



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 00525**

(22) Data de depozit: **11/07/2018**

(41) Data publicării cererii:
30/01/2020 BOPI nr. 1/2020

(71) Solicitant:

- UNIVERSITATEA DIN CRAIOVA,
STR.ALEXANDRU IOAN CUZA NR.13,
CRAIOVA, DJ, RO;
- INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
BIOLOGIE ȘI NUTRIȚIE ANIMALĂ
BALOTEȘTI, CALEA BUCUREȘTI NR.1,
BALOTEȘTI, IF, RO;
- HOUSE ANA TOUR S.R.L.,
STR. DRUMUL UNGURENILOR, NR.40,
CRAIOVA, DJ, RO

(72) Inventatori:

- NOUR VIOLETA,
ALEEA VASILE ALECSANDRI NR.2,
CRAIOVA, DJ, RO;
- PANAIȚE TATIANA DUMITRA,
BD. IULIU MANIU NR. 71, BL. 4, SC. 2,
AP. 56, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;

- CRISTE RODICA DIANA,
STR. VALEA IALOMIȚEI NR.2A, BL.417,
SC.D, AP.151, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
- OLTEANU MARGARETA,
ȘOS. PANTELIMON NR. 92, BL. 211, AP. 9,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- ROPOTĂ MARIANA, ȘOS. PANTELIMON
NR. 99, BL. 402A, SC. 1, AP. 33, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;
- VLAICU PETRU ALEXANDRU,
STR.JOHANN SEBASTIAN BACH, NR.9,
AP.1, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- CORBU ALEXANDRU RADU,
CALEA UNIRII NR.176, BL.32, SC.1, AP.10,
CRAIOVA, DJ, RO;
- SĂRĂCILĂ MIHAELA,
STR. AUREL VLAICU NR.37, GIURGIU, GR,
RO

(54) **OUĂ CU CONȚINUT RIDICAT DE ACIZI GRAȘI
POLINESATURAȚI ȘI CAROTENOIZI, ȘI METODĂ
DE OBȚINERE A ACESTORA**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la ouă de găină îmbogățite cu acizi omega-3 și carotenoizi, și procedeul pentru obținere acestora. Ouăle, conform invenției, conțin 3,5...5 mg/kg zeaxantină, 3,2...4,2 mg/kg luteină, 0,4...0,6 mg/kg trans-apo-carotenol în gălbenuș, 5...5,2 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași din gălbenuș și un raport omega-6/omega-3 de 4...5 în gălbenuș. Procedeul, conform invenției, constă în hrănirea găinilor ouătoare pe o perioadă de 2...6 săptămâni cu un furaj

specific pentru găini ouătoare suplimentat cu 5% semințe de in și 5% subproduse de la procesarea tomatelor deshidratate, având un conținut 14,6 mg/kg licopen, 2,6 mg/kg beta-caroten, 1,4 mg/kg luteină, 0,9 mg/kg zeaxantină, precum și acizi grași în raport omega-6/omega-3 de 3,4.

Revendicări: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



DESCRIEREA INVENȚIEI

OUĂ DE GĂINĂ CU CONȚINUT RIDICAT DE ACIZI GRAȘI POLINESATURAȚI OMEGA-3 ȘI CAROTENOIZI ȘI METODĂ DE OBTINERE A ACESTORA

CLASIFICARE: A23 - ALIMENTE SAU PRODUSE ALIMENTARE

CLASIFICARE 1: A 23L 33/00 - MODIFICAREA CALITĂȚILOR NUTRITIVE ALE ALIMENTELOR; PRODUSE DIETETICE; PREPARAREA SAU TRATAMENTUL ACESTORA

CLASIFICARE 2: A 23K 50/75 - FURAJE SPECIALE ADAPTATE PENTRU PĂȘĂRI DE CURTE; METODE ADAPTATE SPECIAL PENTRU PRODUCEREA ACESTORA

FUNDAMENTAREA ȘTIINȚIFICĂ A INVENȚIEI (CONTEXTUL ȘTIINȚIFIC)

Corpul uman este capabil să producă cea mai mare parte a acizilor grași saturați pe care îi necesită. Cu toate acestea, anumiți acizi grași polinesaturați, acizii grași omega-3, nu pot fi sintetizați și trebuie furnizați prin dietă. Din acest motiv, acești acizi grași sunt denumiți acizi grași esențiali. Acidul docosahexanoic (DHA), un acid gras omega-3, este un constituent important al creierului uman și al retinei. Acidul eicosapentanoic (EPA) este un alt acid gras omega-3 din care provin multe eicosonide antiinflamatoare - prostaglandinele, tromboxanii, leucotrienele și acestea realizează numeroase funcții importante în organism. Acidul alfa linolenic (ALA) este acidul gras omega-3 care este disponibil din surse vegetale. ALA (18:3) poate fi elongat și desaturat în corpul uman pentru a forma acizii grași polinesaturați EPA (20: 5) și DHA (22: 6) (Simopoulos, 1999).

Anumite alimente, cum ar fi uleiul de pește, furnizează acizii grași esențiali și au avantajul de a oferi direct acidul eicosapentanoic (EPA) și acidul docosahexanoic (DHA), ocolind astfel sinteza biochimică adesea inefficientă a acestor compuși din acidul alfa linolenic (ALA).

Acizii grași omega-3 sunt necesari pentru activitățile metabolice normale care duc la o sănătate fizică și mentală optimă. Cercetările au arătat că acești acizi grași reduc riscul bolilor cardiovasculare și au un efect pozitiv asupra dezvoltării copiilor atunci când sunt administrați în cantități suficiente. Rezultatele studiilor publicate au indicat faptul că acești acizi grași au un efect pozitiv asupra anumitor boli mintale, bolilor autoimune, problemelor articulare și controlului greutății. Există, prin urmare, multe motive pentru a lua suplimente alimentare care conțin acizi grași omega-3, cum ar fi uleiul de pește. Cu toate acestea, mulți oameni consideră că gustul și textura acestor uleiuri sunt neplăcute. În plus, uleiurile bogate în acizi grași omega-3 sunt susceptibile la oxidare, ceea ce are ca rezultat reducerea beneficiilor pentru sănătate și intensificarea mirosului și gustului neplăcut. Producătorii de alimente au adăugat acizi grași omega-3 la anumite produse alimentare, ascunzând astfel gustul lor

neplăcut. Cu toate acestea, deoarece acizii grași omega-3 se separă din produsele alimentare atunci când sunt adăugați în cantități mari și / sau sunt oxidați cu ușurință, majoritatea produselor conțin cantități care sunt cu mult sub doza necesară pentru o stare bună de sănătate (minimum 750 mg EPA / DHA pe zi).

Dieta modernă este foarte deficitară în aceste substanțe nutritive vitale, prin urmare, este absolut esențial să se suplimenteze aceste substanțe nutritive în dieta zilnică.

Aportul de acizi grași omega-3 și omega-6 în dietă trebuie să fie într-un raport echilibrat pentru o bună stare de sănătate. Dieta modernă conține cantități prea mari de acizi grași omega-6, sub formă de acid linoleic (LA), perturbând echilibrul esențial al acizilor grași și promovând o serie de boli. Suplimentarea dietei cu acizi grași omega-3 poate restabili echilibrul adecvat și poate asigura o bună stare de sănătate.

Ingestia în exces de acizi grași omega-6 în detrimentul acizilor grași omega-3, cu scăderea concomitentă a aportului de antioxidanți, este considerată o cauză primară, dacă nu chiar principală, a numeroase boli degenerative. Acizii grași omega-3 și antioxidanții sunt acum considerați nutrienți esențiali. Există o necesitate critică pentru acizi grași omega-3, care trebuie satisfăcută prin suplimentare (Beutler, 2000).

Ca urmare, există o necesitate reală pentru produsele alimentare care conțin cantități mari de acizi grași omega-3 (de exemplu, 750-4000 mg/ porție).

Creșterea actuală a severității și incidenței bolilor degenerative asociate stresului este în mare parte atribuită epuizării acizilor grași omega-3 și a antioxidanților în dieta modernă. Aceștia sunt acum considerați nutrienți periclitați. Omul modern este supus unor niveluri ridicate de stres oxidativ, iar dieta sa este epuizată de antioxidanți. Acizii grași nesaturați, care sunt foarte labili, sunt predispuși la oxidare. Pentru a mări stabilitatea acizilor grași omega-3 și, de asemenea, a-i face mai eficienți în organismul uman, se consideră a fi foarte potrivit să se furnizeze împreună acești doi nutrienți vitali pentru a da un efect sinergic.

Carotenoizii sunt pigmenți naturali utili ca aditivi pentru hrana animalelor, aditivi alimentari, medicamente etc. Exemple de carotenoizi includ zeaxantină, luteină, β -caroten, β -criptoxantină, astaxantină, canthaxantină, licopen. Unii carotenoizi, precum zeaxantina, sunt adăugați furajelor ca pigment galben natural conținut în diferite plante, cum ar fi porumbul. Aplicațiile cunoscute includ îmbunătățirea culorii gălbenușului de ou, al cărnii, pielii păsărilor de curte, cum ar fi puii de găină, și colorant alimentar. Mai mult, luteina și zeaxantina au un puternic efect antioxidant și s-a dovedit că joacă un rol important în sănătatea ochiului uman. Există un nivel ridicat de zeaxantină în regiunea maculară (partea centrală) a retinei. Se consideră că luteina și zeaxantina exercită anumite funcții în filtrarea luminii dăunătoare, cum ar fi radiația ultravioletă, și în anumite procese legate de rolul lor antioxidant. Pe baza acestor efecte fiziologice, se consideră că luteina și zeaxantina sunt implicate în sănătatea globală a ochiului. Studiile au demonstrat că aporturile mai mari de luteină / zeaxantină din alimente și suplimente alimentare contribuie la prevenirea degenerării maculare, o cauză principală de deteriorare a vederii la vârstnici, asociată cu riscuri semnificative de instalare a cataractei (Christen et al., 2008). Alte efecte asociate carotenoizilor care au fost raportate sunt efectele antitumorale (Nishino et al., 2000, 2009).

Ouăle sunt considerate a fi un aliment valoros ce contribuie la echilibrul nutrițional general al dietei, fiind recunoscute ca sursă de proteine cu valoare biologică ridicată, acizi



grași esențiali, vitamine și minerale (Applegate, 2000). În plus, gălbenușurile de ou reprezintă o sursă importantă de carotenoizi cu biodisponibilitate ridicată (luteină și zeaxantină), acestea fiind componente esențiale datorită funcțiilor lor antioxidante și imunomodulatoare și efectelor lor pozitive asupra sănătății (Chung et al., 2004).

Culoarea gălbenușului de ou este un criteriu de selecție important pentru consumatori, care preferă, în general, gălbenușul galben-închis sau portocaliu. Această caracteristică este determinată de conținutul și profilul carotenoizilor din gălbenușul de ou, care la rândul său reflectă profilul carotenoidic al dietelor cu care sunt hrănite găinile. Multe studii au arătat că substanțele carotenoide introduse în hrana păsărilor sunt transferate de la găină la gălbenușul de ou, pigmentând gălbenușul (Benakmoum et al., 2013). Eficacitatea pigmentării depinde de digestibilitatea, transferul, metabolismul și depunerea carotenoizilor în gălbenușul de ou și de nuanța culorii lor.

Pentru a răspunde nevoilor pieței, se adaugă în mod frecvent carotenoizi sintetici în hrana găinilor ouătoare (Englmaierová et al., 2013). Cu toate acestea, consumatorii au devenit tot mai preocupați de utilizarea aditivilor sintetici în alimente și hrană, iar interesul pentru alternativele naturale a crescut (Karadas et al., 2006). În ultimii ani, s-au efectuat mai multe studii pentru a investiga efectele adaosului diferitelor produse vegetale bogate în compuși carotenoidici asupra culorii gălbenușului de ou și asupra transferului carotenoizilor în gălbenuș (Englmaierová et al., 2013; Hammershøj et al., 2010; Kotrbáček et al., 2013).

Karadas et al. (2006) au constatat o creștere a concentrațiilor de luteină, zeaxantină, licopen și β -caroten în gălbenușul ouălor produse de prepelițe hrănite cu diete suplimentate cu concentrat de lucernă, pudră de tomate și extract de gălbenele în timp ce Hasin et al. (2006) au constatat o îmbunătățire semnificativă a culorii gălbenușului în comparație cu mărtoarea la adăugarea de gălbenele și coajă de portocale în dieta găinilor.

Tomatele constituie principala sursă de licopen din dieta umană, licopenul fiind unul dintre cele mai eficiente substanțe în captarea radicalilor liberi (Capanoglu et al., 2010). Pe lângă licopen, tomatele conțin și alți carotenoizi, cum ar fi β -caroten, fitoen, fitofluen și luteină. Metodele convenționale de prelucrare a tomatelor generează cantități mari de deșuri constând în principal din pielețe și semințe, aceasta reprezentând o problemă majoră pentru industria alimentară. Cu toate acestea, subprodusele de la procesarea tomatelor reprezintă o sursă bogată de substanțe nutritive și compuși biologic activi: carotenoizi, proteine, polifenoli, substanțe minerale și uleiuri. Deși licopenul pare să fi atras atenția doar în mică măsură ca pigment pentru gălbenușul de ou, câteva studii au investigat efectele suplimentării cu licopen sau produse bogate în licopen asupra performanței găinilor ouătoare și calității ouălor (Akdemir et al., 2012; Sahin et al., 2008).

Îmbogățirea ouălor în acizi grași polinesaturați (PUFA) determină o susceptibilitate crescută la oxidarea lipidelor din gălbenuș (Hayat et al., 2010; King et al., 2012). Antioxidanții sunt în general adăugați în alimentația găinilor pentru a reduce la minimum oxidarea lipidică și pentru a spori acceptarea de către consumatori a ouălor îmbogățite cu acizi grași omega-3 (Galobart et al., 2001). Suplimentarea dietetică cu antioxidanți, cum ar fi carotenoizii, este una dintre modalitățile eficiente de minimizare a peroxidării lipidelor în gălbenușul de ouă, deoarece acești compuși sunt transferați în gălbenușul de ou (Sahin et al., 2010).



DESCRIEREA DETALIATĂ ȘI MODALITĂȚI DE IMPLEMENTARE A INVENȚIEI

Obiectivul central al prezentei invenții este îmbunătățirea calității nutriționale a ouălor prin creșterea atât a conținutului de acizi grași omega-3 cât și conținutului de carotenoizi în gălbenuș. De asemenea, invenția a pornit de la ipoteza, verificată ulterior, că un conținut ridicat de carotenoizi în gălbenuș exercită efect antioxidant, împiedicând oxidarea acizilor grași omega-3 și oferind organismului un antioxidant suplimentar.

Ca urmare a unor studii intensive pentru realizarea obiectivului de mai sus și pentru verificarea acestei ipoteze, inventatorii de față au descoperit că ouăle de găină cu compoziție sinergică care conțin atât acizii grași omega-3 cât și carotenoizi antioxidanți la concentrații ridicate pot fi produse prin adăugarea în furaje pentru găini ouătoare atât a semințelor de in cât și a deșeurilor de la procesarea tomatelor (coji + semințe).

Prezenta invenție cuprinde următoarele:

(1) Ouă de găină îmbogățite cu acizi grași omega-3 și carotenoizi, obținute prin hrănirea găinilor ouătoare cu un furaj specific acestora suplimentat cu semințe de in și subproduse de la procesarea tomatelor (coji + semințe) deshidratate;

(2) Ouă de găină care conțin 3,5-5 mg/kg zeaxantină, 3,2-4,2 mg/kg luteină, 0,9-1,3 mg/kg licopen, 0,4-0,6 mg/kg trans-apo-carotenol în gălbenuș, împreună cu 5,0-5,2 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași din gălbenuș și un raport omega-6/omega-3 cuprins între 4 și 5 în grăsimea oului, față de 3 mg/kg zeaxantină, 2,1-2,4 mg/kg luteină, 0,3-0,4 mg/kg trans-apo-carotenol, licopen nedetectat în gălbenuș, 1,5 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași și un raport omega-6/omega-3 de 1,5 în gălbenușul ouălor de la găinile hrănite cu furajul martor.

(3) Metodă de producere a oului de găină îmbogățit cu acizi grași omega-3 și carotenoizi, cuprinzând o perioadă de 2-6 săptămâni de hrănire a găinilor ouătoare cu un furaj specific pentru găini ouătoare suplimentat la nivel de 5% cu semințe de in și la nivel de 5% cu deșeuri (subproduse) de la procesarea tomatelor (coji + semințe), furajul conținând 14,6 mg/kg licopen, 2,6 mg/kg β -caroten, 1,4 mg/kg luteină și 0,9 mg/kg zeaxanthină precum și 13 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași, cu un raport omega-6/omega-3 de 3,4 (în comparație cu licopen nedetectat, 0,3 mg/kg β -caroten, 0,8 mg/kg luteină și 0,6 mg/kg zeaxanthină, 1,4 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași și un raport omega-6/omega-3 de 38,4 în furajul martor).

Conform metodei, găinile ouătoare sunt hrănite cu un furaj pentru găini ouătoare suplimentat la nivel de 5% cu semințe de in și la nivel de 5% cu deșeuri (subproduse) de la procesarea tomatelor (coji + semințe). Ouăle sunt colectate de la astfel de găini, producând astfel ouă de găină îmbogățite cu acizi grași omega-3 și carotenoizi (luteină, zeaxanthină, licopen, β -caroten etc.). Semințele de in și deșeurile (subprodusele) de la procesarea tomatelor (coji + semințe) deshidratate sunt adăugate la un furaj cu o structură convențională, folosită în mod uzual de către producătorii de furaje, compusă din materii prime energetice (porumb, grâu, ulei vegetal), materii prime proteice (șrot de soia, șrot de floarea soarelui), aditiv vitamino-mineral (premix, carbonat de calciu, fosfat monocalcic, sare) și aminoacizi esențiali sintetici. Rețetele furajere se elaborează pe baza determinărilor de compoziție chimică a materiilor prime furajere, ținând cont de recomandările din ghidul de creștere al



găinilor ouătoare. Dietele trebuie să fie echilibrate pentru a satisface toate cerințele nutritive ale găinilor.

Găinile ouătoare care sunt hrănite cu furaje specifice găinilor ouătoare suplimentate cu semințe de in și subproduse de la procesarea tomatelor (coji+semințe) deshidratate produc ouă bogate în acizi grași omega-3 și carotenoizi (zeaxantină, luteină și licopen).

AVANTAJE

- Conform metodei pot fi obținute ouă de găină îmbogățite cu acizi grași omega-3 și carotenoizi care pot conține de exemplu 3,1-4,6 mg/kg zeaxantină, 3,2-4,2 mg/kg luteină, 0,9-1,3 mg/kg licopen, 0,3-0,5 mg/kg trans-apo-carotenal în gălbenuș împreună cu 5,0 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași din gălbenuș și un raport omega-6/omega-3 cuprins între 5 și 5,5 (tabelele 11 și 12).

- Ouăle de găină îmbogățite cu acizi grași omega-3 și carotenoizi menționate mai sus sunt consumate de oameni, astfel încât aportul de acizi grași omega-3 și carotenoizi în dietă poate fi crescut.

Prezenta invenție este explicată în detaliu după cum urmează, utilizând exemplul, dar domeniul tehnic al prezentei invenții nu este limitat la exemplu.

În plus, determinarea cantitativă a carotenoizilor din gălbenușul de ou în EXEMPLU a fost efectuată prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC-DAD) cu detecție diode-array la 450 nm, folosind un sistem Finningan Surveyor Plus (Thermo Electron Corporation, San Jose, CA) incluzând degazor de vid, pompă Surveyor Plus LCPMP, autosampler Surveyor Plus ASP, detector diode array PDA5P și software-ul Chrom Quest 4.2 pentru procesarea datelor. Separarea a fost realizată pe o coloană Hypersil Gold C18 (5 mm mărimea particulelor, 250 × 4,6 mm) furnizată de Thermo Electron Corporation.

Carotenoizii au fost extrași din 0,5 g probă cu 10 mL eter de petrol:metanol:acetat de etil (1:1:1, v/v/v) conținând 0,1% butilhidroxitoluen (BHT) prin omogenizare timp de 5 min la 2500 rpm folosind un omogenizator Vortex. Proba a fost centrifugată timp de 6 min la 6000 rpm și supernatantul a fost colectat. Reziduul a fost extras folosind același procedeu până când supernatantul a fost lipsit de culoare. Supernatantele combinate au fost spălate prin adăugarea a 10 ml soluție NaCl 5%, amestecare energetică și incubare timp de 30 min când are loc separarea a două straturi. Stratul superior a fost colectat, evaporat la sec sub curent de azot și apoi redizolvat în 2 mL de acetonitril:metanol:acetat de etil (60:20:20, v/v/v) conținând BHT (1% w/v). Soluția finală a fost filtrată prin membrană cu dimensiunea porilor de 0,45 μm înainte de injecția HPLC.

Eluția a fost efectuată folosind o fază mobilă formată din acetonitril:metanol (95:5, v/v) (A), acetonitril:metanol:acetat de etil (60:20:20, v/v/v) (B) și apă (C) aplicând următorul gradient: 96% A și 4% C la început, menținere timp de 10 min, trecere liniară la 100% B în 13 min, menținere 5 min și revenire la 96% A și 4% C în 2 min. Coloana C18 realizează separarea carotenoizilor în 35 min. Debitul fazei mobile a fost de 1,5 mL/min. Coloana a fost termostată la 20 °C iar absorbanta a fost înregistrată la 450 nm.

Standardele de luteină, zeaxantină, cantaxantină, astaxantină, licopen, β-caroten și *trans*-β-apo-8'-carotenal au fost diluate corespunzător pentru pregătirea curbelor de calibrare



și au fost supuse analizei cromatografice descrise mai sus. Curba de calibrare a fiecărui analit a fost determinată prin reprezentarea ariilor picurilor la 450 nm în raport cu concentrațiile carotenoizilor. Identificarea a fost realizată prin compararea timpilor de retenție cu cei ai compușilor puri, prin îmbogățirea cu soluții standard și prin compararea datelor spectrale obținute prin detecția diode-array cu valorile raportate. Cuantificarea a fost realizată folosind programul Chrom Quest 4.2 prin compararea ariilor picurilor cu cele obținute în curbele de calibrare.

[EXEMPLU] PRODUCEREA DE OUĂ DE GĂINĂ CU CONȚINUT RIDICAT DE ACIZI GRAȘI OMEGA-3 ȘI CAROTENOIZI

Subprodusele de la procesarea tomatelor (coji + semințe) au fost colectate de la Leader International S.A., o fabrică de procesare a tomatelor din Caracal, România. Acestea au fost uscate într-un uscător automatizat industrial cu aer cald (Blue Spark Systems S.R.L., România) la 60°C, mărunțite și depozitate la temperatura camerei până la începerea experimentului de hrănire. Semințele de in au fost achiziționate de la S.C. SanoVita S.R.L.

Semințele de in și deșeurile de tomate (coji+semințe) au fost analizate pentru evaluarea calităților lor nutriționale, necesare pentru introducerea în dieta găinilor ouătoare (tabelul 1-2).

Tabelul 1. Caracteristici compoziționale ale semințelor de in*

<i>Compoziție chimică primară*</i>	
Substanță uscată (SU), %	94,74
Proteină brută (PB), %	18,87
Grăsime brută (GB), %	27,15
Celuloză brută (CelB), %	24,57
Cenușă (Cen), %	3,78
<i>Profilul acizilor grași polinesaturați (PUFA)</i>	
Acid linoleic ($\Omega:6$), g/100g total acizi grași	0,23
Acid linolenic ($\Omega:3$), g/100g total acizi grași	53,49
Total PUFA, g /100g total acizi grași, din care:	70,34
- PUFA ω -6, g /100g total acizi grași	15,98
- PUFA ω -3, g /100g total acizi grași	54,39
- ω -6/ ω -3	0,29

*compoziția chimică exprimată la substanță uscată.

Semințele de in (tabelul 1) se caracterizează printr-un conținut ridicat de acid α -linolenic (53,49 g/100g total acizi grași), ceea ce face ca raportul ω -6/ ω -3 să fie subunitar (0,29). Astfel, semințele de in constituie o sursă vegetală viabilă pentru îmbogățirea nutrețurilor combinate cu acizi grași polinesaturați ω -3.

Deșeurile din tomate (tabelul 2) se caracterizează printr-un conținut ridicat de licopen (105,38 mg/kg) și β -caroten (9,50 mg/kg), reprezentând o sursă bogată de carotenoizi.



Suplimentarea furajelor cu acest produs secundar al procesării tomatelor reprezintă o soluție nutrițională pentru îmbunătățirea culorii galbenușului prin transferarea carotenoizilor din furaj în ou.

Tabelul 2. Caracteristici compoziționale ale deșeurilor din tomate*

<i>Compoziția chimică primară*</i>	
Substanță uscată (SU), %	95,19
Proteină brută (PB), %	13,58
Grăsimi brută (GB), %	3,53
Celuloză brută (CelB), %	43,60
Cenușă (Cen), %	3,59
<i>Profilul carotenoidic al deșeurilor de tomate</i>	
Astaxantină, mg/kg	0,076
Luteină, mg/kg	3,57
Zeaxantină, mg/kg	0,78
Cantaxantină, mg/kg	0,27
Trans-apo-carotenal, mg/kg	0,20
Licopen, mg/kg	105,38
β-caroten, mg/kg	9,50
Total carotenoizi, mg/kg	119,77

*compoziția chimică exprimată la substanță uscată.

Experimentul de hrănire

A fost efectuat un experiment timp de 6 săptămâni pe 96 găini ouătoare din rasa Tetra SL, în vârstă de 53 săptămâni. La demararea experimentului s-a întocmit un protocol experimental care a fost aprobat de către Comisia de etică din IBNA Balotești înființată prin decizia nr. 52/30.07.2014 și care funcționează pe lângă Consiliul de Administrație și Consiliul Științific al IBNA.

Păsările au fost cântărite individual, la începutul experimentului fiind lotizate, în funcție de greutate, în 2 loturi (24 găini/lot), respectiv M (lot martor) și E (lot experimental). După lotizare, păsările au fost cazate câte 4 păsări/cușcă, într-o baterie modernă, îmbunătățită pentru desfășurarea experimentelor de digestibilitate, care a permis înregistrarea zilnică a ingestei și a resturilor de hrană. Bateria a fost amplasată într-o hală a cărei temperatură ambiantă s-a menținut conform optimului de confort termic precizat în ghidul de creștere al hibridului Tetra SL (temperatura medie/perioada de 21,47±1,91°C; umiditate 42,23±14,07%). Pe toată perioada experimentală s-a asigurat iluminatul incandescent care s-a derulat după o schemă cu 16 ore lumină, între orele 04:30 și 20:30, realizat conform programului de lumină corespunzătoare vârstei și categoriei de păsări. Hrana și apa au fost administrate ad libitum.

Rețeta folosită în cazul lotului M a avut o structură convențională, folosită în mod uzual de către producătorii de furaje, compusă din materii prime energetice (porumb, grâu, ulei vegetal), materii prime proteice (șrot de soia, șrot de floarea soarelui), aditiv vitamino-

mineral (premix, carbonat de calciu, fosfat monocalcic, sare) și aminoacizi esențiali sintetici. Rețeta experimentală (E) s-a diferențiat de rețeta M prin includerea a 5% semințe de in și 5% subproduse de la procesarea tomatelor (coji+semințe). Rețetele furajere (tabelul 3) au fost elaborate pe baza determinărilor de compoziție chimică a materiilor prime furajere, ținând cont de recomandările din ghidul de creștere al hibridului Tetra SL.

După fabricarea nutrețurilor combinate, acestea au fost analizate pentru a evalua calitatea nutrițională a acestora (tabelul 4). Analiza chimică brută a nutrețurilor combinate a arătat că acestea sunt echilibrate energetic și proteic, asigurând necesarul de nutrienți pentru găinile ouătoare pe care s-a realizat experimentul. Conținutul de grăsime a fost semnificativ mai mare la lotul experimental datorită includerii semințelor de in (5%), caracterizate printr-un conținut mare de grăsime (27,15% GB/100 g SU). În stabilirea concentrației în nutrienți (substanță uscată, proteină, grăsime, celuloză, cenușă) s-au utilizat metode standardizate conform *Regulamentului (CE) nr. 152/2009*.

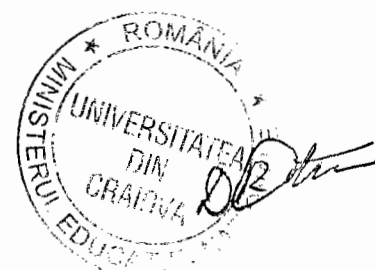
Tabelul 3. Rețetele furajere testate

Specificație	M	E
Materii prime energetice, %	60,23	55,85
Materii prime proteice, %	28,2	22,3
Semințe de in, %	-	5
Deșeuri de tomate, %	-	5
Aditiv vitamino-mineral, %	11,57	11,85
Total materii prime, %	100	100

Tabelul 4. Compoziția chimică primară a nutrețurilor combinate

Specificație	M	E
Substanță uscată (SU), %	89,19±0,69	90,01±0,16
Energie metabolizabilă (EM), kcal/kg	2700,00	2700,00
Proteină brută (PB), %	18,08±0,64	17,40±0,71
- Lizină, %	0,86±0,02	0,84±0,019
- Metionină, %	0,41±0,09	0,45±0,049
Grăsime brută (GB), %	4,38±0,12	6,33±0,15
Celuloză brută (CeB), %	5,79±0,38	7,04±0,61
Cenușă (Cen), %	13,34±0,18	12,92±0,64

În urma determinării profilului acizilor grași din grăsimea nutrețurilor combinate (tabelul 5) s-au înregistrat creșteri semnificative ale conținutului total de acizi grași ω -3 la lotul experimental, acesta fiind de 9,3 ori mai mare față de lotul M, ceea ce a condus la scăderea raportului ω -6/ ω -3 de la 38,4 la 3,4. Conținutul de acizi grași s-a determinat prin metoda gaz-cromatografică, al cărei principiu constă în transformarea acizilor grași din proba supusă analizei în esteri metilici, urmată de separarea componentilor pe coloană cromatografică și identificarea lor prin compararea cu cromatogramele etalon. Metoda este conformă cu standardul *SR CEN ISO/TS 17764 -2:2008*.



Tabelul 5. Profilul acizilor grași din grăsimea nutrețurilor combinate

Specificație	M	E
	g /100g total acizi grași	
Acizi grași saturați (SFA)	14,71	14,00
Acizi grași mononesaturați (MUFA)	30,01	27,43
Acizi grași polinesaturați (PUFA), din care:	55,28	58,57
- PUFA ω -6	53,88	45,54
- PUFA ω -3	1,40	13,03
Raportul ω -6/ ω -3	38,39	3,42

În ceea ce privește conținutul de carotenoizi, s-a observat că la furajul experimental s-a înregistrat un conținutul total de carotenoizi (19,86 mg/kg) de 9,2 ori mai ridicat față de furajul martor (2,15 mg/kg) (tabelul 6). Componenta dominantă a profilului carotenoidic din nutrețul experimental a fost licopenul, urmat de β -caroten și luteină.

Tabelul 6. Profilul carotenoidic al nutrețurilor combinate

Specificație	M	E
Astaxanthină, mg/kg	-	0,024 \pm 0,002
Luteină, mg/kg	0,800 \pm 0,043	1,440 \pm 0,083
Zeaxanthină, mg/kg	0,648 \pm 0,036	0,880 \pm 0,045
Cantaxanthină, mg/kg	0,092 \pm 0,005	0,148 \pm 0,009
Trans-apo-carotenal, mg/kg	0,104 \pm 0,007	0,112 \pm 0,008
Licopen, mg/kg	0,240 \pm 0,015	14,620 \pm 0,576
β -caroten, mg/kg	0,272 \pm 0,017	2,644 \pm 0,128
Total carotenoizi, mg/kg	2,156	19,868

Întrucat nutrețurile combinate au prezentat un conținut ridicat de grăsime, s-au determinat indicii de degradare ai grăsimii după 14 zile și respectiv 28 de zile de păstrare (tabelul 7). Rezultatele obținute s-au încadrat în limitele maxime admise pentru nutrețuri combinate (STAS 12266-84), în cazul ambelor perioade de păstrare, 14 zile, respectiv 28 de zile, dovedind astfel că prezența carotenoizilor antioxidanți a determinat încetinirea oxidării acizilor grași polinesaturați.

Pentru evaluarea caracteristicilor fizico-chimice și nutriționale ale ouălor, înainte de demararea experimentului și în săptămânile 2, 4 și respectiv 6 s-au recoltat randomizat câte 18 ouă/lot la care s-au determinat parametrii de calitate: greutatea oului și a componentelor sale (albuș, gălbenuș, coajă), culoarea gălbenușului și indicele Haugh (folosind analizorul Egg Analyzer TM), grosimea cojii (folosind testerul Egg Shell Thickness Gauge) și rezistența la spargere a cojii oului (folosind testerul Egg Force Reader).

Tabelul 7. Indici de degradare ai grăsimii din nutrețul combinat

Specificație		M	E	Valori de referință
Indice de peroxid (ml tiosulfat 0,01 N/g)	initial	0,51	0,5	1,2
	la 14 zile	0,6	0,6	
	la 28 zile	0,83	0,86	
Aciditatea grăsimii (mg KOH)	initial	15,15	14,4	50
	la 14 zile	17,21	17,14	
	la 28 zile	19,36	20,56	
Reacția Kreiss	initial	negativ	negativ	negativ
	la 14 zile	negativ	negativ	
	la 28 zile	negativ	negativ	

Parametrii fizici ai ouălor (tabelul 8) nu au înregistrat variații semnificative cu excepția culorii gălbenușului. La lotul experimental (E) (cu 5% seminte de in și 5% deșuri din tomate) s-a observat o intensificare a culorii gălbenușului, aceasta fiind cu 34,7% mai mare față de lotul martor.

După efectuarea măsurătorilor fizice, din ouăle recoltate s-au constituit câte 6 probe de gălbenuș/lot la care s-au determinat: compoziția chimică primară a ouălor (tabelul 9), profilul acizilor grași (tabelul 10) și nivelul de carotenoizi (tabelul 11) din gălbenușul de ou.

Tabelul 8. Parametrii fizici de calitate ai ouălor (valori medii/experiment)*

Specificație	M	E
Greutate ou, din care:	64,56±0,42	64,36±0,42
- albuș	47,47±1,03	47,20±1,00
- galbenuș	16,65±0,18	16,74±0,16
- coajă	9,12±0,10	9,03±0,09
Masă ou	55,44±0,41	55,33±0,41
pH albuș	7,72±0,03	7,78±0,02
pH galbenuș	5,83±0,06	5,83±0,03
Culoare galbenuș	3,65±0,14 ^b	4,92±0,22 ^a
Grosimea cojii	0,34±0,003	0,34±0,003
Forța de spargere a cojii	3,79±0,10 ^b	3,59±0,10 ^a
HU	77,17±1,22 ^b	73,92±1,14 ^a

* Datele însoțite de litere diferite la exponent sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$)

La gălbenușul ouălor lotului experimental s-a înregistrat o creștere semnificativă a cantității de grăsime (cu 2,3%) în raport cu lotul martor. Această creștere a fost influențată de adaosul de semințele de in în nutrețul combinat, caracterizate printr-un procent ridicat de grăsime (27,15%). Diferențe semnificative ($P \leq 0,05$) au fost înregistrate și pentru albuș privind conținutul de proteină, care a fost mai mare la lotul experimental față de lotul martor.

Tabelul 9. Compoziția chimică primară a componentelor oului (galbenuş, albuş, coajă), valori medii/lot*

Specificație		M	E
Galbenuş	SU 65°C	55,58±0,31 ^b	56,14±0,15 ^a
	SU 103°C	95,75±0,04 ^b	95,96±0,09 ^a
	PB, %	32,92±0,40 ^a	31,90±0,27 ^b
	GB, %	49,65±0,30 ^b	50,84±0,16 ^a
	Cenuşă, %	3,49±0,04	3,50±0,05
Albuş	SU 65°C	12,19±0,19 ^b	12,66±0,12 ^a
	SU 103°C	12,19±0,19 ^b	12,66±0,12 ^a
	PB, %	82,97±0,24 ^b	84,08±0,48 ^a
	GB, %	0,12±0,003	0,12±0,004
	Cen, %	4,89±0,07 ^a	4,53±0,18 ^b
Coajă	Cen, %	54,11±0,19	54,25±0,16
	Ca, %	33,48±0,04	33,47±0,09

* Datele însoțite de litere diferite la exponent sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$)

Analizând profilul acizilor grași din gălbenuşul ouălor recoltate după 6 săptămâni de experiment (tabelul 10) s-a constatat că la lotul experimental conținutul de acizi grași polinesaturați omega-3 a fost de 3,44 ori mai mare față de lotul martor iar raportul omega-6/omega-3 a scăzut semnificativ, de la 18,33 (la lotul M), la 4,99 (la lotul E).

Administrarea nutrețului combinat îmbogățit în carotenoizi prin includerea semințelor de in (5%) și a deșeurilor din tomate (5%) a determinat o creștere semnificativă ($P \leq 0,05$) a conținutului total de carotenoizi din gălbenuş (tabelul 11).

Tabelul 10. Clasele de acizi grași din grăsimea ouălor, probe recoltate la finalul experimentului (valori medii/lot)*

Specificație	Loturi	
	M	E
	g /100g total acizi grași	
SFA	35,79±0,56 ^a	34,22±1,04 ^b
MUFA	35,56±0,87	35,06±1,22
PUFA, din care:	28,64±0,63 ^b	30,72±0,33 ^a
Ω3	1,49±0,09 ^b	5,13±0,23 ^a
Ω6	27,16±0,55 ^a	25,59±0,13 ^b
Ω6/Ω3	18,33±0,87 ^a	4,99±0,20 ^b

* Datele însoțite de litere diferite la exponent sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$)

După 4 și 6 săptămâni de experiment, concentrația de luteină a crescut cu 50% la lotul experimental (cu 5% semințe de in și 5% deșeuri din tomate) față de lotul martor. Și concentrația de zeaxantină a fost mai ridicată la lotul experimental comparativ cu lotul martor, înregistrând creșteri cuprinse între 21 și 28 %. Licopenul (carotenoidul principal în



deșeurile de tomate deshidratate) a fost determinat numai în gălbenușul ouălor provenite de la lotul experimental, concentrația acestuia ajungând după 4 săptămâni de furajare la 1,32 mg/kg în ouăle lotului experimental.

Tabelul 11. Concentrația de carotenoizi din probele de galbenuş proaspăt (mg/kg, valori medii/lot)*

Specificatie		M	E
Astaxantină	initial	0,925±0,086	
	dupa 2 sept.	0,962±0,013	0,970±0,024
	dupa 4 sept.	0,965±0,016	0,960±0,013
	dupa 6 sept.	0,955±0,018	0,965±0,012
Luteină	initial	2,967±0,239	
	dupa 2 sept.	2,432±0,449 ^b	4,135±0,159 ^a
	dupa 4 sept.	3,453±0,478 ^b	3,691±0,379 ^a
	dupa 6 sept.	2,135±0,197 ^b	3,215±0,393 ^a
Zeaxantină	initial	2,229±0,092	
	dupa 2 sept.	3,053±0,457 ^b	4,573±0,167 ^a
	dupa 4 sept.	3,542±0,139 ^b	3,911±0,294 ^a
	dupa 6 sept.	2,917±0,302 ^b	3,154±0,041 ^a
Cantaxantină	initial	0,084±0,019	
	dupa 2 sept.	0,077±0,009 ^b	0,094±0,014 ^a
	dupa 4 sept.	0,125±0,015 ^b	0,148±0,015 ^a
	dupa 6 sept.	0,198±0,019 ^b	0,269±0,047 ^a
Trans-apo-carotenal	initial	0,305±0,015	
	dupa 2 sept.	0,398±0,064 ^b	0,513±0,032 ^a
	dupa 4 sept.	0,464±0,026 ^b	0,511±0,073 ^a
	dupa 6 sept.	0,326±0,037	0,342±0,057
Licopen	initial	nd	
	dupa 2 sept.	nd ^b	0,903±0,150 ^a
	dupa 4 sept.	nd ^b	1,325±0,291 ^a
	dupa 6 sept.	nd ^b	0,921±0,023 ^a
β-caroten	initial	nd	
	dupa 2 sept.	nd	nd
	dupa 4 sept.	nd ^b	0,058±0,007 ^a
	dupa 6 sept.	0,038±0,006	0,040±0,006

* Datele însoțite de litere diferite la exponent sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$); nd = nedetectat.

Este general acceptat faptul că recuperarea din dietă a carotenoizilor în gălbenușul de ou este condiționată nu numai de cantitatea ingerată, ci și de rata de transfer. În plus, găinile pot transforma metabolic anumiți carotenoizi înainte de depunerea în gălbenuș (Hencken,



1992). În consecință, modelul de depunere a carotenoizilor în gălbenuș reflectă o anumită interacțiune între dieta găinilor și capacitatea acestora de a absorbi, transporta, depozita și/sau modifica carotenoizii, reconciliind orice cerințe somatic concurente pentru utilizarea lor (de exemplu protecția antioxidantă, funcția imună) (Blount et al., 2002). Pe de altă parte, depunerea carotenoizilor în gălbenuș depinde de polaritatea lor, care este mai scăzută la compușii carotenoidici nepolari (licopen și β -caroten) în raport cu xantofilele (luteină, zeaxantină) care conțin cel puțin un atom de oxigen (Englmaierová et al., 2013).

A fost evaluat de asemenea efectul carotenoizilor asupra peroxidării lipidelor din gălbenușul de ou prin studiul comparativ al evoluției oxidării lipidelor din gălbenuș timp de 28 de zile la proba martor (M) și la probele de ouă obținute prin suplimentarea dietei găinilor ouătoare cu 5% semințe de in și 5% deșeuri de tomate deshidratate (E). Stadiul oxidării lipidelor a fost pus în evidență prin determinarea indicelui de peroxid (exprimat în miliechivalenți per kg grăsime) și a valorii TBARS (substanțe reactive la acid tiobarbituric, exprimate în mg malondialdehidă per kg). Rezultatele sunt prezentate în tabelele 12 și 13.

Tabelul 12. Concentrația de acizi grași polinesaturați în gălbenușul de ou (g/100 g total acizi grași)

Acizi grași polinesaturați	M	E
Total	28,64±0,63 ^b	30,72±0,33 ^a
ω -3	1,49±0,09 ^b	5,13±0,23 ^a
ω -6	27,16±0,55 ^a	25,59±0,13 ^b
ω -3/ ω -6	18,33±0,87 ^a	4,99±0,20 ^b

* Datele însoțite de litere diferite la exponent sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$)

Concentrația de acizi grași polinesaturați ω -3 a crescut semnificativ, fiind practic de trei ori mai mare în gălbenușul ouălor găinilor hrănite cu o dietă suplimentată cu 5% semințe de in și 5% deșeuri de tomate comparativ cu ouăle martor.

Tabelul 13. Evoluția oxidării lipidelor din gălbenuș

	Zile	M	E
Indice de peroxid (meq/kg grăsime)	0	0,07 ^a	0,04 ^b
	14	0,1 ^a	0,07 ^b
	28	0,14 ^a	0,11 ^b
Valori TBARS (mg MDA/kg)	0	1,57 ^a	1,08 ^b
	14	1,88 ^a	1,8 ^b
	28	2,69 ^a	1,89 ^b

* Datele însoțite de litere diferite la exponent sunt semnificativ diferite ($p < 0,05$)

După 28 de zile, cei doi parametri ai oxidării lipidelor au înregistrat valori semnificativ mai scăzute ($P \leq 0,05$) în gălbenușul probelor recoltate de la lotul experimental (E) comparativ cu cele ale probelor martor (M), cu aproximativ 22% (indicele de peroxid),



respectiv cu 30% (valorile TBARS). De-a lungul întregii perioade de analiză, capacitatea antioxidantă a fost mai mare în gălbenușul probelor recoltate de la lotul experimental (E) față de lotul martor (M).

Rezultatele experimentale obținute au permis desprinderea următoarelor concluzii:

- Deșeurile din tomate s-au caracterizat printr-un conținut mare de licopen (105,38 mg/kg) și β -caroten (9,50 mg/kg). Deșeurile din tomate sunt o sursă potențială bogată de carotenoizi, în special licopen, iar suplimentarea furajelor cu aceste produse secundare reprezintă o posibilă strategie nutrițională pentru îmbunătățirea culorii gălbenușului prin transferarea carotenoizilor din furaj în gălbenușul de ou;

- Calitatea nutrițională a oului nu a fost afectată, în timp ce culoarea gălbenușului s-a intensificat semnificativ prin includerea deșeurilor de tomate în dieta găinilor, în corelație cu creșterea conținutului de compuși carotenoidici al gălbenușului;

- Ouăle recoltate pe parcursul derularii experimentului de la găinile furajate cu dieta suplimentată cu semințe de in (5%) și deșeurii din tomate (5%) au prezentat concentrații semnificativ mai ridicate de acizi grași polinesaturați ω -3 și carotenoizi în gălbenuș, respectiv valori semnificativ mai reduse ale raportului ω -6/ ω -3, comparativ cu ouăle recoltate de la găinile furajate cu dieta martor;

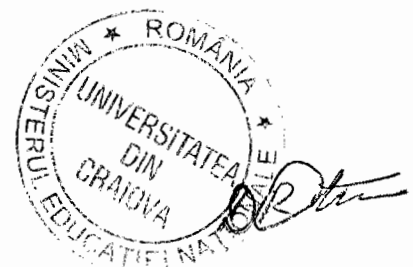
- Adăugarea deșeurilor de tomate în dieta găinilor ouătoare a întârziat peroxidarea lipidelor din gălbenuș datorită conținutului ridicat de carotenoizi al gălbenușului.

BIBLIOGRAFIE

1. Akdemir F., Orhan C., Sahin N., Sahin K., Hayirli A. 2012. Tomato powder in laying hen diets: effects on concentrations of yolk carotenoids and lipid peroxidation, *British Poultry Science* 53, 675-680.
2. Applegate E. 2000. Introduction: Nutritional and functional roles of eggs in the diet. *The Journal of the American College of Nutrition* 19, 495S-498S.
3. Benakmoum A., Larid R., Zidani S. 2013. Enriching egg yolk with carotenoids and phenols. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 7(7), 489-493.
4. Beutler J. 2000. Life in Balance-The Critical need for omega-3 supplementation. *Natural Medicine Online* (July).
5. Blount J.D., Surai P.F., Houston D.C., Møller A.P. 2002. Patterns of yolk enrichment with dietary carotenoids in gulls: the roles of pigment acquisition and utilization. *Functional Ecology* 16, 445-453.
6. Capanoglu E., Beekwilder J., Boyacioglu D., De Vos R. C. H., Hall R. D. 2010. The effect of industrial food processing on potentially health beneficial tomato antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50, 919-930.
7. Christen W.G., Liu S., Glynn R.J., Gaziano J.M., Buring J.E. 2008. Dietary carotenoids, vitamins C and E, and risk of cataract in women: a prospective study. *Archives Ophthalmology* 126, 102-109.



8. Chung H., Rasmussen H. M., Johnson E. J. 2004. Lutein bioavailability is higher from lutein-enriched eggs than from supplements and spinach in men. *Journal of Nutrition*, 134, 1887-1893.
9. Englmaierová M., Skrivan M., Bubancová I. 2013. A comparison of lutein, spray-dried *Chlorella*, and synthetic carotenoids effects on yolk colour, oxidative stability, and reproductive performance of laying hens. *Czech Journal of Animal Science* 58, 412-419.
10. Galobart J., Barroeta A.C., Baucells M.D., Cortinas L., Guardiola F. 2001. Alpha-tocopherol transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spraydried eggs enriched with omega 3-polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science* 80, 1496-1505.
11. Hammershøj M., Kidmose U., Steinfeldt S. 2010. Deposition of carotenoids in egg yolk by short-term supplement of coloured carrot varieties as forage material for egg-laying hens. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 1163-1171.
12. Hasin B. M., Ferdous A. J. M., Islam M. A., Uddin M. J., Islam, M. S. 2006. Marigold and orange skin as egg yolk color promoting agents. *International Journal of Poultry Science* 5, 979-987.
13. Hayat Z., Cherian G., Pasha T.N., Khattak F.M., Jabbar M.A. (2010). Oxidative stability and lipid components of eggs from flax-fed hens: effect of dietary antioxidants and storage. *Poultry Science* 89, 1285-1292.
14. Karadas F., Grammenidis E., Surai P. F., Acamovic T., Sparks, N. H. C. 2006. Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition, *British Poultry Science* 47, 561-566.
15. King E.J., Hugo A., Witt F.H.D., Merwe H.J., Fair M.D. 2012. Effect of dietary fat source on fatty acid profile and lipid oxidation of eggs. *South African Journal of Animal Science* 42(5), 503-506.
16. Kotrbáček V., Skrivan M., Kopecký J., Pěnkava O., Hudečková P., Uhríková I., Doubek J. 2013. Retention of carotenoids in egg yolks of laying hens supplemented with heterotrophic *Chlorella*. *Czech Journal of Animal Science* 58, 193-200.
17. Nishino H., Tokuda H., Murakoshi M., Satomi Y., Masuda M., Onozuka M., et al. 2000. Cancer prevention by natural carotenoids. *Biofactors* 13, 89-94.
18. Nishino H., Murakoshi M., Tokuda H., Satomi Y. 2009. Cancer prevention by carotenoids. *Arch Biochem Biophys* 483, 165-168.
19. Sahin N., Akdemir F., Orhan C., Kucuk O., Hayirli A., Sahin K. 2008. Lycopene-enriched quail egg as functional food for humans. *Food Research International* 41, 295-300.
20. Sahin K., Akdemir F., Orhan C., Tuzcu M., Hayirli A., Sahin N. 2010. Effects of dietary resveratrol supplementation on egg production and antioxidant status. *Poultry Science* 89, 1190-1198.
21. Simopoulos A. 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 70(3), 560S-569S.



REVENDICĂRI:

(1) Ouă de găină îmbogățite cu acizi grași omega-3 și carotenoizi, obținute prin hrănirea găinilor ouătoare cu un furaj specific pentru găini ouătoare, suplimentat cu semințe de in și subproduse de la procesarea tomatelor (coji + semințe) deshidratate;

(2) Ouă de găină care conțin 3,5-5 mg/kg zeaxantină, 3,2-4,2 mg/kg luteină, 0,9-1,3 mg/kg licopen, 0,4-0,6 mg/kg trans-apo-carotenol în gălbenuș, împreună cu 5,0-5,2 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași din gălbenuș și un raport omega-6/omega-3 cuprins între 4 și 5 în grăsimea oului, față de 3 mg/kg zeaxantină, 2,1-2,4 mg/kg luteină, 0,3-0,4 mg/kg trans-apo-carotenol, licopen nedetectat în gălbenuș, 1,5 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași și un raport omega-6/omega-3 de 1,5 în gălbenușul ouălor de la găinile hrănite cu furajul martor.

(3) Metodă de producere a oului de găină îmbogățit cu acizi grași omega-3 și carotenoizi, cuprinzând o perioadă de 2-6 săptămâni de hrănire a găinilor ouătoare cu un furaj specific pentru găini ouătoare suplimentat la nivel de 5% cu semințe de in și la nivel de 5% cu deșeuri (subproduse) de la procesarea tomatelor (coji + semințe), furajul conținând 14,6 mg/kg licopen, 2,6 mg/kg β -caroten, 1,4 mg/kg luteină și 0,9 mg/kg zeaxanthină precum și 13 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași, cu un raport omega-6/omega-3 de 3,4 (în comparație cu licopen nedetectat, 0,3 mg/kg β -caroten, 0,8 mg/kg luteină și 0,6 mg/kg zeaxanthină, 1,4 g acizi grași omega-3/100 g total acizi grași și un raport omega-6/omega-3 de 38,4 în furajul martor).

Conform metodei, găinile ouătoare sunt hrănite cu un furaj pentru găini ouătoare suplimentat la nivel de 5% cu semințe de in și la nivel de 5% cu deșeuri (subproduse) de la procesarea tomatelor (coji + semințe). Ouăle sunt colectate de la astfel de găini, producând astfel ouă de găină îmbogățite cu acizi grași omega-3 și carotenoizi (luteină, zeaxanthină, licopen, β -caroten etc.). Semințele de in și deșeurile (subprodusele) de la procesarea tomatelor (coji + semințe) deshidratate sunt adăugate la un furaj cu o structură convențională, folosită în mod uzual de către producătorii de furaje, compusă din materii prime energetice (porumb, grâu, ulei vegetal), materii prime proteice (șrot de soia, șrot de floarea soarelui), aditiv vitamino-mineral (premix, carbonat de calciu, fosfat monocalcic, sare) și aminoacizi esențiali sintetici. Rețetele furajere se elaborează pe baza determinărilor de compoziție chimică a materiilor prime furajere, ținând cont de recomandările din ghidul de creștere al găinilor ouătoare. Dietele trebuie să fie echilibrate pentru a satisface toate cerințele nutritive ale găinilor.

Găinile ouătoare care sunt hrănite cu furaje specifice găinilor ouătoare suplimentate cu semințe de in și subproduse de la procesarea tomatelor (coji+semințe) deshidratate produc ouă bogate în acizi grași omega-3 și carotenoizi (zeaxanthină, luteină și licopen).

