



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2020 00193

(22) Data de depozit: 08/04/2020

(41) Data publicării cererii:
30/10/2020 BOPI nr. 10/2020

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

(72) Inventatori:
• HĂBEANU MIHAELA, STR.REZERVEI,
NR.66B, AP.76, ET.4, LOC.ROȘU,
COM.CHIAJNA, IF, RO;
• GHEORGHE ANCA, STR. 23 AUGUST
NR. 16, BL. P32, SC. I, ET. 1, AP. 4,
OTOPENI, IF, RO;

• TABUC CRISTINA,
BD.CONSTRUCTORILOR NR.11, SC.B,
ET.4, AP.37, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• SORESCU IONUȚ, STR.BAICULEȘTI,
NR.17, BL.C13, SC.B, ET.5, AP.64,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• LEFTER NICOLETA AURELIA,
STR.APUSULUI, NR.96, BL.F, SC.2, ET.9,
AP.165, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• DUMITRU MIHAELA,
STR.INDEPENDENȚEI, NR.40,
COMUNA CORBEANCA, IF, RO

(54) TEHNOLOGIE NUTRIȚIONALĂ BAZATĂ PE UN MACRO-MIX
CU PROPRIETĂȚI FUNCȚIONALE PENTRU PURCEI

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui nutreț combinat pentru hrana purceilor în maternitate și după înțărare. Procedeu, conform invenției, constă în etapele de preparare a unui macro-mix din semințe de cânepă, premix vitamino-mineral cu 20% produs microbial din tulpini lactice de *Lactobacillus acidophilus* și *Lactobacillus plantarum*, DL-metionină, L-lizină, carbonat de calciu, fosfat monocalcic, sare și premix colină, amestecarea cu vitamine și minerale, prepara-

rea unui amestec energo-proteic din porumb, șrot de soia, ulei, gluten de porumb, substituent de lapte, amestecarea celor două componente în pondere 5,88% în greutate macro-mix și în rest, 94,12% amestec energo-proteic, rezultând un produs nutrițional îmbogățit în acizi grași omega-3 cu aport nutrițional și acțiune probiotică și enzimatică în organismul gazdă.

Revendicări: 7



TEHNOLOGIE NUTRIȚIONALĂ BAZATĂ PE UN MACRO-MIX CU PROPRIETĂȚI FUNCȚIONALE PENTRU PURCEI

Prezenta invenție se referă la o tehnologie nutrițională pentru purcei sugari și în criza de înțârcare, bazată pe: 1) produs microbial format dintr-un amestec de 2 tulpini bacteriene de *Lactobacillus* îmbogățite în acizi grași omega-3 și DL-Metionină și L-Lizină; 2) recepturi de nutreț combinat specifice, care au în componența macro-mix îmbogățit; 3) procedeu de fabricare. În particular, prezenta invenție face referire la utilizarea de microorganisme din genul *Lactobacillus* pentru prepararea unui produs nutrițional îmbogățit în acizi grași omega-3, care poate acționa pe două căi în organismul gazdă: i) nutrițional contribuie cu un aport semnificativ de nutrienți esențiali pentru sănătate, respectiv acizi grași omega-3, aminocizi limitativi la aceasta specie, respectiv lizina și metionina, vitamine și minerale; ii) conține tulpini microbiene cu acțiune probiotică și enzimatică, care asigură legătura între nutriție și sănătate și conferă funcționalitate produsului.

Hrana clasică a purceilor în maternitate și după înțârcare, este un amestec de molecule diferite, de tipul nutrienților, care acoperă necesarul de energie, proteine, vitamine și minerale specific categoriei fiziologice și vârstei. Acest tip de hrană asigură necesarul pentru funcțiile vitale ale organismului, pentru creștere și dezvoltare la nivelul permis de potențialul genetic, conform brevet nr. 126991 / 2016, respectiv brevet nr. 127936 / 2016.

Dezavantajul constă în faptul că, nutrețul combinat clasic nu are capacitatea de a limita evoluția infecțiilor, iar bacteriile lactice au demonstrat rolul lor în prevenirea unor patologii digestive și imunostimulatoare, prin producerea de acizi organici, peroxid de hidrogen, bacteriocine, care limitează dezvoltarea enterobacteriaceelor și competiția, la nivel intestinal, prin inhibarea colonizării intestinului cu bacterii patogene.

Purceii au la fătare limitări fiziologice, fără protecție asigurată de anticorpi și cu un echipament enzimatic incomplet dezvoltat. Imediat după fătare, colostrul contribuie cu un aport important de imunoglobuline protectoare de boli, iar compoziția ulterioară a laptelui poate fi modificată prin hrană (Grez și col., 2016; Hăbeanu și col., 2015; Jensen și col., 2001). La purceii sugari și în criza de înțârcare, de o mare importanță sunt variațiile microorganismelor patogene, nu numai ca expresie a rezistenței la medicamente, ci și ca urmare a apariției recombinării genetice, care afectează tabloul clinic și evoluția unor boli (Hăbeanu și col., 2015; Ruiz și col., 2016; Tan și col., 2019).

Directiva Europeană 91/630 revizuită în 2003, ridică problema vârstei minime de înțârcare a porceilor la 28 zile, deși înțârcarea la 21 zile este încă permisă în anumite condiții de creștere. Decizia a fost argumentată de implicațiile înțârcării prin prisma efectelor factorilor generatori de stres, respectiv a modificărilor survenite în condițiile legate de mediul de creștere, a trecerii de la hrana bazată preponderent pe lapte matern la furajarea solidă, și interacțiuni sociale la formarea loturilor de porcei. Acești factori contribuie la apariția de tulburări gastro-intestinale de tipul enteritelor, ce afectează dezvoltarea ulterioară a animalului, ceea ce înseamnă pierderi economice pentru fermieri. Înțârcarea la 21 sau 28 zile, nu rezolvă însă problema afecțiunilor de natură gastro-intestinală. O explicație a acestor disfuncții fiziologice, constă în faptul că porceii după înțârcare au mecanismele de apărare imună suprasolicitate datorită fenomenului de oxidare (Aurousseau, 2002), care slăbește potențialul acestora de a rezista la boli și infecții, în principal infecții gastrointestinale cu *Salmonella* și *Escherichia coli*. Microflora intestinală începe să se stabilizeze aproximativ după o săptămână de la înțârcare.

Mult timp, antibioticele au fost folosite pentru prevenirea apariției unor boli și îmbunătățirea performanțelor (Mehdi și col., 2018). Evidențele medicale sugerează însă că folosirea exagerată a antibioticelor au generat probleme legate de rezistența antimicrobiană (Mehdi și col., 2018).

Ca o consecință, cercetările biotehnologice au venit cu o serie de soluții menite să ofere alternative cu potențial valoros pentru animale. Bacteriile lactice pot acționa ca agenți fermentativi, sau colonizează mucoasa intestinală la animale, pot avea rol imunomodulator fiind capabile să împiedice aderența bacteriilor patogene la celulele intestinale, iar în ultimii ani se folosesc tot mai mult ca probiotice (Bermudez-Brito și col., 2012). Dacă în anii '60, produsele bacteriene erau bazate pe un amestec de mai multe tulpini, noile reglementări au vizat utilizarea de monoculturi, și un număr restrâns de produse conțin câte 2 tulpini bacteriene (15%).

În plus, acizii grași omega-3 sunt biocompuși activi care pot influența în membrana fosfolipidelor funcționarea celulelor implicate în inflamații (Parolini, 2019).

Pentru cele două categorii fiziologice, respectiv porceii sugari și după înțârcare, din cercetările anterioare s-a impus ca necesitate stabilirea unei tehnologii care să permită o abordare diferită de cea clasică a managementului nutrițional pentru porcei în aceste faze critice pentru sector.

În consecință, o problemă a prezentei invenții, prin care se înlătură dezavantajele

unei furajari clasice, constă în îmbunătățirea rezistenței la boli a purceilor din fazele critice de creștere prin asocierea efectelor unor resurse microbiene, ce acționează enzimatic și probiotic contribuind astfel la stabilizarea florei intestinale, cu cele ale resursei bogate în acizi grași omega-3, care pot reduce producția de molecule și substanțe legate de inflamație, și pot avea efect imunomodulator.

Problema menționată mai sus este rezolvată prin furnizarea unei tehnologii bazată pe: 1. macro-mix în nutrețuri combinate cu structuri specifice, care să asigure o alternativă viabilă la antibiotice prin folosirea unui amestec *Lactobacillus plantarum*: *Lactobacillus acidophilus* (50:50), care pot acționa sinergic, și al caror efect este potențat de acizii grași omega-3 din semințe de cânepă și de DL-Metionină și L-Lizină; 2. Recepturi de nutrețuri combinate specifice; 3. O compoziție a laptelui de scroafă ameliorată prin tip de hrană specific, îmbogățit în acizi grași omega-3. Cercetări anterioare cu privire la amestecul în diferite proporții între *Lactobacillus acidophilus* (50%) și *Lactobacillus plantarum* (50%) pentru purcei sugari (Hăbeanu și col., 2016), sau *Bacillus subtilis* și *Bacillus licheniformis* (Cerere brevet a201900245), pe purcei în creștere, au evidențiat o acțiune enzimatică pozitivă și un rol probiotic în menținerea ecosistemului intestinal la purcei.

În anexa 1 este redată schema ilustrativă privind fluxul tehnologic. Tehnologia nutrițională propusă cuprinde partea de laborator, *in vitro*, și partea de fermă, determinări *in vivo*.

În continuare sunt redate obiectivele și fazele tehnologiei nutriționale:

Etapa 1. Formulare rețetă și fabricare nutreț combinat pentru scroafe lactante, îmbunătățit în acizi grași omega-3 prin adaos de semințe de cânepă măcinate.

Obiectiv 1. Îmbunătățirea calității laptelui de scroafă.

Într-o combinație preferată, nutrețul combinat conține: porumb 553 g/Kg; făină de orez 100 g/Kg, șrot de soia 150 g/Kg, șrot de floarea soarelui 100 g/Kg, ulei soia 5 g/Kg, cânepă 50 g/Kg, L-lizina 0,9 g/Kg, carbonat de calciu 19,4 g/Kg, fosfat monocalcic 5 g/Kg, sare 4 g/Kg, premix colină 2 g/Kg, premix vitamino-mineral 10 g/Kg.

Premixul vitamino-mineral are următoarea compoziție: 9000 UI vitamina A; 1500 UI vitamin D3; 50 UI vitamina E; 2 mg vitamina K3; 1.5 mg vitamina B1; 5.2 mg vitamina B2; 15 mg vitamina B3; 8.1 mg vitamina B5; 2 mg vitamina B6; 0.10 mg vitamina B7; 0.5 mg vitamina B9; 0.03 mg vitamina B12; 39 mg of Mn; 100 mg of Fe; 15 mg Cu; 100 mg Zn; 0.3 mg I; 0.22 mg Se; 0.25 mg Co; 60 mg antioxidant.

Mod de administrare: în 2 tainuri pe zi, orele 8h și 14h. Prin administrarea acestui tip de

hrană compoziția laptelui este modificată în sens benefic sănătății porceilor. Compoziția chimică și în acizi grași a colostrului și a laptelui la 7, respectiv 21 zile este redată în tabelele 1 și 2. În graficul 1 este redată compoziția laptelui în acizi grași esențiali pe o perioadă de 21 zile.

Laptele de la scroafe-mamă hrănite neconvențional, cu adaos de semințe de cânepă măcinate în hrana, se caracterizează prin:

- concentrație în acid gras α -linolenic 2,27%, ceea ce înseamnă o creștere cu 35% față de concentrația din laptele de la scroafe hrănite clasic (porumb:șrot soia);
- un nivel de 1,86% acid gras docosahexaenoic comparativ cu 0,92% în cazul hrănirii clasice;
- Σ acizi grași omega-3 2,82%, ceea ce presupune o creștere cu 32% față de concentrația din laptele provenit de la scroafe hrănite clasic;
- Σ acizi grași omega-6 21,82%, respectiv o ușoară scădere de 3,9%;
- raportul între acizii grași omega 6:omega 3 ajunge la 7,8, față de clasic \sim 12, aspect deosebit de important prin prisma tendinței actuale de reducere pentru înregistrarea unor efecte pozitive pentru sănătate.

Etapa 2. Stabilirea structurii, obținerea și caracterizarea unui macro-mix îmbogățit în acizi grași omega-3, DL-metionina și L-lizina.

Obiectiv 2. Creșterea capacității organismului porceilor sugari și a celor întărcați de a rezista la boli, reducerea frecvenței enteritelor.

Într-o structură preferată, redată în tabelul 3, macro-mixul conține: 255 g x Kg⁻¹ semințe de cânepă, 170 g x Kg⁻¹ premix vitamino-mineral plus produs bacterian 20%, 15,31 g x Kg⁻¹ DL-Metionină, 52,72 g x Kg⁻¹ L-Lizină, 253,57 g x Kg⁻¹ carbonat de calciu, 219,4 g x Kg⁻¹ fosfat monocalic, 17 g x Kg⁻¹ sare, 17 g x Kg⁻¹ premix colină.

În continuare este redată compoziția nutrițională a macro-mixului: 1097 kg/kg energie metabolizabilă, 112,65 g x Kg⁻¹ proteină brută, 107,77 g x Kg⁻¹ proteină brută digestibilă, 43,57 g x Kg⁻¹ lizină brută, 43,39 g x Kg⁻¹ lizină brută digestibilă, 17,28 g x Kg⁻¹ metionină brută, 16,96 g x Kg⁻¹, 131,69 g x Kg⁻¹ calciu, 485,05 g x Kg⁻¹ fosfor, celuloză 73,52 g x Kg⁻¹, grăsime brută 70,66 g x Kg⁻¹.

Produsul microbial are o concentrație de bacterii lactice vii de $9,5 \times 10^{10}$ col/ml. A fost inclus în procent de 20% în premixul vitamino-mineral care se adaugă în nutrețul combinat în proporție de 1%.

În tabelul 4 este redată compoziția macro-premixului în acizi grași.

În continuare se redau materialele și metodele de obținere a produsului microbial inclus

în macro-mix:

A. Materiale: 2 tulpini de bacterii lactice (1 tulpină de *Lactobacillus acidophilus* și 1 tulpină de *Lactobacillus plantarum*), izolate din segmente de intestin de la porci crescuți în condiții convenționale la INCDBNA Balotești; medii de cultură pentru determinări bacteriologice, kit-uri de determinare biochimică API 50 CHL (Biomerieux).

B. Material biologic: purcei sugari și în criza de înțârcare.

C. Metode: Tulpinile de bacterii acidolactice au fost supuse unor analize complexe care au inclus determinari microbiologice clasice și teste standardizate internațional (kitul API 50 CHL) care au condus la identificarea lor ca fiind *Lactobacillus plantarum* și *Lactobacillus acidophilus*.

Evaluarea capacității de sinteză a acizilor organici, lactic și acetic, a fost efectuată prin HPLC: 2 ml monocultură de 48 ore pe MRS a fost centrifugată, s-a înlăturat supernatantul apoi proba a fost diluată cu 2 ml apa distilată și 50 μ l au fost utilizați pentru separarea pe coloana a acizilor prezenți.

A fost evaluată activitatea enzimatică a celor 2 tulpini de bacterii lactice și s-a determinat activitatea amilozolitică și celulozolică cunoscut fiind faptul ca bacteriile lactice prezintă o activitate proteolitică și lipolitică foarte redusă, în schimb produc enzime amilolitice și celulozolitice care asigură o degradare superioară a amidonului și celulozei.

Pentru activitatea amilozolitică s-a aplicat metoda Hostettler care se bazează pe hidroliza amidonului de către α -amilaza, la pH 6,9 și temperatura de 30°C.

Pentru activitatea celulozolică s-a aplicat metoda Petterson și Porath, care se bazează pe hidroliza enzimatică a carboximetilcelulozei și dozarea grupărilor reducătoare eliberate cu reactiv dinitrosalicilic la 640 nm.

Microorganismele propuse ca parte a prezentei invenții au următoarele caracteristici: gram pozitiv, încadrate sistematic în filumul *Firmicutes*, clasa *Bacilli*, ordinul *Lactobacillales*, familia *Lactobacillaceae*. Sunt fermentative, microaerofile și chemo-organotrofe, care nu formează spori. Ele necesită o creștere pe un mediu având un conținut bogat în nutrienți. În ceea ce privește forma celulară, lactobacilii au în mare parte aceeași morfologie, putând avea aspect de bastonașe care apar grupate în lanțuri sau palisade.

Etapa 3: Stabilirea structurii, fabricarea și administrarea amestecului energo-proteic ce se completează cu macro-mix pentru acoperirea cerințelor nutriționale specifice purceilor sugari și în criza de înțârcare.

Obiectiv: Performanțe și stare de sănătate ameliorate pentru purcei aflați în faza critică de dezvoltare.

În tabelul 5 sunt redate structura și caracteristicile amestecului ergo-proteic care se suplimentează cu macro-mix.

În continuare este redată structura unui kg de amestec unic: 941,2 g amestec ergo-proteic plus 58,8 g macro-mix la 1 kg amestec unic de nutreț combinat.

Tehnologia nutrițională, bazată pe suplimentarea cu macro-mix a amestecului ergo-proteic, prezintă următoarele avantaje:

- ține cont de interrelația specifică între scroafe lactante și producții acestora, altfel spus, se intervine prin hrană modificată în biocompuși activi, la diferite stări fiziologice, respectiv lactanție, sugari și în criza de înțarcare;
- adaosul în hrana scroafelor lactante de acizi grași omega-3, prin includerea semințelor de cânepă în reșetă, modifică compoziția laptelui în acizi grași n-3, și implicit concentrația în acizi grași omega-3 a diferitelor țesuturi la purcei;
- purceii sugari au un echilibru energetic negativ și un sistem imunitar slab dezvoltat, iar prin tehnologia propusă se realizează o legătură lapte matern-microbiotă;
- modificarea în sens benefic a compoziției laptelui influențează pozitiv starea de sănătate a purceilor, graficele 2 și 3.
- invenția permite creșterea performanțelor la purcei pe fondul diminuării frecvenței enteritelor; sporul mediu zilnic la 21 zile a fost cu 16,63% mai mare în cazul adaosului macro-mix ($P = 0,02$);
- produsul macro-mix inclus în hrana purceilor contribuie cu 41,03 g acizi grași polinesaturați (PUFA) /kg produs, din care 9,64 g / kg produs sunt acizi grași omega-3.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a produsului conform invenției revendicate.

Varianta 1 : Se dozează vitaminele și mineralele ce intră în componența premixului vitamino-mineral, după care se încorporează pe un suport de semințe de cânepă măcinată corespunzător cantității precizate. Se adaugă produsul microbial format din *Lactobacillus acidophilus* și *Lactobacilus plantarum* (50:50). Se omogenizează, după care se încorporează treptat restul ingredientelor. Se continuă amestecarea, iar produsul astfel obținut se adaugă în amestecul ergo-proteic obținut în prealabil prin macinarea într-o moară cu ciocanele, și amestecarea timp de 6 minute a ingredientelor specificate în reșetă.

Se obține astfel un nutreț combinat sub formă de făină cu o granulație de 2,80 mm și se administrează la purcei în maternitate și criza de înțarcare, ca amestec unic de hrană.

Produsul are o valabilitate de 30 zile de la data fabricației, prin păstrarea la temperatura mediului ambiant.

Varianta 2. Nutrețul obținut conform procedurii specificat mai sus, se poate peletiza în prezența unui liant (3% apă sau 1% melasă). Nutrețul combinat se supune compactării la o temperatură de 80°C într-o presă pentru peleți (PLT 100) cu diametrul de 6mm. Peleții rezultați se răcesc timp de 24h și ulterior se administrează în hrana porceilor.

Nutrețul combinat astfel obținut asigură: substanță uscată 890 g x Kg⁻¹, energie metabolizabilă 13,74 MJ x Kg⁻¹, proteina brută 197,9 g x Kg⁻¹; lizină 12,0 g x Kg⁻¹; metionină + cistină 7,2 g x Kg⁻¹; calciu 9,5 g x Kg⁻¹; fosfor 6,5 g x Kg⁻¹; celuloză 43,6 g x Kg⁻¹; grăsime 28,2 g x Kg⁻¹; 5,37% acid gras α -linolenic; 57,73% PUFA; un raport omega-6:omega-3 de 8,9 comparativ cu un raport >12 la cel clasic.

Perioadele critice pentru porceii, care au consecințe pe întreg fluxul de dezvoltare ulterioară, sunt alăptarea și 21 zile după înțarcare. Infecția cu virusul diareei epidemice porcine, membru al familiei *Coronaviridae*, determină diareea epidemică porcine, o boala enterică caracterizată prin diaree acută apoasă, deshidratare, vărsături și mortalitate în pondere ridicată la porceii sugari și în criza de înțarcare, cu pierderi economice importante pe fluxul tehnologic (Ji și col., 2012).

Primele zile de viață, porceii consuma colostru/ lapte matern, iar după 10 zile încep să consume hrană solidă. În mod clasic, în hrana porceilor în maternitate, respectiv în criza de înțarcare, nutrețul combinat administrat are un conținut de cereale de 55-65%, șrot de soia 15-25%, gluten de porumb 3-5%, substituent de lapte 5-10%, ce asigură cerințele nutriționale specifice categoriei fiziologice: energie metabolizabilă 3200-3100 kcal, proteină brută 20-17 %, lizină brută 1,6-1,2 %, metionină + cistină 0,95-0,72%, celuloză 4,0-2,5%, calciu 0,95%, fosfor 0,75-0,65%. Din punct de vedere nutrițional, întrucât sunt acoperite cerințele nutriționale specifice acestei categorii de vârstă, putem face afirmația că aceasta este o **nutriție corectă**. Dacă luăm în considerare faptul că o nutriție corectă reduce apariția afecțiunilor infecțioase prin consolidarea integrității celulare tisulare, și permite optimizarea mecanismelor de apărare la nivel imunitar, realizăm că ceva lipsește. Concret, nu se face legătura la nivel de corelații între principii nutritivi, mecanisme de acțiune, microbism gastro-intestinal, care să permită estomparea și/sau ameliorarea efectelor a căror cauză principală ar fi virusul diareei epidemice asociat cu slaba dezvoltare a echipamentului enzimatic și imunitar la porceii în fazele critice. Hrana trebuie să fie un amestec între nutrienți și nutricei (biocompuși activi de tipul enzimelor, acizilor grași omega-3, etc.).

Prin tehnologia inovativă propusă, se stabilește legătura între scroafele–mamă și purcei sugari prin colostru și lapte cu o compoziție modificată, iar pe de altă parte, între hrana purceilor și performanțele de creștere, asociate cu o bună stare de sănătate.

Deși, greutatea la fătare a purceilor a fost cu 18,9% mai mică în cazul lotului experimental, iar la 7 zile performanțele au fost ușor mai reduse, după trecerea la hrana solidă bazată pe macro-mix, s-a înregistrat o creștere cu 2,6%, anulându-se astfel diferențele.

Tulburările gastrointestinale au apărut din a doua zi de experiment. Prin adaosul de produs microbial în macro-mix s-a restabilit starea de sănătate în 2 zile, în timp ce la lotul martor tulburările intestinale au dispărut după 2-6 zile.

Din analiza dejecțiilor, prelevate pe boxa de fătare și omogenizate, a rezultat o diferență semnificativă între lotul martor și lotul experimental privind numărul de germeni aerobi mezofili și numărul de colonii de *Escherichia coli*. Acest fapt întărește și aduce argumente suplimentare în sprijinul ipotezei că bacteriile acidolactice au efect inhibitor asupra bacteriilor patogene din tractusul gastro-intestinal, iar prin asocierea celor două tulpini de *Lactobacillus* efectele sunt potențate, acțiunea acestora fiind sinergică.

Rezultatele demonstrează efectul inhibitor al bacteriilor lactice adăugate în macro-mix, care contribuie astfel la reducerea gradului de poluare microbiologică a mediului din halele de creștere a purceilor și permite înțărirea purceilor, în anumite condiții de creștere, la 21 zile față de 28 zile clasic.

Bibliografie

1. Arousseau Bernard. 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA. Prod. Anim. 15 (1), 67-82.
2. Bermudez-Brito Miriam, Plaza- Díaz Julio, Muñoz-Quezada Sergio, Gómez-Llorente Carolina, Gil Angel. 2012. Probiotic Mechanisms of Action. *Ann Nutr Metab.* 2012;61:160–174.
3. Brevet de invenție nr. 126991/2016A. 2011 00550. Nutreț combinat pentru hrana porcilor. Hăbeanu Mihaela, Veronica Hebean, Nicoleta Lefter.
4. Brevet de invenție nr. 127936/2016 . Supliment nutrițional pentru hrana porcilor. Mihaela Hăbeanu, Nicoleta Lefter, Taranu Ionelia.
5. Cerere brevet a201900245/2019. Nutreț combinat îmbunătățit prin adaos de aditiv zootehnic bacterian pentru porci în criza de întărire. Dumitru Mihaela, Hăbeanu Mihaela.
6. Directiva Consiliului din 19 noiembrie 1991 de stabilire a normelor minime de protecție a porcilor.
7. Grez Mariola, Mónica Gandarillas, Fernando González, and Einar Vargas-Bello-Pérez. 2016. Influence of a spray-dried fat enriched with EPA and DHA on the fatty acid composition of sow milk. *Cien. Inv. Agr.* 43(3):347-355.
8. Hăbeanu Mihaela, N.A. Lefter, A. Gheorghe, C. Tabuc, A. Untea, I. Surdu, G. Ciurescu, C.G. Balan & C. Dragomir. 2015. Changes in certain serum and faeces parameters in weaned piglets as a response to nutritional stress. *South African Journal of Animal Science.* Vol 45 (2). Pg.164-172
9. Hăbeanu Mihaela, Cristina Tabuc, Anca Gheorghe, Mariana Ropota, Mihaela Dumitru, Loredana Călin, T. Mihalcea, M. Palade. 2016. Preliminary study on the interrelation between sow milk quality and litter performance in relation to their health. *Scientific Papers-Animal Science Series: Lucrări Științifice - Seria Zootehnie*, vol. 66.
10. Jensen Annette R., Jan Elnif, Douglas G. Burrin and Per T. Sangild. 2001. Development of Intestinal Immunoglobulin Absorption and Enzyme Activities in Neonatal Pigs Is Diet Dependent. *Nutritional Immunology.*
11. Jing Bi, Songlin Zeng, Shaobo Xiao, Huanchun Chen, and Liurong Fanga. 2012. Complete Genome Sequence of Porcine Epidemic Diarrhea Virus Strain AJ1102

Isolated from a Suckling Piglet with Acute Diarrhea in China. *Journal of Virology*. P 10910-10911.

12. Mehdi Y, Létourneau-Montminy M-P., Gaucher M-L, Chorfi Y., Surech G., Rouissi T, Brar S.K., Côté C., Ramirez A.A., Godbout S. 2018. Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. *Animal Nutrition* 4: 170-178.

13. Parolini Cinzia. 2019. Effects of Fish n-3 PUFAs on Intestinal Microbiota and Immune System. *Mar. Drugs* 2019, 17, 374; doi:10.3390/md17060374.

14. Ruiz Vera L. A., Josete G. Bersano, Aline F. Carvalho, Márcia H. B. Catroxo, Daniela P. Chiebao, Fábio Gregori, Simone Miyashiro, Alessandra F. C. Nassar, Trícia M. F. S. Oliveira, Renato A. Ogata, Eliana P. Scarcelli and Paloma O. Tonietti. 2016. Case-control study of pathogens involved in piglet diarrhea. *BMC Res Notes*. 9:22. DOI 10.1186/s13104-015-1751-2.

15. Tan Zhen, Wanting Dong, Yaqun Ding, Xiangdong Ding, Qin Zhang, Li Jiang. 2019. Changes in cecal microbiota community of suckling piglets infected with porcine epidemic diarrhea virus. *PLOS ONE* | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219868>. 1-14.

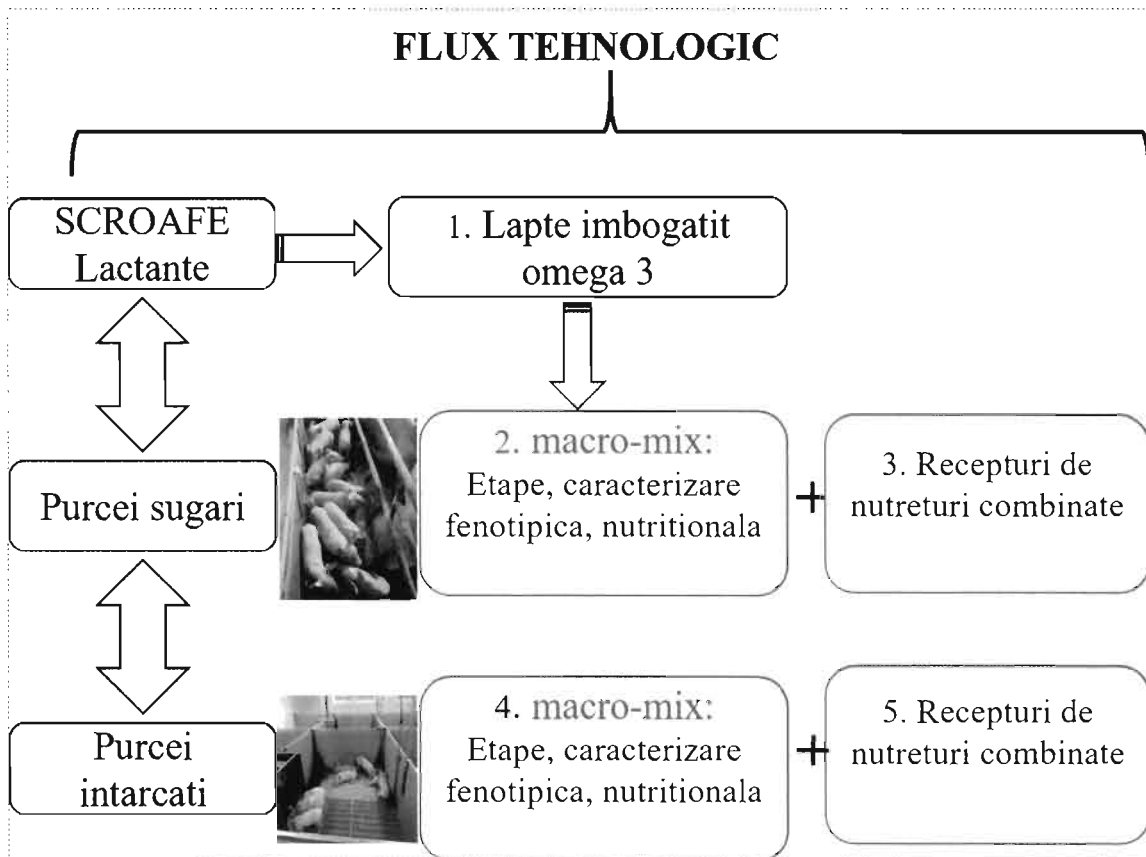


Figura 1. Schema ilustrată a fluxului tehnologic

Tabelul 1

Compoziția chimică calculată și determinată prin analize chimice a laptelui de scroafe hrănite cu nutreț combinat cu adaos de semințe de cânepă

Nutrient	%		Valoare P	
	Calculat†	Evaluat	Hrană	Ziua prelevare probe
Proteină			0,94	<0,0001
12h după fătare		8,99		
7 zile	5,42	6,06		
21 zile	5,0	5,48		
Lipide			0,06 ^T	0,68
12h după fătare		6,94		
7 zile	7,71	6,43		
21 zile	6,8	6,26		
Lactoză			0,97	<0,0001
12h după fătare		2,72		
7 zile	5,47	4,70		
21 zile	5,33	4,35		

† Conținutul laptelui în nutrienți (proteină, lipide și lactoză a fost calculat după ecuația lui Hansen și col. (2012)

T = tendință ca tipul de hrană să influențeze compoziția laptelui în lipide

Sursa: analize efectuate la Universitatea București de profesor Gheorghe Stoian și cercetătorii Gheorghe Anca și Lefter Nicoleta. Valori estimate prin ecuații de Hăbeanu Mihaela

Tabelul 2

Compoziția centezimală a colostrului și laptelui de scroafă în acizi grași

% acizi grași din total FAME†	Colostru	Lapte		SEM	P ‡
		7 zile	21 zile		
C16:0	20.12	33.14	31.20	1.316	**
16-1	3.28	11.07	10.93	0.784	***
C17:0	0.47	0.21	0.11	0.038	NS
C17-1	0.22	0.22	0.15	0.016	NS
C18:0	3.88	4.04	2.72	0.129	NS
C18:1n-9 cis	28.26	22.71	21.18	0.861	**
C18:1n-7 cis	0.65	0.51	0.40	0.161	NS
C18:2n-6 (linoleic)	34.95	18.60	23.02	1.689	***
C20:0	0.39	0.23	0.23	0.030	**
C18:3n-3 (α-linolenic)	2.24	1.90	2.52	0.100	***
CLA	0.08	0.12	0.09	0.017	NS
C18:4n-3	0.01	0.05	0.10	0.170	NS
C20:2n-6	0.09	0.11	0.16	0.030	NS
C20:3n-6	0.44	0.14	-	0.048	NS
C22:1n-9	0.27	0.04	0.05	0.029	NS
C20:3n-3	1.18	0.07	0.05	0.127	NS
C20:4n-6	0.04	0.49	0.45	0.063	NS
C22:2n-6	0.20	0.16	0.11	0.026	NS
C20:5n-3 (EPA)	0.02	0.01	-	0.006	NS
C22:4n-6	-	0.03	0.16	0.014	NS
C22:6n-3 (DHA)	-	0.58	0.35	0.054	NS
∑SFA	27.54	42.71	39.57	1.511	*
∑MUFA	32.89	34.90	33.24	0.788	*
∑PUFA	39.29	22.25	27.04	1.781	NS
∑n-6	35.82	19.64	24.01	1.661	NS
∑n-3	3.46	2.61	3.03	0.162	**
n-6/n-3	10.38	7.56	8.07	0.497	***

†% din total acizi grași esteri metil (FAME); EPA = acid gras eicosapentaenoic; DHA = acid gras docosahexaenoic; ∑SFA = sumă acizi grași saturați; ∑MUFA = sumă acizi grași mononesaturați; ∑PUFA = sumă acizi grași polinesaturați.

∑ SFA: C4:0 C6:0+C8:0+ C10:0+ C12:0+ C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0+ C20:0+ C23:0+C24:0;

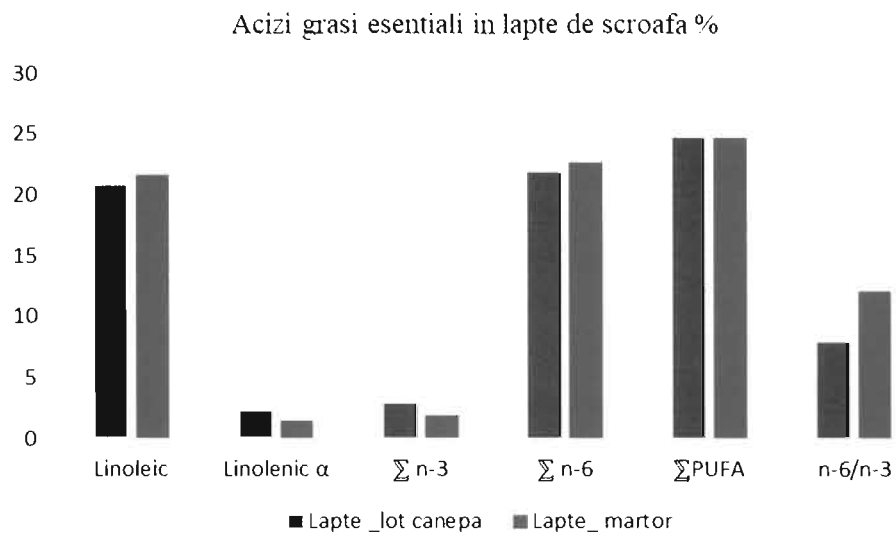
∑ MUFA: C14:1+C15:1+ C16:1 + 17:1 + Total cis C18:1 + C20:1 n-9;

∑ PUFA: C18:2n-6 + 18:3n-3 + C18:4 n-3 + CLA + C20:2n-6 + C20:3n-6 + C20:3n-3 + C20:4n-6 + C22:2n-6 + C20:5n-3 + C22:3n-6 + C22:4 n-6 + C22:5 n-3 + C22:6n-3.

‡ NS (P > 0.10), T (P < 0.10), *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

Sursa: analize efectuate de Mariana Ropotă în Laboratorul de Chimie, INCDBNA Balotești; calcul statistic și interpretare Mihaela Hăbeanu

Grafic 1



Grafic 1. Compoziția centezimală a laptelui de scoafă pe o perioadă de 21 zile de la fătare

Tabelul 3

Structura macro-mix*

Structura*	g x Kg ⁻¹ amestec <i>Macro-mix</i>
Semințe de cânepă	255,00
Premix vitamino-mineral† + produs bacterian <i>Lactobacillus acidophilus</i> : <i>Lactobacillus plantarum</i> (50:50, 20%)	170,00
DL-Metionină	15,31
L- Lizină	52,72
Carbonat de calciu	253,57
Fosfat monocalcic	219,40
Sare	17,00
Premix colină	17,00

† Premix vitamino-mineral la 1 Kg hrană: 10000 UI vitamina A; 2000 UI vitamina D3; 30 UI vitamina E; 3 mg vitamina K3; 2 mg vitamina B1; 6 mg vitamina B2; 20 mg vitamina B3; 13.5 mg vitamina B5; 3 mg vitamina B6; 0.06 mg vitamina B7; 0.8 mg vitamina B9; 0.05 mg vitamina B12; 10 mg vitamina C; 30 mg of Mn; 110 mg of Fe; 25 mg Cu; 100 mg Zn; 0.38 mg I; 0.36 mg Se; 0.3 mg Co; 60 mg antioxidant.

Sursa: formulă macro-mix cu care se suplimentează amestecul energo-proteic a fost stabilită de Mihaela Hăbeanu, INCDBNA Balotești

Tabelul 4

Conținutul macro-mixului în acizi grași

Acizi grași†	g x Kg ⁻¹ produs	% din total FAME *
C18:1n-9 (oleic)	8,17	14,46
C18:2n-6 (linoleic)	30,41	53,79
C18:3n-3 (α-linolenic)	9,64	17,06
Σ PUFA	41,03	72,58
Σ n-6	31,25	55,28
Σ n-3	9,64	17,06
n-6:n:3	1,83	3,24
Σ MUFA	8,23	14,56
Σ SAT	7,27	12,86

*% din total acizi grași esteri metil (FAME)

† PUFA – acizi grași polinesaturati; MUFA – acizi grași mononesaturati. n-6 = acizi grași omega 6, n-3 = acizi grași omega 3, SAT = acizi grași saturati

Sursa : Determinari efectuate prin gaz cromatografie de Mariana Ropota, la INCDBNA Balotesti

Tabelul 5

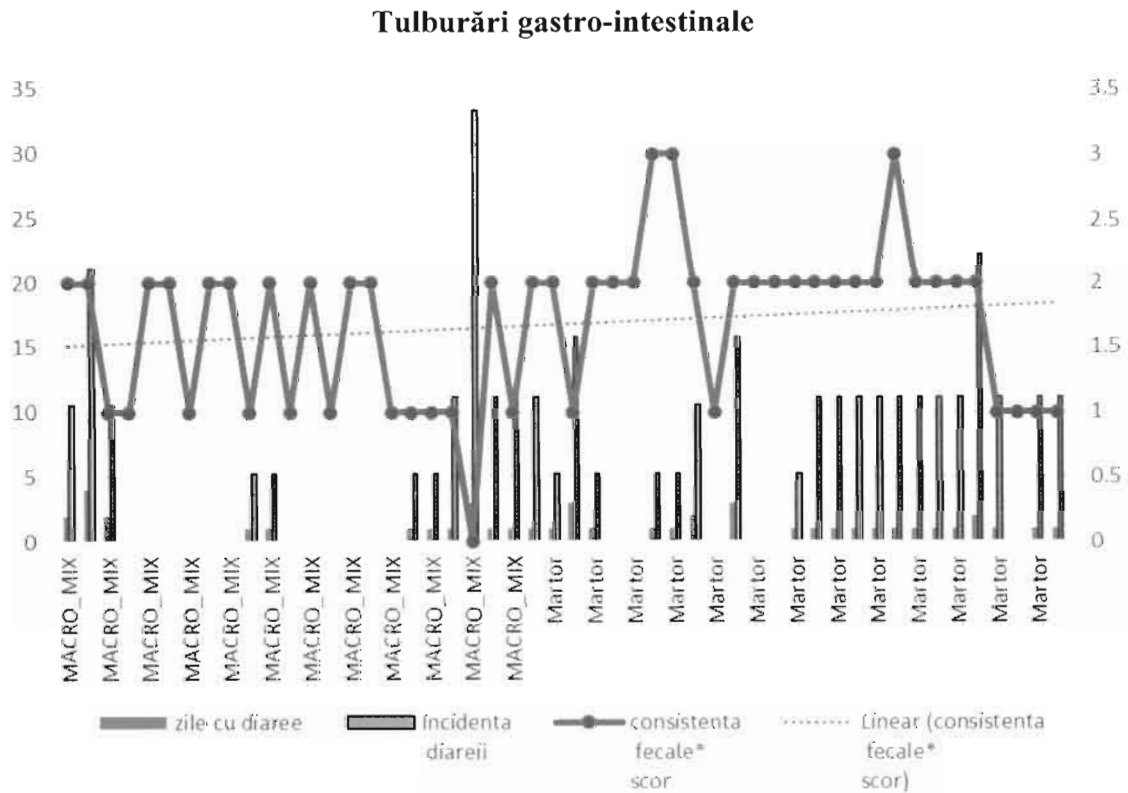
Structura amestecului energo-proteic care se suplimenteaza cu macro-mix*

Structura *	g x Kg ⁻¹ amestec	% NC**
<i>Amestec energo-proteic</i>		
Porumb	681,2	64,12
Șrot soia (44%PB)	228,4	21,5
Ulei	5,3	0,5
Gluten porumb	31,9	3,0
Substituent de lapte	53,2	5,0
<i>Macro-mix</i>		
		5,88

*PB - proteină brută

**NC - nutreț combinat

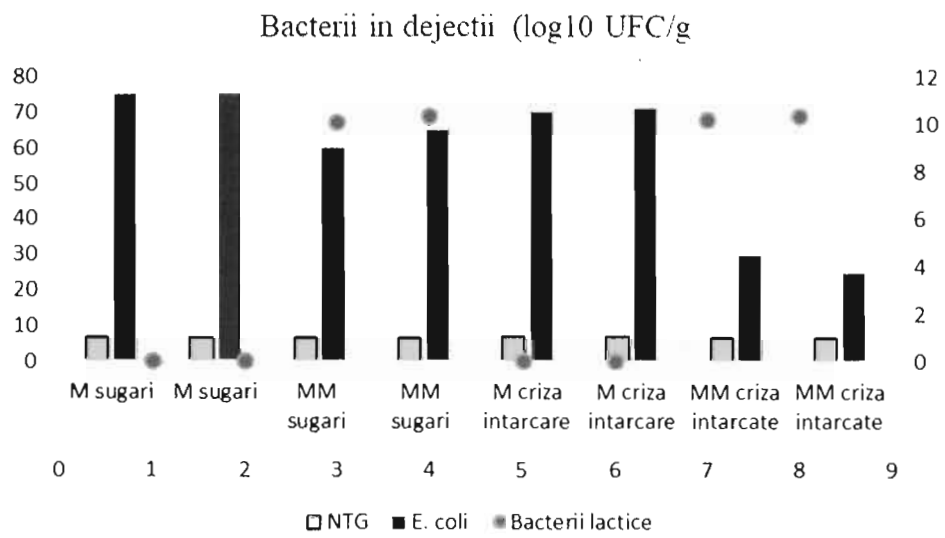
Grafic 2



*Scor consistență fecale – note pe o scară de la 1 la 3 unde: 0 = fără diaree ; 1 = consistență moale; 2 = consistență medie; 3 = fecale apoase, enterită agresivă. Animalele au fost monitorizate zilnic.

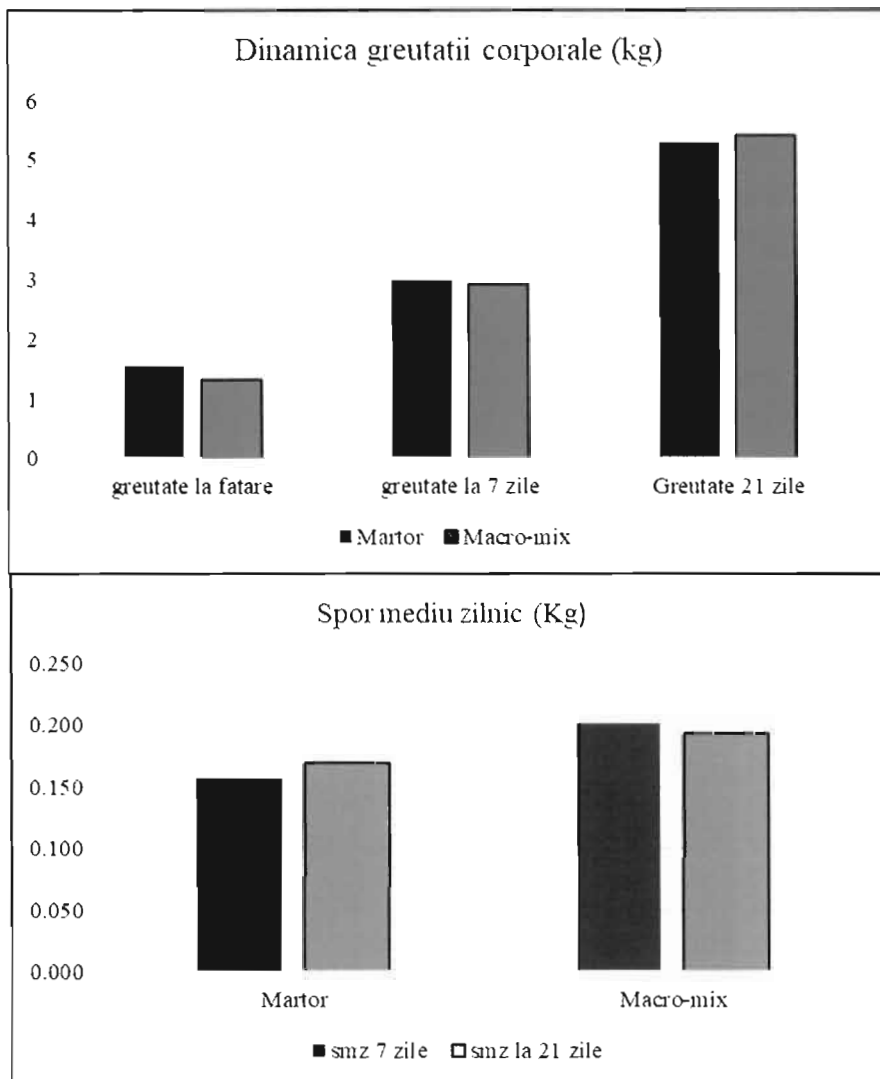
Grafic 3

Determinări microbiologice în dejecții porcei



NTG = număr total de germeni, *E. coli* = *Escherichia coli*;
 MM = hrană cu adaos de macro-mix; M = lot martor

Grafic 4

Performanțe de creștere

REVEDICĂRI:

1. Tehnologie nutrițională pentru purcei în maternitate și în criza de înțârcare, caracterizată prin aceea că este constituită din două componente majore: 1) scroafe cu lapte ameliorat nutrițional prin conținutul ridicat în: acid gras α -linolenic 2,27%, acid gras docosahexaenoic 1,86%; Σ acizi grași omega-3 2,82%; Σ acizi grași omega-6 este 21,82%; raportul între acizii grași omega 6:omega 3 = 7,8; 2) purcei hrăniți cu nutreț combinat (NC) format dintr-un amestec a două componente: i) macro-mix în pondere de 5,88 % în nutreț combinat; ii) amestec energo-proteic 94,12%.
2. Macro-mix în structura nutrețului combinat conform revendicării 1, care se caracterizează prin aceea că are în componență: 255 g / Kg semințe cânepă; 170 g/ Kg premix vitamino-mineral cu 20% produs microbial încorporat; 15,31 g/kg DL-Metionină; 52,72 g/kg L-Lizină; 253,57 g/ Kg carbonat de calciu; 219,4 g/Kg fosfat monocalcic; 17 g/Kg sare; 17 g/ Kg premix colină.
3. Macro-mix conform revendicării 1 și 2, care are inclus produs microbial format din *Lactobacillus acidophilus* și *Lactobacillus plantarum* 50:50, încorporat în premixul vitamino-mineral în procent de 20%. Concentrația în bacterii lactice vii este de $9,5 \times 10^{10}$ col/ml.
4. Macro-mix conform revendicărilor 1, 2 și 3 se caracterizează prin: 1097 Kg/Kg energie metabolizabilă, 112,65 g x Kg⁻¹ proteină brută, 107,77 g x Kg⁻¹ proteină brută digestibilă, 43,57 g x Kg⁻¹ lizină brută, 43,39 g x Kg⁻¹ lizină brută digestibilă, 17,28 g x Kg⁻¹ metionină brută, 16,96 g x Kg⁻¹, 131,69 g x Kg⁻¹ calciu, 485,05 g x Kg⁻¹ fosfor, celuloză 73,52 g x Kg⁻¹, grăsime brută 70,66 g x Kg⁻¹.
5. Macro-mix conform revendicării 1, 2, 3 și 4 care se caracterizează prin aceea că are o concentrație în acizi grași după cum urmează: 8,17 g/Kg acid oleic; 30,41 g/Kg acid linoleic; 9,64 g/Kg acid linolenic; 41,03 g/Kg Σ PUFA; 31,25 g/Kg Σ acizi grași omega-6; 9,64 g/Kg Σ acizi grași omega-3; 8,23 g/Kg Σ acizi grași MUFA; 7,27 g/Kg Σ acizi grași SAT; raport 1,83 omega-6:omega-3.
6. Amestec energo-proteic în structura nutrețului combinat conform revendicării 1, cu o compoziție preferată: porumb 64,12% NC, șrot de soia 21,5%, ulei 0,5%, gluten de porumb 3%, substituent de lapte 5%.

7. Tehnologie nutritională inovativă conform revendicărilor 1, 2, 3, 4 și 5 care contribuie la îmbunătățirea performanțelor porceilor și a stării de sănătate a acestora. Tulburările gastro-intestinale specifice acestei perioade dispar după 1-2 zile, iar frecvența enteritelor se reduce cu 9,53%. Adăosul în hrană de bacterii lactice prin macro-mix, are efect inhibitor asupra germenilor aerobi mezofili și numărul de colonii de *Escherichia coli*, ceea ce contribuie astfel la reducerea gradului de poluare microbiologică a mediului din halele de creștere a porceilor.