurile 1 si 2.

Concentratia polifenolilor in nutretul combinat al lotului E a fost mai mare ( $P \leq 0.05$ ) decat in nutretul lotului M (figura 1).

Capacitatea antioxidata (figura 2) a avut acelasi trend ca si concentratia de polifenoli, valoarea cea mai mare inregistrandu-se tot la nutretul lotului E.

Datele prezentate in figurile 1 si 2 arata ca prezenta uleiului din samburi de struguri in nutretul lotului E a determinat cresterea capacitatii antioxidante in acest nutret bogat in acizi grasi polinesaturati.

Pentru a evalua procesul de pastrare a calitatii in timp a nutreturilor si mai ales procesul de rancezire, s-au determinat indicii de degradare ai grasimii: aciditate, indicele peroxid si reactia Kreiss (initial, la 14 zile si la 28 zile de la fabricare). Evolutia indicelui de peroxid (tabelul 5), arata ca si la 28 de zile in nutretul lotului E, care a avut in componenta srot de in si ulei din samburi de struguri nu a aparut fenomenul de degradare a grasimii fapt confirmat si de reactia Kreiss (negativ). Valorile inregistrate pentru aciditatea grasimii (tabelul 5) se incadreaza in limita maxima admisa pentru furaje (50 mg KOH / g grasime). Valorile obtinute in urma determinarii indicilor de degradare ai grasimii din nutreturile combinate arata ca uleiul din samburi de struguri a avut un efect benefic in prevenirea aparitiei fenomenului de rancezire in nutretul combinat E care a fost bogat in acizi grasi polinesaturati omega 3 ( vezi tabelul 4).

Tabelul 5- Evolutia indicilor de degradare ai grasimii din nutreturile combinate

		<b>M</b>	<b>E</b>	Limite admise
Indicele peroxid (ml thiosulfat 0.1 N/g grasime);	initial	0.47	0.45	1.2
	14 zile de la fabricare	0.74	0.82	
	28 zile de la fabricare	0.96	1.01	
Aciditatea grasimii (mg KOH / g grasime);	initial	18.01	19	50
	14 zile de la fabricare	22.7	23.37	
	28 zile de la fabricare	27.12	29.26	
Reactia Kreiss	initial	Negativ	Negativ	Negativ
	14 zile de la fabricare	Negativ	Negativ	
	28 zile de la fabricare	Negativ	Negativ	

In continuare se prezinta efectul folosirii celor doua nutreturi asupra parametrilor de productie inregistrati la gainile ouatoare din experiment (tabelul 6). Analizand rezultatele obtinute rezulta ca la lotul M consumul mediu zilnic de furaje a fost semnificativ ( $P \leq 0.05$ ) mai mare decat la E dar consumul specific nu s-a diferentiat intre loturi. Intensitatea la ouat si greutatea medie a oului nu s-a diferentiat intre loturi (tabelul 6).

Tabelul 6- Parametrii bioproductivi (valori medii/lot)

Specificatie	Martor	E
Consum mediu zilnic, gNC/cap/zi	123.46 ± 1.098 b	114.89 ± 1.173a
Consum specific, kg NC/kg ou	2.182 ± 0.054	2.076 ± 0.043
Intensitatea la ouat, %	91.75 ± 2.151	89.85 ± 1.706
Greutatea medie ou, g/ou	63.86 ± 0.114	64.84 ± 0.09

Unde: a,b =diferente semnificative ( $P \leq 0.05$ ) fata de M, respectiv E

Rezultatele obtinute ca urmare a masuratorilor pentru parametrii fizici din ou, recoltate la 2 saptamani si 4 saptamani sunt prezentate in tabelul 7. S-au inregistrat diferente semnificative la majoritatea parametrilor fizici, cu exceptia greutatii albusului, galbenusului si a unitatii Haugh atat la ouale recoltate la 2 saptamani cat si la 4 saptamani experimentale. De remarcat faptul ca valorile intensitatii culorii galbenusului au crescut la lotul E, la ambele recoltari, cu 10.46%, fata de lotul M la ouale recoltate la 2 saptamani si cu 19.06%, fata de lotul M la ouale recoltate la 4 saptamani.

Tabelul 7- Parametrii de calitate ou dupa 2 si 4 saptamani experimentale (valori medii/experiment)

Specificatie	Recoltarea 1 (la 2 saptamani)		Recoltarea 2 (ultima saptamana)	
	M	E	M	E
Greutate ou (g), din care:	64.51 ± 1.78 b	62.71 ± 2.90 a	62.49 ± 0.85b	63.69 ± 0.05a
- albus (g)	39.27 ± 1.51	37.37 ± 2.64	38.05 ± 0.80	38.75 ± 0.64
- galbenus (g)	17.22 ± 1.39	16.20 ± 1.46	16.34 ± 0.46	16.33 ± 0.58
- coaja (g)	8.02 ± 0.84 b	9.14 ± 1.32 a	8.10 ± 0.63	8.61 ± 1.04

Culoare galbenus	4.78±0.55b	5.28±0.58a	3.83±0.86b	4.56±0.78 a
Grosimea cojii de ou (mm)	0.34±0.05	0.36±0.03	0.32±0.03b	0.35±0.02a
Forta de spargere (kgF)	2.86±0.97b	3.39±0.79a	3.46±0.84	3.56±0.59
HU	84.96±13.15	88.04±8.77	85.98±8.81	85.35±10.12

Unde: a, b = diferente semnificative ( $P \leq 0.05$ ) fata de M respectiv E.

Pentru ca in structura de nutret combinat s-a folosit srotul de in, ca materie prima bogata in acizi grasi polinesaturati din probele de galbenus de oua, s-au determinat concentratiile de acizii grasi. Profilul de acizi grasi din grasimea galbenusului in functie de gradul de saturare este prezentat in tabelele 8 si 9.

Tabelul 8- Profilul de acizi grasi din grasimea galbenusului in functie de gradul de saturare (recoltarea 1)  
(g/ 100g total acizi grasi)

Specificatie	SFA	MUFA	PUFA, din care:				Raport SFA/ UFA	Raport PUFA/ MUFA
			PUFA	$\Omega 3$	$\Omega 6$	$\Omega 6/\Omega 3$		
M	34.97 ±1.08	39.01 ±1.24	25.98 ±0.29	1.53b ±0.12	24.46 ±0.25	16.01b ±1.23	0.54 ±0.03	0.67 ±0.03
E	34.64 ±1.37	36.91 ±1.57	28.44 ±0.87	4.05a ±0.50	24.39 ±1.30	6.02a ±0.92	0.53 ±0.03	0.77 ±0.05

Unde: a, b = diferente semnificative ( $P \leq 0.05$ ) fata de M respectiv E.

Atat in galbenusul oualor recoltate in prima serie (la doua saptamani) cat si in galbenusul oualor recoltate in ultima saptamana concentratia de acizi grasi polinesaturati a fost mai mare la lotul E fata de M (tabelele 8 si 9). In ceea ce priveste concentratia de acizi grasi polinesaturati omega 3 si raportul intre acizii grasi polinesaturati  $\Omega 6/\Omega 3$  diferentele intre probele de galbenus de la cele doua loturi, la ambele recoltari, au fost semnificative. Astfel, la recoltarea 1 concentratia de acizi grasi polinesaturati omega 3 la lotul E a fost de 2,6 ori mai mare ca la M (tabelul 8). La recoltarea a 2-a concentratia de acizi grasi polinesaturati omega 3 in galbenusurile de la E a fost de 2,3 ori mai mare ca la M (tabelul 9).

Tabelul 9- Profilul de acizi grasi grasimea galbenusului in functie de gradul de saturare (recoltarea a2-a)  
(g / 100g total acizi grasi)

Specificatie	SFA	MUFA	PUFA, din care:				Raport SFA/ UFA	Raport PUFA/ MUFA
			PUFA	$\Omega 3$	$\Omega 6$	$\Omega 6/\Omega 3$		
M	36.11 ±0.61	37.33 ±1.11	26.50 ±0.80	1.57b ±0.13	24.93 ±0.70	15.85b ±1.05	0.57 ±0.01	0.71 ±0.04
E	35.25 ±0.78	36.68 ±0.65	28.02 ±1.06	3.63a ±0.23	24.39 ±0.97	6.71a ±0.44	0.54 ±0.02	0.76 ±0.04

Unde: a, b = diferente semnificative ( $P \leq 0.05$ ) fata de M respectiv

Valorile mai mici inregistrate de raportul  $\Omega 6/\Omega 3$  in galbenusul loturilor experimentale se datoreaza continutului ridicat de acizi grasi polinesaturati  $\Omega 3$  si diferentierii nesemnificativa intre cele 2 loturi in ceea ce priveste continutul de acizi grasi polinesaturati  $\Omega 6$  (tabele 8 si 9).

Pentru a determina efectul prezentei uleiului din samburi de struguri in prezervarea in timp a calitatii oualor bogate in acizi grasi polinesaturati s-a determinat unitatea Haugh in ouale pastrate la frigider ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) si la temperatura camerei ( $+20^{\circ}\text{C}$ ) timp de 15 zile (recoltarea 1) respectiv 30 de zile (recoltarea 2) de la sfarsitul experimentului. Rezultatele sunt prezentate in figurile 3 si 4. Din figura 3 se vede ca pentru ouale pastrate in frigider, ouale imbogatite in PUFA  $\Omega 3$  si-au pastrat calitatile organoleptice la ambele recoltari (15 respectiv 30 de zile) astfel ca unitatea Haugh a inregistrat valori comparabile cu ale oului standard de la lotul martor. Prin urmare antioxidantii au actionat la nivelul oului.

In cazul oualor lotului experimental pastrate la temperatura camerei, pana la 15 zile de la finalizarea experimentului, ouale imbogatite in acizi grasi polinesaturati de la lotul E au avut o valoarea a unitatii Haugh comparabila cu aceea inregistrata la ouale de la M (figura 4). Insa tot din figura 4 se observa ca s-au inregistrat valori foarte mici a unitatii Haugh la a 2 recoltare, respectiv 30 de zile de la sfarsitul experimentului pentru ouale lotului E pastrate la temperatura camerei.

Pe baza rezultatelor prezentate mai sus, se poate sustine si afirma ca noua solutie nutritionala pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri care este propusa spre brevetare este eficace in mentinerea in timp a calitatii furajelor si oualor imbogatite in acizi grasi polinesaturati

**REVENDICARI:**

1. *Solutie nutritionala pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri* care are in structura: srot de in (5%) si ulei din samburi de struguri (2%)
2. *Solutie nutritionala pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri* caracterizata prin: 89,74 % substanta uscata; 16,48 % proteina bruta; 3,63% grasime bruta; 4.71% celuloza; 0,77% lizina; 0,42 % metionina; 0,67 % metionina +cistina; 2720 kcal/kg energie metabolizabila; 62,83g acizi polinesaturati /100g total acizi grasi; 6,21 valoarea raportului acizi grasi polinesaturati omega 6/acizi grasi polinesaturati omega 3
3. *Solutie nutritionala pentru gaini ouatoare cu ulei din samburi de struguri* care are un continut de polifenoli totali de 2,35 mg echivalenti acid galic/g furaj si o capacitate antioxidanta de 9,27 mM echivalenti Trolox/g proba.



## DESENE

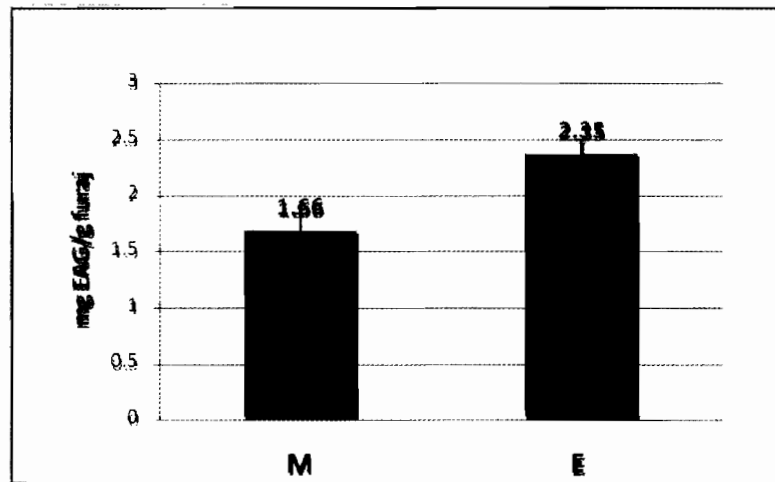


Figura 1. Concentratia de polifenoli totali in extractele metanolice din nutreturile combinate

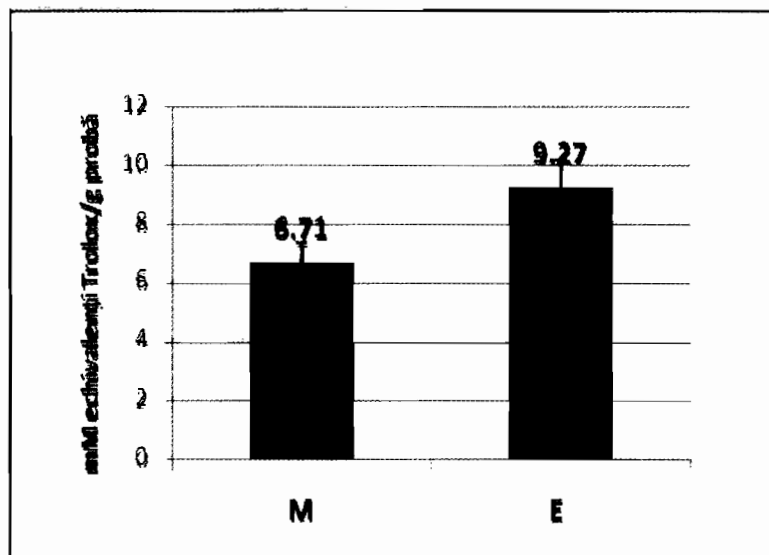


Figura 2. Capacitatea antioxidanta in extractele metanolice din nutreturile combinate

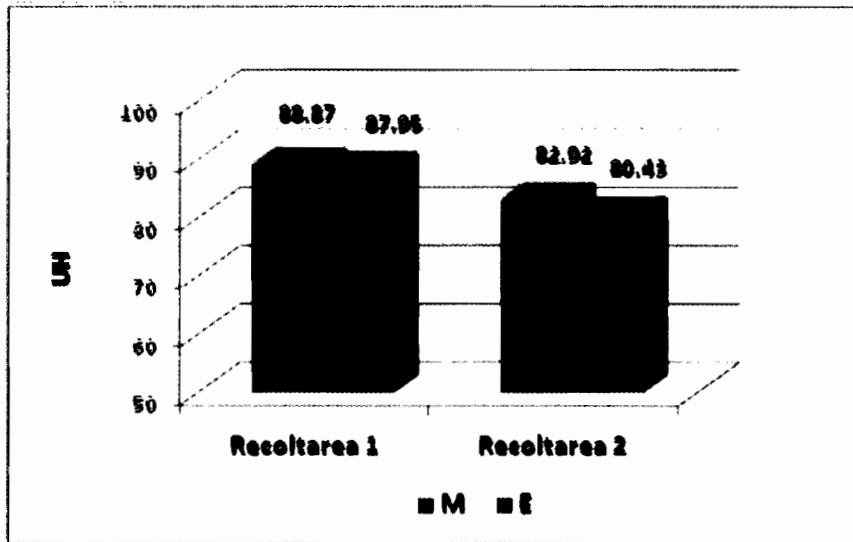


Figura 3. Unitatea Haugh - Recoltarea la frigider

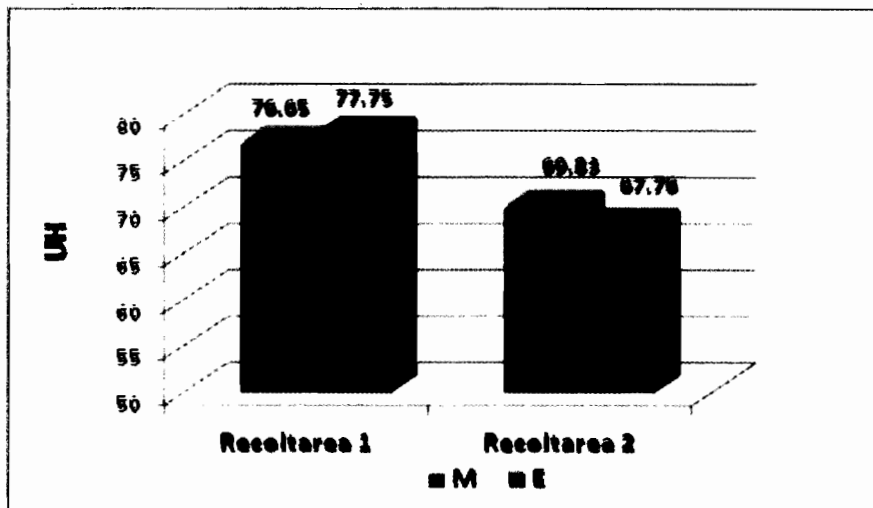


Figura 4 Unitatea Haugh - Recoltarea la temperatura camerei