



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 01066**

(22) Data de depozit: **07/12/2018**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/11/2023** BOPI nr. **11/2023**

(41) Data publicării cererii:
30/07/2020 BOPI nr. **7/2020**

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

(72) Inventatori:
• **PANAITE TATIANA DUMITRA,**
BD. IULIU MANIU NR. 71, BL. 4, SC. 2,
AP. 56, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• **SARACILA MIHAELA,**
STR. VLAICU AUREL, NR.37, GIURGIU, GR,
RO;
• **OLTEANU MARGARETA,**
ȘOS. PANTELIMON NR. 92, BL. 211, AP. 9,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• **TABUC CRISTINA,**
BD. CONSTRUCTORILOR NR.11, SC.B,
ET.4, AP.37, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• **UNTEA ARABELA ELENA,**
ȘOS. GIURGIULUI, NR.119, BL.11, SC.4,
AP.132, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
• **VARZARU IULIA, STR. POIENI NR. 1,**
AP. 3, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;

• **LUPU ALEXANDRA,**
STR.INDEPENDENȚEI, NR.110,
RÂMNICU SĂRAT, BZ, RO;
• **VLAICU ALEXANDRU,**
STR.JOHANN SEBASTIAN BACH, NR.9,
AP.1, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• **SOICA CRISTINA, STR. POLONĂ NR. 23A,**
OTOPENI, IF, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**LAVINIA STEF, "EFECTUL UNOR
SUPLIMENTE NUTRIȚIONALE ASUPRA
CREȘTERII PRODUCȚIILOR ANIMALIERE,
FUNDAMENT AL SECURITĂȚII
ALIMENTARE", TEZĂ DE ABILITARE,
TIMIȘOARA, 2017; V. MADHUPRIYA, P.
SHAMSUDEEN, G. RAJ MANOHAR, S.
SENTHILKUMAR, V.
SOUNDARAPANDIYAN AND M. MOORTHY,
"PHYTO FEED ADDITIVES IN POULTRY
NUTRITION - A REVIEW", INTERNATIONAL
JOURNAL OF SCIENCE, ENVIRONMENT
AND TECHNOLOGY, No 3, VOL. 7,
PP. 815-822, 2018; CN 103493984 A;
MELKAMU BEZABIH YITBAREK,
"PHYTOGENICS AS FEED ADDITIVES IN
POULTRY PRODUCTION",
INTERNATIONAL J. EXT. RES., VOL. 3,
PP. 49-60, 2015**

(54) **ADITIV FURAJER PENTRU HRANA PUIILOR ÎN FAZA
DE CREȘTERE ȘI FINISARE (14 - 42 DE ZILE)**



RO 134292 B1

1 Invenția se referă la un aditiv furajer pentru hrana puilor în faza de creștere și finisare
(14-42 de zile), având aplicații în zootehnie.

3 În condițiile în care folosirea antibioticelor în nutrețuri a fost interzisă total în UE din
anul 2006, producătorii de nutrețuri combinate sunt confrunțați cu problema identificării de
5 soluții în vederea înlocuirii acestor substanțe medicamentoase, cu alternative furajere care
să mențină performanțele și sănătatea tubului digestiv.

7 Menținerea echilibrului microflorei intestinale, în esența menținerea sănătății tractusului
digestiv, constituie o condiție esențială pentru producția de carne. Folosirea nutrețurilor
9 convenționale constituie un dezavantaj cauzat de interzicerea folosirii antibioticelor cu rol
preventiv în hrana pasărilor (January 1, 2006, EC regulation No. 1831/20031) neasigurând
11 astfel împiedicarea apariției bolilor cauzate de dezechilibrele care pot să apară în tractusul
digestiv.

13 Eliminarea treptată a antibioticelor, ca factori de creștere, din hrana pasărilor în
Europa și recente tendințe spre reducerea sau eliminarea acestor compuși în alte părți ale
15 lumii, inclusiv America de Nord, determină schimbări în profilul microbial al conținutului
tubului digestiv la păsările crescute în mod intensiv. Tubul digestiv are cea mai extinsă
17 suprafață din organism expusă în mod constant la o mare varietate de substanțe potențial
dăunătoare. Tubul digestiv acționează ca o barieră selectivă între țesuturile interne ale
19 pasărilor și conținutul luminal. Această barieră este alcătuită din componente fizice, micro-
biologice, chimice și imunologice. O gamă largă de factori asociați rației și bolilor infecțioase
21 pot afecta negativ echilibrul delicat dintre componentele tubului digestiv și, ca urmare,
afectează starea de sănătate și performanțele productive ale puilor.

23 Fitoaditivii furajeri reprezintă o nouă alternativă la antibioticele folosite ca stimulatori
de creștere în hrana animalelor de fermă. Aditivii furajeri de origine vegetală sunt produse/
25 extracte/amestecuri de plante, fructe sau condimente, care au efect benefic asupra produc-
ției și sănătății animalelor (Peric și colab., 2010).

27 Multe plante, prin componentele lor, au o activitate antioxidantă și antimicrobiană
largă, și pot acționa asupra apetitului, digestibilității și sistemului imunitar al pasărilor.
29 Windisch și colab., (2007) arată că fitoaditivii au fost studiați mai ales pentru a fi adăugați la
setul de promotori de creștere non-antibiotici, cum ar fi acizii organici și probioticele, care
31 sunt deja folosiți pe scară largă în hrana animalelor. Aceiași autori arată că trebuie ținut cont
de faptul că fitoaditivii constituie o clasă relativ nouă de aditivi furajeri și cunoașterea moduri-
33 lor de acțiune ale acestora sunt limitate ca și aspectele legate de folosirea lor. Alte com-
plicații apar datorită faptului că fitoaditivii pot varia foarte mult în ceea ce privește originea
35 botanică, prelucrarea și compoziția lor. Majoritatea studiilor cuprind amestecuri de diferiți
compuși activi și au raportat efecte asupra performanțelor, mai degrabă decât a impactului
37 fiziologic.

39 O gamă largă de plante și extracte din plante au fost folosite pentru beneficiile pe
care le au pentru sănătatea umană încă din antichitate. Unii dintre compușii conținuți în
plante stimulează apetitul (de exemplu mentol din mentă), furnizează protecție antioxidantă
41 (de exemplu cinamaldehydă din scorțișoară), sau suprimă creșterea microbială (carvacrol
din oregano). Acești compuși antimicrobieni proveniți din plante, funcționează în mod similar
43 cu compușii antibiotici produși de fungi, de unde ideea că aditivii fitogenici pot fi folosiți
pentru a înlocui antibioticele ca promotori de creștere. De altfel, folosirea plantelor medicinale
45 în medicina tradițională constituie încă în majoritatea țărilor în curs de dezvoltare o bază
normativă pentru menținerea sănătății atât a oamenilor cât și a animalelor (UNESCO, 1996).

RO 134292 B1

Totodată, în societățile industrializate plantele sunt folosite pentru obținerea de extracte care permit dezvoltarea mai multor medicamente și substanțe chimioterapeutice (UNESCO, 1998). Mai mult, în aceste societăți, remediile pe bază de plante au devenit mai populare în tratarea bolilor minore și, de asemenea, din cauza costurilor tot mai mari de întreținere a sănătății personale.

Ierburile și extractele de plante utilizate în hrana animalelor, denumite astăzi fitoaditivi furajeri, mai sunt definiți ca fiind compuși de origine vegetală încorporați în hrana animalelor pentru a spori productivitatea prin îmbunătățirea digestibilității, absorbția nutrienților și eliminarea agenților patogeni din intestinul animalelor (Kamel, 2001; Balunas și Kinghorn, 2005; Athanasiadou și colab., 2007).

Folosirea compușilor fitogeni ca aditivi furajeri în rațiile puilor are în vedere mai ales acțiunile antioxidante și antimicrobiene revendicate, cu efecte benefice asupra palatabilității și funcțiilor intestinale și asupra eficienței creșterii în greutate. Aceștia acționează ca promotori de digestibilitate, stimulând secreția enzimelor digestive endogene (Lee și colab., 2003). S-a demonstrat că fitoaditivii adăugați în dieta puilor cresc performanța, rata de conversie a hranei, siguranța și calitatea cărnii (Dhama și colab., 2014, 2015). Eficacitatea includerii fitoaditivi lor în nutriția broilerilor depinde de mai mulți factori, cum ar fi compoziția și nivelul de incluziune, genetica păsărilor și compoziția generală a dietei.

Frunzele și fructele de afin (*Vaccinium myrtillus* L.) au proprietăți astringente, antiseptice (Runjaić-Antić et al., 2010), datorită taninului. Frunzele conțin: tanin, arbutină, hidrochinonă, mirtilină, neomirtilină, iar fructele conțin: tanin, pectine, mirtilină, zaharuri, provitamina A, vitamina C, acizi organici (citric, malic, oxalic, succinic, lactic). Atât frunzele cât și fructele au activitate antibacteriană, modificând favorabil flora patogenă intestinală, și antidiareică. Mentă (*Mentha piperita*) este una dintre cele mai vechi plante medicinale. Frunzele de mentă conțin o cantitate mare de uleiuri volatile, substanțe polifenolice, taninuri, flavonoizi și principii amare. Uleiul volatil din mentă este compus din mentol, mentonă, mentofuran, carvacrol, timol. Menta stimulează secreția și eliminarea bilei datorită prezenței compușilor flavonoizi. Menta mai are proprietăți antifermenative, dezinfectante, antibiotice - datorate în principal taninurilor - precum și proprietăți spasmolitice (Wichtl, 2002; Ristic et al., 2006; Psodorov et al., 2006).

Feniculul (*Foeniculum vulgare*) este folosit în tratarea a numeroase afecțiuni datorită proprietăților acestuia: antispastic, tonic nervos, dezinfectant. Contribuie la: reducerea balonării și a spasmelor care apar la nivel intestinal, îmbunătățirea digestiei și a absorbției substanțelor nutritive, menținerea în limite normale a florei bacteriene din intestin, îmbunătățirea digestiei, reduce aciditatea gastrică, îmbunătățește tranzitul intestinal, menține sănătatea tractului gastrointestinal. Feniculul are efecte antimicrobiene puternice asupra unor specii bacteriene precum *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* și *Escherchia coli* (Bolukbasi and Erhan, 2007). Proprietățile sale antimicrobiene au fost demonstrate în mai multe studii întreprinse de Elgayyar et al. 2001, Ruberto et al. 2000.

Fructele de cătină (*Hippophae rhamnoides*) sunt foarte nutritive, deși au un pH scăzut (Bal et al., 2011). Sunt surse bogate de proteină și diferiți aminoacizi esențiali. Conțin minerale precum Ca, P, Fe, K fiind cel mai abundent. În plus, fructele de cătină conțin cantități mari de vitamina C (695 mg/100 g, mai mult decât lămâile și portocalele), tocoferoli (1-10 mg/100 g) și carotenoizi (3-15 mg/100 g), în special P-carotene, licopen și zeaxantina (Gao et al., 2000; Zeb, 2004). Frunzele de cătină au acțiune antibacteriană, fiind observate efecte inhibitoare pentru *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* și *Enterococcus faecalis* (Suryakumar și Gupta, 2011). Frunzele de cătină adăugate în nutrețurile combinate (0,5% și 1%) pot influența în mod pozitiv performanțele de creștere ale puilor, și cresc absorbția calciului și a fosforului, precum și depunerea calciului (Chen et al., 2011).

1 “Efectul unor suplimente nutriționale asupra creșterii producțiilor animaliere,
fundament al securității alimentare” (teză de abilitare) - prof. dr. ing. Lavinia stef - Timișoara,
3 2017 - detaliază efectul unor suplimente nutriționale asupra creșterii producției animaliere.
Prezintă o evaluare a efectului bioproductiv al unor amestecuri de plante, condimente și
5 extracte din plante având diferite suporturi, în hrana puilor de carne. Se cunosc utilizările
uleiurilor de coriandru, fenicul, cimbru, cătină, anason, precum și a plantelor de mentă, salvie
7 și roiniță.

 “*Phyto feed additives in poultry nutrition - a review*”, V. Madhupriya, P.
9 **Shamsudeen, G. Raj Manohar, S. Senthilkumar, V. Soundarapandiyar and M. Moorthy**
(**International Journal of Science, Environment and Technology, Vol. 7, No 3, 2018,**
11 **815-822**) - <https://www.ijset.net/journal/2109.pdf> - menționează importanța utilizării
fitoaditivilor și descrie acțiunea acestora ca urmare a introducerii în alimentația puilor. Într-un
13 studiu cu puii de carne, adăugarea diferitelor suplimente fitogene, unul pe bază de oregano,
scoțișoară și piper, iar altul pe bază de salvie, cimbru și rozmarin, au îmbunătățit substanța
15 uscată ileală și digestibilitatea amidonului la vârsta de 21 de zile.

CN 103493984 A - invenția descrie un aditiv compozit pentru medicina tradițională
17 chineză capabil să îmbunătățească performanța creșterii animalelor și păsărilor de curte.
Aditivul cuprinde următoarele materii prime în părți în greutate: 15-30 părți Astragalus
19 membranaceus, 20-30 părți mentă coreană, 15-30 părți coajă de portocală, 10-20 părți rizom
de Atractylodis macrocephalae, 10-20 de părți de scoțișoară, 15-25 de părți de fenicul,
21 30-50 de părți de ferigă, 30-50 de părți de drojdie medicinală și 10-20 de părți de lemn dulce.

 “*Phytogenics As Feed Additives In Poultry Production*”, Melkamu Bezabih Yitbarek -
23 Yitbarek, 2015. International J. Ext. Res. 3:49-60 (<http://www.journalijer.com>) - oferă
informații detaliate despre utilizarea aditivilor fitogeni pentru furaje în producția de păsări.
25 Cele mai comune și frecvent utilizate ierburi și condimente pentru aditivii fitogeni pentru
furaje în producția de păsări sunt oregano, cimbru, usturoi, hrean, ardei iute, cayenne, ardei,
27 menta, scoțișoară, anason, rozmarin și salvie.

 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția revendicată constă în utilizarea unui
29 fitoaditiv în nutrețurile destinate puilor, ca alternativă la antibioticele folosite ca stimulatori de
creștere, care conține un amestec de plante cu proprietăți antioxidante și antimicrobiene, cu
31 efecte asupra menținerii performanțelor productive și asupra echilibrului microflorei
intestinale.

 Soluția tehnică oferită de prezenta invenție constă într-un aditiv furajer pentru hrana
33 puilor în faza de creștere și finisare (14-42 de zile) constituit din 40% frunze de afin, 20%
35 frunze de mentă, 20% pulbere de fenicul și 20% șrot de cătină.

 Avantajele pe care le prezintă invenția revendicată se referă la eliminarea antibioti-
37 celor, asigurarea echilibrului microflorei intestinale, un impact pozitiv asupra performanțelor
productive și asupra sănătății tractusului digestiv la puii de carne (14-42 de zile). Fitoaditivul
39 propus spre brevetare are o structură care nu prezintă niciun risc pentru sănătatea pasărilor
și nici pentru mediu. Fitoaditivul are în structura sa un amestec de: frunze de afin, frunze de
41 mentă, pulbere de fenicul și șrot de cătină. Aceste componente conțin substanțe polifenolice,
taninuri, flavonoizi, au acțiune antioxidantă și antibacteriană, modificând favorabil flora
43 patogenă intestinală. Un alt avantaj este adus de utilizarea în alcătuirea amestecului folosit
în structura aditivului propus spre brevetare, a unor subproduse cum ar fi frunzele de afin
45 și șrotul de cătină rezultate în urma procesării de produse vegetale de către industria ali-
mentară. Aceste subproduse vegetale au în compoziție diferiți compuși bioactivi cu pro-
47 prietăți antioxidante, având astfel o valoare nutritivă ridicată. Astfel, are loc o valorificare
superioară a acestor reziduuri rezultate din industria alimentară prin includerea lor în hrana
49 puilor de carne. Totodată, există posibilitatea creșterii eficienței și minimizării costurilor de
producție.

RO 134292 B1

Invenția poate fi obținută la scară industrială fiind adresată producătorilor de nutrețuri și crescătorilor de pasări în vederea asigurării performanțelor productive și echilibrului microflorei intestinale la puii de carne, prin utilizarea în final a unui nutreț fără conținut de antibiotice.	1
Aditivul furajer propus pentru brevetare, structurat pentru faza de creștere și pentru faza de finisare a puilor de carne (14-42 zile), a fost elaborată ținând cont de următoarele:	3
- cerințele nutriționale - pe baza cerințelor nutriționale (NRC, 1994) și a recomandărilor producătorului hibridului COBB 500, pentru fazele de creștere și finisare a puilor (14-42 zile), pe care s-a organizat testarea experimentală.	5
- structura nutrețului, în ambele faze de dezvoltare a puilor de carne (14-42 zile), conține materii prime furajere convenționale furaje convenționale (porumb, șrot soia) și a inclus în mod particular un amestec de plante format din:	7
- frunzele de afin (40%);	9
- frunzele de mentă (20%);	11
- pulbere de fenicul (20%);	13
- șrot de cătină (20%).	15
Datele obținute în urma analizei chimice a plantelor din compoziția amestecului din punct de vedere a valorii lor nutriționale.	17
S-a realizat estimarea unor parametri preliminări privind: greutatea, consumul mediu zilnic sporul mediu zilnic.	19
<i>Folosirea noului aditiv, conform invenției, într-un experiment desfășurat pe pui de carne în fazele de creștere și finisare (14-42 zile)</i>	21
Experimentul s-a derulat în halele experimentale ale IBNA Balotești în concordanță cu regulile Comisiei de Etică a Institutului. Au fost achiziționați 100 de pui Cobb 500 și cazați într-o hală experimentală pentru creșterea la sol a puilor de carne, dotată cu echipament de exploatare Big Duchmann, împărțită în 2 spații experimentale (7 m ² /boxa de creștere), fiecare spațiu experimental având o capacitate de 16 pui/m ² . Creșterea puilor la sol s-a realizat pe așternut permanent reprezentat de talaș, grosimea stratului de așternut fiind în jur de 10-12 cm. Timp de 28 zile, puii au fost hrăniți cu o rețetă furajeră convențională (M), bazată pe porumb, șrot de soia, gluten și ulei. Puii au fost împărțiți în 2 loturi (M, E) omogene din punct de vedere al greutății corporale (50 pui/lot) și cazați în boxele de creștere la sol. Pe parcursul experimentului în hala experimentală temperatura aerului a fost 27,02 ± 2,79°C, umiditatea 61,05 ± 13,55%; ventilația 33,71 ± 27,38%; nivelul de amoniac (NH ₃) 0,857 ± 0,91 ppm, iar nivelul de CO ₂ 0,641 ± 0,20 ppm. Microclimatul și densitatea de creștere a puilor la sol au respectat cerințele legale ale Legii nr. 205/2004 privind protecția animalelor și a Ordinului ANSVSA nr. 30/2010 pentru aprobarea Normei sanitare veterinare privind stabilirea normelor minime de protecție a puilor destinați producției de carne transpusă prin Directiva 2007/43/CE, prin care sunt stabilite normele minime de protecție și bunăstare a puilor destinați producției de carne. Programul de lumină a fost adecvat vârstei de creștere a puilor, respectiv, 23 h lumina/l h întuneric. Apa și furajul au fost administrate <i>ad libitum</i> . În fazele de creștere (14-35 zile) și finisare (35-42 zile), față de rețeta convențională, rețeta furajeră experimentală (E) a inclus 1% amestec de plante în următoarele proporții: 20% frunze de afin, 10% frunze de mentă, 10% pulbere de fenicul și 10% șrot de cătină.	23
Pe tot parcursul perioadei experimentale (14-42 zile) s-au monitorizat următorii parametri: greutatea corporală (g); consumul mediu zilnic (g furaj/broiler/zi); sporul mediu zilnic (g/broiler/zi). Mortalitatea a fost înregistrată pe toată perioada experimentală. Conform protocolului aprobat de către Comisia de Etică a institutului, la 35 (faza de creștere) respectiv 42 zile (faza de finisare), au fost sacrificați câte 6 pui/lot, prin dislocare cervicală.	25
	27
	29
	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45
	47

RO 134292 B1

1 Carcasele au fost eviscerate manual și tractul gastrointestinal a fost extras. Conținutul
intestinului subțire (duoden, jejun, ileon) și conținuturile cecale (2 cecumuri pe pui) au fost
3 colectate aseptice în tubului de plastic sterile și păstrate la -20°C până la momentul analizelor
bacteriologice (*E. coli*, lactobacilli, stafilococi, *Salmonella spp.*).

5 Pentru determinarea speciei *E. coli* s-a utilizat un mediu clasic de izolare, mediul
G.E.A.M. sau Levine. Probele au fost imersate mai întâi în mediu cu lauril-sulfat (mediu de
7 îmbogățire), omogenizate foarte bine, apoi lăsate 20-30 min la temperatura camerei
(23-24°C). S-au realizat diluții zecimale până la 10⁻⁵ în mediu cu lauril sulfat. Din diluțiile
9 10⁻²-10⁻⁵ s-au efectuat însămânțări, câte 2 cutii Petri/diluție, pe mediu Levine. Cutiile Petri
11 s-au incubat la 37°C timp de 48 h după care s-au numărat coloniile prezente în cutii. Specia
E. coli prezintă pe acest mediu colonii caracteristice (colonii violet închis cu luciu metalic).
13 Pentru lactobacili, determinările s-au efectuat pe medii selective (MRS broth and MRS Agar),
caracteristice pentru izolarea și numărarea acestor bacterii. Determinarea numărului de
colonii de *E. coli* și lactobacili s-a efectuat cu un numărător de colonii.

15 Amestecul de plante folosit în structura aditivului propus pentru brevetare, precum
și plantele constituente au fost caracterizate din punct de vedere chimic (tabelele 1, 2, 3)
17 pentru a evalua calitatea lor nutrițională și potențialul de aditiv furajer.

19 *Compoziția chimică primară a plantelor componente ale amestecului inclus în structura aditivului conform invenției*

21 *Tabelul 1*

23 Specificație	SU%	Protein a brută %	Grăsimi brută %	Celuloza brută %	Cenușa brută %	Energie brută Kcal/Kg
25 Frunze de afin	88,37	6,76	1,38	33,66	1,44	4015
Frunze de mentă	91,83	20,72	1,57	10,57	10,54	2366
27 Fenicul pulbere	90,06	17,18	18,11	14,86	8,36	4730
Șrot de cătină	92,66	14,89	20,05	19,86	1,80	5055
29 Amestec plante	92,89	7,03	3,74	14,02	11,96	3770

31 Din tabelul de mai sus, se poate constata potențialul proteic al frunzelor de mentă și
pulberii de feniculul, precum și concentrația apreciabilă de grăsime din șrotul de cătină și
33 pulberea de fenicul. Frunzele de afin pot fi considerate o sursă importantă de celuloză, în
timp ce menta și feniculul prezintă concentrații mari de minerale (tabelul 2), cuantificate într-
35 un conținut ridicat de cenușă brută.

37 *Concentrația elementelor minerale a plantelor componente ale aditivului furajer*

39 *Tabelul 2*

41 Specificație	Ca%	P%	Cu mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Zn mg/kg
41 Frunze de afin	0,50	0,19	6,95	62,87	1410,10	40,37
Frunze de mentă	1,50	0,29	19,36	1408,98	106,91	36,24
43 Fenicul pulbere	0,95	0,49	14,55	221,19	52,88	42,50
Șrot de cătină	0,06	0,30	9,02	405,35	19,60	27,76
45 Amestec plante	0,24	0,25	56,83	216,13	299,96	18,72

RO 134292 B1

Capacitatea antioxidantă a fost testată prin două metode diferite, atât pentru plantele care alcătuiesc amestecul vegetal, cât și pentru amestecul conform invenției. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 3.

Evaluarea capacității antioxidante a plantelor componente ale aditivului

Tabelul 3

Specificație	ABTS mmol eqtrolox/kg	ABTS % inhibiție	DPPH mmol eqtrolox/kg	DPPH % inhibiție	Polifenoli totali mg echiv ac galic/g
Frunze afin	320,94	88,65	255,83	70,66	13,28
Frunze mentă	285,74	73,68	228,02	58,80	71,95
Fenicul pulbere	39,53	11,18	228,12	64,54	6,42
Șrot cătină bobe	-	-	-	-	8,27
Amestec plante	341,10	88,49	246,77	64,02	38,30

Unde: ABTS = 2, 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazonina-6-acid sulfonic

DPPH = 2, 2 -difenil-1-pierilhidrazil

Antioxidanții pot acționa ca agenți de reducere a radicalilor liberi, agenți reducători, agenți de chelatare pentru metale tranzitionale, activatori ai sistemelor enzimatiche de apărare antioxidantă pentru a inhiba activitatea radicalilor liberi în sistemele biologice (Mkaddem et al., 2009). Rezultatele privind activitatea de inhibare ABTS a extractelor a fost diferită de DPPH, nefiind o corelație directă între cei doi parametri. Nickavar et al., 2010 explică comportamentul diferit al extractelor în cele două analize prin mecanismele chimice diferite care implicate în cele două tipuri de determinări, cât și proprietățile diferite ale radicalilor. Cu alte cuvinte, radicalii folosiți pentru evaluare a capacității antioxidante au influență asupra rezultatului final. De exemplu, stoechiometria reacțiilor dintre compușii antioxidant și ABTS sau DPPH este diferită. De asemenea, stereoselectivitatea radicalilor, influențează capacitatea extractelor de a reacționa cu radicali. Extractele sunt amestecuri complexe de diferiți compuși cu funcții distincte.

Condițiile de mediu, proprietățile solului determină compoziția chimică a plantelor. Calitatea și cantitatea compușilor antioxidant și poate varia la aceeași specie de plante, dacă sunt crescute în condiții diferite (Martz et al., 2010).

După caracterizarea materiilor prime, pe baza rezultatelor obținute în concordanță cu cerințele nutriționale (NRC, 1994) și cerințele nutriționale ale hibridului Cobb 500, au fost elaborate rețetele furajere. Puii din lotul martor au primit un nutreț combinat convențional, bazat pe porumb și șrot soia (tabelul 4). Noul nutreț pentru lotul E a inclus 1% fitoaditiv (tabelul 4). Apa și furajul au fost administrate *ad libitum*.

Structura nutrețurilor martor (M) și experimental (E)

Tabelul 4

Ingrediente	Faza de creștere (14-35 zile)		Faza de finisare (35 - 42 zile)	
	M	E	M	E
	%			
Porumb	62	61	60,5	60
Șrot soia	26,58	26,58	25,46	2,5

RO 134292 B1

Tabelul 4 (continuare)

Ingrediente	Faza de creștere (14-35 zile)		Faza de finisare (35 - 42 zile)	
	M	E	M	E
	%			
Ulei vegetal	2,5	2,5	3,75	3,71
Amestec vegetal	0	1	0	1
Lizina	0,48	0,48	0,2	0,2
Metionina	0,26	0,26	0,25	0,25
Colina	0,05	0,05	0,05	0,05
Carbonat de calciu	1,4	1,4	1,33	1,33
Fosfat monocalcic	1,36	1,36	1,13	1,13
Sare	0,37	0,37	0,33	0,33
Premix vitamin mineral (fără coccidiostatic)	1	1	1	1
Total	100	100	100	100
1 kg premix vitamino- mineral conține: = 1100000 IU/kg vit. A; 200000 IU/kg vit. D3; 2700 IU/kg vit. E; 300 mg/kg Vit. K; 200 mg/kg Vit. B1; 400 mg/kg Vit. B2; 1485 mg/kg acid pantotenic; 2700 mg/kg acid nicotinic; 300 mg/kg Vit. B6; 4 mg/kg Vit. B7; 100 mg/kg Vit. B9; 1,8 mg/kg Vit. B12; 2000 mg/kg Vit. C; 8000 mg/kg mangan; 8000 mg/kg fier; 500 mg/kg cupru; 6000 mg/kg zinc; 37 mg/kg cobalt; 152 mg/kg iod; 18 mg/kg seleniu.				

Unde: M = lot martor, E = lot experimental.

La fiecare șarjă de furaj fabricată, pentru fiecare lot s-au prelevat probe din care s-au făcut determinări privind compoziția chimică primară (tabelul 5) și conținutul în macro și micronutrienți (tabelul 6).

Compoziția chimică primară a nutrețurilor

Tabelul 5

Specificație	SU, %	PB, %	GB, %	Cel, %	CEN, %	Energie bruta Kcal/Kg
NC M faza creștere pui	90,16	22,41	4,16	4,70	6,43	4090
NC E faza creștere pui	90,42	21,26	4,58	4,44	5,21	4156
NC M faza finisare pui	89,54	21,65	5,67	3,68	5,63	4160
NC E faza creștere pui	89,69	21,95	5,68	3,68	5,32	4184

Unde: NC M = nutreț combinat lot martor; NC E = nutreț combinat lot experimental

Rezultatele acestor determinări din cele două nutrețuri arată că acestea au fost echilibrate din punct de vedere energo-proteic (tabelul 5), fără să existe variații importante în conținutul mineral (tabelul 6). În stabilirea concentrației în nutrienți (substanță uscată, proteină, grăsime, celuloză, cenușă) s-au utilizat metodele standardizate conform Regulamentului (CE) nr. 152/2009 privind controlul calității furajelor.

RO 134292 B1

Conținutul în macro și micronutrienți din nutrețurile pentru fazele de creștere și finisare

Tabelul 6

Specificație	Ca, %	P, %	Cu, ppm	Fe, ppm	Mn, ppm	Zn, ppm
NC faza creștere pui M	0,84	0,83	7,42	247,87	94,18	89,61
NC faza creștere pui E	0,84	0,70	6,77	221,73	81,37	93,04
NC faza finisare pui M	0,82	0,61	8,65	245,95	91,92	96,67
NC faza finisare pui E	0,82	0,83	9,93	218,68	89,53	90,75

Unde: M = lot martor, E = lot experimental.

Determinarea conținutului de polifenoli (tabelul 7) din nutrețurile combinate testate în experimentul pe pui broileri, a arătat un conținut de polifenoli cu 35,8% mai mare la lotul experimental în faza de creștere a puilor, față de lotul martor.

Concentrația de polifenoli din nutrețurile pentru fazele de creștere și finisare

Tabelul 7

Specificație	Polifenoli totali mgEAG/g
NC M faza creștere pui	1,59
NC E faza creștere pui	2,16
NC M faza finisare pui	1,81
NC E faza finisare pui	1,64

Unde: M = lot martor, E = lot experimental.

Rezultatele parametrilor productivi monitorizați pe parcursul experimentului, sunt prezentate în tabelul 8. A fost observată o creștere a greutateii corporale a puilor proveniți de la lotul experimental, față de lotul martor. De asemenea, sporul mediu zilnic a înregistrat o creștere la lotul experimental față de martor, în intervalul 21-42 zile, în timp ce consumul mediu zilnic a fost mai mare la lotul experimental în același interval de timp.

Efectul nutrețului (E) propus spre brevetare asupra performanțelor productive

Tabelul 8

Specificație	Perioada	M	E	SEM	Valoarea lui P
Greutate corporală (g/pui)	14 zile	360,21	361,27	0,935	6,508
	21 zile	868,13	873,66	0,675	11,853
	28 zile	1480,75	1485,25	0,907	19,208
	35 zile	2187,25	2186,25	0,966	32,743
	42 zile	2822,21	2843,33	0,828	48,288
Consum mediu zilnic (g/pui/zi)	14-21 zile	91,04	90,29	0,995	3,720
	21-28 zile	126,80	129,71	0,827	2,587
	28-35 zile	157,82	161,41	0,581	1,791
	35-42 zile	156,52	160,25	0,179	2,448
	14-42 zile	133,85	131,20	0,724	3,710

RO 134292 B1

Tabelul 8 (continuare)

Specificație	Perioada	M	E	SEM	Valoarea lui P
Spor mediu zilnic (g/pui/zi)	14-21 zile	72,56	70,98	0,684	1,928
	21-28 zile	87,52	92,02	0,466	3,061
	28-35 zile	100,93	101,08	0,987	4,54
	35-42 zile	91,30	95,96	0,790	8,66
	14-42 zile	87,951	88,64	0,739	24,80

La 42 de zile, conform protocolului de lucru aprobat, au fost sacrificați 6 pui/ lot. Întregul intestin a fost prelevat, iar conținutul intestinal (duoden, jejun, ileon) și cecal a fost golit în tuburi de plastic în vederea examinării bacteriologice (*E. coli*, lactobacilli, stafilococi, *Salmonella spp.*).

Efectul nutrețului (E) conținând fitoaditivul conform invenției asupra compoziției microbiotei intestinale (jejun și ileon) a puilor, (log 10 UFC/g conținut intestinal)*

Tabelul 9

Specificație	M	E	SEM	Valoarea lui P
<i>E. coli</i>	6,358 a	6,349 b	0,007	870,00
Stafilococi	6,163 a	6,151b	0,002	0,0003
Lactobacili	7,421 a	7,427 b	0,002	0,0447
<i>Salmonella spp.</i>	absentă	absentă	-	-

Unde: litere diferite în același rând= diferențe semnificative; SEM= eroarea standard a mediei

Numărul de bacterii patogene *E. coli* a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mic în conținutul intestinal al puilor de la lotul E (rețeta propusă pentru brevetare) comparativ cu lotul martor (tabelul 9). De asemenea, a fost observată o tendință de scădere a numărului de stafilococi la lotul experimental comparativ cu martorul. Numărul de lactobacilli din conținutul intestinal al puilor din lotul experimental a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare comparativ cu lotul M, fapt ce demonstrează că utilizarea fitoaditivului în dieta puilor favorizează multiplicarea bacteriilor benefice pentru menținerea echilibrului florei intestinale (tabelul 9).

Efectul nutrețului (E) conținând aditivul conform invenției asupra compoziției microbiotei cecale a puilor, (log 10 UFC/g conținut cecal)*

Tabelul 10

Specificație	M	E	SEM	Valoarea lui P
<i>E. coli</i>	10,304 a	10,160 a	0,056	0,282
Stafilococi	8,830 a	8,748 b	0,013	< 0,0001
Lactobacili	11,564 a	11,792 b	0,035	< 0,0001
<i>Salmonella spp.</i>	absentă	absentă	-	-

Unde: litere diferite în același rând = diferențe semnificative; SEM = eroarea standard a mediei

RO 134292 B1

Analiza microbiologică a conținutului cecal (tabelul 10) a evidențiat o scădere a bacteriilor patogene *E. coli* și o reducere semnificativă ($P < 0,05$) a stafilococilor, la lotul experimental față de lotul martor, concomitent cu o creștere semnificativă ($P < 0,05$) a lactobacililor din conținutul cecal al puilor din lotul experimental, față de lotul martor. Atât în conținutul intestinal, cât și în cel cecal *Salmonella* a fost absentă.

Rezultatele obținute în urma analizelor efectuate din probele de conținut intestinal și cecal evidențiază impactul pozitiv pe care îl are nutrețul propus spre brevetare, asupra sănătății tractusului digestiv al puilor prin menținerea echilibrului microflorei intestinale.

9

RO 134292 B1

1

Revendicări

3

1. Aditiv furajer pentru hrana puilor în faza de creștere și finisare (14-42 de zile), **caracterizat prin aceea că**, este constituit din 40% frunze de afin, 20% frunze de mentă, 20% pulbere de fenicul și 20% șrot de cătină.

5

7

2. Aditiv furajer pentru hrana puilor, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, conține 21,26% proteină brută, 4,58% grăsime brută, 4156 kcal/kg, 2,16 mg EAG/g polifenoli totali pentru faza de creștere (14-35 zile), și 21,96% proteina brută, 5,68% grăsime brută, 4184 kcal/kg energie brută, 1,64 mg EAG/g polifenoli totali pentru faza de finisare (35-42 zile).

9



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 461/2023