



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2021 00250

(22) Data de depozit: 13/05/2021

(41) Data publicării cererii:  
29/10/2021 BOPI nr. 10/2021

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:  
• OANCEA FLORIN, STR.PAȘCANI NR.5,  
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• CONSTANTINESCU-ARUXANDEI DIANA,  
ȘOS.MIHAI BRAVU, NR.297, BL.15A, SC.A,  
ET.1, AP.5, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• LUPU CARMEN, INTRAREA BÂRSEI,  
NR.5, BL.G3, AP.45, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO

(54) FURAJ COMBINAT CU RISC REDUS DE CONTAMINARE  
CU MICOTOXINE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTUIA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui furaj combinat cu risc redus de contaminare cu micotoxine. Procedeu, conform invenției, este constituit din etapele de: sortare optică a cerealelor boabe, adăugarea de oleoproteaginoase de tip șroturi de *Camelina sativa* fân de lucernă tocat și șroturi de soia, măcinarea amestecului de cereale și vegetale, analiza făinii prin spectrometrie moleculară Raman la 585 nm și respectiv, FT-NIR între 100 și 2600 nm, pentru evaluarea conținutului de acid  $\alpha$ -linolenic 18:3n-3 și respectiv, aflatoxine, adăugarea de aditiv de legare micotoxine

constituit din pereți celulari de drojdie, adăugarea uleiului de *Camelina sativa* suplimentat cu retinol, colecalciferol și acetat de tocoferil, urmat de adăugarea unui amestec de aminoacizi și colină, săruri minerale și premix vitamino-mineral, omogenizarea amestecului, urmată de comprimarea furajului concentrat, rezultând pelete destinate monogastricelor, în special pui de găină și porci.

Revendicări: 3



## FURAJ COMBINAT CU RISC REDUS DE CONTAMINARE CU MICOTOXINE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE

Prezenta invenție se referă la un furaj combinat cu risc redus de contaminare cu micotoxine ca și la un procedeu de obținere a acestuia.

Sunt cunoscute o serie întreagă de procedee de reducere / eliminare a contaminării cu micotoxine a furajelor, în special a cerealelor-boabe din compoziția acestora. Cerealele boabe sunt contaminate cu micotoxine în special timpul vegetației acestora. Riscul de contaminare a cerealelor păioase (în special grâu și orz) cu micotoxine formate în timpul vegetației este de obicei asociat unei boli, înroșirea (fuzarioza) spicului, care a re-apărut pe scară largă în toate zonele în care se cultivă cereale păioase în lume. Cauzele re-apariției acestei boli devastatoare a cerealelor păioase sunt multiple, incluzând schimbările climatice, extinderea tehnologiilor conservative și ecologice, creșterea ponderii exploatațiilor agricole predominant cerealiere, evoluția naturală a populațiilor de *Fusarium* (Oancea 2011). Un întreg complex de specii de *Fusarium* producătoare de micotoxine este implicat în declanșarea acestei boli. Inițial s-a considerat că în Europa și America de Nord agentul patogen principal care cauzează înroșirea spicului este *F. graminearum* (cu teleomorfa *Gibberella zae* (Schwein) Petch) (McMullen, Jones et al. 1997). În cadrul speciei *F. graminearum* au fost descrise două grupuri, grupul 1 heterotalic și grupul 2, homotalic, grupul 1 fiind diferențiat în specia *F. pseudograminearum*, (Aoki and O'Donnell 1999), cu teleomorfa *Gibberella coronata* (Aoki and O'Donnell 1999). Analiza filogenetică a 2100 de izolate de *F. graminearum* din întreaga lume a dus la divizarea speciei *F. graminearum* inițiale în nouă specii filogenetice, pe baza a șapte linii descendente inițial diferențiate. Speciile au fost denumite *F. austroamericanum* (linia 1), *F. meridionale* (linia 2), *F. boothii* (linia 3), *F. mesoamericanum* (linia 4), *F. acaciae-mearnsii* (linia 5), *F. asiaticum* (linia 6), *F. cortaderiae* (linia 8) și *F. brasiliicum* (linie nediferențiată inițial). Denumirea de *F. graminearum* a fost păstrată pentru linia 7, responsabilă de înroșirea spicului de grâu în Europa și America de Nord. Ulterior au mai fost propuse două noi specii: *F. veroșii* (obținută din Japonia și Ungaria) și *F. gerahii* (obținută din Vestul Mijlociului al Statelor Unite) (Starkey, Ward et al. 2007). Separarea propusă în 11 specii diferite a speciei inițiale *F. graminearum* nu a fost însă acceptată de toți cercetătorii implicați în studierea genului *Fusarium* (Leslie and Bowden 2008), astfel încât în pre-

zent se folosesc termenii de *F. graminearum sensu stricto* (pentru specia diferențiată în linia 7) și *sensu lato* (pentru tot grupul de specii filogenetice asociat inițial).

În afara acestor specii din grupul *Fusarium graminearum sensu lato*, alte specii de *Fusarium* producătoare de micotoxine, respectiv *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *F. arthro-sporioides*, *F. tricinctum*, *F. cerealis* / *F. crookwellense*, ca și 2 specii de *Microdochium*, *M. nivalis* și *M. majus*, inițial descrise ca *F. nivale*, au fost asociate cu fuzarioza spicului de grâu în întreaga lume (Xu and Nicholson 2009). Anumite specii pot predomina în unele gazde din categoria cerealelor păioase, în diferite regiuni ale lumii, sau în anumite condiții climatice. În Europa s-a constatat că *F. graminearum* a înlocuit *F. culmorum* ca principal patogen care cauzează înroșirea spicului (Valverde-Bogantes, Bianchini et al. 2020). Toată această diversitate este asociată unei diversități ridicate a micotoxinelor pe care fuzariile fitopatogene le produc în boabele infectate. Cele mai periculoase fusariotoxine includ trichotecenele deoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV), HT2/T2, și micotoxina estrogenică zearalenonă (ZEA) (Bottalico and Perrone 2002). Metodele analitice noi au făcut posibilă analizarea simultană a multor micotoxine. Acest lucru a atras atenția asupra așa-numitelor fusariotoxine emergente produse în boabele cerealelor păioase, fusariotoxine despre care cunoștințele referitoare la toxicitate sunt limitate (Fraeyman, Croubels et al. 2017), ca de exemplu enniatinele, beauvericina și moniliformina. La nivelul EU au stabilite limite maxime de admisibilitate pentru două fusariotoxine prezente în boabele cerealelor păioase, DON și ZEA. Pe viitor reglementările s-ar putea extinde și la alte micotoxine, cu ar fi de exemplu HT2/T2 (Knutsen, Barregård et al. 2017). Riscul producerii fuzariozei spicului și acumulării de fusariotoxine este amplificat considerabil de precipitațiile din timpul formării bobului cerealelor păioase (De Wolf, Madden et al. 2003, Prandini, Sigolo et al. 2009).

Ochratoxinele se formează de asemenea în cerealele păioase (Elmholt and Hestbjerg 1999). Deși denumirea acestor micotoxine vine de la *Aspergillus ochraceus*, în climatul temperat specia majoră producătoare de ochratoxine este *Penicillium verrucosum* (Dhungana, Ali et al. 2019).

Riscul de contaminare a porumbului în timpul vegetației este asociat a două tipuri de fungi toxigeni. Aflatoxinele, considerate ca fi cele mai periculoase micotoxine, datorită efectului lor cancerigen foarte ridicat, sunt produse de ciuperci microscopice care determină infecții inaparente ale bobului în curs de formare. O metodă elegantă de a evidenția această capacitate a aspergiliilor aflatoxigene de a parazita boabele în

curs de formare este cea de evidențiere a endoinfecției boabelor de porumb cu ciuperci microscopice producătoare de aflatoxine. Metoda este simplă și presupune depunerea pe un mediu de cultură agarizat a boabelor de porumb sterilizate la suprafață și secționate aseptice. A fost elaborat un mediu selectiv pentru facilitarea identificării ciupercilor toxigene, pe care au fost puse în evidență că și în condițiile din România aspergiliile toxigene infectează inaparent boabele de porumb în curs de formare (Lupu, Oancea et al. 2001). Aflatoxinele sunt produse de 22 de specii care aparțin grupului *Aspergillus* section *Flavi*, 4 specii din grupul *A. section Nidulantes* și 2 specii din grupul *A. section Ochraceorosei*. Cele mai importante și mai cunoscute specii producătoare de aflatoxine din secțiunea *Flavi* sunt *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* și *A. nomius* (Pickova, Ostry et al. 2021). Seceta și stresul hidric favorizează infecția endofită a bobului de porumb în curs de formare și producerea de aflatoxine (Damianidis, Ortiz et al. 2018, Williams, Henry et al. 2021).

Fumonisinele, altă categorie de micotoxine care contaminează porumbul boabe și pentru care s-au stabilit deja limite maxime admisibile, sunt produse de un fung care este general recunoscut ca fiind fitopatogen, *F. verticillioides*, anterior denumit *F. moniliforme*, cu telemorfa *Gibberella fujikuroi* (Leslie, Plattner et al. 1992). *F. verticillioides* se dezvoltă endofit la porumb și, în cazul unei umidități ridicate, produce putregaiul știuletelui (Cao, Santiago et al. 2014). Acumularea ridicată de fumonisine este favorizată de expunerea la stres hidric (Roucou, Bergez et al. 2021).

Nu numai cerealele boabe sunt contaminate cu micotoxine în timpul vegetației. Studiile recente au demonstrat că și în cazul culturilor oleoproteaginoase (ale căror șroturi sunt utilizate ca sursă plastică / de proteine în formulele nutrețurilor combinate) are loc o contaminare cu micotoxine în timpul vegetației. Micotoxine produse de specii toxigene de *Alternaria* au fost detectate în boabele de floarea-soarelui (Hickert, Bergmann et al. 2016, Lopez, Venema et al. 2016). Fusariotoxine, ca de ex. DON și NIV, au fost puse în evidență și în boabe de soia înainte de recoltare (Barros, Zanon et al. 2012, Naeem, Li et al. 2019).

Diversitatea speciilor implicate în contaminarea cu micotoxine a cerealelor-boabe în timpul vegetației, la care se adaugă efectul inductor al stresului hidric / secetei sau al excesului de precipitații în fazele de formare a boabelor de cereale, fac ca limitarea contaminării cu micotoxine a cerealelor boabe în timpul vegetației să fie dificil de realizat. Schimbările climatice care amplifică variațiile de temperatură și tiparul precipitațiilor cresc riscul de contaminare cu micotoxine. Condițiile de stocare care nu

sunt optime favorizează dezvoltarea fungilor contaminanți, inclusiv prin extinderea lor spre suprafața semințelor contaminate, și producerea suplimentară de micotoxine (Neme and Mohammed 2017). Un alt aspect recent relevat, care complică evaluarea prin analize rapide, este existența formelor de toxină conjugate, formate atunci când sunt metabolizate de plantă, care sunt denumite și "micotoxine mascate" și al căror rol nu este încă cunoscut (Zhang, Nie et al. 2020).

La nivelul animalelor de fermă, în special al monogastricelor, micotoxinele determină efecte patologice multiple – imunotoxicitate, afecțiuni hepatice, inflamarea sistemului digestiv (Gao, Meng et al. 2020, Yang, Song et al. 2020). Pierderile sunt datorate atât efectelor negative asupra creșterii și dezvoltării și fertilității, cât și datorită costurilor pentru tratarea bolilor produse de micotoxine (Magnoli, Poloni et al. 2019, Yang, Song et al. 2020). Acumularea micotoxinelor (inclusiv a metaboliților lor, "micotoxine mascate") în produsele animale reprezintă o problemă de siguranță alimentară și de sănătate publică majoră (Milicevic, Skrinjar et al. 2010).

Procedeele de eliminare a produselor potențial contaminate prin sortare mecanică sunt printre cele mai des uzitate. Datorită faptului că nu se intervine (semnificativ) cu nici un fel de mijloc chimic, fizic sau biologic, caracteristicile de calitate ale produselor nu sunt afectate. De asemenea, procedeele pot fi automatizate, deci productivitatea este corespunzătoare celorlalte procedee utilizate pentru producerea nutrețurilor combinate și concentrate.

Brevetul US8841570 B2 descrie un sistem și o metodă nedistructivă pentru detectarea aflatoxinelor, care este bazată pe fluorescența roșu-portocalie. Un plan de sortare este iluminat cu o sursă de lumină UV de bandă largă. Se obține cel puțin o imagine a produselor nesortate pe planul de sortare menționat. Se evaluează componenta roșie a fluorescenței, de la 620 nm la 720 nm și se realizează o analiză a imaginii. Produsele contaminate, determinate pe baza histogramei componentei roșii, sunt separate cu ajutorul unui dispozitiv care le elimină selectiv. Dezavantajul procedeei este că nu elimină produsele care sunt contaminate cu micotoxine de către fungii care se dezvoltă exclusiv în interiorul boabelor de cereale sau semințe oleoproteaginoase.

Brevetul US4795651A prezintă un procedeu de separare a produselor agricole, și în special a cerealelor contaminate cu aflatoxine în fracții care sunt, respectiv, contaminate cu aflatoxine și în mod substanțial lipsite de aflatoxine, care cuprinde următoarele etape (a) contactarea materialului alimentar contaminat cu aflatoxine cu un

mediu de flotație având o densitate de 0,9 până la aproximativ 1,2 g/cm<sup>3</sup>, separând astfel produsul agricol în două fracții, aceea cu o greutate specifică mai mică decât mediul de flotație și cea cu o greutate specifică egală sau mai mare decât cea a mediului de flotație; (b) uscarea ambelor fracții ale materialului alimentar până la conținutul lor inițial de umiditate. Procedul descris elimină boabele / semințele contaminate de fungi toxigeni care se dezvoltă endofit și care au o diferență de densitate între produsele contaminate și cele necontaminate, dar nu le elimină pe cele care sunt contaminate la suprafață.

Brevetul RO111819 asociază eliminarea produselor contaminate în profunzime în timpul vegetației prin flotație în soluții moderat alcaline cu eliminarea produselor contaminate la suprafață prin sortare după fluorescența produșilor fungici de metabolism, amplificată prin expunere la mediu moderat alcalin.

Dezavantajul procedeelor de flotație în mediu lichid este determinat însă de consumurile energetice necesare eliminării umidității crescute în timpul procesului de flotație. În cazul proceselor de flotație în aer s-a demonstrat o eficacitate redusă în decontaminarea de aflatoxine produse de fungi aflatoxigeni endofitți (Aoun, Stafstrom et al. 2020).

O altă direcție de limitare a efectelor micotoxinelor este prin aplicarea unor adsorbenți care reduc biodisponibilitatea micotoxinelor. Brevetul US 5149549 A prezintă o metodă de creștere a valorii nutriționale a furajelor contaminate cu micotoxine prin adăugarea argilă de tip montmorillonit în furaj. Argila de tip montmorillonit este aplicată într-o cantitate suficientă pentru a absorbi sau adsorbi micotoxinele din tractul digestiv al animalelor. În afară de argile / aluminosilicați, un alt adsorbent specific pentru micotoxine sunt pereții de drojdie. Ambii glucani din peretele celular al drojdiilor, (1 → 3)-β-d-glucani, și (1 → 6)-β-d-glucani, leagă micotoxinele atât prin legături de hidrogen, cât și prin interacții van der Waals (Yiannikouris, André et al. 2006). Cererea de brevet JP2009234948A descrie o compoziție adsorbantă de micotoxine, care include un produs rezulta prin acțiunea unor enzime litice asupra peretelui celular de drojdie care conține 60-95% în greutate glucan solubil. Brevetul EP1079696 B1 se referă la o compoziție pentru legarea și, prin urmare, inactivarea micotoxinelor din furaje, alcătuită dintr-un extract de perete celular de drojdie de perete și un aluminosilicat. Brevetul US9968116 B protejează aplicarea unui beta zeolit adsorbent, cu eficiență ridicată de legare pentru aflatoxina B1, ochratoxina A, zearalenonă, acidul micofenolic, acidul ciclopiazonic, fumonisin B1, T-2 și patulină.

Cererea de brevet US10806164 B2 protejează un adsorbant de micotoxine pe baza unui derivat de betaină foarte specific pentru tricotecenele A și B, și în special pentru vomitoxină (sau deoxinivalenol) și toxina T-2, care este legat de suprafața unui aluminosilicat prin intermediul unui compus organic amfoteric cu o grupare carboxil. Fiind un compus donor de metil, betaina susține detoxifierea micotoxinelor la nivelul ficatului și a fost folosită pentru a preveni micotoxicozele la animalele de fermă (RU 2 391 975). Betaina a fost asociată și unei compoziții care include perete celular de drojdie și aluminosilicați (cererea de brevet WO2019076820 A1)

Betaina susține metabolizarea micotoxinelor în ficat, dar principala problemă pe care o generează micotoxinele este răspunsul inflamator de la nivelul intestinului (Gao, Meng et al. 2020). Adsorbenții folosiți ca aditiv furajer au însă tendința de a lega și o serie de vitamine și de aminoacizi esențiali, reducându-le semnificativ disponibilitatea în sistemul digestiv (Kihal, Rodriguez-Prado et al. 2020). Utilizarea adsorbentilor ar trebui să fie realizată în funcție de nivelul efectiv al contaminării cu micotoxine. Metodele uzuale de analiză pentru micotoxine necesită o procedură de prelevare laborioasă pentru a fi relevante, deoarece contaminarea cu micotoxine este punctiformă (Whitaker 2003, Miraglia, De Santis et al. 2005, Kibugu, Mdachi et al. 2021).

Această contaminare punctiformă determină un alt risc al produselor vrac, care, în cazul manipulărilor care implică fluidizare, pot determina separarea aditivilor adsorbenți de micotoxine, datorită densității lor diferite de cea a restului de ingrediente furajere.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a realiza o compoziție de furaj combinat cu risc redus de contaminare cu micotoxine, în care să fie utilizată o nouă combinație de adsorbenți de micotoxine, care să aibă o capacitate redusă de legare vitamine și ridicată de legare micotoxine.

Este un alt obiect al acestei invenții realizarea unui compoziții de furaj combinat cu risc redus de contaminare cu micotoxine, în care să se realizeze combinarea adsorbentilor de micotoxine cu o sursă de acizi grași polinesaturați de tip omega-3, știut fiind rolul anti-inflamator al acestora la nivelul enterocitelor din tubul digestiv al animalelor de fermă (Sundaram, Giromini et al. 2020).

Este un alt obiect al acestei invenții realizarea unui procedeu prin care să se combine optim procedeele de separare prin sortatoare optice cu procedeele de adăugare a adsorbentilor selectivi pentru micotoxine. Procedeu implică adaptarea unei

metode rapide, care să permită estimarea conținutului de micotoxine pentru a realiza o dozarea exactă a adsorbentilor pentru micotoxine.

Furajul combinat conform invenției este sub formă de peleți, fiind alcătuit din 59,7-68,9 kg făină de cereale sortate foto-mecanic, 23,5-34,2 kg de oleoproteaginoase vegetale, dintre care 6-9 kg de șroturi de camelina, care, împreună cu 3,8-4,4 kg ulei de camelina suplimentat cu vitamine liposolubile, să asigure un conținut de acid  $\alpha$ -linoleic 18:3n-3 de 0,6-0,72 kg și de la 1400 la 13200 UI retinol, de la 4750 la 5280 UI colecalciferol și de la 68,4 la 79,2 mg acetat de tocoferil, 1,29-1,475 kg de aminoacizi și colină, 0,75-1,7 kg de săruri minerale, 0,2 kg de premixuri vitaminice, și 0,060 – 0,125 kg de aditiv de legare micotoxine.

Procedeul conform invenției este alcătuit din următoarele etape:

- Preluarea din silozul de cereale a boabelor de cereale și foto-sortarea acestora pentru eliminarea boabelor care prezintă modificări ale suprafeței asociate cu infecția cu fungi toxigeni;
- Adăugarea peste 59,7-68,9 kg cereale boabe a 23,5-34,2 kg de oleoproteaginoase vegetale, dintre care 6-9 kg de șroturi de camelina, provenite dintr-o presă mecanică de ulei, restul fiind fân de lucernă tocat și șroturi de soia;
- Măcinarea amestecului de cereale și oleoproteaginoase și analiza făinii prin spectrometrie moleculară Raman la 585 nm și respectiv FT-NIR între 1100 și 2600 nm, pentru evaluarea conținutului de acid  $\alpha$ -linolenic 18:3n-3 și, respectiv, de aflatoxine formate de fungii infectanți endo-fiți;
- Adăugarea de aditiv legare micotoxine, în funcție de semnalul în spectrul Raman, la  $956\text{ cm}^{-1}$ , 0,060 kg pentru o intensitate de 8000 unități Raman și 0,125 kg, la o intensitate de 9300 unități Raman;
- Suplimentarea uleiului de camelina cu 3000 UI retinol, 1250 UI de colecalciferol și 24 mg acetat de tocoferil pe fiecare litru de ulei și adăugarea de ulei de camelină, proporțional cu conținutul de aflatoxine estimat prin spectroscopie Raman, între 3,8 și 4,4 kg, până la un semnal de 45,6 – 52,8% absorbție FT-NIR în intervalul spectral  $5540\text{-}5350\text{ cm}^{-1}$ , respectiv 30,4-35,2% absorbție, în intervalul spectral  $8650\text{-}8250\text{ cm}^{-1}$ , corespunzător unui nivel de 0,6 – 0,72% acid  $\alpha$ -linoleic 18:3n-3 în furajul concentrat.
- Adăugarea de 1,29-1,475 amestec de aminoacizi și colină 0,75-1,7 kg de săruri minerale, 0,2 kg de premixuri vitamino-minerale, până la 100 kg de furaj concentrat.



- Omogenizarea amestecului, urmată de comprimarea furajului concentrat într-o presă de peleți, răcirea și ambalarea peletilor.

Aditivul de legare micotoxine este alcătuit din 25-30 g de pereți celulari de drojdie, cu un conținut de cel puțin 40%  $\beta$ -glucani, și de 70-75% diatomită, care are cel puțin 86%  $\text{SiO}_2$ , dimensiuni ale frustulelor între 5-14  $\mu\text{m}$  și o suprafață specifică de minimum 30  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ .

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- Compoziția de furaj propusă prezintă un risc redus de contaminare cu micotoxine, datorită combinației tehnicii de separare prin fotosortare mecanică a boabelor a cerealelor infectate la suprafață cu fugi toxigeni, și care prezintă modificări de culoare, cu tehnica adăugării de adsorbenti pentru micotoxinele formate de fungii toxigeni care infectează interior boabelor de cereale.

- Compoziția propusă reduce inflamația la nivelul intestinului, datorită asigurării unui aport adecvat, direct proporțional cu nivelul de aflatoxine, al acidului  $\alpha$ -linoleic 18:3n-3, cunoscută pentru efectul său anti-inflamator, și datorită stimulării microorganismelor prebiotice intestinale, datorită aportului de fibre prebiotice, celuloză și xilani din făina de lucernă și manani din pereții celulari de drojdie;

- Asigură adaptarea concentrației de aditiv adsorbent de micotoxine la nivelul de aflatoxine din cereale, datorită determinării aflatoxinelor printr-o metodă non-invazivă;

- Menține un nivel al vitaminelor liposolubile care este proporțional cu cel al adsorbentului și care compensează eventuala legare a acestor vitamine de aditivul adsorbent;

- Înlătura riscul de separare a aditivilor cu densitate mică, cum este de exemplu diatomita, datorită compactării și peletizării.

În continuare se exemplifică realizarea invenției prin exemple care o ilustrează fără a o limita.

*Exemplul 1.* Se preiau circa 22 kg de boabe de porumb dintr-un siloz, care se urcă în rezervorul de alimentare a unui sortator de culoare (de ex. Fotosorter B2, Aky Technology, Turcia). Se separă boabele de porumb care au culoarea modificată datorită dezvoltării la suprafață a fungilor (potențial toxigeni). Se procedează la fel cu 40 kg de boabe de grâu. Se adăugă 20 kg de boabe de porumb, 39,7 kg de boabe de grâu într-un amestecător. Peste aceste 59,7 kg cereale se aduc 34,2 kg de oleoproteaginoase vegetale, dintre care 9 kg de șroturi de camelina, provenite dintr-o presă mecanică de ulei, 6,1 kg de fân de lucernă tocat și 19,1 kg șroturi de soia.

Amestecul de cereale și oleoproteaginoase se macină pe o moară cu ciocănele. Făina rezultată se analizează făinii prin spectrometrie moleculară Raman ( de ex. cu un echipament Raman 585 Stellarnet, Tampa, FL, USA) și respectiv FT-NIR ( de ex. cu SpectraStar XT, Unity Scientific, Milford, MA 01757 USA), între 1100 și 2600 nm pentru evaluarea conținutului de acid  $\alpha$ -linolenic 18:3n-3 și, respectiv, de aflatoxine formate de fungii infectanți endo-fiți. Conținutul de aflatoxine se determină prin măsurarea intensității la  $956\text{ cm}^{-1}$ . Conținutul de acid  $\alpha$ -linolenic 18:3n-3 se determină prin determinarea absorbției în intervalele spectral  $5540\text{-}5350\text{ cm}^{-1}$  și  $8650\text{-}8250\text{ cm}^{-1}$ .

În funcție de semnalul în spectrul Raman, la  $956\text{ cm}^{-1}$  se adaugă aditiv de legare micotoxine, 0,060 kg pentru o intensitate de 8000 unități Raman. Aditivul de legare micotoxine este alcătuit din 25 g de pereți celulari de drojdie, cu un conținut de cel puțin 40  $\beta$ -glucani, și de 75% diatomită, care are cel puțin 86%  $\text{SiO}_2$ , dimensiuni ale frustulelor între 5-14  $\mu\text{m}$  și o suprafață specifică de minimum  $30\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ .

Uleiul provenit de la presa de Camelina sativa se suplimentează cu ajutorul unei micropipete automate (0-200  $\mu\text{l}$ , Gilson, Middleton, WI, SUA), 3000 UI retinol, 1250 UI de colecalciferol și 24 mg acetat de tocoferil pe fiecare litru de ulei. Se adaugă de ulei de camelină, proporțional cu conținutul de aflatoxine estimat prin spectroscopie Raman, între 3,8, până la un semnal de 45,6 absorbție FT-NIR în intervalul spectral  $5540\text{-}5350\text{ cm}^{-1}$ , respectiv 30,4% absorbție în intervalul spectral  $8650\text{-}8250\text{ cm}^{-1}$ , corespunzător unui nivel de 0,6 % acid  $\alpha$ -linoleic 18:3n-3 în furajul concentrat.

Se adaugă 1,475 amestec de aminoacizi și colină (0,7 kg clorură de colină, 60%; 0,3 kg DL metionină, 0,3 kg lizină, 0,175 kg L-treonină), 1,7 kg de săruri minerale (0,65 kg de carbonat de calciu, 0,75 kg de fosfat monocalcic, 0,15 kg clorură de sodiu, 0,15 kg de bicarbonat de sodiu) și 0,2 kg de premixuri vitamino-minerale, până la 100 kg de furaj concentrat.

Premixurile vitamino-minerale conțin pe fiecare gram: 3 mg menadionă; 3 mg tiamină; 8 mg riboflavină; 55 mg niacină; 13 mg pantotenat de calciu; 5 mg piridoxină, 2 mg folat; 16  $\mu\text{g}$  ciancobalamină; 200  $\mu\text{g}$  biotină; 16 mg sulfat de cupru 40 mg sulfat de fier; 1,25 mg iodură de potasiu; 0,3 mg selenate de sodiu; 120 mg de sulfat de mangan; 100 mg sulfat de zinc, 2,5 mg ulei de parafină și restul până la 1 g făină integrală de cereale.

Premixul vitaminic și de oligo-minerale, amestecul de aminoacizi și colină și amestecul de săruri minerale se dozează cu ajutorul unui dozator cu șneac calibrat. Se

omogenizează amestecul și apoi se peletizează amestecul (de ex. cu o presă 33-50, Kahl, Reinbek, Germania). Peleții se răcesc și se ambalează.

Furajul rezultat este destinat cu precădere monogastricelor, în special pui de găină și porci.

*Exemplul 2.* Se procedează ca în Exemplu 1, cu următoarele diferențe. Se iau cca 50 de kg grâu și se fotosortează, din care se adaugă peste 20 kg boabe de porumb 48,9 kg de grâu. Peste aceste 68,9 kg cereale se aduc 23,5 kg de oleoproteaginoase vegetale, dintre care 6 kg de șroturi de camelina, provenite dintr-o presă mecanică de ulei, 6,5 kg de fân de lucernă tocat și 11 kg șroturi de soia. În funcție de semnalul în spectrul Raman, la  $956\text{ cm}^{-1}$  se adaugă aditiv de legare micotoxine, 0,125 kg pentru o intensitate de 9300 unități Raman. Se suplimentează cu 4,4 kg de ulei de camelină, până la un semnal de 52,8% absorbție FT-NIR în intervalul spectral  $5540\text{-}5350\text{ cm}^{-1}$ , respectiv de 35,2% absorbție, în intervalul spectral  $8650\text{-}8250\text{ cm}^{-1}$ , corespunzător unui nivel de 0,72% acid  $\alpha$ -linoleic 18:3n-3 în furajul concentrat. Se adaugă 1,29 amestec de aminoacizi și colină (0,6 kg clorură de colină, 60%; 0,27 kg DL metionină, 0,27 kg lizină, 0,15 kg L-treonină), 0,75 kg de săruri minerale (0,35 kg de carbonat de calciu, 0,1 kg de fosfat monocalcic, 0,15 kg clorură de sodiu, 0,15 kg de bicarbonat de sodiu) și 0,2 kg de premixuri vitamino-minerale, până la 100 kg de furaj concentrat.

Furajul rezultat este destinat cu precădere monogastricelor, în special găini ouătoare și porci grași.

## Revendicări

1. Furaj combinat cu risc redus de contaminare cu micotoxine conform invenției, **caracterizat prin aceea că** este sub formă de peleți și este alcătuit din 59,7-68,9 kg făină de cereale sortate foto-mecanic, 23,5-34,2 kg de oleoproteaginoase vegetale, dintre care 6-9 kg de șroturi de camelina și/sau in, care, împreună cu 3,8-4,4 kg ulei de camelina suplimentat cu vitamine liposolubile, să asigure un conținut de acid  $\alpha$ -linoleic 18:3n-3 de 0,6-0,72 kg și de la 1400 la 13200 UI retinol, de la 4750 la 5280 UI colecalciferol și de la 68,4 la 79,2 mg acetat de tocoferil, 1,29-1,475 kg de aminoacizi și colină, 0,75-1,7 kg de săruri minerale, 0,2 kg de premixuri vitaminice, și 0,060 – 0,125 kg de aditiv de legare micotoxine.

2. Procedeu de obținere a furajului combinat cu risc redus de contaminare cu micotoxine conform invenției **caracterizat prin aceea că** este alcătuit din următoarele etape: preluarea din silozul de cereale a boabelor de cereale și foto-sortarea acestora pentru eliminarea boabelor care prezintă modificări ale suprafeței asociate cu infecția cu fungi toxigeni; adăugarea peste 59,7-68,9 kg cereale boabe a 23,5-34,2 kg de oleoproteaginoase vegetale, dintre care 6-9 kg de șroturi de camelina, provenite dintr-o presă mecanică de ulei, restul fiind fân de lucernă tocat și șroturi de soia; măcinarea amestecului de cereale și oleoproteaginoase și analiza făinii prin spectrometrie moleculară Raman la 585 nm și respectiv FT-NIR între 1100 și 2600 nm, pentru evaluarea conținutului de acid  $\alpha$ -linolenic 18:3n-3 și, respectiv, de aflatoxine formate de fungii infectanți endo-fiți; adăugarea de aditiv legare micotoxine, în funcție de semnalul în spectrul Raman, la  $956\text{ cm}^{-1}$ , 0,060 kg pentru o intensitate de 8000 unități Raman și 0,125 kg, la o intensitate de 9300 unități Raman; suplimentarea uleiului de camelina cu 3000 UI retinol, 1250 UI de colecalciferol și 24 mg acetat de tocoferil pe fiecare litru de ulei și adăugarea de ulei de camelină, proporțional cu conținutul de aflatoxine estimat prin spectroscopie Raman, între 3,8 și 4,4 kg, până la un semnal de 45,6 – 52,8% absorbție FT-NIR în intervalul spectral  $5540\text{-}5350\text{ cm}^{-1}$ , respectiv 30,4-35,2% absorbție, în intervalul spectral  $8650\text{-}8250\text{ cm}^{-1}$ , corespunzător unui nivel de 0,6 – 0,72% acid  $\alpha$ -linoleic 18:3n-3 în furajul concentrat; adăugarea de 1,29-1,475 amestec de aminoacizi și colină 0,75-1,7 kg de săruri minerale, 0,2 kg de premixuri vitamino-minerale, până la 100 kg de furaj concentrat; omogenizarea amestecului, urmată de comprimarea furajului concentrat într-o presă de peleți, răcirea și ambalarea peletilor.

3. Procedeu de obținere a furajului combinat cu risc redus de contaminare cu micotoxine conform revendicării 2 **caracterizat prin aceea că** aditivul de legare micotoxine este alcătuit din 25-30 g de pereți celulari de drojdie, cu un conținut de cel puțin 40%  $\beta$ -glucani, și de 70-75% diatomită, care are cel puțin 86%  $\text{SiO}_2$ , dimensiuni ale frustulelor între 5-14  $\mu\text{m}$  și o suprafață specifică de minimum  $30\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ .