



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2014 00923**

(22) Data de depozit: **27/11/2014**

(41) Data publicării cererii:
30/05/2016 BOPI nr. 5/2016

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

(72) Inventatori:
• **CRISTE RODICA DIANA,
STR. VALEA IALOMIȚEI NR. 2A, BL. 417,
SC. D, AP. 151, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **PANAITE TATIANA DUMITRA,
BD. IULIU MANIU NR. 71, BL. 4, SC. 2,
AP. 56, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **OLTEANU MARGARETA,
STR. PANTELIMON NR. 92, BL. 211, AP. 9,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **CORNESCU GABRIELA MARIA,
STR. DOAMNA GHICA NR. 3, BL. 2, SC. 2,
AP. 72, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ROPOTA MARIANA, ȘOS. PANTELIMON
NR. 99, BL. 402A, SC. 1, ET. 2, AP. 33,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **VÂRZARU IULIA, STR. POIENI NR. 1,
AP. 3, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **PRICOP FLORIN, BD. CAMIL RESSU
NR. 66, BL. 1, SC. 1, ET. 4, AP. 17,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ZARUG TEREZ, BD. PETRILA NR. 3,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **CRISTE IONEL VIRGIL,
STR. VALEA IALOMIȚEI NR. 2A, BL. 417,
SC. D, AP. 151, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;**
• **BANCIU ALINA ROXANA,
STR. ARDEALULUI, BL. 5A, AP. 23,
FETEȘTI, IL, RO**

(54) **REȚETĂ FURAJERĂ PENTRU OBTINEREA DE OUĂ DE
GĂINĂ CU CONȚINUT REDUS DE COLESTEROL**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o rețetă furajeră pentru găini, pentru obținerea de ouă cu conținut redus de colesterol. Rețeta furajeră, conform invenției, se caracterizează prin 88,50% substanță uscată, 16,16% proteină brută, 7,022% grăsime brută, 0,901% lizină,

0,472% metionină, 0,463% cistină, 100 mg/kg vitamina E, 2547 Kcal/kg energie metabolizabilă, 3,98 valoarea raportului acizi grași polinesaturați ω 6/omega 3.

Revendicări: 2



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevete de invenție
Nr. a 2014 00923
Data depozit 27-11-2014

63

RETETA FURAJERA PENTRU OBTINEREA DE OUA DE GAINA CU CONTINUT REDUS DE COLESTEROL

DESCRIEREA INVENTIEI

Domeniul tehnic la care se referă invenția: Zootehnie

Inventia se refera la o noua reteta furajera pentru gaini ouatoare care determina obtinerea oului cu colesterolul scazut fata de concentratia sa in ouale conventionale.

Este cunoscut ca printre alimentele care furnizeaza nutrienti esentiali organismului, oul detine indiscutabil, un loc special pentru ca are o valoare nutritionala ridicata. Oul este considerat "alimentul perfect al naturii", mai ales datorita concentratiei mari de proteina cu valoare biologica deosebita (prin profilul aminoacizilor esentiali) si a digestibilitatii ridicate a nutrientilor. Oul este de asemenea o sursa bogata si de de acizi grasi, vitamine si minerale.

Dezavantajul este acela ca desi ouale de gaina sunt extrem de valoroase ca aliment, medicii recomanda limitarea consumului de oua pe care le considera ca fiind o sursa majora de colesterol alimentar si din aceasta cauza reprezinta un factor de risc pentru aparitia bolilor coronariene. In acest context, scaderea nivelului colesterolului din oul de gaina, si in general imbunatatirea calitatii nutritionale a oului, a devenit o prioritate in cercetarea avicola.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia revendicata consta in flosirea unor noi retete de furajare naturala a pasarilor si obtinerea pe cale nutritionala naturala, de oua cu continut redus de colesterol, care pot sa ajute la prevenirea aparitiei bolilor cardiovasculare in randul populatiei. Fata de o reteta conventionala, noua reteta, propusa pentru brevetare este imbogatita in materii prime vegetale bogate in acizi grasi polinesaturati si cu proprietati antioxidante, proprietati potentate in reteta si de prezenta vitaminei E.

Avantajele pe care le prezinta inventia revendicata se refera la o reteta furajera prietenoasa fata de mediu, eficace in obtinerea, pe cale nutritionala, a oului cu colesterol scazut, aliment functional cu implicatii semnificative in cresterea calitatii, si sigurantei alimentare.

Inventia revendicata poate fi obtinuta la scara industrială fiind adresata producatorilor de furaje in vederea diversificarii productiei in conditiile asigurarii sigurantei sanatatii pasarilor, a calitatii si sigurantei alimentelor si a protectiei mediului

Prezentam in continuare cateva particularitati legate de oul de gaina.

Compoziția oului este deosebit de complexă, conținând o serie de compuși esențiali pentru hrana umana. Substanțele energetice din acest aliment îi conferă o valoare energetică, aproximativ 75 kcal pentru un ou. Gălbenușul de ou *este* componenta centrală din ou, care reprezintă ovulul cu vitelusul nutritiv. Gălbenușul reprezintă o emulsie lipidico-proteică în apă, care reprezintă cca. 30 % din masa totală a oului. Compoziția procentuală a principalelor grupe de nutrienți din galbenusul de ou :

- Valoare energetică, 322Kcal/100g (62Kcal/Ou
- Apă, 52,9%
- Proteine (aminoacizi liberi sau în componența protidelor ,mai ales tioaminoacizi) (metionină, cistină, cisteină), 16,7 %
- Lipide (acizi grași, lecitine, cefaline, glicerină, colesterol - 5g/100g), 26,7%
- Glucide (glicogen, glucoză, resturi în constituția glucolipidoproteinelor), 2,6%
- Vitamine (biotină - 300μg/100g, acid pantotenic - 3 mg./100g, colină, complexul B - mai ales B₂, liposolubilele A, D, E), 0,5 %
- Minerale (macro si microelemente), 0,05% .
- Pigmenți, 01%

Concentrația de colesterol este raportată în diferite moduri: mg/ g galbenus; mg/ g greutatea galbenus; mg/ g greutate ou; mg/100g ou, etc. În tabelele American Egg Board din 2006 sunt trecute următoarele valori: 100 g de ou conțin 400 mg colesterol iar 100 g de galbenus proaspăt conțin 991 mg. de colesterol.

Alimentele de astăzi nu sunt destinate doar satisfacerii foamei și oferirii de nutrienți necesari întreținerii funcțiilor vitale, ci și pentru prevenirea bolilor relateate nutrițional, îmbunătățirea statusului fizic și mental al consumatorilor (Menrad, 2003; Roberfroid, 200b). În ultimele decenii, cererile consumatorului către zona producătorilor de alimente s-au schimbat considerabil. Consumatorii cred tot mai mult că alimentele contribuie direct la sănătatea lor (Mollet și Rowland, 2002; Young, 2000). Din acest punct de vedere, alimentele funcționale joacă un rol remarcabil. Oul cu colesterol scăzut este un astfel de aliment deoarece singura „umbră” pentru acest aliment atât de valoros din punct de vedere nutrițional este nivelul de colesterol. Cererea în creștere pentru alimente funcționale poate fi explicată prin costurile în creștere pentru îngrijirea sănătății și dorința oamenilor în vârstă de a și îmbunătăți calitatea vieții ultimilor ani de viață (Kotilainen, Rajalahti, Ragasa și Pehu, 2006; Roberfroid, 2000a, 2000b). Consumatorul european, în particular, este deosebit de atent cu alimentația și

este constient de legatura existenta intre alimentatie si sanatate, ceea ce se traduce printr-o grija mai mare cu privire la ingredientele specifice, nutrientii si compozitia alimentelor. Produsele alimentare pot fi considerate alimente functionale daca, impreuna cu impactul nutritional de baza, au si efecte benefice asupra uneia sau mai multor functii ale organismului. Ele trebuie sa imbunatateasca starea generala si fizica si/sau sa scada riscul de evolutie a unei boli. Oul cu colesterol scazut este un astfel de aliment.

Principalele modalități abordate în cercetarile legate de scaderea colesterolului în ou sunt de natura genetica si nutritionala. Cercetarile privind rezolvarea pe cale nutritionala au decurs, incepand cu anii 1990, pe mai multe directii.

Wester si colab. au obtinut brevetul „Edible compositions for lowering cholesterol” (2004, USA, nr. 0131657 A1,) pentru reducerea nivelelor de colesterol seric total si/sau nivelului de LDL, prin utilizarea de combinatii de fibre si steroli din plante. Aceste combinatii contin una sau mai multe fibre (β -glucan) si unul sau mai multi steroli din plante si/sau stanoli.

Panda si colab. (2003), Kurtoglu si colab. (2004) au obtinut rezultate folosind probiotice in hrana gainilor ouatoare. Pan si colab.(2007) detin brevetul „Method for producing eggs with low cholesterol level” (2007, Taipei, nr. 7157107 B2) pentru utilizarea in furajarea gainilor de drojdie rosie din orez fermentat, care contine Monacolin K, cu efect de scadere a colesterolului si a trigliceridelor serice. Stock si colab. au brevetul „Poultry egg with beneficial health and nutritive values” (2001, USA, nr. 6316041,) pentru un furaj hipocolestemiant, agentul de scadere a colesterolului fiind reprezentat de un amestec de drojdie rosie *Monascus* din orez, citrat de cupru, fitosteroli, srot de canola si ulei de canola.

Folosirea surselor furajere cu continut scazut de fitati, a fost brevetata de Stilborn si colab. in brevetul „Method of reducing cholesterol in eggs” (2002, USA, nr. 6391348) pentru scaderea colesterolului din oua si din produsele de origine animala rezultate.

Includerea de surse enzimatice in furaje_a fost brevetata de Saitoh si colab. in brevetul „Process for producing a cholesterol-reduced sustance” (2001, Japonia, nr. 6312919) pentru obtinerea de oua cu continut scazut de colesterol prin utilizarea de colesterol dehidrogenaza, 4-colesten-3-dehidrogenaza, coprostan-3-dehidrogenaza sau prin tratarea furajului cu aceste enzime.

Acidul linoleic conjugat (CLA), ca aditiv furajer, este considerat ca un puternic agent hipocolestemic, ultimele lucrari in acest sens fiind din anul 2008 (Yin si colab., Poult. Sci., 2008; Franczyk-Zarow si colab., Br J. Nutr., 2008).

Suplimentarea cu vitamine, a fost studiata de Mohiti-Asli si Zaghari (2010). Acestia au investigat efectul vitaminei E si C si au constatat ca, colesterolul din galbenus a scazut liniar datorita suplimentarii cu vitamine antioxidante ($P < 0.01$).

Exista doua brevete pentru utilizarea statinelor in scopul obtinerii de oua de gaina cu continut redus de colesterol, apartinand lui Jeong Hak Kim - „Cholesterol lowering supplement and low cholesterol egg produced by using the same” (2011, Coreea de Sud, nr. 20110217412,) si lui Elkin si colab. - „Composition and method for producing low cholesterol eggs” (2001, US, nr. 0006697).

Extractele de plante au fost utilizate datorita efectului de diminuare a 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductazei hepatice (HMG-CoA), care este necesara pentru sinteza colesterolului in ficat (Ariana si colab., 2011). Si Kanduri si colab., (2013) au folosit ca agent hipocolesterolemic o sursa naturala, amestec din plante. Akhtar si colab. (2003) au introdus in ratia gainilor seminte de *Nigella sativa*. Flavonoidele din uleiul de bergamota au fost folosite de Bölübası si colab. (2010) pentru efectul lor hipocolestemic.

Pesti si Bakalli (1998) au obtinut o reducere cu 20% si respectiv 28% a continutului de colesterol din galbenusul oualor gainilor White Leghorn (cu varsta de 30-39 saptamani) atunci cand s-a suplimentat ratia cu 0,125 ori 250 mg Cu/ kg ratie (din $\text{CuSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$). Slaugh a obtinut brevetul „Method of reducing cholesterol in chickens eggs” (2002, USA, nr. US6436451 B1) pentru producerea de oua de culoare maro cu continut de colesterol redus, care provin de la rasa de gaini ouatoare de culoare maro. Furajul contine: crom organic, cultura bacteriana pentru imbunatatirea digestiei, cel putin o enzima avand acelasi scop si cel putin 2% fibra. Nivelul colesterolului a fost scazut sub 160 mg/50g ou.

Miloud Araba detine brevetul „Method of reducing cholesterol and alternating fatty acid content of eggs” (2003, USA, nr. US 6,630,181 B1) pentru modificarea profilului de acizi grasi si reducerea colesterolului din ou prin utilizarea de furaje cu continut ridicat de acid oleic. De la Mota are brevetul „Method of reducing cholesterol in chicken eggs” (2010, Santo Domingo, nr.0278966 A1,) pentru scaderea colesterolului din galbenus prin suplimentarea ratiilor gainilor cu ulei din ficat de rechin. La fel si Spilburg a obtinut brevetul „Methods and formulations useful for lowering the cholesterol content of egg yolk” (2004, USA, nr. 0047946 A1) pentru utilizarea policosaenolilor in acelasi scop.

Reteta furajera pentru obtinerea de oua de gaina cu continut redus de colesterol, propusa pentru brevetare, fost elaborata tinand cont de urmatoarele:

- gainile ouatoare sunt capabile sa ajusteze consumul de furaj conform cerintelor de nutrienti, in mod deosebit cele de energie.

-cerintele nutritionale- pe baza cerintelor nutritionale (NRC, 1994) si a recomandarilor producatorului hibridului Lohmann Brown pe care s-a organizat testarea experimentală.

-s-a realizat estimarea unor parametrii preliminari privind: productia de ouă; raport grăsime/proteină în ou; greutatea netă si proteină corporală

Reteta furajera pentru obtinerea de oua de gaina cu continut redus de colesterol, este structurata pe furaje conventionale (porumb, tarate de orez, grau, srot soia, srot de rapita, gluten de porumb si ulei vegetal) si include, in mod particular:

- srot de in, o materie prima furajera de origine vegetala si care este deosebit de bogata in acizi grasi polinesaturati omega 3
- srot de camelina, o materie prima furajera de origine vegetala care este bogata in acizi grasi polinesaturati si are proprietati antioxidante. In plus, cultura de camelina este low-input. Srotul de camelina este un subprodus de la extractia uleiului destinat ca si combustibil industriei aviatice. Nu exista nici o referinta ca aceasta planta sa fi fost folosita, sub forma de seminte, ulei sau srot, in nutritia gainilor ouatoare cu scopul scaderii colesterolului in oua.
- vitamina E in calitatea sa de antioxidant

Obtinerea oului de consum cu colesterol scazut, conform inventiei revendicate, intr-un experiment desfasurat pe gaini ouatoare

Experimentul s-a efectuat pe 120 de gaini ouatoare din rasa Lohmann Brown, in varsta de 59 saptamani. Durata experimentului a fost de 5 saptamani, dintre care o perioada de 3 zile a fost considerata perioada de acomodare a gainilor cu noile nutreturi. Experimentul s-a desfasurat intr-o hala experimentală echipata cu 2 baterii imbunatatite pentru desfasurarea de experimente, structurate pe 3 niveluri, care au permis înregistrarea zilnică a ingestiei si a resturilor de hrana. S-a asigurat iluminatul incandescent care s-a derulat după o schemă cu 16 ore lumină, între orele 04:30 și 20:30. Hrana și apa au fost administrate ad libitum. Pe durata experimentului, in hala experimentală au fost asigurate temperatura si umiditatea la valori in concordanta cu tehnologia de crestere si varsta pasarilor. Inregistrările privind temperatura si umiditatea s-au facut de 3 ori pe zi: la ora 8 dimineata, la ora 12 si la ora 15.

Reteta martor (M) a fost structurata pe: porumb, tarate de orez, grau, srot soia, srot de rapita, gluten de porumb si ulei vegetal (tabelul 1). Reteta experimentală (E) s-a diferentiat de reteta M prin includerea srotului de in, a srotului de camelina (tabelul 1) in structura de baza si prin concentratia de vitamina E din premixul folosit. Structura retetelor furajere a fost

calculata pe baza determinarilor de compoziție chimică a materiilor prime furajere utilizând un model matematic de alcatuire a ratiilor de hrana la pasari (Burlacu si colab., 1999) in conformitate cu cerințele nutriționale (NRC, 1994) recomandate pentru creșterea intensivă a acestei categorii de păsări. Mentionam ca reteta folosita in cazul lotului M, are o structura conventionala fiind folosita in mod uzual de catre producatorii de furaje. Premixul folosit pentru reteta martor fost produsul Zoofortul A6 care este un premix conventional. Premixul folosit pentru reteta martor fost tot produsul Zoofortul A6 dar cu un adaos de 75 ppm vitamina E.

Tabelul 1. Retetele furajere

Specificatie	M	E
Porumb, %	35,74	33,75
Tarate orez, %	15	15
<i>Srot de in, %</i>	-	5
<i>Srot camelina, %</i>	-	2
Grau, %	10	10
Srot de rapita, %	15	9,5
Srot de soia, %	9	9
Gluten, %	2	2
Ulei, %	2	2,4
Fosfat, %	1,06	1,06
Carbonat de calciu, %	8,7	8,7
Sare, %	0,3	0,3
Metionina, %	0,15	0,12
Lizina, %	0	0,12

Colina, %	0,05	0,05
Zoofort A6, %	1	1*
Total materii prime	100	100

Unde * Zoofort A6 cu adaos de 100 ppm vitamina E

Pe intreaga durata experimentală s-au fabricat 2 sarje de nutret combinat, de fiecare dată prelevându-se probe din cele 2 tipuri de nutret combinat în vederea determinării compoziției chimice. Valorile de substanță uscată, proteina și grăsimi determinate în nutreturi (tabelul 2) sunt corespunzătoare cu cerințele din NRC, (1994) și cele specifice ale hibridului de găini Lohmann Brown

Tabelul 2 Compoziția chimică brută a nutreturilor combinate

Specificatie	M	E
SU, %	88.214±2.456	88.494±1.92
SO, %	75.928±3.294	75.703±2.55
PB, %	16.35±0.433	16.163±0.307
GB, %	5.442±0.273	7.022±0.333
Cel, %	5.311±0.323	5.554±0.174
Cen, %	12.286±0.929	11.875±1.166
SEN, %	49.335±2.68	47.88±3.006
EM, kcal/kg	2544	2547

Profilul de aminoacizi din nutreturile combinate aferente celor 2 loturi sunt prezentate în tabelul nr. 3.

Tabelul 3. Concentratia de aminoacizi din nutreturile combinate, (g/ 100g SU)

Aminoacid	M	E
ac aspartic	1,731	1,700
ac glutamic	4,229	4,385
serina	1,025	1,029
glicina	0,792	0,800
treonina	0,757	0,776
arginina	1,246	1,130
alanina	0,967	0,986
tirozina	0,538	0,570
valina	1,340	1,069
fenilalanina	0,952	0,963
izoleucina	0,655	0,652
leucina	1,529	1,500
lizina	0,878	0,901
cistina	0,423	0,463
metionina	0,502	0,472

In urma analizei chimice, s-a constatat ca nivelele de lizina, cistina si metionina au fost comparabile intre cele 2 nutreturi combinate. In tabelul 4 este prezentata concentratia de acizi grasi din cele 2 nutreturi combinate.

Dupa cum se poate observa din tabelul 4, din totalul acizilor grasi ponderea cea mai mare o are acidul linoleic (C18:2n6) care are concentratia cuprinsa intre 45,29 % in nutretul

JK

lotului martor 41,01 % în nutretul lotului experimental. Cea mai mare concentrație (10,33 %) de acid α -linolenic (C18:3n3) s-a determinat în nutretul lotului experimental E. Aceasta concentrație a fost de aproximativ 7,5 ori mai mare decât concentrația de acid α -linolenic din nutretul lotului martor (1,38%).

Se cunoaște faptul că atunci când ponderea acizilor grași polinesaturați dintr-un nutret este mai mare, iar raportul $\Omega 6/\Omega 3$ este mai mic, profilul de acizi grași contribuie la creșterea calității nutriționale a acestuia. Analizând datele din tabelul 5 se constată că acizii grași polinesaturați (PUFA) au concentrația cea mai ridicată în nutretul lotului experimental (51.48%) fiind cu 10.28% mai mare decât în nutretul lotului martor. Cea mai mică valoare a raportului $\Omega 6/\Omega 3$ (tabelul 5) s-a înregistrat în nutretul lotului experimental (3.98). Aceasta valoare a raportului $\Omega 6/\Omega 3$ a fost cu 87.87% mai mică față de aceea determinată în rețeta lotului martor. Din cauza conținutului bogat de acizi grași polinesaturați în nutretul lotului experimental (tabelele 4 și 5), în rețeta experimentală s-a suplimentat cantitatea de vitamină E din Zoofortul A6 cu 75 ppm.

Tabelul 4. Concentrația de acizi grași din nutreturile combinate
(valori medii/ 2 sarje fabricate)

Specificatie	Martor (%)	E (%)
Acid Miristic C 14:0	0.20	0.19
Acid Palmitic C 16:0	15.00	13.51
Acid Palmitoleic 16:1	0.35	0.32
Acid Stearic C 18:0	2.30	2.20
Acid Oleic cis C 18:1	34.77	31.24
Acid Linoleic cis C 18:2n6	45.29	41.01
Acid Linolenic α C 18:3n3	1.38	10.33
Acid Arachidic C 20:0	0.37	0.38
Acid Eicosenoic C 20:1n9	0.29	0.69

Acid Eicosadienoic C 20:2n6	0.00	0.14
Alti acizi	0.06	0.00
Total acizi grasi	100.00	100.00

Tabelul 5. Rapoartele între clasele de acizii grasi din nutreturile combinate
(valori medii/ 2 sarje fabricate)

Specificatie	M	E2
SFA - acizi grasi saturati (%)	17.86	16.28
MUFA - acizi grasi mononesaturati (%)	35.41	32.24
PUFA – acizi grasi polinesaturati (%)	46.68	51.48
UFA – total acizi grasi nesaturati (%)	82.08	83.72
Raport SFA / UFA	0.22	0.19
Raport PUFA / MUFA	1.32	1.60
$\Omega 3$	1.38	10.33
$\Omega 6$	45.29	41.15
$\Omega 6/\Omega 3$	32.81	3.98

Pe parcursul experimentului s-au înregistrat: consumurile medii zilnice de nutreturi combinate (gNC/cap/zi) calculate pe baza diferentelor înregistrate între nutretul administrat și restul de furaj regăsit în jgheab după 24 h de la administrare; consumurile specifice de nutreturi combinate (kg NC/kg ou) calculate pe baza raporturilor dintre consumul de nutret combinat și greutatea totală ou, estimate pentru întreaga perioadă experimentală; intensitatea

la ouat (%), calculata pe baza inregistrarilor zilnice a productiei de oua; greutatea medie a oului (g), calculata pe baza cantaririi zilnice, individuale, a oualor.

Pentru a evalua parametrii fizici de calitate si calitățile nutritionale ale ouălor, incepand cu prima zi experimentală, după 2 săptămâni și la finalul experimentului (săptămâna a 5 a) s-au recoltat randomizat câte 10, 30, 30 de oua/lot. Pe ouale recoltate au fost masurati, in primul rand, parametrii fizici de calitate ai oualor: greutatea oului și a componentelor sale (albus, galbenus, coaja), folosind o balanta Kerm cu precizie de 0,001; intensitatea culorii galbenusului, masurata cu un aparat de tip analizor Egg Analyzer TM, exprimata valoric pe scara La Roch de la 1 (galbenus foarte deschis la culoare) la 14 (culoarea galbenusului fiind de la portocaliu inchis spre rosu); prosoptimea oului masurata prin valoarea indicelui Haugh și punctele de apreciere ale prosoptimii (analizor Egg Analyzer TM); grosimea cojii (aparat Egg Shell Thicknes Gauge); rezistenta la spargere a cojii de ou (aparat Egg Force Reader).

Din cele 10 oua recoltate in prima zi de experiment s-au constituit 10 probe de galbenus. După inregistrarea parametrilor fizici, din cele 30oua/ lot recoltate după 2 săptămâni și in finalul experimentului s-au constituit 10 probe medii/ lot de galbenus. Fiecare proba a fost constituita din câte 3 oua/proba. Din probele constituite la cele 3 recoltari s-a determinat prin metoda gaza cromatografica (echipament PERKIN ELMER, CLARUS 500) concentratia de colesterol.

In săptămâna a 5-a s-au recoltat probe de dejectii pentru determinari privind potentialul toxic al dejectiilor. Pentru testele biologice, s-a urmarit recoltarea unei compozitii medii relevante pentru dejectiile “proaspete” așa-numitele dejectii umede (avand umiditate medie intre 65-70%) cu relevanta pentru o eventuala posibila gestionare in sistem umed al acestora.

La finalul experimentului s-au prelevat probe de sange din care s-au efectuat determinari biochimice (colesterol) și hematologice. Pentru biochimie, s-au recoltat 1 – 2 mL sange venos in vacutainer cu anticoagulant Li-heparina in vederea determinarii colesterolului printr-o metoda spectrofotometrica.

In vederea aprecierii starii de sanatate a gainilor s-a determinat hemoleucogramei cu formula leucocitara. Pentru aceasta s-au masurat urmatorii parametri meniti sa stabileasca starea de sanatate ai pasarii: numar de eritrocite (RBC); concentratia de hemoglobina (Hgb); hematocrit (Hct); indici eritrocitari: volumul eritrocitar mediu (MCV), hemoglobina eritrocitara medie (MCH), concentratia medie de hemoglobina (MCHC) și largimea distributiei eritrocitare (RDW). Pentru determinarea parametrilor enumerati, s-au recoltat 1 –

3 mL sange venos (in functie de volumul inscris pe vacutainer), in vacutainer cu EDTA (capac mov). Imediat dupa recoltare se inverseaza vacutainerul de 4-5 ori pentru a asigura omogenizarea anticoagulantului cu sangele. Determinarile s-au realizat cu echipament ADVIA 2120i – Siemens: Analizor automat de referinta in hematologia veterinara, pe principiul citometriei in flux, cu reactie peroxidazica si detectie laser.

Rezultatele obtinute in urma desfasurarii experimentului

Performantele bioproductive

Exista o serie intrega de dezbateri, in literatura de specialitate, privind influenta plantelor oleaginoase (cum sunt si inul, camelina) asupra parametrilor bioproductivi atunci cand sunt prezente in ratiile gainilor ouatoare. Analizand valorile obtinute pentru parametrii de productie (tabelul 6) se vede ca in acest experiment desi consumul mediu zilnic a fost semnificativ ($P \leq 0,05$) mai mare la M in schimb consumul specific nu s-a diferentiat intre cele 2 loturi. Intensitatea la ouat a fost semnificativ ($P \leq 0,05$) mai mare la M.

Tabélul 6 . Parametrii de productie (valori medii/ lot/ pe durata experimentului)

Specificatie	Martor	E
Consum mediu zilnic, gNC/cap/zi	119.278 $\pm$ 5.279 c	116.312 $\pm$ 8.042 a
Consum specific, kg NC/kg ou	1,827 $\pm$ 0,093	1,813 $\pm$ 0,151
Intensitatea la ouat, %	88.643 $\pm$ 7.242 b	84.504 $\pm$ 6.545 a
Greutatea medie ou, g/ou	65.311 $\pm$ 1.457	64.638 $\pm$ 2.341

Unde: a,b, diferente semnificative ($P \leq 0.05$) fata de M respectiv E

Parametrii fizici de calitate ai oualor

Parametrii fizici masurati pe ouale recoltate pe parcursul experimentului nu s-au diferentiat intre cele 2 loturi (tabelul 7).

Tabelul 7. Parametrii fizici de calitate ai oualor
(valori medii/ durata experimentului/lot)

Specificatie		Martor	E2
Greutate albus, g		37,641 ±1,291	37,816 ±2,022
Greutate galbenus, g		17,076 ±1,067	17,083 ±1,132
Greutate coaja, g		8,03 ±0,86	7,851 ±0,44
Grosime coaja, mm		0,40 ±0,05	0,394 ±0,059
Fora de spargere a cojii, KgF		4,28 ±0,86	4,52 5±1,054
Culoare galbenus		4,89 ±0,68	4,778 ±0,647
Unitati Haugh		59,87 ±8,77	60,583 ±6,333
Grad de prosoptime	AA	11 %	20%
	A	44 %	50 %
	B	44 %	30 %

Nivelul de colesterol in ouale recoltate in experiment

In primul rand se remarca faptul ca media determinarilor de colesterol in galbenus, pe toate serile de oua recoltate (in saptamanile 2 respectiv 5), arata ca la lotul experimental, concentratia de colesterol este semnificativ ($P \leq 0,05$) mai mica decat la lotul M (tabelul 8). In tabelele America Egg Board valoarea colesterolului raportata la 100 g galbenus uscat este de 2, 3g % .

Tabelul 8. Concentratia de colesterol din galbenusul uscat
(g/ 100 g galbenus uscat)

Specificatie	Martor	E
Initial (59 sapt)	1,874± 0,502	1,874± 0,502
dupa 2 saptamani, (61 sapt.)	1.844± 0.242	1.604± 0.316 a
dupa 5 saptamani, (64 sapt.)	1.723± 0.242 b	1.373± 0.208 a
pe intreaga perioada experimentală	1.801± 0.241 b	1.512±0.294 a

Unde: a,b, diferente semnificative ($P \leq 0.05$) fata de M respectiv E

Dupa cum arata datele din tabelul 9, la ambele recoltari, in general, nivelul de colesterol in galbenusul uscat s-a diminuat (% fata de recoltarea initiala) semnificativ ($P \leq 0,05$) mai mult in ouale recoltate de la lotul experimental fata de ouale lotului M. Totusi este de observat ca abaterea standard si coeficientul de variatie au fost ridicate pentru ambele loturi.

Tabelul 9 Date privind scaderea procentuala a colesterolului in galbenusul de ou uscat
(valori medii/lot)

Specificatie		M (%)	E (%)
% de scadere a colesterolului in ouale recoltate in sapt. 2 fata de recoltarea initiala	media	1.58 ^b	14.36 ^a
	abaterea standard	12,933	16,859
	coeficientul de variatie	8,231	1,174
% de scadere a colesterolului in ouale recoltate in sapt. 5 fata de recoltarea initiala	media	8.058 ^b	26.72 ^a
	abaterea standard	12,925	11,090
	coeficientul	1,604	0,415

	de variatie		
--	-------------	--	--

Unde: a,b, diferente semnificative ($P \leq 0.05$) fata de M respectiv E

Tabelul 10. Concentratia de colesterol din ou intreg

Specificatie	Martor	E
Initial (59 sapt.)	245,594± 76,136	245,594± 76,136
dupa 2 saptamani , (61 sapt.)	237.98± 38.97 b	215.37± 43.14 a
dupa 5 saptamani , (64 sapt.)	231.91±30.63 b	187.68± 22.64 a
pe intreaga perioada experimentală	235.96± 35.39 b	205.48± 37.84 a

Unde: a,b, diferente semnificative ($P \leq 0.05$) fata de M respectiv E

Daca raportarea concentratiei de colesterol se face la oul intreg (tabelul 10), se evidentiaza rezultatul privind determinarile medii/lot facute pe toate ouale recoltate la 2 respectiv 5 saptamani de experiment. Acest rezultat arata ca lotul experimental a avut la finalul experimentului concentratia de colesterol (mg/oul intreg) mai mica ($P \leq 0,05$) decat la lotul M. In tabelele America Egg Board valoarea colesterolului raportata la 100 g ou intreg este de 400 mg adica 240mg /ou de 60 de g. Este de notat ca greutatea oualor lotului E, recoltate la 5 saptamani, nu s-a diferentiat semnificativ de greutatea oualor de la lotul M prin urmare, scaderea concentratiei de colesterol la E s-a datorat retetei furajere. In ceea ce priveste valoarea procentuala cu care a scazut colesterolul in ou, prin raportarea valorilor de la 5 saptamani fata de recoltarea initiala pentru M a fost, in medie, de 5,573% iar pentru lotul experimental, valoarea procentuala a fost de 23,582.

Rezultatele determinarilor din sange

Datele tabelului 11 reflecta concentratia de colesterol determinata in serul gainilor dupa 5 saptamani de furajare cu cele 2 tipuri (conventional, nou). La lotul M, concentratia de colesterol in ser a fost mai mare ($P \leq 0,05$) fata de E. Concentratia de colesterol in serul

48

gainilor de la lotul E a fost scazuta, chiar la limita inferioara a valorilor de referinta (tabelul 11) ceea ce este in concordanta cu concentratia de colesterol in galbenus (tabelul 8 si 10).

Tabelul 11 Nivelul de colesterol in serul gainilor (valori medii/lot)

Lot	mg colesterol/dL ser
M	134.64±16.34 ^b
E	105.41±27.264 ^a
Referinte	● 129-297 mg/dL, Clinical Diagnostic Division, 1990; ● 170.2 mg/dL, Trohan si colab., 1995 ● 141.66 ± 9.507 mg/dL, Wang si Pan, 2003 ● 92.2-135.7 mg/dL, Menge si colab., 1974 ● 125±30 mg/dL, Trinder, 1969

Unde: a,b, diferente semnificative ($P \leq 0.05$) fata de M respectiv E

In tabelul 13 sunt prezentate valorile din hemograma leucocitara aviara ale celor doua loturi si date de referinta din literatura de specialitate. S-a inregistrat o diferenta semnificative ($P \leq 0,05$) intre loturi doar pentru concentratia medie de hemoglobina eritrocitara (MCHC), g/dL dar ambele valori se incadreaza in valorile de referinta.

Tabelul 13. Valorile determinate pentru hemograma cu formula leucocitara aviara

Nr. Crt.	Denumire parametru	M	E2	Referinte
1.	Numarul de eritrocite (RBC), M/ μ L	2.078±0.091	2.014±0.133	2.7 – Parvu, 1992 2.5-3.5 – Jain, 1993
2.	Hematocrit (HCT), %	23.4±0.894	24±1.00	29 – Parvu, 1992 28-37 – Jain, 1993

3.	Hemoglobina, (HGB),g/dL	8.075±0.359	7.44±0.385	9.7 – Parvu,1992 7.0-13.0 – Jain, 1993
4.	Volum eritrocitar mediu (MCV), fL	112.74±5.274	119.52±8.43	90-140.0 – Jain, 1993
5.	Hemoglobina eritrocitara medie (MCH), pg	39.66±1.024	37.06±2.879	33.0-47.0- Jain, 1993
6.	Concentratia medie de hemoglobina eritrocitara (MCHC), g/dL	34.35±0.37 ^b	30.98±1.096 ^a	33.5 – Parvu,1992 26.0-35.0 – Jain,1993

Unde: a,b, diferente semnificative ($P \leq 0.05$) fata de M respectiv E

Evaluarea impactului dejectiilor asupra mediului

Pentru identificarea poluantilor ce pot depasi limitele admisibile in dejectile rezultate in urma aplicarii noii soluti nutritionale experimentale, s-au determinat o serie de indicatori micro-biologici relevanti din punct de vedere ecologic. La recoltarea din saptamana a 5-a pentru fiecare dintre cele 2 loturi s-au prelevat probe medii spatiale mediate pe custile lotului martor si pe cele ale lotului experimental.

Din aceste probe s-a realizat analiza cantitativa a bacteriilor *E. coli* și *Enterococcus sp.* si analiza calitativă a bacteriilor *Salmonella sp.*

Dupa finalizarea determinarilor, pentru acesti parametri s-au tras urmatoarele concluzii:

a) Concentratiile de micro-organisme la lotul martor este cel existent in mod normal in aceste tipuri de dejectii: 10^7 - 10^9 CFU/g de s.u (www.feropode.com)

b) Concentratiile de micro-organisme la lotul experimental au fost pentru *coliformele totale*, *enterococi* si *E. coli* crescute aratand un potential infectios usor ridicat.

c) *Salmonella* a fost absenta in toate situatiile.

Evaluarea impactului dejectiilor se face cu referire la compozitia lor dar in stransa legatura cu cantitatea lor prin urmare, trebuie mentionat ca indicatorii la care se inregistreaza

depasiri pot fi considerati ca posibili producatori ai unor impacturi semnificative doar dupa realizarea unui studiu de impact in cazul fiecarei ferme in care aceste retete nutritionale se vor aplica.

In urma desfasurarii experimentului prezentat mai sus si a rezultatelor obtinute s-a constatat ca prin comparare cu un nutret combinat conventional, furajarea gainilor ouatoare din lotul E cu nutret combinat fabricat in coformitate cu *Reteta furajera pentru obtinerea de oua de gaina cu continut redus de colesterol* a determinat:

- Scaderea colesterolului in ou, dupa 5 saptamani de furajare. Colesterolul din ouale gainilor hranite cu un nutret combinat conventional (M) a scazut , in medie, cu 5,573% iar in ouale gainilor hranite cu nutretul combinat fabricat conform retetei propuse pentru brevetare (E), scaderea colesterolului a fost de 23,582 %.

- Media determinarilor de colesterol in galbenus, pe toate seriile de oua recoltate (in saptamanile 2 respectiv 5) arata ca la lotul E, concentratia de colesterol a fost semnificativ ($P \leq 0,05$) mai mica decat la lotul M

- Mentinerea sanatatii gainilor si a calitatii oualor din punct de vedere al parametrilor fizici si organoleptici.

- Dejectiile gainilor de la lotul E nu prezinta un risc major pentru mediu deoarece *Salmonela* a fost absenta in toate probele analizate.

REVENDICARI:

1. *Reteta furajera pentru obtinerea de oua de gaina cu continut redus de colesterol* care are in structura: srot de in (5%), srot de camelina (2%) si vitamina E (100 mg/kg)
2. *Reteta furajera pentru obtinerea de oua de gaina cu continut redus de colesterol* caracterizata prin: 88,50 % substanta uscata; 16,16 % proteina bruta; 7,022% grasime bruta; 0,901% lizina; 0,472 % metionina; 0,463 % cistina; 100 mg/kg vitamina E; 2547 kcal/kg energie metabolizabila; 3,98 valoarea raportului acizi grasi polinesaturati omega 6/omega 3