



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2020 00315

(22) Data de depozit: 04/06/2020

(41) Data publicării cererii:
28/01/2022 BOPI nr. 1/2022

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

(72) Inventatori:
• PANAITI TATIANA DUMITRA,
BD. IULIU MANIU NR. 71, BL. 4, SC. 2,
AP. 56, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• VARZARU IULIA, STR. POIENI NR. 1,
AP. 3, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;

• UNTEA ARABELA ELENA,
ȘOS. GIURGIULUI, NR.119, BL.11, SC.4,
AP.132, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
• OLTEANU MARGARETA,
ȘOS. PANTELIMON NR. 92, BL. 211, AP. 9,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
• TURCU RALUCA PAULA,
STR.FĂNTĂNEI, 31B, BALOTEȘTI, IF, RO;
• SĂRĂCILĂ MIHAELA,
STR.AUREL VLAICU NR.37, GIURGIU, GR,
RO;
• VLAICU PETRU ALEXANDRU,
STR.JOHANN SEBASTIAN BACH, NR.9,
AP.1, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO

(54) REȚETA FURAJERĂ PENTRU OBȚINEREA DE OUĂ
CU CALITĂȚI NUTRIȚIONALE ÎMBUNĂTĂȚITE DIN
PERSPECTIVA CONȚINUTULUI DE ANTIOXIDANȚI

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție de rețetă furajeră îmbogățită în antioxidanți naturali pentru creșterea găinilor outoare. Compoziția, conform invenției, este constituită în procente masice din 99% furaj convențional pe bază de porumb și șrot de soia și 1% pulbere de coajă de pepene verde, având un conținut de 18,52%

proteină brută, 2,92% grăsime brută, 3,77% celuloză, 52,26% substanțe extractive neazotate, 2,16% EAG/g polifenoli totali, 9,59 microg/g luteină și zeaxantină și 37,99 microg/g vitamina E.

Revendicări: 3

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



**RETETA FURAJERA PENTRU OBTINEREA DE OUA CU CALITATI
NUTRITIONALE IMBUNATATITE DIN PERSPECTIVA CONTINUTULUI DE
ANTIOXIDANTI**

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENTII SI MARCI	
Cerere de brevet de inventie	
Nr. a	02 00315
Data depozit	04-06-2020

DESCRIEREA INVENTIEI

Domeniul tehnic la care se referă invenția: Zootehnie

Inventia se refera la o noua reteta furajera pentru gaini ouatoare care, fata de o reteta conventionala contine coaja de pepene verde cu rol de antioxidant natural, si prin folosirea careia se poate creste calitatea oualor obtinute din perspectiva continutului de antioxidanti, si se pot reduce procesele de degradare oxidativa aparute in oua pe parcursul depozitarii.

In Uniunea Europeana, cantitatea de deseuri si subproduse agroindustriale generate este de aproximativ 16 milioane de tone (Correddu et al., 2020), producand poluare si pierderi economice. Reutilizarea subproduselor agroindustriale, care contin compusi cu valoare adaugata, cu functionalitate si/sau bioactivitate ridicata, este importanta nu doar pentru scaderea volumului de deseuri acumulate, ci si pentru dezvoltarea de strategii de reutilizare in scopul valorificarii si cresterii valorii economice (Campos et al., 2020). Se trece astfel de la conceptul de economie liniara la cel de economie circulara.

Avicultura reprezinta unul dintre cele mai profitabile sectoare al agriculturii, obtinand produse de origine animala pentru consumul uman intr-un timp foarte scurt. Cresterea pretului furajelor conventionale (ex. porumb, soia) a determinat o crestere a interesului pentru reutilizarea subproduselor agroindustriale, ca ingrediente furajere in hrana pasarilor. Acest fapt poate avea un impact pozitiv asupra mediului, si poate reduce costul furajului pentru pasari (Kasapidou et al. 2015). Subprodusele agroalimentare sunt in general produse secundare, derivate din procesele de obtinere a produselor agroalimentare primare, si reprezinta o sursa ieftina de potentiale ingrediente functionale, precum peptide, carotenoizi si compusi fenolici. Pentru a sigura sustenabilitatea productiei de pasari, subprodusele agroindustriale pot fi utilizate nu doar ca alternativa pentru furajele conventionale, ci si ca antioxidanti naturali pentru pasari.

In ultimii ani, s-a observat un interes crescut pentru utilizarea antioxidantilor naturali in industria pasarilor, datorita multiplelor controverse aparute in jurul antioxidantilor sintetici (BHA, BHT). In ciuda eficientei utilizarii lor, s-a demonstrat ca BHA si BHT au proprietati

mutagenice si carcinogenice (Baszczyk et al., 2013), fapt care a limitat semnificativ utilizarea lor. O alternativa la antioxidanii sintetici este reprezentata de antioxidanii naturali, care sunt siguri si mai ieftini, fiind capabili de a preveni reactiile oxidative din produse pe perioada depozitarii, fara sa provoace afectiuni metabolice la pasari (Pashtetsky et al., 2019).

Avand in vedere cele prezentate mai sus, se impune necesitatea implementarii unor noi retete furajere pentru gaini ouatoare, care sa includa antioxidanti naturali in vederea cresterii calitatii oualor prin imbunatatirea profilului antioxidant, si care sa minimizeze procesele de oxidare lipidica aparute in oua pe parcursul depozitarii. Mai multe studii au demonstrat importanta utilizarii subproduselor vegetale in retetele furajere, datorita valorii lor nutritionale ridicate. In acest fel, cercetarea din nutritia pasarilor ajuta industria cu o solutie nutritionala viabila, usor de monitorizat si economica, care să poată îmbunătăți calitatea nutritionala a oualor si reduce procesele oxidative aparute pe parcursul depozitarii acestora, si totodata sa protejeze mediul inconjurator.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia revendicata consta in folosirea unei noi retete furajere pentru gaini ouatoare, care poate sa poata creste continutul de antioxidanti din oua si reduce oxidarea lipidica, aparuta pe parcursul depozitarii. Fata de o reteta conventionala, noua reteta propusa pentru brevetare este imbogatita in antioxidanti prin includerea unui subprodus vegetal rezultat din industria agroalimentara – coaja de pepene verde (*Citrullus lanatus*).

Avantajele pe care le prezinta inventia revendicata se refera la o reteta furajera care este imbogatita in antioxidanti naturali, si care asigura o productie sustenabila prin utilizarea unui subprodus agroindustrial nu doar ca alternativa pentru un ingredient furajer conventional, ci si ca antioxidant natural pentru hrana pasarilor.

Inventia revendicata poate fi obtinuta la scara industriala fiind adresata atat producatorilor de furaje in vederea diversificarii productiei, cat si crescatorilor de pasari in vederea cresterii calitatii nutritionale a oualor din perspectiva continutului de antioxidanti, si reducerea degradarii lipidice pe perioada depozitarii.

Deteriorarea oxidativa, caracteristicile calitative, valoarea nutritionala a oualor, gradul de acceptare al consumatorului precum si efectele biologice nocive reprezinta aspecte deosebit de importante. Depozitarea oualor poate genera o varietate de modificari complexe in oua, precum scaderea calitatii (Akyurek si Okur 2009), oxidarea lipidica si proteica (Botsoglou et al., 2013; Ren et al., 2013), modificari in compozitia acizilor grasi, precum si in conformatia proteica (Qiu et al., 2012). Lipidele din galbenusul de ou sunt mai sensibile la oxidare, datorita concentratiilor ridicate de acizi grasi polinesaturati (PUFA) (Abreu et al.

2014). Controlul oxidării este necesar pentru prevenirea pierderilor proprietăților nutriționale și organoleptice, și de asemenea pentru prevenirea formării de compuși cu potențial toxic (Lin et al., 2017). Oxidarea lipidică poate fi evaluată prin măsurarea compusilor primari de oxidare, precum hidroperoxizii lipidici, care sunt formați în etapele inițiale ale oxidării lipidice, sau prin măsurarea compusilor secundari de oxidare, aceștia din urmă fiind produși ai descompunerii hidroperoxizilor lipidici (aldehide, cetone și alți compuși oxigenați).

O modalitate de prevenire a oxidării lipidice este reprezentată de utilizarea antioxidantilor naturali sau sintetici, care acționează fie prin blocarea radicalilor peroxil, fie prin reducerea formării radicalilor lipidici. Antioxidanții sintetici, precum BHT și BHA, sunt eficienți în controlul oxidării lipidice, însă acești compuși sunt considerați toxici pentru sănătatea oamenilor și animalelor (Chen et al., 1992; Iverson, 1995; Vandghanooni et al., 2013). Din acest motiv, fitoaditivii cu potențial antioxidant pot reprezenta o alternativă valoroasă pentru compușii sintetici. Principalele studii asupra fitoaditivilor vizează cuantificarea compusilor antioxidanți în vederea identificării potențialelor mecanisme antioxidante (Huang et al., 2005). Subprodusele de origine vegetală rezultate din industria agroalimentară conțin o serie de compuși bioactivi, în diferite fracții reziduale (Banerjee et al., 2017).

Pepenele verde (*Citrullus lanatus*) face parte din familia *Cucurbitaceae*, fiind o plantă cu dimensiuni medii și cu creștere extensivă în regiunile temperate, tropicale și subtropicale ale globului (Rezig et al., 2019). Pepenele verde este consumat ca atare sau sub formă procesată ca piureuri, gemuri, bauturi alcoolice și non-alcoolice (Veronezi and Jorge, 2018; Rezig et al., 2012; Wani et al., 2011). În procesarea fructelor sunt generate cantități mari de deseuri precum cojile și semintele (Mallek-Ayadi et al., 2018), acestea fiind între 31.27 și 40.61% din greutatea inițială a fructului, în funcție de soi. Tarazona-Díaz et al. (2011) au cercetat conținutul de antioxidanți din coaja de pepene și au arătat că aceasta are un conținut moderat de polifenoli, mai mare decât în pulpa fructului, și un conținut ridicat de citrulina, compus cu proprietăți bioactive. Citrulina este un aminoacid cu rol important în toleranța la secetă. Acesta protejează planta de stresul oxidativ indus de secetă, acționând împotriva radicalilor hidroxil.

Coaja pepenelui verde conține de asemenea β -caroten, luteina, potasiu, fier, sodiu, vitamine din complexul B și aminoacizi. Luteina este un pigment din plante care, datorită polarității și sistemului de duble legături conjugate, are proprietăți antioxidante și o puternică acțiune împotriva radicalilor liberi (Sindhu et al., 2010). Proprietățile antioxidante și antimicrobiene ale cojii de pepene au fost demonstrate de către Mahapatra et al. (2018).

Acestia au aratat ca pudra din coaja de pepene a crescut stabilitatea carnilor de porc pe parcursul depozitarii, imbunatatind totodata proprietatile fizico-chimice ale acestora.

Literatura este saraca in studii care sa investigheze efectul includerii de coaja de pepene verde in hrana animalelor, desi este cunoscut continutul acestora in diferiti compusi bioactivi. Compozitia chimica a semintelor de pepene verde, in special continutul ridicat de ulei si proteina a favorizat includerea lor utilizarea lor in hrana broilerilor pentru suplinirea partiala a cerintelor de energie si proteina ale acestora (Milala et al., 2018). L-citrulina din coaja pepenului verde este considerata agent hipotermic, aceasta putand imbunatati termotoleranta puilor la stresul termic. Nguyen et al. (2019) au studiat efectul suplimentarii furajelor puilor broiler cu 9 % coaja de pepene verde. Acestia au observat o crestere a nivelului plasmatic de L-citrulina la pui, sugerand ca utilizarea cojii de pepene verde poate reprezenta o modalitate de reducere a efectelor negative ale stresului termic.

In acest context s-a realizat un studiu experimental privind efectele folosirii unei noi retete furajere cu coaja de pepene verde (*Citrullus lanatus*) pentru furajarea gainilor ouatoare.

Reteta furajera care include un amestec de antioxidanti pentru gaini ouatoare propusa pentru brevetare, a fost elaborata tinand cont de urmatoarele:

- cerintele nutritionale conform NRC (1994) si recomandarilor producatorului hibridului TETRA SL pe care s-a organizat testarea *in vivo*.

- s-a realizat estimarea unor parametrii preliminari privind: consumul mediu zilnic; consumul specific, intensitatea la ouat, greutatea medie a oului.

Reteta furajera care include antioxidanti naturali pentru gaini ouatoare, este structurata pe furaje conventionale (porumb, srot soia), dar include in mod particular ca aditiv furajer pulbere obtinuta din coaja de pepene verde (*Citrullus lanatus*). Aceasta pulbere a fost caracterizata de un continut ridicat de proteine (9.42 %) si celuloza bruta (21.04 %). Continutul in aminoacizi esentiali limitanti pentru gaini ouatoare a fost de: 0.331 % lizina, 0.164 % metionina, 0.057 % cistina. Analiza macro si microelementelor a aratat ca pulberea de coaja de pepene verde a avut 0.64 % Ca, 0.27 % P, 7.28 mg/kg Cu, 29.66 mg/kg Fe, 7.35 mg/kg Mn si 19.2 mg/kg Zn. In ceea ce priveste continutul in substante bioactive, coaja de pepene verde prezinta concentratii semnificative de polifenoli (3.46 mg/ g GAE) si luteina si zeaxantina (102.39 µg/g), cu o capacitate antioxidanta de 351.72 mmoli echivalent acid ascorbic/kg, respectiv 271.27 mmoli echivalent Vit E/kg, si DPPH 33.73 mmoli echivalent trolox/kg.

In noua reteta furajera pulberea de pepene verde (*Citrullus lanatus*) a fost inclusa la nivel de 1g/100g furaj.

Folosirea noii rețete furajere, propusă pentru brevetare, într-un experiment desfășurat pe găini ouătoare

Experimentul s-a efectuat timp de 4 săptămâni pe 90 de găini ouătoare TETRA SL, cu vârsta de 32 de săptămâni. Găinile au fost cântărite individual și împartite în 2 loturi (30 găini/lot), omogene din punct de vedere al greutății corporale. Găinile au fost cazate în custi de digestibilitate (2 găini/cusca) structurate pe câte 3 nivele, într-o hală experimentală cu condiții de mediu controlate (temperatura medie/perioada experimentală 23.08 ± 0.98 °C, umiditate 66.35 ± 5.68 %, ventilație/găina 1.70 ± 0.14 %). Regimul de lumină a fost de 16 ore lumină/8 ore întuneric. Păsările au fost hranite *ad libitum*, cu acces liber la apă.

La demararea experimentului s-a întocmit un protocol experimental care a fost aprobat de către Comisia de etică din IBNA Balotesti înființată prin decizia nr. 52/30.07.2014, care funcționează pe lângă Consiliul de Administrație și Consiliul Științific al IBNA. Rezultatele obținute în urma analizei pulberii de coajă de pepene folosită în structura noii rețete furajere propuse pentru brevetare sunt prezentate în Tabelele 1 și 2.

Tabelul 1. Compoziția chimică primară și conținutul de minerale din coajă de pepene

Specificatie	Valoare
Substanța uscată (%)	88.02
Substanța organică (%)	76.48
Proteina brută (%)	9.42
Grasime (%)	1.01
Celuloză (%)	21.04
Cenușă (%)	11.55
<i>Minerale</i>	
Ca (%)	0.64
P (%)	0.27
Cu (mg/kg)	7.28
Fe (mg/kg)	29.66
Mn (mg/kg)	7.35
Zn (mg/kg)	19.2

Datele din tabelul 1 arată un conținut ridicat de proteine (9.42 %) și celuloză (21.04%) pentru pulberea de coajă de pepene verde (*Citrullus lanatus*), precum și o concentrație însemnată de fier (29.66 mg/kg) și zinc (19.2 mg/kg). Într-un studiu privind proprietățile fizico-chimice ale cojii de pepene, Al-Sayed și Ahmed (2013) au observat valori apropiate

pentru continutul de proteina (11.17 %), grasime (2.44 %) si cenusa (13.09 %). In mod similar, in urma analizei fainii de coaja de pepene verde, Hoque si Iqbal (2015) au obtinut valori de 11.21 % proteina, 2.38 % grasime si 12.61 % cenusa. Compozitia in minerale a cojii de pepene verde a fost studiata si de catre Gladvin et al. (2017), fiind raportate valori de 12.9 mg/kg fier, 14.2 mg/kg mangan, 135.24 mg/100 g fosfor, 29.15 mg/100 g calciu, 12.65 mg/100 g sodiu, 4.5 mg/kg cupru, 12.9 mg/kg zinc, 14.8 mg/kg magneziu si 13.7 mg/kg potasiu.

In vederea aprecierii calitatii proteice a cojii de pepene verde, a fost determinat continutul de aminoacizi din aceasta (Tabelul 2).

Tabelul 2. Profilul de aminoacizi si continutul de compusi cu activitate antioxidanta

Specificatie	Valoare
<i>Aminoacizi</i>	
ac. aspartic (%)	0.586
ac. glutamic (%)	1.687
serina (%)	0.363
glicina (%)	0.248
treonina (%)	0.253
arginina (%)	0.931
alanina (%)	0.479
tirozina (%)	0.318
valina (%)	0.580
fenilalanina (%)	0.424
izoleucina (%)	0.302
leucina (%)	0.370
lizina (%)	0.331
cistina (%)	0.057
metionina (%)	0.164
<i>Antioxidanti</i>	
Luteina si zeaxantina (µg/g)	102.391
Vitamina E (µg/g)	58.697
Polifenoli totali, mg GAE /g	3.46
DPPH, mmoli echiv trolox / kg	33.73
Cap. antiox. a compușilor hidrosolubili (mmoli echiv acid ascorbic / kg)	351.72
Cap. antiox. a compușilor liposolubili (mmoli echiv. vit E / kg)	271.27

Metionina si lizina sunt considerati primul si respectiv al doilea aminoacid limitant in furajele pe baza de porumb-soia pentru gainile ouatoare (Liu et al., 2005). Din analiza cromatografica a cojii de pepene, s-a observat un continut de 0.164 % metionina si 0.331 %

18

lizina. Intr-un studiu privind continutul de aminoacizi din semintele de pepene verde, Egbuonu (2015) a raportat un continut de 6.12 % arginina, 4.27 % izoleucina, 2.81 % aspartat, 2.47 % glicina, 2.09 % leucina, 1.71 % valina, 1.43 % alanina, 1.01 % lizina, 0.8 % histidina, 0.4 % triptofan si 0.39 % cistina.

In privinta compusilor cu proprietati bioactive, coaja de pepene verde contine un nivel important de compusi fenolici cu actiune antioxidanta (Al-Sayed si Ahmed, 2013). De asemenea, din analiza luteinei si zeaxantinei, xantofile cu proprietati antioxidante, s-a obtinut un continut ridicat din acestea, coaja de pepene verde putand fi considerata drept sursa importanta de xantofile.

Au fost formulate 2 retete furajere (Tabelul 3) in concordanta cu cerintele nutritionale (NRC, 1994) si cerintele nutritionale ale gainilor ouatoare TETRA SL. Gainile din lotul martor au primit un furaj conventional, bazat pe porumb si srot soia. Noua reteta furajera experimentata pentru lotul E a inclus 1 % pulbere de coaja de pepene verde (*Citrullus lanatus*). Apa si furajul au fost administrate *ad libitum*.

Tabelul 3. Structura nutreturilor combinate

Specificatie	Lot Control (C)	Lot experimental (E)
Porumb	30	29
Grau	31,46	31,46
Gluten	4	4
Srot soia	21,2	21,2
Ulei vegetal	1,46	1,46
Lizina	0,06	0,06
Metionina	0,13	0,13
Creta	8,78	8,78
Fosfat	1,46	1,46
Sare	0,4	0,4
Colina	0,05	0,05
Premix*	1	1
Coaja pepene verde	-	1
Total	100	100

*Continut per kg furaj: 13500 UI vitamina A, 3000 UI vitamina D3, 27 mg vitamina E, 2 mg vitamina K3, 2 mg vitamina B1, 4.8 mg vitamina B2, 14.85 mg acid pantotenic, 27 mg acid nicotinic, 3 mg vitamina B6, 0.04 mg vitamia B7, 1 mg vitamina B9, 0.018 mg vitamina B12, 25 mg vitamina C, 71.9 mg mangan, 60 mg fier, 6 mg cupru, 60 mg zinc, 0.5 mg cobalt, 1.14 mg iod, 0.18 mg seleniu.

A fost fabricata o singura sarja de furaj, pentru fiecare lot, din care s-au prelevat probe in vederea efectuării de determinari privind compozitia chimica primara, continutul de polifenoli, xantofile si vitamina E (Tabelul 4). Pentru evaluarea gradului de peroxidare lipidica a furajului, au fost prelevate probe de furaje in momentul initial, si dupa 14, respectiv 28 zile de la fabricatie. Aciditatea grasimii (exprimata ca mg KOH/g grasime) a fost determinata din grasimea extrasa cu cloroform-metanol, prin titrare cu 0.1 N KOH, utilizand fenolftaleina ca indicator. Indicele peroxid a fost determinat prin titrare iodometrica conform metodei descrisa in AOAC (2009). Reactia Kreiss a fost testata din grasimea extrasa, bazandu-se pe aparitia culorii rosii ca o consecinta a reactiei dintre floroglucinol si aldehida epihidrinica (compus prezent in grasimile rancezite). Absenta culorii rosiatice indica faptul ca nu exista procese de rancezire.

In stabilirea concentratiei in nutrienti (substanta uscata, proteina, grasime) s-au utilizat metodele standardizate conform Regulamentului (CE) nr. 152/2009 privind controlul calitatii furajelor. Conținutul total de polifenoli al nutreturilor combinate a fost măsurat spectrofotometric conform metodei Folin-Ciocalteu, așa cum este descrisa de Untea si colab., (2018). Principiul metodei este de a înregistra absorbanta unui extract care, prin complexare cu reactivul Folin-Ciocalteu, absoarbe în domeniul Vis la $\lambda = 732$ nm. Pentru determinarea concentratiei de polifenoli totali din furaje a fost utilizata curba de calibrare a acidului galic. Capacitatea antioxidanta totală a nutreturilor combinate a fost evaluată folosind metoda fosfomolibdenica descrisă de Prieto și colab., (2010), bazata pe reducerea Mo (VI) la Mo (V) de către analitii probelor și formarea suplimentară la pH acid a unui complex verde fosfat / Mo (V). Absorbanta complexului verde de fosfat / Mo (V) a fost măsurată la 695 nm față de blank (soluție fără adaos de extract).

Determinarea luteinei si zeaxantinei s-a realizat utilizand metoda descrisa de Varzaru et al. (2015), prin saponificare cu o solutie etanolică de hidroxid de potasiu, urmata de extractii repetate cu un amestec de eter de petrol si etanol, extractele combinate fiind ulterior concentrate si analizate la HPLC, cu detectie la 445 nm. Vitaminele A si E a fost determinate conform metodei din Regulamentul (CE) nr.152/2009, prin cromatografie de lichide de inalta performanta si detectie la 290 nm (vitamina E) si 325 nm (vitamina A).

Efectele tratamentelor au fost testate prin analiza varianței folosind procedura GLM a software-ului Minitab (versiunea 17, Software statistic Minitab®), cu tratamentul ca efect fix, conform modelului $Y_i = T_i + e_i$, unde Y_i este variabila dependentă, T_i este tratamentul și e_i este eroarea. Când rezultatele testului Fisher au fost semnificativ diferite, diferențele dintre medii au fost testate cu testul Tukey si considerate semnificative la $P < 0.05$.

Evaluarea calitatii nutreturilor combinate

Rezultatele determinarilor privind compozitia chimica a celor doua nutreturi au aratat ca acestea au fost echilibrate din punct de vedere energo- proteic (Tabelul 4). Determinarea de xantofile din nutreturile combinate a evidentiat un continut de luteina si zeaxantina cu 13.1 % mai mare la lotul E (cu adaos de coaja de pepene verde) fata de lotul M (reteta conventionala), in timp ce continutul total de polifenoli nu a inregistrat mari variatii.

Tabelul 4. Date privind compozitia chimica a nutreturilor combinate testate

Specificatie	M	E
Substanta uscata,%	90.29 ± 0.12	89.98 ± 0.54
Substanta organica, %	76.88 ± 1.42	77.47 ± 0.79
Proteina bruta, %	18.90 ± 1.50	18.52 ± 1.54
Grasime bruta, %	2.83 ± 0.05	2.92 ± 0.24
Celuloza bruta, %	4.06 ± 0.12	3.77 ± 0.15
Substante extractive neazotate, %	51.09 ± 0.09	52.26 ± 0.84
Cenusa, %	13.40 ± 1.30	12.52 ± 0.26
Polifenoli totali, mg/ g EAG	2.13 ± 0.10	2.16 ± 0.10
Luteina si zeaxantina (µg/g)	8.12 ± 0.32	9.59 ± 0.29
Vitamina E (µg/g)	38.73 ± 1.16	37.99 ± 1.51

Concentratiile de acizi grasi din furaje pot favoriza peroxidarea lipidica a nutreturilor.. Acest fapt are drept consecinta o scadere a performantelor productive ale animalelor. Evaluarea gradului de oxidare al grasimii din nutreturile combinate (Tabelul 5) a aratat ca atat indicele peroxid cat si aciditatea grasimii nu au avut variatii intre cele doua loturi studiate, valorile obtinute fiind sub limitele maxime admise de legislatia in vigoare pentru nutreturi combinate (STAS 12,266-84), pentru ambele perioade de depozitare (14 si 28 zile). Reactia Kreiss a fost negativa in toate probele de furaje recoltate pe perioada studiata.

Tabelul 5. Indicii de degradare ai grasimii din nutretul combinat

Specificatie	Timpul de depozitare (zile)	M	E	Limite maxime*
Indice peroxid (mL	initial	0.475	0.475	1,2

tiosulfat 0.01 N/g grasime)	14	0.585	0.59	
	28	0.85	0.83	
Aciditatea grasimii (mg KOH/g grasime)	initial	13.75	13.38	50
	14	16.52	16.54	
	28	18.93	19.02	
Reactia Kreiss	initial	0.475	0.475	negativ
	14	0.585	0.59	
	28	0.85	0.83	

*Conform legislatiei romanesti (Ordin nr. 249/358 al Ministerului Agriculturii, Alimentației și Pădurilor, publicat in 31 martie 2003).

Efectul cojii de pepene asupra performantelor productive

Performantele productive ale gainilor sunt prezentate in Tabelul 6. Includerea pulberii din coaja de pepene verde a determinat diferente semnificative ($P < 0.05$) intre loturi privind consumul mediu zilnic, consumul specific si greutatea media a oului, acestea inregistrand valori mai mici la lotul experimental, fata de lotul martor. Intensitatea la ouat nu a prezentat diferente semnificative intre cele doua loturi studiate.

Tabelul 6. Influenta cojii de pepene verde asupra performantelor productive

Specificatie	M	E	SEM	Valoarea P
Consum mediu zilnic (gNC/cap/zi)	108,29 ^a	105,30 ^b	0,654	0,0208
Consum specific (kg NC/kg ou)	1,83 ^a	1,82 ^b	0,014	0,5811
Intensitatea la ouat (%)	95,56	95,86	0,315	0,6494
Greutatea medie ou (g/ou), din care:	60,43 ^a	59,78 ^b	0,121	0,0057
S, (< 53 g)	1.22 %	2.48 %		
M, (53-63 g)	71.41 %	79.28 %		
L, (63-73 g)	27.37 %	18.11 %		
XL, (> 73 g)	-	0.12 %		

*In interiorul unui rand, rezultatele nemarcate identic, difera semnificativ ($P < 0.05$)

Performante productive semnificativ imbunatatite si totodata costuri de productie reduse, au fost constatate de catre Nobakht (2015) in urma includerii in furajele gainilor ouatoare a 2 % coaja de pepene verde. Acesta a obtinut o crestere a productiei de oua, a greutatii medii a oualor si o mai buna conversie a furajului, prin utilizarea acestui subprodus agroalimentar.

Efectul cojii de pepene asupra calitatii oualor obtinute

Concentratiile de acizi grasi din ouale recoltate la finalul experimentului, sunt prezentate in Tabelul 7. Au fost observate cresteri semnificative ($P < 0.05$) ale acidului linoleic (C18:2n6), γ linolenic (C18:3n6) si α -linolenic (C18:3n3) la lotul cu supliment de coaja de pepene verde, fata de lotul martor.

Tabelul 7. Profilul de acizi grasi din oua

Specificatie		M	E	SEM	Valoarea P
Miristic	C14:0	0,358	0,335	0.021	0.6024
Miristioleic	C14:1	0,075	0,083	0.006	0.5364
Pentadecanoic	C15:0	0,068	0,067	0.005	0.8790
Pentadecenoic	C15:1	0,092	0,100	0.010	0.7066
Palmitic	C16:0	25,977 ^a	25,280 ^b	0.145	0.0077
Palmitoleic	C16:1	3,713	3,602	0.097	0.5885
Heptadecanoic	C17:0	0,145 ^a	0,122 ^b	0.005	0.0178
Heptadecenoic	C17:1	0,103	0,095	0.010	0.7086
Stearic	C18:0	10,658	10,527	0.220	0.7804
Oleic	C18:1	33,762	34,383	0.295	0.3138
Linoleic	C18:2n6	16,392 ^a	17,073 ^b	0.169	0.0364
Linolenic γ	C18:3n6	0,130 ^a	0,110 ^b	0.005	0.0188
Linolenic α	C18:3n3	0,544 ^a	0,643 ^b	0.020	0.0061
Eicosadienoic	C20 (2n6)	0,157	0,170	0.09	0.4671
Eicosatrienoic	C20 (3n6)	0,263	0,228	0.011	0.1213
Erucic	C22 (1n9)	0,115	0,102	0.006	0.2984
Eicosatrienoic	C20 (3n3)	0,315 ^a	0,220 ^b	0.020	0.0096
Arachidonic	C20 (4n6)	3,878	3,953	0.148	0.8129
Nervonic	C24 (1n9)	0,247	0,235	0.008	0.4936
Docosatetraenoic	C22 (4n6)	0,918	0,834	0.032	0.2024
Docosapentaenoic	C22 (5n3)	0,137	0,162	0.007	0.0602
Docosahexaenoic	C22 (6n3)	1,675	1,602	0.056	0.5357
Alti acizi grasi		0,278 ^a	0,074 ^b	0.032	0.0124
<i>Clasele de acizi grasi</i>					
SFA		37,161	36,328	0.242	0.0843
UFA		62,251	63,428	0.342	0.0840
MUFA		38,103	38,599	0.373	0.5320
PUFA, din care:		24,147	24,829	0.249	0.1834
Ω 3		2,578	2,599	0.074	0.8951
Ω 6		21,569	22,23	0.205	0.1095
Ω 6/ Ω 3		8,477	8,585	0.238	0.8329

S-a realizat o evaluare a profilului de antioxidanti din ouale recoltate la finalul experimentului (Tabelul 8). Au fost observate cresteri semnificative ($P < 0.05$) in continutul de compusi bioactivi in ouale recoltate de la lotul cu supliment de coaja de pepene verde. Astfel, luteina si zeaxantina au inregistrat o crestere cu 14.1 % ($P < 0.05$) la lotul experimental, in timp ce pentru polifenolii totali a fost obtinuta o concentratie cu 8.1 % ($P < 0.05$) mai mare la lotul experimental fata de martor. In consecinta, capacitatea antioxidanta, exprimata ca mM echivalent vitamina E, a fost semnificativ mai mare ($P < 0.05$) la lotul cu coaja de pepene verde, fata de lotul martor. Pentru vitaminele liposolubile A si E nu au fost observate diferente semnificative intre loturi, desi pentru vitamina E s-a constatat o tendinta de crestere ($P < 0.1$) a concentratiei ei in galbenusul oualor provenite de la lotul experimental.

Tabelul 8. Efectul cojii de pepene verde asupra continutului de antioxidanti din oua

Specificatie	M	E	SEM	Valoarea P
Polifenoli totali, mg/ g EAG	0.86 ^a	0.93 ^b	0.011	0.0027
Luteina si zeaxantina ($\mu\text{g/g}$)	9.54 ^a	10.89 ^b	0.321	<0.0001
Vitamina E ($\mu\text{g/g}$)	93.28	94.45	2.563	0.8366
Vitamina A ($\mu\text{g/g}$)	10.03	9.70	0.249	0.4959
Capacitate antioxidanta, mM echivalent acid ascorbic	5.63	6.86	0.346	0.1215
Capacitate antioxidanta, mM echivalent vitamina E	3.95 ^a	6.21 ^b	0.341	0.0487

*In interiorul unui rand, rezultatele nemarcate identic, difera semnificativ ($P < 0.05$)

Efectul cojii de pepene asupra stabilitatii oxidative a oualor pe perioada depozitarii

Oxidarea lipidica a fost evaluata prin masurarea compusilor primari de oxidare: indicele peroxid, diene conjugate, triene conjugate, care sunt formati in etapele initiale ale oxidarii lipidice, si prin masurarea produsilor secundari de oxidare: para-anisidina si TBARS. Efectul cojii de pepene si al timpului de depozitare asupra formarii produsilor primari si secundari de oxidare este prezentat in Tabelul 9.

Tabelul 9. Indici de degradare lipidica a galbenusului de ou

Specificatie	M	E	SEM	p-value
<i>Produsi primari de peroxidare lipidica</i>				
Indice peroxid (milieq O ₂ /kg)	0.16 ± 0.04	0.14 ± 0.01	0.010	0.3536
Diene conjugate (μmol/g)	0.67 ± 0.17 ^a	0.32 ± 0.06 ^b	0.079	0.0090
Triene conjugate (μmol/g)	0.21 ± 0.05 ^a	0.11 ± 0.06 ^b	0.026	0.0369
<i>Produsi secundari de peroxidare lipidica</i>				
p anisidina	6.42 ± 1.65	4.54 ± 0.26	0.525	0.0654
TBARS (mg/kg)	0.15 ± 0.01	0.13 ± 0.03	0.007	0.2688

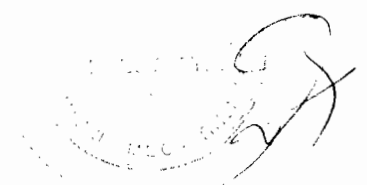
^aIn interiorul unui rand, rezultatele nemarcate identic, difera semnificativ (P<0.05)

Includerea cojii de pepene verde in hrana gainilor ouatoare a determinat o scadere a compusilor primari de peroxidare lipidica din oua, dupa 28 zile de depozitare (Tabelul 9). La lotul experimental s-a constatat o reducere semnificativa (P<0.05) a concentratiilor de diene conjugate, care au fost cu 52.2 % mai mici fata de lotul martor, in timp de trienele conjugate au inregistrat o scadere cu 47.6 % (P<0.05) fata de lotul martor. Concentratiile produsilor secundari de oxidare au inregistrat de asemenea scaderi in ouale provenite de la lotul experimental, dupa 28 zile de depozitare. Acest fapt indica o intarziere a proceselor de degradare din oua, datorata posibilelor efecte inhibitoare ale suplimentului de coaja de pepene verde administrat gainilor ouatoare.

Bibliografie

1. Abreu V.K.G., Pereira A.L.F., Freitas E.R., Trevisan M.T.S., Costa J.M.C. (2014): Effect of anacardic acid on oxidative and color stability of spray dried egg yolk. *LWT-Food Science and Technology*, 55: 466–471.
2. Akyurek H., Okur A.A. (2009): Effect of storage time, temperature and hen age on egg quality in free-range layer hens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10: 1953–1958.
3. Al-Sayed, H.M. and Ahmed, A.R., 2013. Utilization of watermelon rinds and sharilyn melon peels as a natural source of dietary fiber and antioxidants in cake. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(1), pp.83-95.
4. Banerjee, J., Singh, R., Vijayaraghavan, R., MacFarlane, D., Patti, A.F. and Arora, A., 2017. Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. *Food chemistry*, 225, pp.10-22.
5. Baszczyk, A., Augustyniak, A., Skolimowski, J., 2013. Ethoxyquin: an antioxidant used in animal feed. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 585931. <https://doi.org/10.1155/2013/585931>
6. Botsoglou E., Govaris A., Ambrosiadis I., Fletouris D. (2013): Olive leaves (*Olea europaea* L.) versus α -tocopheryl acetate as dietary supplements for enhancing the oxidative stability of eggs enriched with very-long-chain n-3 fatty acids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 2053–2060.
7. C. Chen, A. M. Pearson, and J. I. Gray, “Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ like compounds,” *Food Chemistry*, vol. 43, no. 3, pp. 177–183, 1992.
8. Campos, D. A., Gómez-García, R., Vilas-Boas, A. A., Madureira, A. R., Pintado, M. M., 2020. Management of Fruit Industrial By-Products—A Case Study on Circular Economy Approach. *Molecules*, 25(2), 320, <https://doi.org/10.3390/molecules25020320>
9. Correddu, F., Lunesu, M.F., Buffa, G., Atzori, A.S., Nudda, A., Battacone, G., Pulina, G., 2020. Can Agro-Industrial By-Products Rich in Polyphenols be Advantageously Used in the Feeding and Nutrition of Dairy Small Ruminants?. *Animals*, 10(1), 131. <https://doi.org/10.3390/ani10010131>
10. D. Huang, B. Ou, and R. L. Prior, “The chemistry behind antioxidant capacity assays,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 6, pp. 1841–1856, 2005.

11. Egbonu, A.C.C., 2015. Comparative assessment of some mineral, amino acid and vitamin compositions of watermelon (*Citrullus lanatus*) rind and seed. *Asian Journal of Biochemistry*, 10(5), pp.230-236.
12. F. Iverson, "Phenolic antioxidants: health protection branch studies on butylated hydroxyanisole," *Cancer Letters*, vol. 93, no. 1, pp. 49–54, 1995.
13. Gladvin, G., Sudhaakr, G., Swathi, V. and Santhisr, K.V., 2017. Mineral and vitamin compositions contents in watermelon peel (Rind). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences Special*, 5, pp.129-133.
14. Hoque, Md Masudul, and Abdullah Iqbal. "Drying of watermelon rind and development of cakes from rind powder." *International journal of novel research in life sciences* 2, no. 1 (2015): 14-21.
15. Kasapidou E., Sossidou E. and Mitlianga P. (2015). Fruit and vegetable co-products as functional feed ingredients in farm animal nutrition for improved product quality. *Agriculture*. 5, 1020-1034.
16. Lin, W.C., Lee, M.T., Chang, S.C., Chang, Y.L., Shih, C.H., Yu, B. and Lee, T.T., 2017. Effects of mulberry leaves on production performance and the potential modulation of antioxidative status in laying hens. *Poultry science*, 96(5), 1191-1203.
17. Liu, Z., G. Wu, M.M. Bryant and D.A. Roland Sr., 2005. Influence of added synthetic lysine in low-protein diets with the methionine plus cysteine to lysine ratio maintained at 0.75. *J. Applied Poult. Res.*, 14: 174-182.
18. Mahapatra, G., Biswas, S., Patra, G., Vidyarthi, A.K. and Banerjee, R., 2018. Effect of Watermelon Rind Powder on Quality Attributes and Storage Stability of Raw Pork and Pork Meat balls. *Journal of Meat Science*, 13(2), pp.10-17.
19. Mallek-Ayadi, S., Bahloul, N., Kechaou, N., 2018. Chemical composition and bioactive compounds of *Cucumismelo* L. seeds: Potential source for new trends of plant oils. *Process Saf. Environ.* 113, 68-77
20. Milala, M.A., Luther, A. and Burah, B., 2018. Nutritional Comparison of Processed and Unprocessed *Citrillus lanatus* (Watermelon) Seeds for Possible Use in Feed Formulation. *American Journal of Food and Nutrition*, 6(2), pp.33-36.
21. Nguyen, L.T., Han, G., Yang, H., Ikeda, H., Eltahan, H.M., Chowdhury, V.S. and Furuse, M., 2019. Dried Watermelon Rind Mash Diet Increases Plasma L-Citrulline Level in Chicks. *The Journal of Poultry Science*, 56(1), pp.65-70.

A handwritten signature in black ink is written over a circular official stamp. The stamp contains some text, but it is mostly illegible due to the signature and the quality of the scan.

22. Pashtetsky, V., Ostapchuk, P., Il'yazov, R., Zubochenko, D. and Kuevda, T., 2019. Use of antioxidants in poultry farming. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 341(1) 012042. doi:10.1088/1755-1315/341/1/012042
23. Qiu N., Ma M., Zhao L., Liu W., Li Y., Mine Y. (2012): Comparative proteomic analysis of egg white proteins under various storage temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 7746–7753
24. Regulamentul (CE) nr. 152/2009 al Comisiei din 27 ianuarie 2009 de stabilire a metodelor de eșantionare și analiză pentru controlul oficial al furajelor, *Jurnalul Oficial al Uniunii Europene* 26.02.2009 RO L45/1.
25. Ren Y., Perez T.I., Zuidhof M.J., Renema R.A., Wu J. (2013): Oxidative stability of omega-3 polyunsaturated fatty acids enriched eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 11595–11602.
26. Rezig, L., Chouaibi, M., Meddeb, W., Msaada, K. and Hamdi, S., 2019. Chemical composition and bioactive compounds of Cucurbitaceae seeds: Potential sources for new trends of plant oils. *Process Safety and Environmental Protection*, 127, pp.73-81.
27. Rezig, L., Chouaibi, M., Msaada, K., Hamdi, S., 2012. Chemical composition and profile characterization of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. *Ind. Crops Prod.* 37, 82-87.
28. S. Vandghanooni, A. Forouharmehr, M. Eskandani et al., "Cytotoxicity and DNA fragmentation properties of butylated hydroxyanisole," *DNA and Cell Biology*, vol. 32, no. 3, pp. 98– 103, 2013.
29. Tarazona-Díaz, M.P., Viegas, J., Moldao-Martins, M. and Aguayo, E., 2011. Bioactive compounds from flesh and by-product of fresh-cut watermelon cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5), pp.805-812.
30. Varzaru, I.; Untea, A.E.; Van, I. Distribution of nutrients with benefic potential for the eyes in several medicinal plants. *Rom. Biotechnol. Lett.* 2015, 20, 10773–10783.
31. Veronezi, C.M., Jorge, N., 2018. Effect of *Carica papaya* and *Cucumis melo* seed oils on the soybean oil stability. *Food Sci. Biotechnol.*, 27(4), 1031-1040
32. Wani, A. A., Sogi, D. S., Singh, P., Wani, I. A., Shivhare, U. S., 2011. Characterization and functional properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) seed proteins. *J. Sci. Food Agric.* 91, 113-121.
33. Nobakht A. The Possibility of Using Watermelon Waste in Laying Hens Diets. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 2015 Jun 1;5(2).

REVENDICARI:

1. *Reteta furajera pentru obtinerea de oua cu calitati nutritionale imbunatatite din perspectiva continutului de antioxidanti, care are in structura sa, din 100 de procente 1 % pulbere de coaja de pepene verde (Citrullus lanatus).*
2. *Reteta furajera pentru obtinerea de oua cu calitati nutritionale imbunatatite din perspectiva continutului de antioxidanti caracterizata prin 18.52 % proteina bruta, 2.92 % grasime bruta, 3.77 % celuloza, 12.52 % cenusa, 52.26 % substante extractive neazotate, 2.16 mg EAG/g polifenoli totali, 9.59 µg/g luteina si zeaxantina, 37.99 µg/g vitamina E.*
3. *Reteta furajera pentru obtinerea de oua cu calitati nutritionale imbunatatite din perspectiva continutului de antioxidanti, care creste calitatea oualor din perspectiva continutului de antioxidanti, si totodata creste stabilitatea oxidativa a oualor pe perioada depozitarii prin inhibarea sau reducerea proceselor de peroxidare lipidica din oua.*