

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ „ION IONESCU DE LA BRAD” IAȘI
ȘCOALA DOCTORALĂ DE AGRONOMIE,
HORTICULTURĂ ȘI ZOOTEHNIE
Domeniul de doctorat: Zootehnie
Specializarea: Alimentația animalelor

Daniel
Bucur



Digitally signed
by Daniel Bucur
Date: 2016.11.21
10:34:25 +02'00'

TEZĂ DE DOCTORAT

Conducător științific:
Prof. dr. Ioan Mircea POP

Doctorand:
Biochimist Mariana Silvia PASCARIU

IAȘI, 2016

UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND
VETERINARY MEDICINE „ION IONESCU DE LA BRAD”IAȘI
DOCTORAL SCHOOL OF AGRONOMY, HORTICULTURE,
ANIMAL, HUSBANDRY AND VETERINARY MEDICINE
ANIMAL SCIENCE FACULTY
DOCTORAL DOMAIN: ANIMAL HUSBANDRY
SPECIALIZATION: *Animal Nutrition*

DOCTORAL THESIS

SCIENTIFIC SUPERVISOR:
Prof. PhD. Ioan Mircea POP

Doctoral Student:
Biochimist Mariana Silvia PASCARIU

IAȘI, 2016

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ „ION IONESCU DE LA BRAD” IAȘI
ȘCOALA DOCTORALĂ DE AGRONOMIE,
HORTICULTURĂ ȘI ZOOTEHNIE
Domeniul de doctorat: Zootehnie
Specializarea: Alimentația animalelor

TEZĂ DE DOCTORAT

Titlul tezei de doctorat

***POSIBILITĂȚI DE VALORIFICARE ÎN ALIMENTAȚIA
ANIMALELOR A UNOR RESURSE PROVENITE DIN
INDUSTRIA DE VINIFICAȚIE***

Conducător științific:
Prof. dr. Ioan Mircea POP

Doctorand:
Biochimist Mariana Silvia PASCARIU

IAȘI, 2016

UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND
VETERINARY MEDICINE „ION IONESCU DE LA BRAD” IAȘI
DOCTORAL SCHOOL OF AGRONOMY, HORTICULTURE,
ANIMAL, HUSBANDRY AND VETERINARY MEDICINE
ANIMAL SCIENCE FACULTY
DOCTORAL DOMAIN: ANIMAL HUSBANDRY
SPECIALIZATION: *Animal Nutrition*

DOCTORAL THESIS

Doctorate Thesis Title

***WINE INDUSTRY ORIGINATED RESOURCES WITH
POSSIBILITIES OF VALORIFICATION IN THE
ANIMAL NUTRITION***

**SCIENTIFIC SUPERVISOR:
Prof. PhD. Ioan Mircea POP**

**Doctoral Student:
Biochemist Mariana Silvia PASCARIU**

IAȘI, 2016

Mulțumesc și imi exprim deplina recunoștință, conducătorului științific domnului prof. dr. Ioan Mircea POP pentru îndrumarea și formarea mea profesională, pe întreaga perioadă a studiilor doctorale.

Mulțumesc conducerii Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad" din Iași pentru susținerea financiară acordată.

Profund respect și mulțumiri, conducerii și colectivului de cadre didactice de la Facultatea de Zootehnie, pentru sprijinul profesional și logistic acordat.

CUPRINS

LISTĂ DE ABREVIERI	I
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT	III
INTRODUCERE.....	1
 <u>PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</u>	
CAP. I. OBȚINEREA ȘI EVALUAREA NUTRIȚIONALĂ A SUBPRODUSELOR DIN VINIFICAȚIE UTILIZABILE ÎN ALIMENTAȚIA ANIMALELOR	5
1.1 OBȚINEREA SUBPRODUSELOR DIN INDUSTRIA DE VINIFICAȚIE.....	5
1.2 EVALUAREA NUTRIȚIONALĂ A UNOR SUBPRODUSE DIN VINIFICAȚIE.....	9
1.2.1 Evaluarea nutrițională a tescovinei	10
1.2.2 Evaluarea nutrițională a semințelor	14
1.2.3 Evaluarea nutrițională a pielitelor și pulpei	21
1.2.4 Evaluarea nutrițională a altor subproduse vinicole	25
 CAP. II. UTILIZAREA UNOR SUBPRODUSE DIN VINIFICAȚIE ÎN ALIMENTAȚIA ANIMALELOR	28
2.1 UTILIZAREA SUBPRODUSELOR VINICOLE LA RUMEGĂTOARE.....	28
2.1.1 Utilizarea la ovine.....	29
2.1.2 Utilizarea la taurine	34
2.2 UTILIZAREA SUBPRODUSELOR VINICOLE LA MONOGASTRICE.....	36
2.2.1 Utilizarea la păsări	44
2.2.2 Utilizarea la alte categorii de animale monogastrice	52
 <u>PARTEA A II-A: CERCETĂRI PROPRII</u>	
CAP. III. SCOPUL, OBIECTIVELE ȘI ORGANIZAREA CERCETĂRILOR.....	62
3.1 SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR	62
3.2 ORGANIZAREA CERCETĂRILOR	64
 CAP. IV. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE	66
4.1 MATERIALE UTILIZATE	66

4.1.1	Material biologic utilizat în cercetările proprii	66
4.1.2	Material vegetal utilizat din industria de vinificație	67
4.1.3	Nutrețuri și subproduse vinicole folosite în hrana păsărilor	68
4.1.3.1	<i>Nutrețuri combinate și subproduse vinicole folosite la puii broiler de găină</i>	68
4.1.3.2	<i>Nutrețuri combinate și subproduse vinicole folosite la găinile ouătoare</i>	71
4.2	METODE DE LUCRU FOLOSITE ÎN CERCETARE	73
4.2.1	Metode de caracterizare fizico-chimică a subproduselor din vinificație.	73
4.2.1.1	<i>Recoltarea, formarea și pregătirea probelor</i>	73
4.2.1.2	<i>Metode analitice de determinare a conținutului chimic</i>	74
4.2.2	Metode de evaluare a performanțelor productive	88
4.2.2.1	<i>Evaluarea performanțelor productive la puii broiler</i>	88
4.2.2.2	<i>Evaluarea performanțelor productive la găinile ouătoare</i>	89
4.2.3	Metode de apreciere a calității ouălor	89
4.2.4	Metode de determinare a unor indicatori biochimici, hematologici și histologici.....	94
4.2.4.1	<i>Indicatori biochimici, hematologici și histologici analizați la puii broiler</i>	94
4.2.4.2	<i>Indicatori biochimici analizați la găinile ouătoare</i>	107
4.2.5	Metode de analiză statistică.....	109
 CAP. V. CERCETĂRI PRIVIND OBTINEREA ȘI CONSERVAREA UNOR SUBPRODUSE DE VINIFICAȚIE UTILIZATE ÎN EXPERIENȚELE PROPRII.....		114
5.1	PROCEDEUL DE CONSERVARE A TESCOVINEI ȘI MODUL DE OBTINERE A FRAȚIUNILOR SOLIDE.....	114
5.2	PROCEDEUL DE OBTINERE A EXTRACTULUI APOS DE POLIFENOLI DIN TESCOVINĂ UTILIZAT ÎN EXPERIMENT	121
 CAP. VI. CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ ȘI NUTRIȚIONALĂ A UNOR SUBPRODUSE DIN VINIFICAȚIE		123
6.1	PLANUL DE ORGANIZARE AL CERCETĂRII	123
6.1.1	Obiectivele și organizarea cercetării	123
6.2	COMPOZIȚIA FIZICO-CHIMICĂ A TESCOVINEI INTEGRALE	125
6.3	COMPOZIȚIA CHIMICĂ A SEMINȚELOR	132
6.4	COMPOZIȚIA CHIMICĂ A PIELIȚELOR ȘI CIORCHINILOR.....	138
6.5	CONCLUZII PARȚIALE	142
 CAP. VII. INFLUENȚA UNOR SUBPRODUSE DE VINIFICAȚIE UTILIZATE ÎN ALIMENTAȚIA PUILOR BROILER ASUPRA PERFORMANȚELOR PRODUCTIVE ȘI A UNOR INDICATORI DE STATUS FIZIOLOGIC.....		144
7.1	PLANUL DE ORGANIZARE AL CERCETĂRIILOR.....	144
7.1.1	Obiectivele cercetărilor	144

7.1.2	Organizarea și desfășurarea cercetărilor	144
7.1.3	Condiții asigurate în vederea desfășurării cercetărilor	145
7.2	EVALUAREA PERFORMANTELOR PRODUCTIVE	148
7.2.1	Evoluția greutății corporale	148
7.2.2	Sporul mediu săptămânal de creștere în greutate și cumulat	151
7.2.3	Consumul de nutreț și conversia hranei	153
7.2.4	Pierderile din efectiv	157
7.2.5	Factorul de Eficiență European (EEF)	158
7.3	EVALUAREA HEMATOLOGICĂ, BIOCHIMICĂ ȘI HISTOLOGICĂ.....	159
7.3.1	Profilul hematologic.....	159
7.3.2	Activitatea antioxidantă	163
7.3.3	Examenul histologic	164
7.4	CONCLUZII PARȚIALE	188
CAP. VIII. INFLUENȚA UNOR SUBPRODUSE DE VINIFICAȚIE UTILIZATE ÎN		
ALIMENTAȚIA GĂINILOR OUĂTOARE ASUPRA PERFORMANTELOR PRODUCTIVE ȘI A		
CALITĂȚII OUĂLOR OBTINUTE.....		190
8.1	PLANUL DE ORGANIZARE AL CERCETĂRILOR.....	190
8.1.1	Obiectivele cercetărilor	190
8.1.2	Organizarea și desfășurarea cercetărilor.....	191
8.1.3	Condiții asigurate în vederea desfășurării cercetărilor	193
8.2	EVALUAREA PERFORMANTELOR PRODUCTIVE	194
8.2.1	Greutatea corporală a păsărilor	194
8.2.2	Producția de ouă și intensitatea de ouat.....	195
8.2.3	Consumul de hrană și conversia hranei	197
8.2.4	Starea de sănătate a păsărilor.....	201
8.3	EVALUAREA CALITĂȚII OUĂLOR PROASPETE	201
8.3.1	Incidența ouălor cu anomalii morfologice	201
8.3.2	Indicatorii fizici de calitate a ouălor proaspete	203
8.3.2.1.	Greutatea ouălor și a componentelor sale	203
8.3.2.2	Greutatea specifică	211
8.3.2.3	Grosimea cojii minerale.....	212
8.3.2.4	Indicele Haugh	214
8.3.2.5	Indicele albușului.....	216
8.3.2.6	Indicele gălbenușului.....	218
8.3.2.7	Culoarea gălbenușului.....	220
8.3.3	Indicatorii biochimici de calitate	222
8.3.3.1	Acizii grași și colesterolul	222
8.3.3.2	Statusul antioxidant total	228
8.4	EVALUAREA ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE DIN SERUL GĂINILOR OUĂTOARE.....	229
8.5	EVALUAREA GRADULUI DE DEGRADARE AL PROSPEȚIMII OULUI PE PERIOADA	
	STOCĂRII.....	230
8.5.1	Greutatea ouălor	230

8.5.2	Greutatea specifică a ouălor	233
8.5.3	Indicele Haugh	235
8.5.4	Indicele albuşului.....	238
8.5.5	Indicele gălbenuşului.....	240
8.6	CONCLUZII PARȚIALE	242
CONCLUZII GENERALE.....		247
RECOMANDĂRI		252
BIBLIOGRAFIE.....		254

TABLE OF CONTENT

ABBREVIATIONS LIST	I
DOCTORAL DISSERTATION SUMMARY	X
INTRODUCTION	1

PART I: PRESENT STATE OF KNOWLEDGE

CHAPTER I. ATTAINMENT AND NUTRITIONAL EVALUATION OF THE WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS EXPLOITABLE IN ANIMAL NUTRITION	5
1.1 ATTAINMENT THE WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS.....	5
1.2 THE NUTRITIONAL EVALUATION OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS.....	9
1.2.1 Nutritional evaluation of the grape pomace	10
1.2.2 Nutritional evaluation of the seeds.....	14
1.2.3 Nutritional evaluation of the skins and pulp	21
1.2.4 Nutritional evaluation of other winery by-products.....	25
CHAPTER II. THE USE OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS IN ANIMAL NUTRITION	28
2.1 THE USE OF GRAPE BY-PRODUCTS IN RUMINANTS NUTRITION	28
2.1.1 The use in sheep	29
2.1.2 The use in bovines.....	34
2.2 THE USE OF GRAPE BY-PRODUCTS IN MONOGASTRIC NUTRITION.....	36
2.2.1 The use in poultry	44
2.2.2 The use in the nutrition of other monogastric animal categories	52

PART II: OWN RESEARCH

CHAPTER III. GOAL, OBJECTIVES AND RESEARCH ORGANIZATION	62
3.1 PURPOSE AND RESEARCH OBJECTIVES.....	62
3.2 RESEARCH ORGANIZATION.....	64
CHAPTER IV. RESEARCH MATERIAL AND METHODS.....	66
4.1 USED MATERIALS	66
4.1.1 Biological material used in own research	66
4.1.2 The vegetal material used from wine industry	667

4.1.3	Fodders and grape by-products used in poultry feeding	68
4.1.3.1	<i>Mixed fodders and grape by-products used in chicken broilers feeding</i>	68
4.1.3.2	<i>Mixed fodders and grape by-products used in laying hens feeding</i>	71
4.2	METHODS USED IN RESEARCH	73
4.2.1	Methods of physicochemical characterization of wine industry by-products.....	73
4.2.1.1	<i>Samples harvesting, development and preparation</i>	73
4.2.1.2	<i>Analytical methods for chemical content determination</i>	74
4.2.2	Methods of evaluation of the productive performance	88
4.2.2.1	<i>Productive performance evaluation of the broiler chickens</i>	88
4.2.2.2	<i>Productive performance evaluation of the laying hens</i>	89
4.2.3	Methods of eggs quality assessment.....	89
4.2.4	Methods of determination of some biochemical, hematological and histological indices	94
4.2.4.1	<i>Haematological, histological and biochemical indicators analyzed in broilers</i>	94
4.2.4.2	<i>Biochemical indicators analyzed in laying hens</i>	107
4.2.5	Methods of statistical analysis	109
CHAPTER V. RESEARCH ON OBTAINING AND PRESERVATION OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS USED IN OWN EXPERIMENTS		114
5.1	<i>THE PROCEDURE OF CONSERVATION OF GRAPE POMACE AND WAYS OF OBTAINING THE SOLID FRACTIONS.....</i>	<i>114</i>
5.2	<i>THE PROCESS FOR OBTAINING AQUEOUS POLYPHENOLS EXTRACT FROM GRAPE POMACE USED IN THE EXPERIMENT</i>	<i>121</i>
CHAPTER VI. PHYSICO-CHEMICAL AND NUTRITIONAL CHARACTERIZATION OF SOME GRAPE BY-PRODUCTS		123
6.1	<i>RESEARCH ORGANIZATION DESIGN.....</i>	<i>123</i>
6.1.1	Objectives and research organization.....	123
6.2	<i>PHYSICO-CHEMICAL COMPOSITION OF WHOLE GRAPE POMACE.....</i>	<i>125</i>
6.3	<i>CHEMICAL COMPOSITION OF SEEDS.....</i>	<i>132</i>
6.4	<i>CHEMICAL COMPOSITION OF SKINS AND STALKS</i>	<i>138</i>
6.5	<i>PARTIAL CONCLUSIONS</i>	<i>142</i>
CHAPTER VII. THE INFLUENCE ON THE PRODUCTION PERFORMANCE AND CERTAIN INDICATORS OF THE PHYSIOLOGICAL STATUS OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS USED IN THE BROILER CHICKENS FEEDING		144
7.1	<i>RESEARCH ORGANIZATION DESIGN.....</i>	<i>144</i>
7.1.1	Research objectives.....	144
7.1.2	Organization and development of research.....	144

7.1.3	Conditions provided for the research to be carried out.....	145
7.2	PRODUCTIVE PERFORMANCE EVALUATION	148
7.2.1	Body weight dynamics	148
7.2.2	Average weekly and cumulated weight gain.....	151
7.2.3	Feed intake and feed conversion ratio.....	153
7.2.4	Flock looses	157
7.2.5	The European Efficiency Factor.....	158
7.3	HEMATOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL EVALUATION.....	159
7.3.1	Haematological profile	159
7.3.2	Antioxidant activity	163
7.3.3	Histological examination	164
7.4	PARTIAL CONCLUSIONS.....	188
CHAPTER VIII. THE INFLUENCE ON THE PRODUCTION PERFORMANCE AND THE QUALITY OF EGGS OBTAINED OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS USED IN THE LAYING HENS FEEDING		190
8.1	RESEARCH ORGANIZATION DESIGN.....	190
8.1.1	Research objectives.....	190
8.1.2	Organization and development of research.....	191
8.1.3	Conditions provided for the research to be carried out.....	193
8.2	PRODUCTIVE PERFORMANCE EVALUATION	194
8.2.1	Body weight of birds.....	194
8.2.2	Egg production and laying intensity	195
8.2.3	Feed intake and feed conversion ratio.....	197
8.2.4	Poultry health status	201
8.3	EVALUATION OF QUALITY OF FRESH EGGS	201
8.3.1	The incidence of eggs with morphological anomalies	201
8.3.2	Physical indicators of fresh eggs' quality	203
8.3.2.1	Eggs' and egg components weight	203
8.3.2.2	Specific gravity	211
8.3.2.3	Eggshell thickness.....	212
8.3.2.4	Haugh unit.....	214
8.3.2.5	Albumen index.....	216
8.3.2.6	Yolk index.....	218
8.3.2.7	Yolk colour.....	220
8.3.3	Biochemical quality indicators.....	222
8.3.3.1	Fatty acids and cholesterol	222
8.3.3.2	Total antioxidant status	228
8.4	EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM THE LAYING HENS' SERUM	229
8.5	EVALUATION OF EGG FRESHNESS DEGRADATION DEGREE DURING STORAGE STOCĂRII.....	230
8.5.1	Eggs weight.....	230

8.5.2	Egg's specific gravity.....	233
8.5.3	Haugh unit.....	235
8.5.4	Albumen index	238
8.5.5	Yolk index.....	240
8.6	PARTIAL CONCLUSIONS.....	242
GENERAL CONCLUSIONS.....		247
RECOMMENDATIONS.....		252
BIBLIOGRAPHY.....		254

LISTĂ DE ABREVIERI

ABBREVIATIONS LIST

- AA** – aminoacid
ABTS - (2,2' azino-di- [3-etilbenzotiazolin- sulfonat])
AG- acizi grași
An- antociani
Buc - bucăți
CB- celuloză brută
CenB – cenușa brută
CHEM - concentrația medie de hemoglobină
Col. - colorație
DDGS - cereale uscate distilate cu substanțe solubile (distillers dried grains with solubles)
EDTA- sarea acidului etilen-diamino-tetraacetic
EEF - factorul de eficiență European
EM - energie metabolizabilă
FAME- esteri metilici ai acizilor grași
FCR - Folin-Ciocalteu
FID- detector cu ionizare în flacăra
GAE - echivalenți gram de acid galic
GB – grăsime brută
GC – gaz cromatograf
Hb - hemoglobina
HDL- lipoproteine cu densitate înaltă
HEA - Hematoxină– Eozină – Albastru de metil
HEM - hemoglobina eritocitară medie
Ht- hematocritul
I.C. – indice de consum
Ia – indice albuș

Ig – indice gălbenuș

LC – lot control

LDL - lipoproteine cu densitate joasă

LEP – lot experimental cu extract apos de polifenoli din tescovină administrat în apa de băut

LT-1% - lot experimental cu tescovină 1% în hrană

LT-2% - lot experimental cu tescovină 2% în hrană

LT-4% - lot experimental cu tescovină 4% în hrană

LS-0,5% - lot experimental cu semințe 0,5% în hrană

LS-1% - lot experimental cu semințe 1% în hrană

LS-2% - lot experimental cu semințe 2% în hrană

MUFA- acizi grași mononesaturați

n.c –nutreț combinat

PAS - Acid Periodic-Fuxină Schiff

PB – proteină brută

PEF - indice de eficiență la broiler

PT – polifenoli totali

PUFA - acizi grași polinesaturați

PVIA - pereți vegetali insolubili în apă

SO- substanță organică

SFA- acizi grași saturați

SU – substanță uscată

Ta - taninuri

TAS - statusul antioxidant total

Trolox - 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2- acid carboxilic

UFA- acizi grași nesaturați

UFL – unități furajere lapte

UH- unități Haugh

UR- umiditatea relative

VEM -volumul eritrocitar mediu

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Teza de doctorat intitulată ***“Posibilități de valorificare în alimentația animalelor a unor resurse provenite din industria de vinificație”*** este structurată în două părți: partea bibliografică și partea de cercetări proprii, cuprinzând 8 capitole la care s-au adăugat concluziile generale, recomandările și bibliografia studiată; are un număr de 277 pagini, 50 tabele, 144 figuri și 350 titluri bibliografice.

În Partea I. - **Stadiul actual al cunoașterii** am inclus două capitole, informative pentru tema propusă și anume: CAP. I. *Obținerea și evaluarea nutrițională a subproduselor din vinificație utilizabile în alimentația animalelor* și CAP. II. *Utilizarea unor subproduse din vinificație în alimentația animalelor*.

În partea a II-a a tezei, **Cercetări proprii**, plecând de la scopul general de a evalua compoziția chimică și de a stabili un procedeu de conservare a unor subproduse din vinificație și posibilitățile de utilizare a acestora în alimentația unor categorii de păsări (pui broiler de găină și găini ouătoare), cercetările efectuate le-am particularizat în vederea obținerii de rezultate cu valoare științifică, în baza cărora să se poate reformula o conduită originală în vederea unei mai bune utilizări a subproduselor vinicole în alimentația păsărilor.

În vederea atingerii scopului propus, cercetările s-au axat pe **patru obiective**. **Primul dintre acestea a fost: stabilirea unui procedeu de conservare al tescovinei în vederea unei valorificări mai bune în hrana păsărilor**. Procedeu de conservare al tescovinei s-a făcut ținându-se cont de influența temperaturii de uscare asupra conținutului în polifenoli din tescovină.

Cel de-al doilea obiectiv a constat în determinarea și evaluarea comparativă a conținutului chimic al tescovinei și a fracțiunilor vegetale, respectiv semințe, pielțe și ciorchini provenite de la diferite soiuri de struguri și obținute în ani diferiți în vederea valorificării cât mai eficiente în alimentația păsărilor. Probele de tescovină obținute din trei centre viticole: podgoria Huși, ferma Adamachi Iași, Stațiunea de Cercetare Dezvoltare pentru Viticultură și Vinificație (SCVV) Iași au fost aduse la biobaza Facultății de Zootehnie a

USAMV, lași pentru a fi supuse uscării și separării fracțiunilor de tescovină (semințe, pielite și ciorchine). Caracterizarea chimică și nutrițională a acestor subproduse vinicole s-a efectuat în cadrul Laboratorului de Control al Calității Nutrețurilor din cadrul Facultății de Zootehnie, a USAMV din Iași și la Unitatea de Cercetare Avicolă (URA), din cadrul INRA din Franța.

Cel de-al treilea obiectiv a constat în stabilirea efectului semințelor de struguri, tescovinei integrale și a extractului apos de polifenoli din tescovină în alimentația puilor broiler de găină asupra performanțelor de creștere și a stării de sănătate. În vederea stabilirii efectului asupra performanțelor de creștere, pe parcursul experimentului s-au urmărit: evoluția greutatei corporale, sporul în greutate, consumul de hrană, indicele de conversie al hranei și pierderile din efectiv. Pentru evaluarea stării de sănătate a puilor, la 40 de zile, din sângele acestora s-au determinat statusul antioxidant total și profilul hematologic iar pe fragmentele de țesut din stomac (glandular, mecanic), intestin (duoden, cecum), cord, ficat, splină, rinichi prelevate în urma sacrificării puilor, au fost realizate analizele histologice.

Cel de-al patrulea obiectiv a constat în stabilirea efectului tescovinei integrale și semințelor de struguri utilizate în hrana găinilor ouătoare asupra parametrilor productivi și calitativi ai oului. Astfel, în vederea atingerii acestui obiectiv, pe parcursul derulării experimentului, parametrii productivi urmăriți au fost: consumul mediu săptămânal și consumul total de hrană, producția de ouă și conversia nutrețului în ou. S-a evaluat calitatea ouălor proaspete recoltate în prima zi și după 30 de zile de administrare a subproduselor vinicole în hrana găinilor. Pentru evaluarea gradului de degradare al prospețimii oului pe perioada stocării, acestea au fost depozitate la frigider la temperatura de 4°C, iar la sfârșitul fiecărei perioade de depozitare: 7, 14, 21, 28 de zile, s-au determinat parametrii fizici de calitate a oului, același procedeu a fost repetat și în a doua lună de experiment.

Parametrii fizici de calitate determinați la ouăle proaspete au fost: greutatea oului și a componentelor sale, grosimea cojii, culoarea gălbenușului, prospețimea oului apreciată prin valoarea indicelui Haugh, greutatea specifică (prin metoda soluțiilor saline) și punctele de apreciere ale prospețimii (indicele albuș și gălbenuș).

Indicatorii fizici interni de calitate analizați pe perioada stocării ouălor la 4°C au fost: greutatea oului, greutatea specifică, indicelui Haugh, indicele albușului și gălbenușului.

De asemenea, la sfârșitul experimentului s-au recoltat probe de ouă proaspete pentru determinarea statusului antioxidant total (TAS) din componentele oului (albuș, gălbenuș), colesterolului și acizilor grași din

gălbenușul de ou cât și probe de sânge pentru determinarea TAS –ului din sângele găinilor.

Cercetările experimentale s-au desfășurat în cadrul biobazei Facultății de Zootehnie a USAMV, Iași.

În experimentul efectuat pe puii broiler de găină din hibridul de carne *Cobb 500* s-a utilizat un număr de 250 de pui nesexați (împărțit în șase loturi), în perioada de vârstă 1-40 zile, iar în studiul experimental realizat pe găinile ouătoare din hibridul *Tetra-SL LL* s-a utilizat un număr de 48 de găini (împărțit în patru loturi), în vârstă de 60 de săptămâni.

Datele primare obținute în urma cercetărilor efectuate au fost prelucrate prin metode biostatistice. Ca metode de prelucrare a datelor s-au folosit: calculul estimatorilor de poziție și de variație, analiza varianței, calculul coeficienților de corelație Pearson, determinarea ecuațiilor de regresie simplă (analiza regresiei), diagrama de tip „Boxplot” (evidențiază distribuția valorilor).

Pentru a testa omogenitatea mediilor și semnificația diferențelor dintre medii s-au folosit ca modele matematice de calcul: tehnica ANOVA (Analiza varianței), testul F (Fisher-test de comparare a dispersiilor)- care are la bază tehnica ANOVA, testul t (Student). Prelucrarea statistică a datelor s-a realizat automat cu ajutorul computerului utilizând pachetul software Microsoft Office 2010 și 2016 (Microsoft Inc., SUA).

Din datele obținute în cercetările proprii cu privire la procedeul de conservare și la caracterizarea chimică și nutrițională a unor subproduse din vinificație și posibilitățile de utilizare a acestora în alimentația unor categorii de păsări și evidențierea influenței asupra performanțelor și calității producției obținute, au reieșit o serie de **concluzii**, prezentate succint în cele ce urmează:

- *Concluzii referitoare la procedeul de conservare și caracterizarea conținutului chimic:*

- odată cu creșterea temperaturii de uscare (20°C, 38°C și respectiv 50 °C) conținutul în polifenoli totali, taninuri și antociani din tescovină se degradează în mod semnificativ ($p < 0,001$); temperatura optimă de uscare a tescovinei pentru păstrarea compușilor cu proprietăți biologice active în vederea utilizării în hrana animalelor este de 20 °C (uscare naturală).

- din datele obținute cu privire la compoziția chimică a celor patru tipuri de tescovină integrală și fracțiunile acestora analizate în funcție de varietatea de struguri și anul de obținere (2013, 2014) a reieșit că tescovina din soiul de struguri roșii Fetească neagră din 2013-2014 a prezentat un conținut mai ridicat în substanțe cu rol nutrițional (PB%, GB%, SEN%, PT%, Ta%).

- un conținut mai ridicat în polifenoli totali (4,00% din SU) s-a înregistrat în tescovina din soiul Fetească neagră din anul 2014, comparativ cu celelalte tipuri de tescovină analizate care au prezentat valori cuprinse doar între 1,90% (amestec) – 2,20% din SU (Fetească neagră 2013).

- ținând cont de conținutul chimic al fracțiunilor tescovinei analizate, se constată că pielețele au un conținut mai ridicat în proteină brută (12,13-19,31%), cenușă brută (7,40-11,90%) și substanțe extractive neazotate (49,64-54,67%) comparativ cu semințele. Semințele se deosebesc de pielețe printr-un conținut mai ridicat în grăsime brută (12,15-14,82%), celuloză brută (38,19-45,57%), polifenoli totali (2,72-5,23%) și taninuri (2,26-4,47%).

- este de remarcat faptul că tescovina integrală prezintă valori mai scăzute în polifenoli totali, cuprinse între 1,90-4,00% față de cele obținute la semințe, între 2,72-5,23%.

- acizii grași din semințele din soiul de struguri Fetească neagră (2014) se caracterizează printr-un conținut mai ridicat în acizi grași polinesaturați (69,59%), comparativ cu cel din tescovina integrală (61,08%). Semințele au prezentat o valoare mai ridicată în acidul gras linoleic, de 69,14% comparativ cu tescovina integrală (59,73%).

- datorită conținutului mai ridicat în componente chimice în special în polifenoli al tescovinei din soiul de struguri roșii Fetească neagră (2014), s-a considerat oportună utilizarea acesteia în alimentația păsărilor.

• *Concluzii referitoare la performanțele bioproductive realizate de puii broiler în urma introducerii în hrana acestora a unor subproduse vinicole:*

- din datele prezentate cu privire la efectul tescovinei, semințelor și extractului de polifenoli am concluzionat că proporția de 0,5% semințe (LS-0,5%) utilizată în hrana puilor broiler a îmbunătățit performanțele bioproductive pe toată perioada creșterii. La 40 de zile, greutatea corporală medie înregistrată a fost semnificativ mai mare ($p < 0,01$) iar indicele de conversie al hranei a prezentat o valoare mai bună cu 3,97% față de lotul de control.

- în schimb, proporția mai mare de semințe utilizată în hrană (1%) a afectat performanțele de creștere, putând avea un efect tardiv asupra creșterii puilor. Pe întreaga perioadă de creștere puii au înregistrat greutate corporale medii și consumuri de hrană mai reduse, comparativ cu lotul de control.

- utilizarea tescovinei în proporție de 1 și 2% în hrana puilor broiler a avut o ușoară influență pozitivă asupra creșterii; greutatea medii corporale fiind ușor mai ridicate cu 1,20 (la LT-1%) -2,74% (la LT-2%) față de LC. O valoare mai bună a indicelui de conversie al hranei a fost înregistrată de lotul LT-1% cu 2,66% față de LC.

- includerea extractului de polifenoli în apa de băut a puilor din lotul 1,5% LEP a afectat performanțele de creștere încă din prima perioadă de experiment, sporurile mai scăzute s-ar putea datora nivelului ridicat de polifenoli din extractul de tescovină având un posibil efect tardiv asupra creșterii puilor.

- activitatea antioxidantă și indicii hematologici ai seriei roșii investigați nu au evidențiat modificări semnificative la puii din loturile experimentale care au primit în hrană subproduse vinicole. Leucocitele din sângele periferic s-au modificat la toate loturile experimentale, comparativ cu lotul de control, efectele fiind de reglare a răspunsului imun (creșterea limfocitelor – $p > 0,05$ la LT-1%, sau reducerea heterofilelor – $p < 0,05$ la LT-2%) sau de reactivitate hiperimună (creșterea eozinofilelor și bazofilelor în sânge, ca și a plasmocitelor IgA în lamina propria a vilozităților intestinale – $p < 0,001$) la loturile cu LT-2%, LS-1% și LEP.

- creșterea înălțimii vilozităților duodenale a fost foarte semnificativă la lotul LT-2% ($p < 0,001$), și semnificativă ($p < 0,05$) la puii din loturile LT-1%, LS-1% și LEP față de lotul LC. Creșterea raportului înălțime vilozități/adâncime cripte a fost asociată cu îmbunătățirea performanțelor de creștere la loturile LT-2% și LS-0,5%.

- examenul histologic nu a scos în evidență modificări morfologice importante la nivelul organelor interne la loturile experimentale, acestea au prezentat în general, un aspect normal.

- în funcție de cantitatea și forma de administrare a subproduselor vinicole în hrana păsărilor, rezultatele noastre dovedesc implicarea polifenolilor în modularea răspunsului imun local și sistemic, dozele mici generând transmigrarea, diferențierea și proliferarea controlată a celulelor sistemului imun, iar dozele mari inducând fenomene hiperimune și o accentuată dezvoltare a vilozităților intestinale.

- din cele prezentate mai sus, rezultă că subprodusele vinicole ar putea fi folosite ca stimulatori de creștere în hrana puilor broiler putând să favorizeze buna funcționare a intestinului, măbind suprafața de absorbție a nutrienților, și inducând, dependent de doză, efecte imunomodulatoare locale și sistemice.

• *Concluzii referitoare la parametrii productivi și calitativi ai oului realizate de găinile ouătoare în urma introducerii în hrana acestora a unor subproduse vinicole:*

- din datele prezentate cu privire la efectul tescovinei și semințelor de struguri asupra performanțelor productive reiese că proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor ouătoare a îmbunătățit producția de ouă (cu 2,80%), intensitatea de ouat (87,50% vs. 85,12%) și eficiența hranei (IC mai redus cu 0,43%).

- utilizarea tescovinei în proporție de 2 și 4% în hrana găinilor ouătoare a avut un impact negativ, cu diferențe semnificative asupra performanțelor productive; scăderea producției de ouă (cu 10,49% la LT-2% și cu 6,76% la LT-4%) și creșterea consumului de hrană (cu 4,36% la LT-2% și cu 4,04% la LT-4%) a determinat scăderea eficienței hranei (IC cu 17,87% la LT-2% și cu 11,91% la LT-4%).

- din datele prezentate cu privire la efectul tescovinei și semințelor de struguri asupra calității ouălor proaspete, a reieșit că după 30 de zile de experiment factorii experimentali nu au influențat semnificativ ($p > 0,05$) greutatea și componentele oului, greutatea specifică, grosimea cojii și culoarea gălbenușului. După 30 de zile, s-a constatat o îmbunătățire semnificativă a indicelui Haugh, indicelui albușului și indicelui gălbenușului la ouăle din lotul LT-2% și LS-2%. Calitatea cojii nu a fost ameliorată de factorii experimentali, greutatea și grosimea cojii au scăzut în special la lotul LT-2%. Lotul LS-2% a înregistrat în schimb, o valoare a greutății cojii mai bune față de cea obținută la debutul experimentului (cu 2,71%).

- din datele prezentate cu privire la efectul tescovinei și semințelor de struguri asupra indicatorilor biochimici la ouăle proaspete, a rezultat că factorii experimentali utilizați în hrana găinilor ouătoare au influențat pozitiv compoziția acizilor grași din gălbenușul oului proaspăt. Proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor (LS- 2%) a îmbunătățit raportul $\Omega 6/\Omega 3$ în gălbenușul de ou (8,68 vs 9,43) prin creșterea semnificativă a conținutului în acizi grași n-6 [acidul eicosatrienoic- (C20:3n-6); acidul arachidonic (C20:4n-6)] și respectiv în acizi grași n-3 [acidul eicosatrienoic (C20:3n-3) și acidul docosahexaenoic (C22:6n-3)]. De asemenea, o îmbunătățire a raportului $\Omega 6/\Omega 3$ a fost evidențiată și la lotul care a primit în hrană o proporție de 2% tescovină (8,96 vs.9,43), însă nu a existat o creștere semnificativă a acizilor grași n-3 și n-6 în gălbenușul de ou, cu excepția acidului eicosatrienoic (C20:3n-3). Conținutul în acid linoleic din gălbenuș nu s-a modificat foarte mult la loturile experimentale; o valoare mai ridicată a fost înregistrată la lotul care a primit în hrană o cantitate de 4% tescovină în hrană (22,97% vs. 20,47%).

- conținutul în colesterol din gălbenușul de ou nu a fost modificat de factorii experimentali. Valorile obținute fiind apropiate lotului de control.

- factorii experimentali nu au modificat statusul antioxidant total din componentele oului și din serul găinilor ouătoare, valorile înregistrate fiind foarte apropiate de lotul LC. O valoare mai ridicată a TAS-ului din ser a fost înregistrată la lotul LS- 2% (1,51 mmol/L vs. 1,44 mmol/L).

Din datele prezentate cu privire la evaluarea gradului de degradare al prospețimii oului pe perioada stocării am concluzionat că proporția de 2%

semințe utilizată în hrana găinilor ouătoare a îmbunătățit indicatorii fizici interni ai oului pe întreaga perioadă de stocare, cu scăderi mai reduse ale greutateii specifice (1,84%) indicelui gălbenușului (8,75%), indicelui Haugh (11,65%) și indicelui albușului (9,69%). Scăderi semnificative ale indicelui albușului și Haugh au fost evidențiate din a treia săptămână de stocare ($p < 0,001$) iar cele ale indicelui gălbenușului din a patra săptămână ($p < 0,05$) la lotul LS-2%. Acest lucru a condus la o stabilitate mai bună a caracteristicilor interne ale oului pe perioada depozitării (28 zile). Ouăle din lotul LS-2% nu au înregistrat diferențe semnificative ale indicatorilor față de lotul LC, pe întreaga perioadă de stocare.

În schimb, proporția de 2 și 4% tescovină utilizată în hrană nu a îmbunătățit indicatorii fizici de calitate pe perioada stocării; cantitatea de 2% tescovină a afectat semnificativ parametrii fizici interni ai ouălor, înregistrând reduceri mai mari ale greutății specifice (1,94%), indicelui albușului (35,74%), indicelui Haugh (16,74%) și indicele gălbenușului (11,69%) pe întreaga perioadă de stocare. Scăderi semnificative ($p < 0,001$) ale acestor parametri (Ia, Ig, UH) au fost evidențiate chiar din prima săptămână de stocare în cazul lotului LT-1%. La 21 de zile de depozitare, ouăle din loturile LT-2% și LT-4% au prezentat scăderi distinct semnificative ale indicelui Haugh ($p < 0,01$) comparativ cu lotul de control. În aceeași perioadă de stocare, lotul LT-2% a înregistrat de asemenea, o reducere semnificativ mai mare ($p < 0,01$) a indicelui albușului față de lotul de control.

Cercetările efectuate au evidențiat că subprodusele vinicole utilizate, prezintă interes pentru nutriția păsărilor, prin conținutul de nutrienți, mai ales în polifenoli și acizi grași polinesaturați, iar rezultatele experimentale au confirmat că în funcție de proporția utilizată în hrană acestora putem avea efecte pozitive și asupra performanțelor și stării de sănătate și a unor aspecte de calitate a producției obținute.

Doctoral dissertation summary

The doctoral thesis, entitled ***“Wine industry originated resources with possibilities of valorification in the animal nutrition”*** has a two-part structure: the bibliographical part and the own research part and it comprises 8 chapters, to which the general conclusions, the recommendations and the studied bibliography were added; the thesis has 277 pages, 50 tables, 144 illustrations and 350 bibliographical titles.

Part I. – **The present state of knowledge** consists of two chapters, relevant for the proposed topic: CHAPTER I. *Attainment and nutritional evaluation of the wine industry by-products, exploitable in animal nutrition* and CHAPTER II. *The use of some wine industry by-products in animal nutrition*.

In the second part of the thesis, **Own research**, starting from the general purpose of evaluating the chemical composition and establishing a preservation method for certain wine industry by-products, together with their use in the nutrition of certain poultry categories (broiler chickens and laying hens), I have particularized the research previously carried out, in order to obtain results with scientific value, based on which an original behaviour can be reformulated with the purpose of a better use of the winery by-products in the poultry nutrition.

In order to achieve the intended purpose, the research was carried out following **four main objectives**. **First objective was to establish a grape pomace preservation procedure, for an improved exploitation in the poultry nutrition.** The grape pomace preservation procedure was conducted taking into account the effects the drying temperature has on the amount of polyphenols contained by the grape pomace.

The second objective regarded **the determination and the comparative evaluation of the chemical content of grape pomace and vegetable fractions – seeds, skins and stalks** from several grape varieties obtained in different years, aiming to an optimal use in poultry nutrition. The grape pomace samples, gathered from three wine-growing centres: Huși vineyard, Adamachi farm of Iași, Center of Research and Development for Viniculture and Winemaking of Iași (SCVV), were brought to the biobase of the Faculty of Animal Breeding from USAMV Iași for drying and grape pomace fractions separation (seeds, skins, stalks). The chemical and nutritional description of these winery by-products was performed in the Faculty of Animal Breeding's

Fodder Quality Control Laboratory from the USAMV Iași and at the Poultry Research Unit (URA), within INRA in France.

The third objective was to establish the effect grape seeds, whole grape pomace and aqueous polyphenols extract from the grape pomace included in the broiler chicken's nutrition has on their growth performance and on their health condition, when included in the broiler chickens nutrition. In order to establish the effect on the growth performance, the following aspects were monitored during the experiment: changes in body weight, weight gain, feed intake, feed conversion ratio and flock losses. For the chickens' health condition evaluation, at the age of 40 days, from their blood the total antioxidant status and the haematological profile were determined and histological analyses were made on tissue fragments from the stomach (glandular, mechanical), the intestine (duodenum, cecum), the heart, the liver, the spleen, the kidneys, sampled after the chickens' sacrifice.

The fourth objective was to establish the effect of whole grape pomace and grape seeds used in the laying hen nutrition on the egg's productive and qualitative parameters. Thereby, in order to achieve this objective, during the experiment, the following productive parameters were monitored: weekly average and total feed consumption, egg production and feed *conversion* for egg production. The quality of the fresh eggs harvested the first day and after 30 days of winery by-products administration in the hens' nutrition was evaluated. For the evaluation of egg freshness degradation degree during storage, the eggs were stored in the fridge, at a 4°C temperature, and at the end of every storage period: 7, 14, 21, 28 days, the physical parameters of egg quality were determined; the same workflow was followed in the second month of the experiment as well.

The physical parameters of egg quality determined for the fresh eggs are as follows: eggs' and egg components' weight, shell thickness, yolk colour, egg freshness appreciated based on the value of the Haugh unit, specific gravity (using the saline solution method) and freshness appreciation points (yolk and albumen index).

The internal physical indicators of quality evaluated during the eggs storage at 4°C were the following: egg weight, specific gravity, Haugh unit, yolk and albumen index.

Also, at the end of the experiment, fresh eggs samples were harvested for the total antioxidant status determination (TAS) in the egg components (albumen, yolk), cholesterol and fatty acids in the yolk, and blood samples too, for the hens' blood TAS determination.

The experimental research was conducted in the biobase of the Faculty of Animal Breeding from the „Ion Ionescu de la Brad” USAMV, of Iași.

In the experiment carried out on the broiler chickens, from the meat hybrid *Cobb 500*, 250 hatched chickens (divided into six groups) were used, between the ages of 1 and 40 days, while in the experiment carried out on the laying hens from the hybrid *Tetra-SL LL*, 48 hens (divided into four groups) with the age of 60 weeks were used.

The primary data resulted from the conducted research was processed using biostatistical methods. The following data processing methods were used: calculation the position and variation estimators, variation analysis, calculating the Pearson correlation coefficients, determining the simple regression equations (regression analysis), the „Boxplot” diagram (that highlights the values’ distribution).

In order to test the environments’ homogeneity and the significance of the differences between the environments the following calculation mathematical models were used: the ANOVA technique (variation analysis), the F test (the Fisher test for dispersions comparison) – based on the ANOVA technique, the t test (Student). The statistical data processing was automatically performed by a computer, using the Microsoft Office 2010 and 2016 (Microsoft Inc., SUA) software pack.

From the data generated by our own research on the preservation procedure and the chemical and nutritional description of some winery by-products and the possibilities of their use in the nutrition of some poultry categories, together with highlighting their influence on the obtained production’ s performance and quality, a series of conclusions were drawn, summarized as it follows:

- *Conclusions regarding the preservation procedure and the chemical content description:*

- a raise in the drying temperature (20°C, 38°C and 50 °C) causes a dramatic degradation on the amount of total polyphenols, tannins and anthocyanins contained by the grape pomace ($p < 0.001$); the optimal drying temperature for grape pomace is 20 °C (natural drying), in order to maintain the biologically active compounds to be used in the animal feeding.

- the collected data regarding the chemical composition of the four whole grape pomace types and their fractions, analyzed depending on the grape variety and on the obtaining year (2013, 2014) indicated the grape pomace from the Fetească neagră red grape variety, obtained in 2013-2014, as having a higher level of nutrients (PB%, GB%, SEN%, PT%, Ta%).

- a higher amount of total polyphenols (4.00% of DM) was detected in the grape pomace from the Fetească neagră variety, obtained in 2014, while the

amount detected in the other analyzed grape pomace types was only between 1.90% (mixture) – 2.20% of DM (the Fetească neagră variety, 2013).

- taking into consideration the chemical content of the analyzed grape pomace's fractions, the research revealed a higher level of crude protein (12.13-19.31%), crude ashes (7.40-11.90%) and nitrogen-free extractive substances (49.64-54.67%) in the skins compared with the seeds. The seeds presented a higher level of crude fat (12.15-14.82%), crude cellulose (38.19-45.57%), total polyphenols (2.72-5.23%) and tannins (2.26-4.47%) than the skins.

- it is worth noting that the whole grape pomace showed a lower level of total polyphenols, between 1.90-4.00%, compared with the level in the seeds, with values between 2.72-5.23%.

- the fatty acids from the seeds of the Fetească neagră (2014) variety presented a higher level of polyunsaturated fatty acids (69.59%), than the level found in the whole grape pomace (61.08%). The seeds presented a higher level of linoleic fatty acid 69.14%, compared to whole grape pomace (59.73%).

- since a greater amount of chemical components, especially polyphenols, was detected in the grape pomace from the Fetească neagră red grape variety (2014), this was considered the most appropriate grape pomace to be used in the poultry nutrition.

- *Conclusions regarding the productive performance of the broiler chickens after including certain winery by-products in their nutrition:*

- from the presented data regarding the effect of grape pomace, seeds and polyphenols extract, it was concluded that the proportion of 0.5% seeds (LS-0.5%) used in the broiler chickens' nutrition improved the productive performance throughout the growth period. At the age of 40 days, the registered medium body weight was significantly higher ($p < 0.01$) and the feed conversion coefficient was 3.97% higher than the control lot.

- instead, the use of a higher proportion of the seeds in the nutrition (1%) affected the growth performance, with the possibility of a late effect on the chickens' growth. Throughout the growth period, the chickens have recorded average body weight and reduced food consumption, unlike the control group.

- the use of grape pomace in a proportion of 1 and 2% in the broiler chickens' nutrition had a slight positive influence on growth; the medium body weights were higher with 1.20 (at a 1% proportion) – 2.74% (at a 2% proportion) compared with the control group. The feed conversion coefficient registered values 2.66% higher (at a 1 % proportion) than the control group.

- including the polyphenols extract in the chicken's (1.5% LEP group) drinking water affected the growth performance from the start of the experiment, the

lower weight gain could be a consequence of the high level of polyphenols found in the grape pomace extract, with a possible late effect on the chickens' growth.

- the antioxidant activity and the investigated red series haematological indices did not highlight significant changes in the chickens from the experimental groups, with winery by-products included in their feed. Peripheral blood leukocytes presented changes in all the experimental groups, compared to the control group, causing a regulation of immune response (lymphocytes growth – $p>0.05$ at a 1% proportion, or weightlifters reduction – $p<0.05$ at a 2% proportion), or a hyperimmune reactivity (increased eosinophils and basophils in the blood, increase of IgA plasma cells in the intestinal villi's lamina propria – $p<0.001$) at the LEP, 2% proportion and 1% proportion groups.

- the duodenal villi's height increase was very significant at the 2% proportion - LT-2% group ($p<0.001$) and significant ($p<0.05$) at the chickens from the LT-1%, LS-1% and LEP groups, compared with the control group. The increase in the relation villi height/crypt depth was associated with an improvement in the growth performance for the LT-2% and LS-0.5% groups.

- the histological examination did not reveal important morphological changes in the internal organs for the experimental groups, which generally presented a normal aspect.

- depending on the winery by-products' quantity and administration form in the poultry nutrition, our results prove the polyphenols' contribution to the immune response modulation, both locally and systemically, and while small doses generate transmigration, differentiation and controlled proliferation of the immune system's cells, big doses induce hyperimmune phenomena and an increased development of intestinal villi.

- considering the above, winery by-products could be used as growth stimulators in the broiler chickens' nutrition, with the possibility of favouring the intestine's proper functioning, increasing the surface of nutrient absorption and inducing local and systemic immunomodulatory effects (depending on the dosage).

- *Conclusions regarding egg's productive and qualitative parameters of the laying hens after including certain vine by-products in their nutrition:*

- the presented data regarding the grape pomace and grape seeds' effect on the production performance shows that a proportion of 2 % seeds included in the laying hens' nutrition improved the egg production (with 2.80%), laying intensity (87.50% vs. 85.12%) and feed efficiency (0.43% lower IC).

- the use of grape pomace in proportions of 2 and 4% in the laying hens' nutrition had a negative impact, with significant differences in the productive performance; the decreased egg production (with 10.49% at the LT-2% group

and with 6.76% at the LT-4% group) and the increased feed consumption (with 4.36% at the LT-2% group and with 4.04% at the LT-4% group) determined a decreased feed efficiency (IC with 17.87% at the LT-2% group and with 11.91% at the LT-4% group).

- the presented data regarding the effect of grape pomace and grape seeds on the fresh eggs quality revealed that after 30 days the experimental factors did not have a significant influence ($p > 0.05$) on the eggs' weight and components, specific weight, shell thickness or yolk colour. After 30 days, a significant improvement of the Haugh unit, albumen and yolk index was observed at the eggs from the LT-2% and LS-2% groups. The shell quality was not improved by the experimental factors, the shell thickness and weight decreased especially at the LT-2% group. The LS-2% group, however, recorded a higher level of shell weight compared to the level from the beginning of the experiment.

- the presented data regarding the effect of grape pomace and grape seeds on the biochemical indicators of the fresh eggs showed that the experimental factors used in the laying hens' nutrition positively influenced the fatty acids' composition in the fresh egg yolk. A proportion of 2% seeds used in the hens' nutrition (LS- 2%) improved the $\Omega 6/\Omega 3$ balance in the yolk (8.68 vs 9.43) through a significant increase in n-6 fatty acids amount [the eicosatrienoic acid - (C20:3n-6); the arachidonic acid (C20:4n-6)] and n-3 fatty acids [the eicosatrienoic acid (C20:3n-3) and the docosahexaenoic acid (C22:6n-3)]. Also, an improvement in the $\Omega 6/\Omega 3$ balance was noticed at the lot that received a proportion of 2 % grape pomace in the nutrition (8.96 vs.9.43), but no significant increase of the n-3 and n-6 fatty acids in the yolk was detected, except for the eicosatrienoic acid (C20:3n-3). The linoleic acid amount in the yolk did not present notable changes at the experimental lots; a higher level was detected at the lot that received a proportion of 4 % grape pomace in the nutrition (22.97% vs. 20.47%).

- the cholesterol amount in the yolk was not altered by the experimental factors, the values were similar to those of the control group.

- the experimental factors did not alter the total antioxidant status from the egg components and from the laying hens' serum, the registered values being similar to those of the control group. A higher level of the TAS in the serum was registered at the LS- 2% group (1.51 mmol/L vs. 1.44 mmol/L).

The data regarding the evaluation of egg freshness degradation degree during storage indicated that a proportion of 2 % seeds included in the laying hens' nutrition improved the egg's internal physical indicators throughout the

storage period, with reduced decrease of the specific gravity (1.84%), yolk index (8.75%), Haugh unit (11.65%) and albumen index (9.69%). Significant decreases in the albumen index and Haugh unit were noticed in the third week of storage ($p<0.001$) and significant decreases in the yolk index were noticed in the fourth week of storage ($p<0.05$) at the LS-2% group. This led to greater stability of the egg's internal characteristics during storage (28 days). The eggs from the LS-2% lot did not register significant differences regarding the indicators compared to the control lot throughout the storage period.

However, proportions of 2 and 4 % grape pomace included in the nutrition did not improve the physical indicators of quality during the storage period; a proportion of 2% grape pomace visibly affected the eggs' internal physical parameters, recording bigger decreases in the specific gravity (1.94%), albumen index (35.74%), Haugh unit (16.74%) and yolk index (11.69%) throughout the storage period. Significant decreases ($p<0.001$) of these parameters (Gs, Iy, Hu) were noticed at the LT-1% group from the first week of storage. After a 21 days storage, the eggs from the LT-2% and LT-4% groups showed significant decreases of the Haugh unit ($p<0.01$) compared to the control group. In the same storage period, the LT-2% group also registered a significant bigger decrease ($p<0.01$) of the albumen index compared to the control group.

The conducted research highlighted that the used winery by-products are of interest for the poultry nutrition, due to the nutrients amount, especially polyphenols and polyunsaturated fatty acids, and the experimental results confirmed that, depending on the proportion used in the nutrition, they can also have positive effects on the performance and health condition, as well as on some quality aspects of the obtained production.

INTRODUCERE

INTRODUCTION

În ultimul deceniu, pe fondul creșterii consumului de energie primară se manifestă tendința de a înlocui combustibilii fosili utilizați în transport cu biocombustibili, obținuți cu precădere din surse vegetale precum porumb, soia, camelină, rapiță (*Cottrill și colab., 2007*), resurse care sunt utilizate în hrana monogastricelor.

Supraviețuirea industriei creșterii păsărilor este dependentă de aceste resurse energetice și proteice. Totodată, este de așteptat ca folosirea materiilor prime indispensabile sectorului de creștere a puilor și în alte domenii de activitate să genereze dezechilibre la nivel de preț și disponibilitate. Drept urmare, în prezent, cercetările sunt îndreptate spre identificarea unor surse furajere noi, neconvenționale, a căror utilizare să nu afecteze semnificativ productivitatea și calitatea produselor obținute de la animale.

În altă ordine de idei, alte industrii precum cea de obținere a vinului este în dezvoltare. Prin extinderea plantației de *Vitis vinifera* în lume se obține o producție de 68 milioane de tone de struguri în anul 2010. Potrivit Organizației Internaționale a Viei și Vinului (OIV), 80% din recolta totală este utilizată în vinificație iar tescovina reprezintă aproximativ 20% din greutatea totală a strugurilor recoltați (*Sui și colab., 2014*).

În timpul procesului de vinificație, ca produse secundare se colectează ciorchinii, în urma desciorchinării, tescovina (pielițele și semințele) în urma zdrobirii și presării strugurilor, și drojdiile care rezultă în urma fermentării mustului și stocării vinului.

Annual, în zonele cu producție viticolă rezultă cantități mari de subproduse, care dacă nu sunt prelucrate corect, pot prezenta un risc de poluare a mediului înconjurător. Ca măsuri de protecție a mediului este necesară o bună gestionare a subproduselor rezultate din vinificație. În regiunile majore de

viticultură cum sunt Franța, Spania, Grecia, sudul Australiei utilizarea sezonieră a tescovinei în stare proaspătă în hrana animalelor se face în mod frecvent.

Studii recente au subliniat importanța subproduselor din industria de vinificație ca materiale vegetale care sunt deosebit de bogate în polifenoli cu importante activități biologice (*Alonso și colab., 2002; Xia și colab., 2010*).

În prezent, tescovina se valorifică parțial doar pentru extracția uleiului din semințe, utilizat ca o sursă suplimentară de ulei în industria farmaceutică datorită unor proprietăți farmacodinamice: antioxidante, antibacteriene, hipocolesterolemice, citostatice etc (*Xia și colab., 2010*). Semințele de struguri constituie o proporție considerabilă din masa tescovinei uscate, de aproximativ 38-52%, iar uleiul conținut în semințe în medie de 11,6-19,6% (*Jianmei Yu și Mohamed Ahmedna, 2013*) este foarte bogat în acizi grași polinesaturați, în special în acid linoleic (*Schieber și colab., 2002*).

În industria uleiurilor, în urma separării semințelor pentru extracția uleiului, rămân ca resursă pielile care ar putea fi valorificate în hrana animalelor datorită conținutului mai scăzut în celuloză brută, în special în lignină și în compuși secundari (taninuri) spre deosebire de semințe (*Spanghero și colab., 2009*). De asemenea pielile au un conținut mai ridicat în proteină brută, cenușă brută și în antociani, aceștia din urmă ar putea influența culoarea iar prin proprietățile lor antioxidante, calitatea produselor de origine animală.

Tescovina este alcătuită în principal din pielile și semințe și o proporție mai mică de ciorchine iar compoziția ei chimică variază în mod considerabil, în funcție de soiul și varietatea strugurilor, condițiile pedoclimatice ale viței de vie și de tehnologia de vinificație, etc. Studii privind compoziția chimică a tescovinei de struguri ca pe lângă conținutul său în proteine, zaharuri, lipide, substanțe minerale și vitamine aceasta mai conține cantități ridicate de compuși polifenolici (*Aslanian și colab., 2011*).

Polifenolii se acumulează în părțile solide ale strugurilor în pielile (28-35%) semințe (60-70%) și ciorchini (mai puțin de 10%) care în urma procesului de macerare-fermentare trec în must și vin, până la 50% din aceștia, restul rămânând în tescovină (*Bișboacă, 2012*).

Extractele obținute din semințe de struguri și tescovină conțin cantități mari de compuși fenolici cu proprietăți antioxidante iar activitatea biologică a acestora depinde de biodisponibilitatea lor și poate fi exercitată atât la nivel local (tractul intestinal) cât și la nivel sistemic (*Scalbert și Williamson, 2000*).

Compușii antioxidanți prezenți în struguri au fost deja identificați ca fiind acizii fenolici: acidul benzoic și acidul hidroxicinamic, derivați ai stilbenelor, flavan-3-oli (catechine și epicatechine), flavonoli (quercetine și mircetine) și antocianidine (*Caillet și colab., 2006*).

Activitatea antioxidantă a acestor compuși în tescovină ar putea avea efecte suplimentare, cum ar fi: reținerea altor antioxidanți în organism, protecția moleculelor față de daunele provocate în timpul digestiei și protecția epitelului intestinal față de degradările oxidative cauzate de factorii nutritivi sau de producții metabolismului bacterian (*Scalbert și Williamson, 2000; Goni și Serrano, 2005*).

Numeroase studii au demonstrat că metaboliții secundari ai plantelor (taninurile) au capacitatea de a modifica fermentația rumenală și de a reduce producția de metan la rumegătoare, îmbunătățind astfel eficiența de utilizare a hranei la animale (*Bodas și colab., 2012*). Potrivit unor studii realizate în Australia s-a demonstrat faptul că prin suplimentarea rației vacilor de lapte cu subproduse din vinificație (tescovina), acestea pot reduce emisiile de metan cu 20% (*Moate, 2012*).

Özkan și colab., (2004); Papadopoulou și colab., (2005) au evidențiat că extractele de polifenoli din struguri pot influența microflora intestinală, prin stimularea bacteriilor benefice și inhibarea celor patogene. În mod similar, conținutul de fibre asociate cu polifenolii din tescovină ar putea juca un dublu mecanism, prin aceea de a stimula fermentația intestinală și de a influența în mod benefic producția unor metaboliți microbieni.

În urma acestor observații privind conținutul în compuși biologic activi ai semintelor și pielitelor (tescovina) cât și a numeroaselor proprietăți benefice (cu deosebire profilactice, pe baza proprietăților antimicrobiene), folosirea subproduselor vinicole în alimentația animalelor poate fi o bună alternativă la aditivii furajeri obținuți pe cale sintetică pentru a preveni unele boli și a îmbunătăți sănătatea animalelor.

În funcție de substanțele bioactive conținute, subprodusele vinicole pot fi de asemenea utilizate în scop biostimulator pentru a urmări alte efecte benefice cum ar fi: stimularea creșterii și a consumului de hrană, îmbunătățirea digestiei și a valorificării hranei, creșterea capacității imunitare și pe aceste baze-îmbunătățirea performanțelor zootehnice în general.

Utilizarea acestor subproduse în alimentația animalelor poate fi avantajoasă din punct de vedere economic datorită ponderii mari obținute după prelucrarea strugurilor. Acestea ar putea înlocui unele nutrețuri care necesită anumite condiții de cultivare și sunt foarte scumpe sau ar putea înlocui unii aditivi furajeri.

O utilizare corectă a subproduselor din industria de vinificație în hrana animalelor necesită o bună cunoaștere a modului de conservare, a compoziției chimice și a valorii nutriționale precum și mijloacele susceptibile pentru o mai bună asimilare a nutrienților în organism.

PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

PART I: PRESENT STATE OF KNOWLEDGE

CAPITOLUL I. OBȚINEREA ȘI EVALUAREA NUTRIȚIONALĂ A SUBPRODUSELOR DIN VINIFICAȚIE UTILIZABILE ÎN ALIMENTAȚIA ANIMALELOR

CHAPTER I. ATTAINMENT AND NUTRITIONAL EVALUATION OF THE WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS EXPLOITABLE IN ANIMAL NUTRITION

1.1 OBȚINEREA SUBPRODUSELOR DIN INDUSTRIA DE VINIFICAȚIE

Strugurii sunt fructele viței de vie (*Vitis vinifera*), folosiți ca atare ori ca materie primă în vinificație. Se recoltează la maturitatea tehnologică sau pentru consum într-un anumit stadiu de coacere. După zdrobire sau presare cu mijloace obișnuite se obține mustul ce va fi utilizat în tehnologia de obținere a vinului.

În afara produselor de bază, must și vin, de la prelucrarea strugurilor și condiționarea vinurilor, rezultă și însemnate cantități de alte produse, grupate sub numele generic de produse secundare sau subproduse.

Subprodusul este reziduul obținut în cursul prelucrării unei materii prime și care nu mai poate fi folosit în acel proces de prelucrare. În industrie, subprodusul se confundă cu deșeurile. În vinificație ponderea produselor secundare depășește 18-20 % din cantitatea strugurilor prelucrați (*Nerantzis și Tataridis, 2006*).

În funcție de operațiile tehnologice aplicate mustului și vinului, subprodusele vinicole rezultate din industria vinului sunt următoarele:

- *ciorchinii*, care în mod obișnuit sunt separați prin desciorchinare înainte de presarea strugurilor;
- *tescovina*, rezultată fie de la presarea strugurilor în cazul preparării vinurilor albe fie din zdrobirea strugurilor roșii și de la presarea boștinei fermentate, în cazul preparării vinurilor roșii;

- *semințele de struguri* care în mod obișnuit sunt separate de tescovina proaspătă pentru extragerea uleiului și a taninului;
- *drojdiile de vin* reprezintă depozitul format în recipiente în urma fermentării mustului și stocării vinului;
- *tirighia (piatra de var)* care în timpul fermentării mustului și depozitării vinului se depune pe pereții vaselor;
- *borhotul* rezultă în urma distilării vinului pentru coniac.

Tescovina (marcul de struguri) reprezintă fracțiunea solidă care rezultă în urma presării boștinei. Cantitatea de tescovină reprezintă 20-30% din cantitatea de struguri prelucrați. Pentru evacuarea tescovinei din spațiile tehnologice, se folosesc transportoarele cu racleți, cu cupe sau șnec (*Țârdea și colab., 2000*).

În funcție de tehnologia folosită, tescovina poate fi dulce (proaspătă nefermentată), rezultată direct de la presarea strugurilor proaspeți și tescovină fermentată, rezultată în timpul păstrării sau de la presarea boștinei fermentate. După culoare se pot deosebi două feluri de tescovină: albă și roșie. Vinificația în roșu se deosebește de cea în alb, prin faptul că mustul trebuie să rămână în contact cu boștina un timp îndelungat, iar presarea boștinei se face după fermentație (fig. 1.1, schema b.).

Tehnologia de producere a vinurilor albe (fig. 1.1, schema a.) este cea mai pretențioasă, deoarece prelucrarea strugurilor trebuie să se realizeze într-un interval cât mai scurt de timp, contactul mustului cu aerul și părțile solide ale strugurilor trebuie să fie cât mai redus posibil. Orice defect tehnologic cât de mic se evidențiază în calitatea vinurilor albe, îndeosebi în culoarea și gustul lor (*Țârdea și colab., 2000*).

Etapa tehnologică cea mai importantă pentru vinificația în roșu este macerarea-fermentarea mustului pe boștină, prin care se realizează extracția din struguri a compușilor polifenolici (antociani, taninuri), compuși care conferă culoarea și aroma vinului. Pentru vinurile roșii de consum curent, ce se consumă ca vinuri tinere cu multă prospețime și fructuozitate, procesul de macerare-fermentare pe boștină trebuie să fie de scurtă durată (2-3 zile). La vinurile roșii de calitate care au nevoie de mai mult tanin pentru învechire, macerarea este de durată mai lungă (*Țârdea și colab., 2000*).

În vederea obținerii de vinuri speciale, strugurii se recoltează la maturitatea tehnologică sau la supracoacere. Recoltarea strugurilor se poate face manual sau mecanizat în funcție de posibilități. Odată ajunși la unitatea de vinificație, strugurilor li se face recepția calitativă și cantitativă.

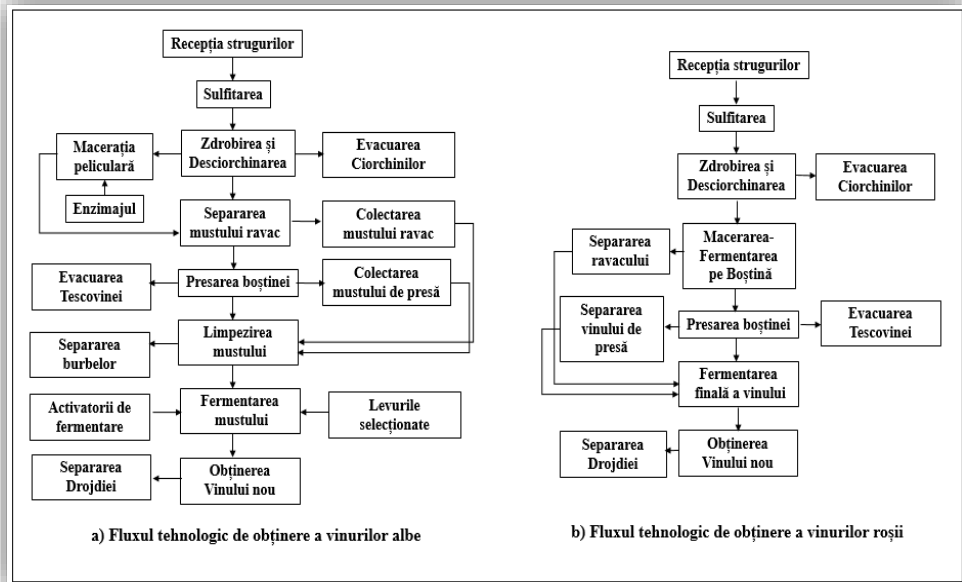


Fig.1.1. Fluxul tehnologic de producere a vinurilor albe și roșii (după Țârdea și colab., 2000).

Fig. 1.1. The technological flow of white and red wine production. Adapted from Țârdea et al., (2000).

Strugurii sunt descărcați într-un buncăr de inox, prevăzut cu un șnec ce are proprietatea de transport a acestora la desciorchinător – zdrobitor. Acesta separă ciorchinii de mustuală fără ca ei să fie presați. Ciorchinii au un conținut ridicat de substanțe azotate și taninuri care pot trece în urma zdrobirii în must, imprimându-i un gust ierbos și astringent, necaracteristic tipului de vin.

Ciorchinii sunt preluați de o bandă cu racleți și transportați cu remorca, la platforma de depozitare.

Prin intermediul pompei speciale, mustuală ajunge la presa pneumatică ce separă mustul de boștină, fără a zdrobi semințele care au în componența lor o cantitate mare de taninuri, ce pot trece în must imprimându-i un gust astringent.

Presarea este ultima operațiune tehnologică din procesul de prelucrare a strugurilor. Prin presare, se extrage fracțiunea de must rămasă în boștină după scurgerea ravacului. Presarea se efectuează:

- fie asupra boștinei înainte de fermentare, în cazul vinificației în alb, sau direct asupra mustuiei, uneori chiar a strugurilor;

- fie asupra boștinei fermentate, în cazul vinificației în roșu și a strugurilor aromați.

Prin procesul de presare are loc strivirea pielitelor, în unele cazuri zdrobirea prin frecare a semințelor, eventual a ciorchinilor rămași în masa boștinei. Ca urmare, mustul de presă va conține cantități mai mari de burbe (resturi de pământ), substanțe tanante și azotate, acizi organici, săruri, etc. Calitatea mustului de presă fiind deci inferioară mustului ravac.

Tescovina (boștina) rezultată în urma presării este transportată prin intermediul unei benzi la finalul căreia se încarcă în utilaje mecanice de transport pentru depozitare. Tescovina astfel obținută poate fi utilizată în diferite sectoare, îndeosebi în hrana animalelor.

După terminarea fermentației alcoolice vinul se transvazează prin intermediul unei pompe cu piston în alt recipient, în timpul acestei operațiuni se administrează 20 g/h SO₂ care are proprietatea de a nu permite oxidarea vinului. Această operațiune se mai numește “pritocul prematur”, în urma căruia rezultă o cantitate de 3-5% drojdie ce este depozitată într-un recipient separat. În final se extrage circa 5-7% drojdie și prin pritocurile I – II – III. Drojdia rezultată poate fi utilizată în hrana animalelor, ca sursă de proteine și vitamine (în special din complexul B).

Schema generală de prelucrare a strugurilor și produsele principale rezultate din vinificație este prezentată în figura 1.2.

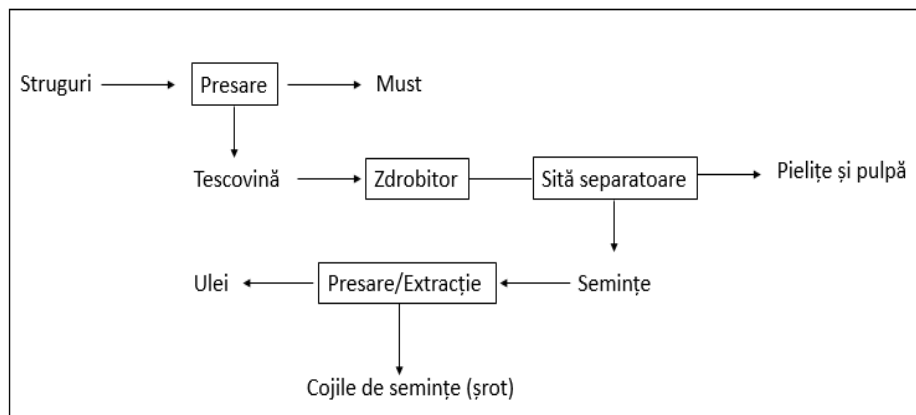


Fig.1.2. Schema generală privind procesarea strugurilor și subprodusele vinicole rezultate (după Nair și Pullammanappallil P., 2003).

Fig.1.2. The general scheme of grapes processing and resulted winery by-products. Adapted from Nair and Pullammanappallil P., (2003).

În cazul în care strugurii sunt separați de ciorchine înaintea procesării, reziduul rezultat este format din aproximativ 40% semințe și 60% pielite și pulpă.

Tescovina presată cu ciorchini este compusă din 30% ciorchini, 30% semințe și respectiv 40% pielețe și pulpă. Prin îndepărtarea pulpei de semințe la un zdrobitor se poate obține tescovina cu pielețe și semințe, iar pentru a separa semințele de pielețe, tescovina este trecută printr-o sită vibratoare. Pielețele și pulpa obținute reprezintă prima fracțiune iar semințele a doua fracțiune. Cantitatea de pielețe uscate poate ajunge până la 54,9% în tescovina roșie și doar de 34,4% în tescovina albă. În tescovina albă proporția de semințe este cuprinsă între 43% și 52% iar proporția de ciorchine poate înregistra valori de 6-7 ori mai mari decât cea corespunzătoare tescovinei roșii (*Larrauri și colab., 1996*).

Drojdia de vin (specii din genul *Saccharomyces*) este un alt produs secundar vinicol care formează depozitul tulbure și gros de pe fundul vasului, fie după decantarea mustului, fie după fermentarea lui și tragerea vinului limpede de deasupra. Are înfățișarea unui terci mai mult sau mai puțin gros de culoare roșie murdară la vinurile roșii și de culoare alb-gălbuie până la galbenă cafenie la vinurile albe.

Rolul principal al levurilor este de a transforma zahărul prezent în struguri (în special glucoza) în dioxid de carbon și alcool. Levurile sunt prezente în mod normal pe pielețele strugurilor.

O etapă importantă care trebuie efectuată în procesul maturării și învechirii vinurilor, o reprezintă pritocirea. Operația de pritocire constă în tragerea vinului dintr-un vas într-altul cu scopul principal de-al separa de drojdia depusă la fundul vasului, prevenindu-se astfel apariția de mirosuri și gusturi neplăcute cum ar fi cel de drojdie, de hidrogen sulfurat, mercaptani, defecte care pot apărea prin descompunerea levurilor depuse.

Depozitul de levuri din vin reprezintă 5–8% din volumul vinului (când se utilizează prese discontinue) sau 12–15% (când se utilizează prese continue).

Ca măsuri de protecție a mediului este necesară o bună gestionare a subproduselor rezultate din industria de vinificație. O utilizare corectă a acestor subproduse în alimentația animală necesită o bună cunoaștere a modului de conservare, a compoziției chimice și a valorii nutriționale.

1.2 EVALUAREA NUTRIȚIONALĂ A UNOR SUBPRODUSE DIN VINIFICAȚIE

Așa cum s-a menționat anterior, în urma prelucrării strugurilor, rezultă cantități însemnate de subproduse vinicole care pot fi surse valoroase de hrană pentru animale, datorită calității nutriționale a compușilor conținuți, și anume:

acizi grași polinesaturați, polifenoli, vitamine, proteine, fibre, minerale (Aslanian și colab., 2011, Baumgärtel și colab., 2007).

1.2.1 Evaluarea nutrițională a tescovinei

Tescovina obținută în timpul procesului de vinificație este alcătuită în principal din pielțe și semințe și o proporție mai mică de ciorchine iar compoziția ei chimică variază în mod considerabil, în funcție de soiul și varietatea strugurilor, condițiile pedoclimatice ale viței de vie și de tehnologia de vinificație (Aslanian și colab., 2011).

În stare proaspătă sau însilozată, acest produs conține între 32 și 46% substanță uscată, 11-14% proteină brută, 5-8% grăsime brută, 24-29% celuloză brută și 5-7% cenușă brută, (Magnier, 1991).

Studii privind compoziția chimică a tescovinei au evidențiat că pe lângă conținutul său în grăsimi, proteine, minerale și zaharuri (Aslanian și colab., 2011), aceasta mai conține cantități ridicate de polifenoli (Alonso și colab., 2002).

Strugurii conțin un număr mare de substanțe fenolice a căror importanță în metabolismul și dezvoltarea viței de vie este egală cu a glucidelor, acizilor organici, substanțelor proteice și a sărurilor minerale. Constituienți ai metabolismului vegetal secundar, compușii polifenolici au roluri extrem de complexe în structura funcțională a organismelor vegetale putând acționa ca fitoalexine, atractanți pentru polenizatori, pigmenți, antioxidanți, agenți anti-UV, etc.

Din punct de vedere chimic, fenolii sunt substanțe care prezintă în structura lor un inel aromatic (benzen) cu una sau mai multe grupări hidroxil (-OH), incluzând derivații funcționali (Vermerris și Nicholson, 2006). Au fost identificați peste 8000 de compuși fenolici care în funcție de similaritatea structurilor lor chimice au fost clasificați în diferite grupe (fig. 1.3).

Acești compuși contribuie la culoarea, flavoarea, astringența, mirosul și stabilitatea oxidativă a alimentelor (Shahidi și Nacz, 1995).

Compușii polifenolici se acumulează în părțile solide ale strugurilor în pielțe (28-35%), semințe (60-70%) și ciorchini (mai puțin de 10%) care în urma procesului de macerare-fermentare pe boștină trec în must și vin până la 50% din aceștia, restul rămânând în tescovină (Bișboacă, 2012). Compușii fenolici din struguri includ în principal antociani, flavone, flavonoli, stilbenele (resveratrol) și acizi fenolici (Dopico-Garcia și colab., 2008). Acești compuși au capacitatea de a acționa în calitate de antioxidanți puternici prin captarea radicalilor liberi și reducerea reacțiilor de oxidare (Gonzalez-Parama și colab., 2004).

Compoziția fenolică din tescovină variază mult datorită varietății de struguri, condițiilor de mediu și climat, tipului de sol, gradului de coacere și procesului de vinificație.

Există multe referințe în literatura de specialitate cu privire la compoziția și proprietățile antioxidante ale tescovinei (Gonzalez-Parama și colab., 2004); în schimb, sunt puține studii cu privire la digestibilitatea și degradarea intestinală a polifenolilor și a altor compuși din struguri.

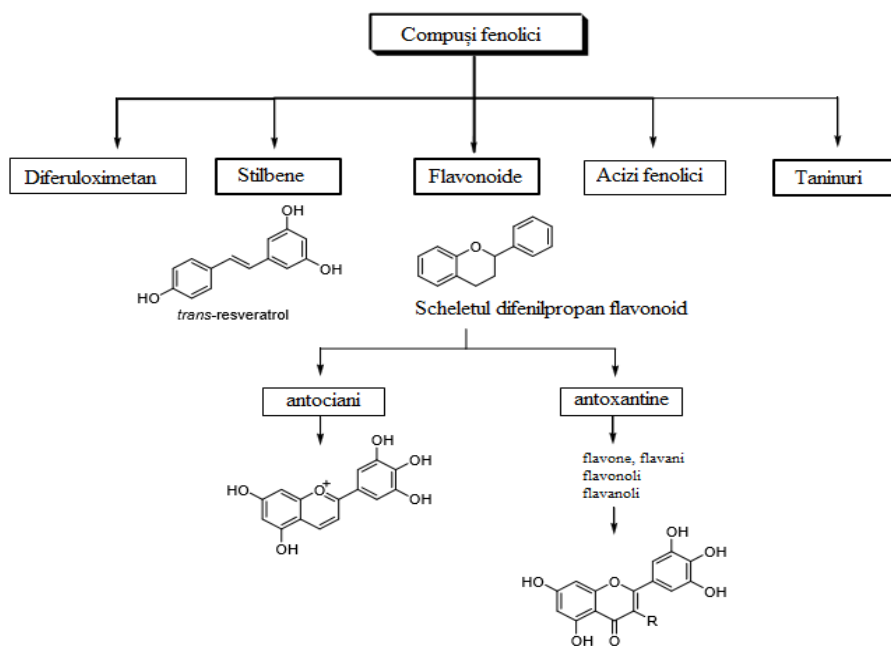


Fig.1.3. Clasificarea polifenolilor (după Han și colab., 2007)

Fig.1.3. Polyphenols classification. Adapted from Han et al., (2007)

Pentru abordarea practică, în hrana animalelor au fost efectuate studii privind efectele uscării și însilozării asupra compoziției chimice a tescovinei. În acest sens amintim studiul efectuat de Pirmohammadi și colab., (2007) (tabel. 1.1).

Rezultatele obținute în acest studiu relevă că degradabilitatea tescovinei însilozate este mai redusă decât cea a tescovinei uscate. Degradabilitatea efectivă a tescovinei a înregistrat valori de 35,9% pentru cea însilozată și respectiv 22,9% pentru cea uscată. În timpul însilozării au loc procese de fermentație datorate activității microbiene, a drojdiilor și a bacteriilor lactice (De Pina și Hogg, 1999), ceea ce poate determina scăderea compușilor solubili (zaharurilor) și creșterea celor insolubili, respectiv a pereților celulari (ADF, NDF și lignina), ducând astfel la scăderea degradabilității cât și a digestibilității tescovinei (Baumgartel și colab, 2007; Pirmohammadi și colab., 2007).

Proprietățile nutriționale ale tescovinei depind de tehnologia de producere a vinului, de soiul și varietatea de struguri (*Aslanian și colab., 2011*), modului de uscare și păstrare a tescovinei și de proporția de semințe, pielite, pulpă și ciorchine din biomasa tescovinei (*Baumgartel și colab., 2007*). Acești factori pot influența atât compoziția chimică cât și digestibilitatea tescovinei.

În funcție de tehnologia folosită, tescovina poate fi dulce (proaspătă nefermentată), rezultată direct de la presarea strugurilor proaspeți și tescovină fermentată, rezultată în timpul păstrării sau de la presarea boștinei fermentate. După culoare se pot deosebi două feluri de tescovină: albă și roșie.

În general tescovina obținută din strugurii roșii este superioară din punct de vedere nutrițional față de cea obținută din strugurii albi. Conținutul în nutrienți este mai ridicat în semințe, pielite, pulpă și mai scăzut în ciorchini (*Basalan și colab., 2011*).

Tab. 1.1. Compoziția chimică a tescovinei uscate și însilozate (% din SU) (după Pirmohammadi și colab., (2007)

Tab 1.1. The chemical composition of dried and silaged grape pomace. Adapted from Pirmohammadi et al., (2007)

Compoziția chimică	Tescovina uscată	Tescovina însilozată
Substanța uscată	49,7	225
Substanța organică	92,8	944
Azot	2,1	2,3
Proteina brută	13,2	14,4
NDF	50,4	69,3
Taninuri totale	18,6	9,2
Polifenoli totali	23,6	13,2

Rondeau și colab., (2013), au studiat variabilitatea compoziției chimice a tescovinei albe și roșii din diferite areale, demonstrând că diferențele de compoziție chimică sunt datorate modului de cultivare și varietăților de struguri.

Baumgartel și colab., (2007) au determinat compoziția chimică a tescovinei provenite din diferite soiuri de struguri roșii și albi. După cum se poate evidenția în tabelul 1.2, compoziția chimică a tescovinei din strugurii roșii este diferită de cea a strugurilor albi.

Prezența unor factori antinutritivi (taninurile și lignina), și a proteinei insolubile (91%) în tescovină conduce la scăderea digestibilității substanței uscate (*Abel și Icking, 1984*), și valorii nutritive a subprodusului. Taninurile acționează pe de o parte în mod indirect, insolubilizând azotul din rumen, iar pe de altă parte pot

acționa direct, inhibând în mod parțial activitatea microorganismelor proteolitice din rumen (*Kibon și Orskov, 1993; Helena și colab., 2000*).

Din tescovina soiurilor de struguri roșii se pot extrage substanțe colorante și se poate prepara un enocolorant alimentar, utilizat în patiserie și la prepararea băuturilor, unde utilizarea coloranților naturali este mai indicată decât folosirea celor obținuți pe cale sintetică. După extragerea alcoolului și separarea semințelor, tescovina poate fi întrebuițată la prepararea făinii furajere pentru hrana animalelor (bovine) sau la fabricarea îngrășămintelor. Pe hidrolizatele de tescovină se pot cultiva drojdii alimentare.

Din tescovină pot rezulta o gamă largă de produse cu diferite aplicabilități, în mai multe domenii. Utilizările practice ale tescovinei sunt schematizate în figura 1.4.

Tab. 1.2. Analiza compoziției chimice a tescovinei albe și roșii (% din SU) (după Baumgartel și colab., 2007)

Tab. 1.2. The white and red grape pomace chemical composition analysis. Adapted from Baumgartel et al., (2007)

Compoziția chimică	Tescovină albă	Tescovină roșie
SU (g/kg)	30,5	27,3
SO	93,3	94,3
PB	9,3	15,5
GB	4,8	7,0
CB	19,9	31,2
NDF	30,6	50,7
ADF	25,7	36,5
ADL	20,2	26,7
Zaharuri	27,6	3,9
Polifenoli totali	5,1	5,9
Taninuri fenolice	2,8	4,5
Taninuri condensate extractibili	3,6	2,1
Energia brută (MJ/kg/SU)	18,7	20,8

SU= substanță uscată; **SO**= substanță organică; **PB**= proteină brută; **GB**= grăsime brută; **CB**= celuloză brută; **NDF**= fibră detergent neutră; **ADF**= fibră detergent acidă; **ADL**= lignină detergent acidă

Tescovina din struguri este o sursă importantă de compuși bioactivi cu proprietăți antioxidante, anticancerigene, antimicrobiene și antiinflamatorii, putând astfel prezenta un mare interes pentru sănătatea și nutriția animalelor (*Goni și colab., 2007; Brenes și colab., 2008*).

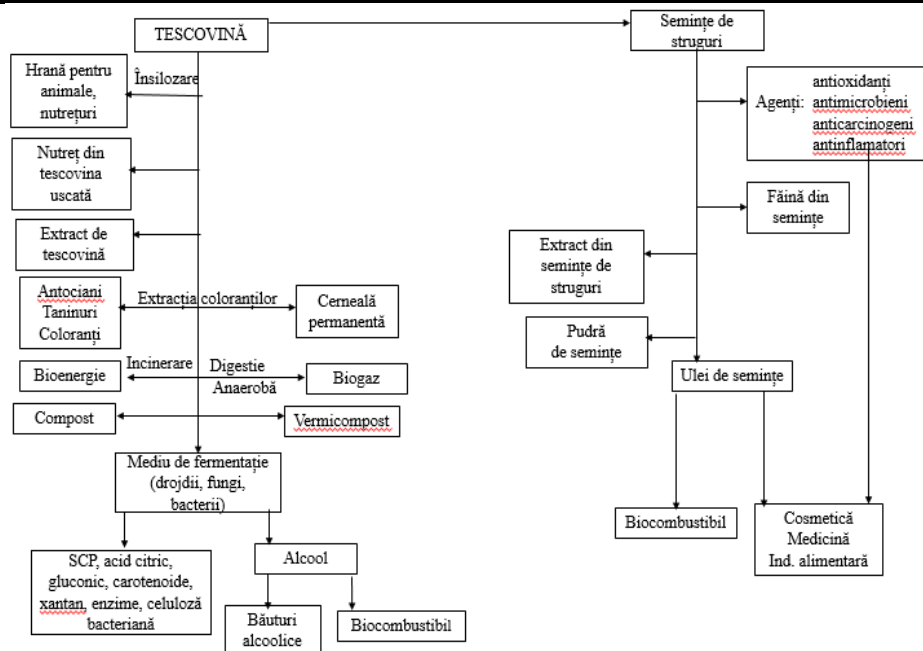


Fig. 1.4. Produsele derivate din tescovină (după Nerantzis și Tataridis, 2006)

Fig. 1.4. Products deriving from grape pomace. Adapted from Nerantzis and Tataridis, (2006)

1.2.2 Evaluarea nutrițională a semințelor

Semințele de struguri figurează printre subprodusele vinicole a căror valorificare este apreciată în toate țările vinicole, datorită conținutului în uleiuri în principal, și a altor principii active (polifenoli, tocoferoli).

Semințele constituie o proporție considerabilă din masa tescovinei uscate, de aproximativ 38-52%, iar uleiul conținut în semințe (12-22 %) este foarte bogat în acizi grași polinesaturați, în special, în acid linoleic (tabel. 1.3) (Schieber și colab., 2002; Kamel și colab., 1985).

Uleiul din semințele de struguri este renumit pentru conținutul ridicat de antioxidanți și de substanțe care scad nivelul de colesterol. Acesta conține vitamina E (între 0,8 și 1,2 g/kg), vitamina C și beta-caroten. Semințele de struguri conțin și compuși nesaponificabili (0,8-1.5%), bogați în fenoli (tocoferoli) și steroizi (campesterol, beta-sitosterol, stigmasterol) (Baydar și Akkurt, 2001; Kamel și colab., 1985).

Dorobanțu și Beceanu, (2008) au constatat că semințele de struguri provenite din soiurile roșii au un conținut mai ridicat în ulei, comparativ cu cele provenite din soiurile albe.

Kamel și colab., (1985) în studiul lor au efectuat o analiză mai detaliată a semințelor de struguri privind conținutul chimic brut, compoziția mineralelor, acizilor grași și profilul aminoacizilor. Rezultatele acestui studiu sunt redată în tabelele 1.3 și 1.4.

Tab. 1.3. Compoziția chimică a semințelor de struguri (după *Kamel și colab., 1985*).

Tab. 1.3. The chemical composition of grape seeds. Adapted from *Kamel et al., 1985*)

Conținutul chimic brut % din SU		Constituienți minerali (ppm)		Conținutul în acizi grași	
Proteina brută	8,2	Fier	33,5	Palmitic	7,4
Grăsimea brută	14	Calciu	4026	Palmitoleic	0,60
Cenușa brută	2,2	Zinc	11,4	Stearic	3,9
Celuloza brută	39	Cupru	9,1	Oleic	15,6
Carbohidrați	37,0	Fosfor	2200	Linoleic	72,2
Umiditate	43,1	Magneziu	1215	Total saturate	11,4
Energia metabolică, Kcal/g	3,1	Potasiu	4276	Total nesaturate	88,6

Tab. 1.4.. Analiza comparativă a aminoacizilor din semințele de struguri și din ou (după *Kamel și colab., 1985*).

Tab. 1.4. The comparative analysis of amino acids from grape seeds and from eggs
Adapted from *Kamel et al., (1985)*

Aminoacizi esențiali (g aminoacid/16g N)			Aminoacizi neesențiali (g aminoacid/16g N)		
Aa esențiali	Semințe ^a	Oul întreg de găină ^b	Aa neesențiali	Semințe ^a	Oul întreg de găină ^b
Lizină	2,57	6,99	Acid aspartic	3,50	9,02
Histidină	1,51	2,43	Serină	3,85	7,65
Fenilalanină	2,80	5,63	Acid glutamic	20,5	12,7
Leucină	5,95	8,79	Prolină	2,45	4,16
Izoleucină	3,03	6,32	Glicină	8,29	3,31
Treonină	2,80	5,12	Alanină	4,08	5,92
Metionină	1,05	3,46	Cistină	1,05	2,43
Valină	4,20	6,85	Tirozină	1,28	4,16
Arginină	7,24	6,24			

Compoziția acizilor grași din uleiul semințelor de struguri, este comparabilă cu cea a uleiurilor de șofrănel, floarea-soarelui, soia, porumb, semințe de bumbac, mac și tutun, prin faptul că prezintă în compoziția lor același tip de acid gras polinesaturat și anume acidul linoleic (Weiss, 1983).

Compoziția în acizi grași din uleiul de semințe de struguri este foarte apropiată de cea a uleiului de floarea soarelui (Ohnishi și colab., 1990); acesta conținând aproximativ 60% acid linoleic, 25% acid oleic, 8% acid palmitic și 5% acid stearic (Weiss, 1983).

Uleiul de semințe de struguri are un conținut ridicat în tocoferoli ceea ce poate oferi un grad înalt de protecție antioxidantă pentru unele produse animaliere care pot fi ușor oxidabile (Demirun și colab., 1996). În uleiurile diferitelor soiuri de semințe de struguri, concentrațiile de tocoferoli totali au variat de la 328 la 578 mg/kg, ajungând la o valoare medie de 454 mg/kg (Baydar și Akkurt, 2001). Conținutul în tocoferoli este dependent de metoda de extracție, soiul și varietatea strugurilor, zona de cultivare și condițiile de creștere.

Cel mai abundent tocoferol identificat în extractele uleiurilor a fost α -tocopherolul; tocoferolii γ și δ au fost prezenți în concentrații mai mici, iar β -tocopherolul nu a fost detectat în extractele uleiurilor (Baydar și colab., 2007).

Suplimentarea hranei puilor de carne cu tocoferoli (vitamina E) a determinat creșterea acestui antioxidant în țesuturile musculare, îmbunătățind stabilitatea oxidativă în timpul depozitării cărnii (Carreras și colab., 2004).

Semințele de struguri provenite din tescovina fermentată și distilată au un conținut mai redus în ulei (de 6-10%) și prezintă o aciditate foarte mare. În vederea conservării corespunzătoare a semințelor de struguri și pentru a preveni alterarea lor, care atrage scăderea conținutului și calității uleiului, se impune ca acestea să fie uscate, prin reducerea umidității până la 6-7%, după ce au fost separate din tescovină.

Matricea complexă a semințelor de struguri este constituită din aproximativ 40% celuloză brută, 16% ulei, 11% proteină brută și 7% compuși fenolici incluzând taninurile, alături de care mai sunt incluse zaharurile și sărurile minerale (Nair și Pullammanappallil, 2003).

În literatura de specialitate sunt date insuficiente cu privire la conținutul proteinelor din semințele de struguri (Ohnishi și colab., 1990; Kamel și colab., 1985). Semințele nu sunt considerate a fi o sursă importantă de proteine cum sunt leguminoasele, nucile sau alte surse vegetale proteice însă semințele conțin în jur de 11-13% proteine (Goni și colab., 2005; Rao, 1994). Conținutul total în proteine și compoziția aminoacizilor a semințelor de struguri pot varia în

mod semnificativ în funcție de varietatea strugurilor, condițiile de fertilizare și climatizare.

Compoziția chimică reprezintă cel mai important indicator pentru a estima valoarea nutritivă a semințelor. Datorită prezenței cojilor, semințele de struguri au un conținut foarte ridicat în celuloză brută (peste 38%) (*Kamel și colab., 1985*). Prezența celulozei cât și a taninurilor poate determina scăderea digestibilității semințelor de struguri.

Semințele degresate prezintă un conținutul ridicat în lignină (40-60%) ceea ce determină scăderea digestibilității semințelor și prin urmare valoarea nutritivă, limitând astfel utilizarea lor în hrana animalelor (*Cottyn și colab., 1981*). Digestibilitatea substanței organice este de aproximativ 40% pentru semințele cu uleiuri (integrale) și respectiv 20% pentru semințele degresate (fără uleiuri) (*Cottyn și colab., 1981; INRA, 1988*).

Semințele de struguri sunt surse bogate de compuși fenolici monomerici cum ar catechine, epicatechin și epicatechin-3-O-galat și procianidine dimerice, trimerice și tetramerice (fig. 1.5) (*Chamorro și colab., 2012*).

Compușii polifenolici au roluri extrem de complexe în structura funcțională a organismelor vegetale putând acționa ca fitoalexine, atractanți pentru polenizatori, pigmenți, antioxidanți, agenți anti-UV, etc. Ca și compuși nutritivi aceștia contribuie la culoarea, flavoarea, astringența, mirosul și stabilitatea oxidativă a alimentelor (*Shahidi și Naczki, 1995*).

Yamaguchi și colab., (1999) au evidențiat că extractele semințelor de struguri cu soluție apoasă de etanol sunt bogate în polifenoli. Compoziția extractelor din semințele de struguri este prezentată în tabelul 1.5. Proprietățile antioxidante ale extractelor semințelor de struguri ar putea fi exploatate în industria alimentară, pentru conservarea produselor alimentare precum și în domeniul farmaceutic, utilizate ca suplimente pentru menținerea sănătății (*Jayaprakasha și colab., 2001*).

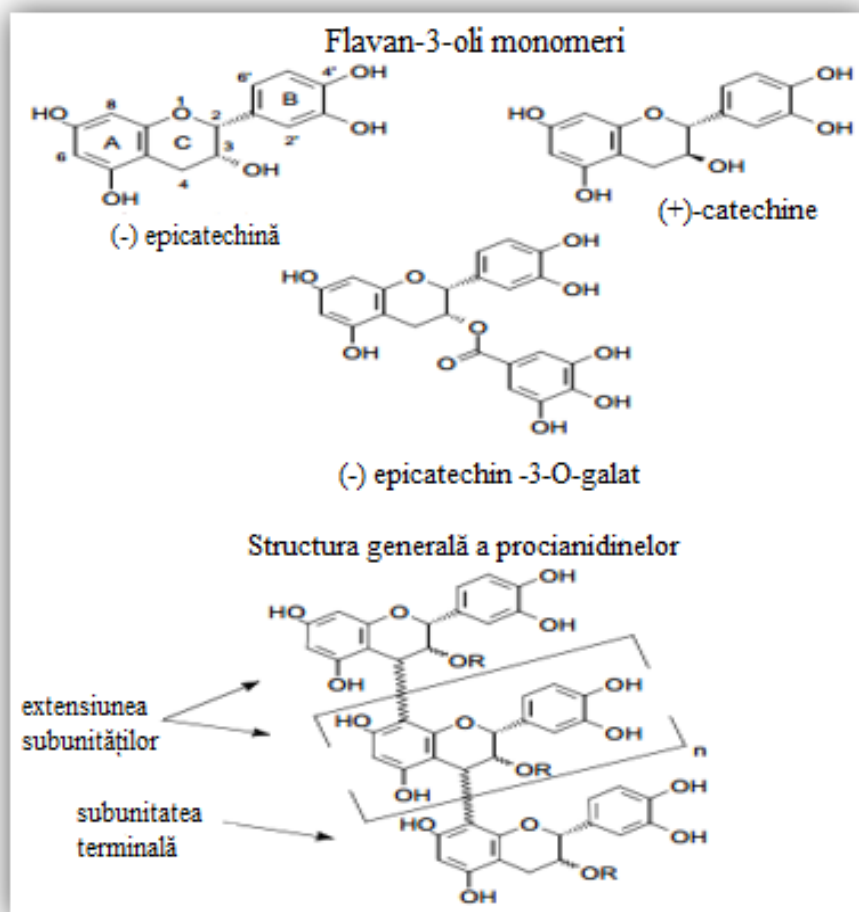


Fig.1.5. Polifenoli identificați în semințele de *Vitis vinifera* L cv. Shiraz: monomeri flavan-3-ol ((+)-catechine (C), (–)-epicatechine (EC) and (–)-epicatechin-3-O-galat (ECG)) și procianidine (conținând subunități de extindere și terminale C, EC și ECG) (Kennedy și colab., 2000)

Fig.1.5. Polyphenols found in *Vitis vinifera* L.cv. Shiraz seeds consist of flavan-3-ol monomers ((+)-catechin (C), (–)-epicatechin(EC) and (–)-epicatechin-3-O-gallate (ECG)) and procyanidins(containing C, EC and ECG extension and terminal sub-units). Adapted from Kennedy et al., (2000)

S-a evidențiat că uleiul semințelor de struguri conține cantități ridicate în taninuri, de 1000 de ori mai mari decât în alte uleiuri de semințe (Rao, 1994). Taninurile sunt compuși cu o capacitate puternic antimicrobiană, ce pot să reducă producția de metan în rumen la rumegătoare (Tavendale și colab., 2005; Liu și colab., 2011). Taninurile sunt prezente în special în pielețele și semințele

strugurilor (Xia și colab., 2010) și sunt constituite din catechină, epicatechină și epicatechin-galat (tabel. 1.5).

Cu ajutorul determinărilor cromatografice au fost identificați un număr de 11 monomeri, dimeri și trimeri polifenolici (tabel. 1.6) (Shi și colab., 2003). Rezultatele au arătat că factorii genetici pot să influențeze concentrația în catechine și procianidine. În general, semințele de struguri roșii conțin cantități mai mari din compușii polifenolici, comparativ cu semințele din strugurii albi (Shi și colab., 2003).

Conform acestor date conținutul în polifenoli din semințe de struguri depinde în primă instanță de specia de *Vitis vinifera* analizată, de condițiile climatice, edafice (natura solului) și culturale (Fuleki și Ricardo-da-Silva, 1997).

Tab. 1.5. Date analitice ale extractelor semințelor de struguri (după Yamaguchi și colab., 1999)

Tab. 1.5. Analytical data of the grape seed extracts Adapted from Yamaguchi et al., (1999)

Componenți	%
Proantocianidine	38,7
Flavonoli monomerici	2,40
Umiditate (prin metoda Karl Fischer's)	2,10
Proteină brută (N total x 6,25)	3,70
Cenușă brută	5,00
Glucoză	7,79
Fructoză	8,85
Alte zaharuri	2,66
Acizi organici	11,60
Alți acizi	5,05
Alți componenți din semințe	11,99

Expunerea la soare are un impact considerabil asupra biosintezei și acumulării compușilor polifenolici în plante. La temperaturi ridicate, de până la 35-36°C, nivelul compușilor polifenolici crește constant. În general, conținutul în acizi fenolici scade odată cu coacerea fructului, antocianii având o evoluție inversă. O serie de studii evidențiază reducerea dramatică a nivelului compușilor polifenolici totali în semințele de struguri după creșterea inițială (vizibilă și în culoarea semințelor – figura 1.6) (Kennedy și colab., 2000), cu 90% în cazul flavan-3-olilor și 60% pentru proantocianidine (Elieff și colab., 2001).

Tab. 1.6. Conținutul în polifenoli din semințele de struguri aparținând diferitelor soiuri de *Vitis vinifera* (după Shi și colab., 2003).

Tab. 1.6. The quantity of polyphenols contained by grape seeds from different varieties of *Vitis vinifera* L. Adapted from Shi et al., (2003)

Soiul		Cantitate (mg/100g)			
		Monomeri	Dimeri	Dimeri galat	Trimeri
Vinifera					
Cabernet	Roșu	232	169	43	26
France					
Cabernet	Roșu	125	95	11	32
Sauvignon	Roșu	228	375	108	67
Gamay					
Merlot	Roșu	143	97	37	23
Pinot Noir	Roșu	437	235	41	84
Chardonnay	Alb	141	126	17	9
Riesling	Alb	49	54	4	7
Hybrid					
Baco Noir	Roșu	204	292	54	53
DeChaunac	Roșu	213	40	4	17
Marechal Foch	Roșu	88	141	24	10
Vincent	Roșu	439	238	54	28
Brights 12	Roșu	75	40	14	9
V65115	Roșu	119	30	7	18
Seyval	Alb	44	16	Tr	Tr
Labrusca					
Concord	Roșu	125	98	13	10
Elvira	Alb	95	45	7	5
Niagara	Alb	155	49	10	17

* Monomerii sunt exprimați drept echivalenți de catechină, dimerii și trimerii drept echivalenți de compuși de tip B₂, iar dimerii- galat ca echivalenți B₂-3'-galat.

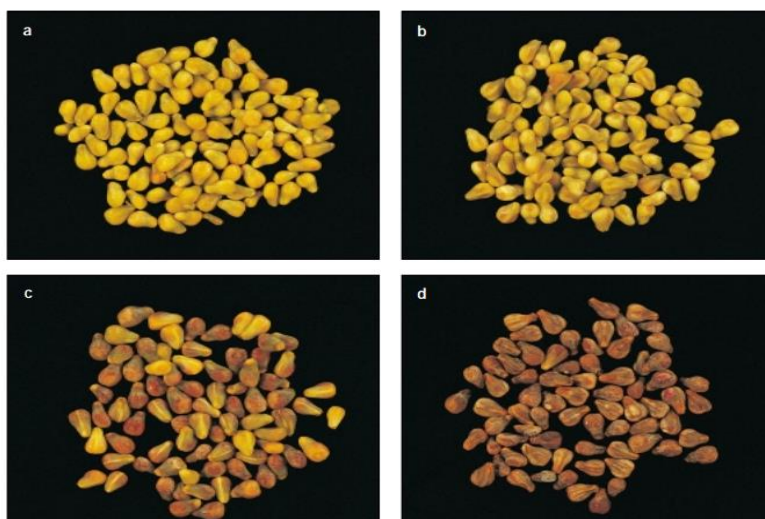


Fig. 1.6. Aspectul semințelor de *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz la a) 18 Ian., b) 24 Ian., c) 2 Feb., d) 22 Feb., indicând transformările vizibile care au loc în timpul acumulării compușilor polifenolici (Kennedy și colab., 2000)

Fig 1.6. Appearance of seeds from *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz berries on (a) 18 Jan., (b) 24 Jan., (c) 2 Feb. and (d) 22 Feb.; indicating the visible transformation which occurred during maximal polyphenol change. Adapted from Kennedy et al., (2000)

După cum se poate evidenția în tabelul 1.7, distribuția polifenolilor în semințe și pielțe este diferită. Astfel, pielea strugurilor roșii este bogată în antociani, acizi hidroxicinamici și flavonol glicozide, în timp ce semințele de struguri conțin în principal flavanoli și acid galic. Flavonoidele sunt larg distribuite în struguri, în special în semințe și ciorchini și conțin catechine, epicatechine și procianidine. Antocianii sunt prezenți în principal în strugurii roșii, în timp ce flavan-3-oli sunt mai abundenți la soiurile albe (*Cantos și colab., 2002*).

Tab. 1.7. Compuși fenolici distribuiți în diferite fracțiuni ale strugurilor și în produse vinicole (după *Xia și colab., 2010*)

Tab. 1.7. Phenolic compounds distributed in different fractions of grapes and in wine products. Adapted from *Xia și colab., (2010)*

Resurse	Compuși fenolici	Referințe
Semințe	acid galic, (+)-catechine, epicatechine, procianidine dimerice, proantocianidine	<i>Pastrama-Bonilla și colab., 2003; Hernandez-Jimenez și colab., 2009</i>
Pielțe	proantocianidine, acid elagic;myricetin, quercetine, kaempferol, trans-resveratrol	<i>Pastrama-Bonilla și colab., 2003; Hernandez-Jimenez și colab., 2009</i>
Frunze	myricetin, acid elagic, kaempferol, quercetine, acid galic	<i>Pastrama-Bonilla și colab., 2003</i>
Ciorchine	rutin, quercetin 3-O-glucuronid, trans-resveratrol, astilbin	<i>Makris și colab., 2008</i>

1.2.3 Evaluarea nutrițională a pielitelor și pulpei

Pielitele și pulpa sunt o sursă importantă de polifenoli, în special antociani (*Nair și Pullammanappallil, 2003*). Fenolii din pielitele strugurilor pot fi clasificați în (1) fenolii din structura pereților celulari, care sunt legați de polizaharide prin intermediul interacțiunilor hidrofobe și legăturilor de hidrogen, și respectiv (2) fenolii care nu intră în structura pereților celulari cuprinzând fenolii reținuți în vacuolele celulelor plantei și fenolii atașați de nucleii celulelor.

Degradarea polizaharidelor din structura pereților celulari este o etapă importantă care permite eliberarea fenolilor din pielțe (*Pinelo și colab., 2006*). Celulazele, hemicelulazele, pectinazele și alte enzime sunt capabile să catalizeze hidroliza legăturilor polizaharidice ai pereților celulari ai plantei. De asemenea, principiile inovatoare de extracție și de optimizarea condițiilor de extracție cum ar fi: temperatura, raportul solvent-solid, utilizarea fluidelor supercritice și modelelor noi de extracție celulară pot îmbunătăți eliberarea fenolilor din structura pielitelor permițând o mai bună valorificare a acestui subprodus vinicol (*Pinelo și colab., 2006*).

Conținutul fenolic al pielitelor variază de la 285 la 550 mg fenoli/kg piele de struguri, și care depinde de varietatea de struguri și tipul de pre-tratare a pielitelor (*Pinelo și colab., 2005*).

Structura taninurilor și proantocianidinelor din pielețele strugurilor este constituită din unități prodelfinidinice și unități procianidinice (*Souquet și colab., 1996*).

Cu o producție anuală în lume de 65 de milioane de tone, pielețele și pulpa strugurilor constituie o sursă foarte abundentă și relativ ieftină de antociani (*Mazza, 1995*).

Antocianii sunt o grupă de compuși fenolici care aparțin clasei flavonoidelor, fiind responsabili pentru culorile portocaliu, roz, roșu, violet și albastru (fig. 1.7) ale petalelor florilor și fructelor la o mare diversitate de plante (*Strack și Wray, 1989*).

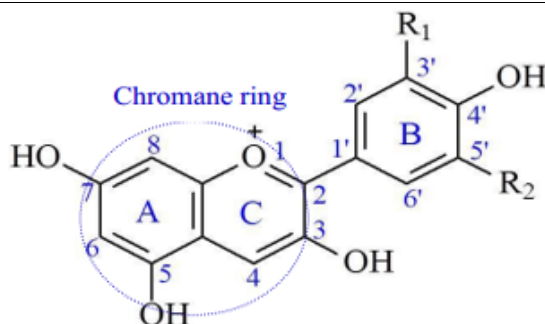
În prezent, Uniunea Europeană permite utilizarea antocianilor drept coloranți alimentari în băuturi, marmelade, bomboane, înghețată și în produse farmaceutice (*EU, 1994*).

Antocianii prezintă o serie de proprietăți benefice, dintre care cea mai importantă constă în efectul antioxidant. Datorită acestei proprietăți, antocianii pot asigura organismului, în primul rând, protecție împotriva reacțiilor oxidative și a radicalilor liberi (*Scalbert și Williamson, 2000*). Există multe studii în literatură care au sugerat și demonstrat că aceștia oferă protecție și previn bolile degenerative (*Jing și Giusti, 2011*).

Pielețele strugurilor reprezintă o parte din masa tescovinei și s-au dovedit a fi o sursă bogată în antociani, acizi hidroxicinamici, flavanoli și glicozide flavonolice (*Kammerer și colab., 2004; Xia și colab., 2010*). Conținutul fenolic al pielitelor variază de la 285 la 550 mg fenoli/kg piele de struguri și depinde de varietatea de struguri și tipul de pre-tratare a pielitelor (*Pinelo și colab., 2005*).

Conținutul de antociani din tescovină variază în funcție de metoda de vinificație utilizată și durata măcerării. Un timp mai mare de contact între must și părțile solide ale strugurilor conduce la scăderea conținutului de antociani din tescovină (*Gomez-Plaza și colab., 2006*).

Pielețele și pulpa au un conținut mai scăzut în celuloză decât tescovina cu semințe. S-a estimat că aproximativ 90% din piele și pulpă rezultate din industria vinului sunt colectate pentru prelucrarea prin distilarea alcoolului.



Nume	Substituție		Culoarea vizibilă	Lungimea de undă max.(nm) în MeOH-HCl
	R1	R2		
Cianidina (Cy)	OH	H	Roz închis	535
Peonidina (Pn)	OCH ₃	H		532
Pelargonidina (Pg)	H	H	Roșu	520
Malvidina (Mv)	OCH ₃	OCH ₃	Purpuriu	542
Delfinidina (Dp)	OH	OH		546
Petunidina (Pt)	OCH ₃	OH		543

Fig. 1.7. Structura chimică a celor mai importanți antociani
(adaptată după Harborne, 1998)

Fig. 1.7. The chemical structure of the most important anthocyanins.
Adapted from Harborne, (1998)

Valiente și colab., (1995) au determinat compoziția chimică a pielitelor și pulpei arătând că aceasta este constituită în principal din zaharuri neutre, acizi uronici, lignină (metoda Kalson), proteine și minerale (tabel. 1.8).

Deng și colab., (2011) au analizat compoziția chimică a pielitelor din cinci varietăți de struguri. Pielitele strugurilor roșii au prezentat un conținut mai mare în proteină brută, grăsimi și cenușă brută decât varietățile de struguri albi (tabel. 1.9). În schimb, varietățile de struguri albi au prezentat un conținut mai mare în zaharuri solubile de aproximativ 56% pentru Muller Thurgau și 78% pentru Morio Muscat, față de cele roșii care au prezentat un conținut mult mai scăzut în zaharuri solubile de la 1,3 la 1,7%.

Tab. 1.8. Compoziția chimică a pielitelor și pulpei (după Valiente și colab., (1995)

Tab. 1.8. Chemical composition of the grape marc (skins and pulp). Adapted from Valiente et al., (1995).

Compoziții	% SU
Zaharuri neutre	
Ramnoza	0,50
Fucoza	1,24
Arabinoza	2,07
Xiloza	1,70
Manoza	1,52
Glucosa	14,01
Galactosa	1,60
Total	22,64
Acizi uronici	5,45
Lignin Kalson	53,64
Proteine	10,72
Minerale	8,77

Tab. 1.9. Compoziția chimică a pielitelor din cinci varietăți de struguri (după Deng și colab., 2011).

Tab. 1.9. The chemical composition of the skins from five grape varieties. Adapted from Deng et al., (2011)

Compoziția (% din SU)	Muller Thurgau (var. albă)	Morio Muscat (var. albă)	Cabernet Sauvignon (var. roșie)	Merlot (var. roșie)	Pinot Noir (var. roșie)
Proteina brută	6,54	5,38	12,34	11,26	12,13
Grăsime brută	2,64	1,14	6,33	3,35	4,74
Cenușă brută	2,53	3,31	7,59	7,19	6,17
Zaharuri solubile	55,77	77,53	1,71	1,34	1,38
Celuloză brută	28,01	17,28	53,21	51,09	56,31

Proporția compușilor pereților celulari este formată din 30% polizaharide neutre (celuloză, xiloglucani, arabinani, galactani, xilani și manani), 20% substanțe pectice (din care 62% sunt metil esterificate), ~15% proantocianidine insolubile și <5% proteine structurale (*Lecas și Brillouet, 1994*).

Celuloza este polizaharidul predominant din structura peretelui celular al pielitelor (aproximativ 50%), aceasta fiind constituită din molecule de D-glucoză unite în poziția β -(1 $\rightarrow$ 4) (*Lecas și Brillouet, 1994*).

Digestibilitatea pielitelor și pulpei poate crește în urma înmuierii acestora în apă caldă (90°C) timp de 20 de minute pentru eliminarea tartraților (*Nair și Pullammanappallil, 2003*).

1.2.4 Evaluarea nutrițională a altor subproduse vinicole

Pe lângă tescovină, (semințe și pielite) drojdiile de vin care rezultă din vinificație sunt de asemenea subproduse cu mare importanță nutrițională.

Drojdiile din sedimentele de vin au o compoziție biochimică bogată și prezintă o sursă valoroasă de carbohidrați (28,4-35,5%), lipide (5,4-6,6%) bogate în fosfolipide (3,7-4,4%), mono- și digliceride (10,2-15,6%), steroli (11,0-14,3% din suma fracțiilor lipidice), acizi grași nesaturați (60,9–79,9% din suma acizilor grași), proteină (41,3-52,2%) ce conține aminoacizi esențiali (20,4–29,8%) și imunoactivi (28,6-40,6% din suma aminoacizilor) (*Chiselița, 2010, Chiselița și colab., 2008*).

Valoarea nutritivă a proteinelor depinde de calitatea aminoacizilor. În general, drojdiile de vin sunt valoroase prin conținutul aminoacizilor și din acest punct de vedere drojdiile sunt comparabile cu carnea și conțin în jurul a 5-11 g/100g SU arginină, 1-3 g/100g SU histidină, 4-11 g/100g SU lizină, 0,5-1,6 g/100g SU cisteină (*Kramer, 1977*).

Pe baza rezultatelor obținute de *Chiselița și colab., (2008)* s-a stabilit că conținutul mediu de aminoacizi în biomasa drojdiilor de la vinificație în roșu și alb este de 42,69- 67,90 g/100g SU. Drojdiile se caracterizează printr-un conținut înalt de aminoacizi esențiali 20,40 – 29,84 g/100g SU. (tabel. 1.10).

La estimarea conținutului de aminoacizi esențiali în drojdiile de la vinificație au fost stabilite cantități semnificative de treonină, valină, izoleucină, leucină, lizină și arginină.

Datorită conținutului lor în aceste substanțe biologic active, drojdiile pot fi utilizate ca suplimente probiotice (*Lara-Fores și colab., 2003*). Drojdiile ajută la îmbunătățirea eficienței rumenale și stimulează sistemul imunitar. După prelucrarea sedimentelor de drojdii din vin, acestea pot fi valorificate în hrana animalelor de fermă (de ex: la ovine și bovine) sub diferite forme de suplimente furajere.

Tab. 1.10. Conținutul de aminoacizi esențiali în drojdiile de la vinificație, g/100g SU (după Chiselîța și colab., 2008)

Tab. 1.10. The essential amino acids contained in the wine yeasts (g/100g DM). Adapted from Chiselîța et al., (2008)

Aminoacizii*	Varianta I	Varianta II	Varianta III
Treonină	2,67	2,48	1,68
Valină	2,14	1,24	1,41
Metionină	0,07	0,01	0,013
Izoleucină	3,74	2,22	2,19
Leucină	4,88	3,05	4,07
Fenilalanină	1,99	1,18	1,34
Lizină	4,72	3,37	4,30
Histidină	2,02	0,96	1,17
Triptofan	0,00	0,00	0,00
Arginină	6,18	5,88	7,25
Total	28,41	20,40	29,84

Alte subproduse rezultate din industria de vinificație care ar putea fi valorificate în hrana animalelor, în special la rumegătoare, sunt *ciorchinii*. Ciorchinii reprezintă principalele subproduse rezultate în urma procesului de desciorchinare a strugurilor. Aceștia au un conținut ridicat în celuloză brută, substanțe tanante (6%) și elemente minerale (2%), în special azot și potasiu (Nerantzis și Tataridis, 2006).

O utilizare corectă a acestor subproduse în alimentația animală necesită o bună cunoaștere a modului de conservare, a compoziției chimice și a valorii nutriționale precum și mijloacele susceptibile pentru o mai bună asimilare a nutrienților în organism.

În stare proaspătă, tescovina are un conținut ridicat în apă (peste 60%) ceea ce nu permite conservarea acesteia un timp îndelungat. De asemenea prezența zaharurilor crește procesul de alterare a acestui subprodus, necesitând astfel o uscare prealabilă pentru a preveni procesele de degradare determinată de atacul microorganismelor prezente în mediu.

Uscarea și însilozarea sunt două metode frecvente de conservare a subproduselor vinicole (Guemour și colab., 2010; De Pina și Hogg, 1999), proporția diferitelor constituienți și transformările pe care le-au suferit în timpul uscării pot permite o valorificare mai bună în hrana animalelor, față de formele proaspete. Extracția alcoolului din tescovină poate fi efectuată prin difuzie în apă sau prin evaporare (Magnier, 1991).

Caracteristicile tescovinei pot varia în funcție de originea strugurilor, proporția diferitelor fracțiuni și transformările pe care le-a suferit în timpul păstrării.

Un aport de proteine și energie ameliorează, în mod semnificativ digestibilitatea tuturor substanțelor nutritive din hrană (30-40%), ceea ce poate avea un efect pozitiv asupra valorii nutritive a tescovinei (*Larwence și Yahiaoui, 1983; Larwence, 1983*).

Pe lângă calitatea nutrițională a componentilor pe care îi conțin, utilizarea subproduselor din industria de vinificație prezintă un mare avantaj în alimentația animalelor prin faptul că acestea pot oferi materii prime cu costuri mici, comparativ cu nutrețurile convenționale care sunt adesea foarte scumpe.

CAPITOLUL II. UTILIZAREA UNOR SUBPRODUSE DIN VINIFICAȚIE ÎN ALIMENTAȚIA ANIMALELOR

CHAPTER II. THE USE OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS IN ANIMAL FEEDING

2.1 UTILIZAREA SUBPRODUSELOR VINICOLE LA RUMEGĂTOARE

Subprodusele rezultate din industria de vinificație (tescovina) sunt destinate în special rumegătoarelor cu cerințe de întreținere sau cu un nivel scăzut de producție. Rumegătoarele (taurine, ovine, caprine) au o capacitate unică de a utiliza celuloza datorită bacteriilor celulozolitice prezente în rumen. Stomacul rumegătoarelor, pluricompartimentat (rumen, rețea, foios și cheag), constituie un adevărat fermentator în care au loc intense procese de digestie (fermentare) dar și de sinteză (*Pop și colab., 2006*).

În anumite compartimente ale tubului digestiv se dezvoltă o floră bacteriană, care trăiește în simbioză cu organismul animal. Bacteriile utilizează substratul alimentar pus la dispoziție de organism atât pentru sinteze proprii cât și pentru sinteza unor substanțe necesare organismului animal (vitamine, aminoacizi) (*Pop și colab., 2006*).

Microflora și microfauna din rumen participă la digestia celulozei, a amidonului și a altor glucide. Producții rezultați în urma digestiei glucidice realizate de bacterii sunt acizii grași volatili (AGV) și o serie de gaze. AGV sunt acidul acetic, acidul propionic și acidul butiric; ei se absorb în sânge, fiind o sursă energetică importantă pentru rumegătoare (acoperă 40% din nevoile energetice); în plus acidul acetic este utilizat pentru sinteza lipidelor din lapte (*Pop și colab., 2006*). Gazele rezultate (la vacă 30-60 l/oră) sunt: CO₂, CH₄, N₂, H₂S și H₂; ele se acumulează deasupra lichidului rumino-reticular și se elimină prin eructație.

La nivelul rumenului are loc și digestia proteinelor de către bacteriile proteolitice și de către protozoare. În urma acestei digestii rezultă peptide și aminoacizi care nu se absorb ci sunt utilizați de către microorganisme pentru

sinteza proteinelor proprii sau sunt dezaminați, rezultând amoniac. Flora microbiană este capabilă și de neosinteza de aminoacizi, utilizând ca substrat glucide ușor solubile și surse de amoniac (hidroliza ureei, transformarea nitraților în nitriți, dezaminarea aminoacizilor) (Pop și colab., 2006).

Datorită numărului mare de microorganisme în rumen, nutrețurile celulozolitice (subprodusele vinicole) sunt valorificate mult mai bine de rumegătoare decât în cazul nerumegătoarelor, deoarece procesele de digestie la rumegătoare se face cu o mai mică cheltuială de energie, atât pentru masticarea nutrețurilor cât și pentru culegerea lor de pe pășune. Pentru ca microflora și microfauna să se poată dezvolta, conținutul ruminal trebuie să aibă o anumită cantitate de proteine, glucide și săruri minerale (Baia și colab., 1962).

La rumegătoarele tinere (în perioada de alăptare, în special), rețeaua, rumenul și foiosul sunt puțin dezvoltate, rolul principal în digestie avându-l în acest stadiu, cheagul (Pop și colab., 2006).

2.1.1 Utilizarea la ovine

În prezent, tescovina este utilizată în hrana rumegătoarelor în stare proaspătă sau uscată, însilozată sau deshidratată (Alipour și Rouzbehan, 2006; Zalikarenab și colab., 2007).

În cazul animalelor cu cerințe scăzute, tescovina poate constitui rația de bază, dacă este corect administrată (Reyne și Garambois, 1977; Larwence și colab., 1985; RNED, 1988). Studiile din literatura de specialitate au evidențiat că cele mai bune rezultate s-au obținut la ovine și caprine (Magnier, 1991; Pirmohammadi și colab., 2007; Bahrami și colab., 2010).

Astfel, datele publicate de Bahrami și colab., (2010), au arătat faptul că suplimentarea hranei cu 10% tescovină uscată la mieii masculi de îngrășare, oferă cele mai bune rezultate, cu efecte pozitive asupra performanței de creștere. Tescovina este o sursă importantă de proteine (12,80%) ceea ce poate explica îmbunătățirea creșterii la aceste animale.

De asemenea, Magomedov și colab., (1996), au observat o ameliorare a sporului mediu zilnic în greutate, atunci când oile au fost hrănite cu diete care conțineau tescovină.

Pirmohammadi și colab.,(2007), în studiul lor au arătat că utilizarea tescovinei uscate în alimentația mieilor de îngrășare îmbunătățește digestibilitatea și poate fi utilizată eficient la aceste animale, ceea ce poate fi avantajos din punct de vedere economic.

În schimb, în studiul realizat de Abel și Icking, (1984) s-a constatat o scădere a digestibilității nutrienților atunci când în hrana oilor s-a introdus peste 12% de

tescovină uscată. Prezența unor factori antinutritivi (taninurile și lignina) și a proteinei insolubile în tescovină conduce la scăderea digestibilității substanței uscate (Abel și Icking, 1984), și a valorii nutritive a subprodusului. Taninurile acționează pe de-o parte în mod indirect, insolubilizând azotul din rumen, iar pe de altă parte pot acționa direct, inhibând în mod parțial activitatea microorganismelor proteolitice din rumen.

Tescovina provenită din strugurii roșii a determinat o scădere mai mare a digestibilității față de cea provenită din strugurii albi (tabel. 2.1). Rezultatele privind coeficienții de digestibilitate obținute de Zalikarenab și colab., (2007), sunt asemănătoare cu cele prezentate de Ozduven și colab., (2005), însă nu corespund cu cele obținute de Baumgartel și colab., (2007) în ceea ce privește proteina brută digestibilă (tabel. 2.2).

În unele studii experimentale efectuate la ovine s-au utilizat surse de taninuri pentru a reduce digestibilitatea proteinelor la nivel rumenal. Astfel, combinarea taninurilor cu proteinele din hrană poate duce la protecția particulelor alimentare față de degradările cauzate de microorganisme rumenale (Makkar, 2003).

Tab. 2.1. Rezultatele privind coeficienții de digestibilitate (%) și valoarea energetică (MJ/kgSU) calculate la ambele tipuri de tescovină (Zalikarenab și colab., 2007)

Tab. 2.1. Results regarding the digestibility coefficients (%) and the energy value (MJ/kg DM) calculated for the two types of grape pomace. Adapted from Zalikarenab et al., (2007)

	Tescovină albă	Tescovină roșie
SUD	38,97	31,64
SOD	37,18	30,28
SUDSO	34,31	28,30
PB	35,01	8,61
NDFD	22,39	14,94
ME	5,48	4,53

SUD= substanță uscată digestibilă; **SOD**= substanță organică digestibilă; **PB**= proteină brută digestibilă; **CB**= celuloză brută, **SUDSO**=substanță uscată digestibilă din materia organică, **NDFD**= fibră detergent neutră digestibilă; ME = energia metabolizabilă

Numeroase studii (Kibon și Orskov, 1993) au demonstrat că taninurile reduc digestibilitatea proteinelor. Helena și colab., (2000), au observat că la concentrații mai mici de 1%, taninurile pot avea un efect negativ asupra degradării proteinelor in vitro.

Barry și colab., (1986), în lucrarea lor, au evidențiat că taninurile pot reduce digestibilitatea pereților celulari datorită afinității lor cu enzimele bacteriene (celulozolitice) și/sau formarea complexilor indigestibili cu

carbohidrații din pereții celulari. *Schofield și colab., (2001)* au demonstrat că taninurile se pot lega de bacterii, reducând digestia celulozei la rumegătoare.

Tescovina însilozată sau uscată are o valoare energetică scăzută (0,20–0,27 UFL/kg SU), însă poate fi valorificată în hrana rumegătoarelor, în special la ovine în cantități mai mici, asigurând cerințele de întreținere. Cantitățile recomandate de tescovină variază în funcție de specie (*RNED, 1988, Magnier, 1991*).

Tab. 2.2. Rezultatele privind coeficienții de digestibilitate (%) și conținutul în energie (MJ/kg SU) calculate la ambele tipuri de tescovină (*Baumagartel și colab., 2007*)

Tab. 2.2. Results regarding the digestibility coefficients (%) and the energy value (MJ/kg DM) calculate for the two types of grape pomace. Adapted from *Baumagartel et al., 2007*)

	Tescovina albă	Tescovina roșie
Substanța uscată	58	33
Substanța organică	56	32
Proteina brute	8	30
Grăsimea brută	70	81
Celuloza brută	19	6
SEN	75	47
NDF	21	15
ADF	7	0
Energia digestibilă	9,1	6,5
Energia metabolizabilă	8,3	5,8

Tescovina proaspătă sau însilozată este ingerată în cantități foarte mari de către ovine (90- 130 g SU/Kg^{0,75}), aproximativ 1,5- 2,5 kg de SU/zi/oaie (de greutate 60 kg) (*Reyne și Garambois, 1977; Larwence și Yahiaoui, 1983; Larwence, 1983; Dumont și colab., 1985*).

În stare proaspătă se folosește cu precauție și în cantități reduse în hrana ovinelor la îngrășat (*Magnier, 1991*).

Cantitățile ingerate de animale sunt mai mici în cazul tescovinei tratate prin difuzie și a tescovinei deshidratate (*Dumont și colab., 1985, Larwence și colab., 1986*).

Tescovina umedă și netratată utilizată în alimentația rumegătoarelor are o valoare nutritivă scăzută de 0,20 – 0,25 UFL/kg din SU (tabel. 2.3).

Pentru a ameliora valoarea nutritivă a tescovinei, unii autori recomandă folosirea unor tratamente fizice sau chimice cum ar fi însilozarea, uscarea,

respectiv tratarea tescovinei cu polietilenglicol sau sodă (*Alipour și Rouzbehan, 2006; De Pina și Hogg, 1999; Baumgartel și colab., 2007, Magnier, 1991*).

Tratarea tescovinei cu o concentrație de aproximativ 0,67% NaOH din SU a determinat scăderea efectului inhibitor al taninurilor și a ameliorat conținutul în azot solubil în rumen la ovine; digestibilitatea substanței organice a crescut de la 32 % la 44 % (*Larwence și colab., 1985*).

Un aport de azot și energie îmbunătățește, în mod semnificativ digestibilitatea tuturor substanțelor nutritive din hrană (30-40%), ceea ce poate avea un efect pozitiv asupra valorii nutritive a tescovinei (*Larwence și Yahiaoui, 1983*) (tabel. 2.4).

O completare sau un tratament cu NaOH permite creșterea valorii energetice până la 0,5 UFL/kg SU. Această valoare nutritivă este comparabilă cu cea a borceagului (amestec de fân mazărice-ovăz (*Hammouda și Larwence, 1981*).
Tab. 2.3. Rezultatele unor cercetări privind valoarea nutritivă a tescovinei (după *Magnier, 1991*)

Tab. 2.3. The results of some research on the nutritional value of grape pomace
Adapted from Magnier, 1991)

Tipuri de tescovină	Valoarea nutritivă (UF/kg SU)	PBD (g)	APD (g)	PDI (g)	Autori
Fără semințe	0,30 UFL 0,18 UFV	26	n/a	PDIA = 33 PDIN = 55 PDIE = 36	<i>INRA, 1988</i>
Neprecizat	0,34	n/a	n/a	PDIA = 7 PDIN = 20 PDIE = 31	<i>Larwence, 1983</i>
Însilozată (prin evaporare)	0,20 – 0,25 0,19	n/a	n/a	n/a	<i>Reyne și Garambois, 1977</i> <i>Larwence și Yahiaoui, 1983</i>
Deshidratată	0,40 0,30	15	n/a	n/a	<i>Dumont și Tisserand, 1978</i> <i>Andrieu și colab., 1976</i>
Proaspătă integrală	0,12-0,13	n/a	9	n/a	<i>Piccioni, 1965</i>
Uscată integrală	0,23- 0,27	n/a	22	n/a	
Proaspătă distilată	0,09-0,1	n/a	3	n/a	
Uscată distilată	0,18-0,20	n/a	8	n/a	
Neprecizat	0,10-0,15	n/a	n/a	n/a	<i>Fevrier și colab., 1944</i>

UF= unitate furajeră; **SU=** substanță uscată; **PBD=** proteină brută digestibilă, **APD=** azot proteic digestibil; **PDI=**proteină digestibilă la nivel intestinal; **UFL=unitate furajeră lapte**; **UFV= unitate furajeră carne**; **PDIA=** proteină digestibilă în intestin de origine alimentară **PDIN=** proteină digestibilă în intestine de origine microbiană permise de conținutul în azot, **PDIE=**proteină digestibilă în intestin de origine microbiană, permise de conținutul în energie, **n/a=** lipsă date

Tab. 2.4. Valoarea nutritivă a tescovinei și a unor paie de cereale (după Magnier, 1991)
Tab..2.4. The nutritional value of grape pomace and of certain cereal straws. Adapted from Magnier, (1991)

Hammouda și Larwence, 1981								
Valoarea nutritivă	Nesuplimentat				Suplimentat cu 300 g de concentrate			
Nutreț	CUD S.O.	UF/k g SU	Cantitate ingerată g SU	UF ingerate	CUD SO	UF/k g SU	Cantitate ingerată g SU	UF ingerate
Tescovină	31	0,10	1700	0,17	51	0,52	1500	0,78
Paie de grâu	42	0,25	710	0,18	45	0,33	910	0,30
Paie de orz	44	0,29	690	0,20	47	0,35	933	0,33
Fân mazărice-ovăz (borceag)	60	0,53	700	0,37	-	-	-	-

C.U.D= coeficientul de utilizare digestivă; **UF=** unitate furajeră; **SU=** substanță uscată; **SO=**substanță organică

2.1.2 Utilizarea la taurine

Există puține informații cu privire la performanțele de producție observate în condițiile practice de alimentație. La bovinele specializate în producția de lapte, tescovina antrenează adesea scăderi de producție (*Aguilera, 1986*).

Sunt puține cercetări cu privire la utilizarea semințelor de struguri sau a tescovinei ca nutreț pentru vacile de lapte iar potențialul lor de a transfera antioxidanți în lapte este încă necunoscut.

Tescovina poate fi utilizată pentru producția de carne, la animalele cu cerințe scăzute (vacile de alăptare, juninci) până la 35% din rație (*RNED, 1988*). O suplimentare a hranei cu surse de energie și proteine este necesară; nu este recomandată utilizarea unică a tescovinei în hrana bovinelor.

Importanța cantității de tescovină ingerate se află în relație cu durata tranzitului în tubul digestiv. Mărimea particulelor tescovinei ating o dimensiune de 1 și 5 mm. Un aport de nutreț grosier în completare cu tescovină reduce viteza de tranzit și ameliorează digestibilitatea și valoarea nutritivă a tescovinei (*Larwence și colab., 1986*).

Suplimentarea în dietele vacilor de lapte cu uleiuri vegetale și semințe oleaginoase crește proporția de acizi grași mononesaturați (MUFA) și de acizi grași polinesaturați (PUFA) în grăsimea laptelui și sinteza acidului linoleic conjugat în rumen (*Alzahal și colab., 2008*); acesta din urmă poate duce la apariția spontană a aromei specifice de oxidare în lapte (*Granelli și colab., 1998*). Prezența unor antioxidanți, cum ar fi α -tocoferolul poate preveni oxidarea laptelui îmbogățit în acizi grași PUFA și apariția gustului nedorit (*Barrefors și colab., 1995*).

Compușii fenolici, cum ar fi izoflavonoidele și lignanii pot trece în lapte, așa cum s-a demonstrat la vacile de lapte hrănite cu trifoi (*King și colab., 1998*) și respectiv cu fână de semințe de in (*Petit și Gagnon, 2009*).

Numeroase studii au demonstrat că metaboliții secundari ai plantelor au capacitatea de a modifica fermentația rumenală și de a reduce producția de metan la rumegătoare, îmbunătățind astfel eficiența de utilizare a hranei la animale (*Bodas și colab., 2012*).

Taninurile sunt recunoscuți ca fiind compuși cu o capacitate puternic antimicrobiană, putând să reducă producția de metan în rumen (*Tavendale și colab., 2005; Jouany și Morgavi, 2007; Liu și colab., 2011*).

Rumegătoarele contribuie în mod substanțial la emisiile antropogenice de CH₄ la nivel global, fiind responsabile de aproximativ 15% din totalul emisiilor de CH₄ datorate fermentației anaerobe enterice a nutrețurilor (*Moss și colab., 2000*).

Emisiile de metan au scăzut atunci când rumegătoarele au consumat nutrețuri bogate în taninuri precum unele leguminoase (sparcetă, trifoi, ghizdei) sau alte legume (Waghorn, 2008).

Potrivit unor studii realizate în Australia s-a demonstrat faptul că prin suplimentarea rației vacilor de lapte cu subproduse din vinificație (tescovina), acestea pot reduce cu 20% emisiile de metan (Moate, 2012).

Activitatea antimetanogenică a taninurilor hidrolizabile și condensate a fost demonstrată mai amănunțit în mai multe studii realizate în vitro și in vivo (Hess și colab., 2006; Goel și Makkar, 2012). Taninurile hidrolizabile și condensate extrase dintr-o gamă largă de materii vegetale au redus producția de CH_4 în vitro, deși cu o eficacitate variabilă, în funcție de sursa de taninuri (Pellikaan și colab., 2011). Producția de metan din fermentația ruminală a fost redusă până la 50%, ca răspuns la taninuri sau extracte din plante care conțineau acești compuși polifenolici (Patra și Saxena, 2010; Goel și Makkar, 2012); unii autori au considerat că masa moleculară a taninurilor condensate au un impact direct asupra producției de CH_4 ; în special, a taninurilor cu masă moleculară mai mare (Huang și colab., 2011).

În literatura de specialitate, modul de acțiune a taninurilor nu a fost pe deplin elucidat. Taninurile au acțiune antimicrobiană putând să inhibe unele microorganisme rumenale. Unele studii au arătat că taninurile pot inhiba prin activitățile lor bacteriostatice și bactericide creșterea și activitatea microorganismelor metanogene (Tavendale și colab., 2005; Liu și colab., 2011), probabil prin fixarea proteinelor și enzimelor de celulele microbiene. Taninurile pot să inhibe unele protozoare rumenale și să afecteze în mod indirect microorganismele metanogenice care se află în conexiune strânsă. Acești compuși secundari pot afecta în mod nefavorabil bacteriile celulozolitice (Waghorn, 2008; Patra și colab., 2009) și prin urmare fermentația anaerobică a carbohidraților în vederea sintezei acizilor grași cu lanț scurt, în special acidul acetic, reducând în felul acesta formarea de H_2 și CO_2 necesari pentru metanogeneză. Taninurile condensate ar putea să scadă producția de metan prin reducerea digestiei fibrelor (efect indirect), în timp ce taninurile hidrolizabile ar putea să acționeze prin inhibarea metanogenilor – și/sau microorganismelor producătoare de hidrogen (efect direct) (Goel și Makkar, 2012).

Taninurile condensate ar putea de asemenea, să contribuie la menținerea sănătății animalelor prin reducerea efectelor negative a paraziților interni la ovine și riscului balonării la bovine (Niezen și colab., 1998).

Este cunoscut faptul că utilizarea drojdiilor în alimentația animalelor îmbunătățește calitatea nutritivă a hranei și performanța animalelor (Matin și

colab., 1989). Produsele pe bază de drojdii sunt utilizate pe scară largă ca aditivi nutriționali (produse probiotice) la rumegătoare în multe părți ale lumii. Valorificarea drojdiilor din sedimentele vinului oferă multe beneficii. Cercetările au demonstrat că preparatele de drojdii viabile pot modifica activitățile microbiene, fermentative și funcțiile digestive în rumen, cu efect pozitiv asupra performanței animalelor.

2.2 UTILIZAREA SUBPRODUSELOR VINICOLE LA MONOGASTRICE

La animalele nerumegătoare (păsări, porci, iepuri) utilizarea tescovinei sau a altor subproduse (ciorchinii) din vinificație se face cu moderație deoarece aceste animale nu au posibilitatea de a digera celuloza și alți hidrați de carbon din tescovină precum rumegătoarele, păsările pot digera celuloza numai până la 20% (*Baia și colab., 1962*).

Păsările se deosebesc de celelalte animale printr-o mobilitate mai accentuată, prin intensitatea de creștere mai pronunțată și printr-un metabolism mai ridicat. Hrănirea păsărilor se face ținând cont de particularitățile anatomo-fiziologice ale tubului digestiv și, legat de aceasta, de specificul digestiei (*Pop și colab., 2006*).

La păsări, tractusul gastrointestinal diferă mult față de alte specii monogastrice. Păsările, neavând dinți nu mărunțesc nutrețurile în cavitatea bucală, acestea ajungând direct în gușă, unde suferă procese de fermentație. Sucul gastric se produce în proventricul, iar stomacul muscular îndeplinește funcția dinților de la mamifere, mărunțind hrana în particule fine (*Pop și colab., 2006*).

Intestinul subțire are o lungime de 120-160 cm, fiind structurat în trei segmente, respectiv: duoden, jejun și ileon, și care îndeplinesc funcții diferite în cadrul procesului de digestie (*Vacaru-Opriș și colab., 2005*).

Intestinul subțire este plasat între stomacul muscular și intestinul gros (la nivelul joncțiunii ileocecale). Primul compartiment, duodenul, prezintă două anse orientate în forma literei U, între care se găsește pancreasul, care își varsă sucule în zona terminală a ansei ascendente. Tot la acest nivel este eliberată și bila, prin canale biliare.

La păsări, duodenul are numeroși noduli limfatici și infiltrații leucocitare. Mucoasa intestinului subțire ca și submucoasa au numeroase vilozități, care sunt intens vascularizate, având un rol important în procesul de absorbție. Secreția de suc pancreatic este continuă (0,4-0,8 mL/oră), fiind mai mare în momentul ingestiei de hrană (3mL în prima oră de după ingestia hranei). Sucul pancreatic îndeplinește în organism aceleași funcții ca și la mamifere; conținând în plus

cantități importante de bicarbonați, contribuie la neutralizarea conținutului gastric care trece din stomacul muscular în duoden (*Vacaru-Opriș și colab., 2005*).

Jejunul este lung de 50-60 cm, situat între duoden și ileon. Structura mucoasei jejunului este apropiată de cea a duodenului, devenind mai subțire pe măsură ce se apropie de ileon; ea este deosebit de bogată în vilozități și glande Lieberkühn.

Ileonul, este lung de 50-60 cm (la găini), este situat între jejun și colon (joncțiunea ileo-ceco-colică). Structura mucoasei sale este asemănătoare cu cea a duodenului și jejunului, dar la acest nivel se constată o creștere a celulelor mucoase și o scădere a celulelor cromafine. În zona ileo-cecală se găsește un fald circular cu rol de sfincter, respectiv valvula ileo-cecală (*Vacaru-Opriș și colab., 2005*).

La procesele de digestie în intestinul subțire participă enzimele digestive din suc pancreatic și glandele lui Lieberkühn, sărurile biliare și acizii biliari, și în mare măsură enzimele sucului intestinal.

Digestia chimică a substanțelor nutritive și absorbția lor se face foarte rapid, încât la 12-15 minute după ingerarea hranei se pot evidenția în vena portă, glucoză și aminoacizi. Digestia și absorbția maximă este apreciată la cca 2 ore după consumarea hranei și continuă în mod constant, în funcție de frecvența ingestiei de hrană. La nivelul acestui segment al intestinului subțire sunt scindate și absorbite glucidele ușor fermentescibile, grăsimile și proteinele, cu excepția celulozei, care doar o parte este hidrolizată la nivelul cecumului de flora microbiană, cu formare de acizi grași volatili (*Baia și colab., 1962*).

Intestinul gros are un rol important în funcția de digestie și absorbție. La nivelul colonului, în porțiunea sa anterioară, mai continuă procesele de digestive din intestinul subțire, dar cu o intensitate mai scăzută. În acest compartiment are loc absorbția apei și electroliților (*Vacaru-Opriș și colab., 2005*).

În cecum, se realizează hidroliza parțială a celulozei sub acțiunea bacteriilor celulozolitice care populează acest segment al tubului digestiv, în urma căruia rezultă AGV; aceștia sunt absorbiți în mare parte, mărind baza energetică a organismului. Tot la acest nivel au loc biosinteze de vitamine (vit. B₁₂, vit K, etc).

În cloacă, se produce amestecarea fecalelor cu urina și continuă procesul de absorbție al apei și electroliților. Fecalele sunt formate din substanțe organice nedigestibile, substanțe organice digestibile neabsorbite, celule epiteliale descumate, mucus, bacterii, pigmenți biliari precum și din componenții azotați ai urinei, cum sunt: urații, acidul uric și ureea.

În urma prezentării sumare a unor particularități morfologice și de digestie la păsări se poate concluziona că păsările valorifică greu nutrețurile fibroase, alimentația acestora se sprijină mai mult pe nutrețuri concentrate. Substanțele greu digestibile (ex:celuloza), sunt digerate într-o cantitate mai redusă. Dintre substanțele nutritive, păsările pot digera mai bine grăsimea (*Baia și colab., 1962*). Păsările au un metabolism mai intens și cheltuiesc mai multă energie pentru întreținere comparativ cu mamiferele, datorită temperaturii mai ridicate decât a corpului (41-42°C față de 37°C cât este la mamifere).

De asemenea, pentru creștere și producția de ouă, organismul este solicitat la un consum ridicat de proteină, pe care neavând posibilitatea de a o asigura măcar parțial prin biosinteză, trebuie să li se dea în hrană prin nutrețuri de origine vegetală (șroturile, semințele de leguminoase) sau animală (făină de carne, de carne, făină de pește) (*Baia și colab., 1962*).

La porci, în intestinul gros, pe lângă procesele de fermentație, în colonul helicoidal se petrece și o fermentație metanică activă a celulozei, fapt care face ca porcinele să poată valorifica într-o anumită măsură și nutrețurile fibroase. Totuși, aceasta este mai redusă decât la ierbivorele monogastrice (cabalinele) și mult mai redusă decât în cazul ierbivorelor poligastrice (bovine, ovine, caprine), deoarece produșii de digestie rezultați sunt absorbiți în măsură incompletă numai în intestinul gros. Din această cauză nutrețurile fibroase se pot introduce în alimentația lor numai după o prealabilă preparare, care să le ușureze digestia (*Baia și colab., 1962*).

De asemenea, și în cazul rozătoarelor (iepurii, cobaii) în intestinul gros are loc pe lângă procesele de fermentație și o fermentație metanică activă a celulozei, ca și la omnivore, acestea putând să valorifice mai bine nutrețurile fibroase.

Măcinarea subproduselor fibroase (tescovina), este necesară deoarece aceste animale nu pot mărunți suficient semințele sau piețile; prin măcinare se realizează o reducere a dimensiunilor particulelor de hrană și creșterea suprafeței de contact cu enzimele digestive, ca urmare, eficiența hranei se îmbunătățește cu cât particulele de hrană sunt mai mici. Efectele biologice ale polifenolilor au fost intens studiate "in vitro" și la modelele experimentale de animale (în special la cobai). Cu toate acestea, datele obținute la animalele domestice sunt încă limitate. Cercetările recente au subliniat importanța subproduselor vinicole ca fiind materii vegetale care nu numai că sunt deosebit de bogate în polifenoli dar au și o serie de activități biologice (*Brenes și colab., 2016*). Atunci când sunt aplicate în nutriția monogastricelor, acestea pot oferi posibilități promițătoare în vederea îmbunătățirii anumitor aspecte ale cărnii, a

calității laptelui și pentru modificarea microbiotei intestinale (tabelele 2.5, 2.6, 2.7, 2.8).

Tab. 2.5. Studii din literatură cu privire la efectele unor subproduse vinicole și a unor compuși polifenolici în alimentația păsărilor (Brenes și colab., 2016)

Tab. 2.5. Studies in the literature regarding the effects of wine by-products and polyphenolic compounds in the birds diet. Adapted from Brenes et al., (2016)

Specia	Subprodus vinicol utilizat	Doza (g/kg)	Efect	Referințe
Păsări (puii de carne)	Extract de semințe de struguri (ESS)	10	Nici un efect asupra performanțelor de creștere	<i>Hughes și colab., (2005)</i>
	ESS (296 g GAE/kg și 148 g echivalenți cianidin/kg)	0,01	A îmbunătățit performanțele de creștere	<i>Juin și colab., (2007)</i>
	Tescovină (48,6 GAE/kg și 160,4 antocianidine/kg)	5-30	Reducerea oxidării lipidelor din carne și îmbunătățirea vitaminei E. Nici un efect asupra performanțelor de creștere	<i>Goni și colab., (2007)</i>
	Tescovină (48,6 GAE/kg și 160,4 antocianidine/kg)	15-60	Digestibilității polifenolilor Determinarea digestibilității ileale și fecale a taninurilor hidrolizabile (56-73%) și condensate (14-17%). Reducerea oxidării lipidelor din carne Nici un efect asupra performanțelor de creștere	<i>Brenes și colab., (2008)</i>
	ESS (10% monomeri și 61,32 oligomeri)	0,005–0,08	Reducerea stresului oxidativ în coccidioză	<i>Wang și colab., (2008)</i>
	ESS (296 GAE/kg și 148 g echivalenți cianidină/kg)	0,6–3,6	Nici un efect asupra performanțelor de creștere Îmbunătățirea digestibilității polifenolilor Creșterea activității antioxidante în hrană și dejecții	<i>Brenes și colab., (2010)</i>

ESS- Extract de semințe de struguri, GAE-echivalenți acid galic

Continuare Tab. 2.5/Tab. 2.5. Continued

Specia	Subprodus vinicol utilizat	Doza (g/kg)	Efect	Referințe
Păsări (puii de carne)	Resveratrol (500 mg/kg)	0,2, 0,4 g/kg	Nici un efect asupra performanțelor de creștere. Creșterea concentrației de vitamina E în ser la prepelițe	Sahin și colab., (2010)
	Tescovină (T) și Extract de semințe (ESS)	T: 60; ESS:7,2	Modifică morfologia intestinului și microbiota intestinală	Viveros și colab., (2011)
	ESS (890 mg/kg polifenoli)	0,01–0,2	Nici un efect asupra plasmei și oxidării lipidelor	Vossen și colab., (2011)
	ESS (296 g GAE/kg și 148 g echivalenți cianidină/kg)	0,025–5	Nici un efect asupra performanțelor de creștere (până la 2,5 g/kg). Reducerea concentrației de fier liber în plasmă	Chamorro și colab., (2013)
	Tescovină (48,6 g GAE/kg și 160,4 g antocianidine/kg)	50; 100	Nici un efect asupra performanțelor de creștere. Reducerea oxidării lipidelor din carne similară cu vitamina E. Creșterea conținutului PUFA în carnea din coapsă	Chamorro și colab., (2015)
	Tescovină concentrată (38,5 g/kg PT și 27 g/kg proantocianidine)	0,025; 0,050; 0,075	Înlocuirea vitaminei E. Nici un efect asupra performanțelor de creștere. Reducerea oxidării lipidelor din carne	Iqbal și colab., (2014)
	Resveratrol	0,2; 0,4; 0,6	Îmbunătățește performanțele de creștere și reduce stresul oxidativ în oase	Liu și colab., (2014)

ESS- Extract de semințe de struguri, GAE-echivalenți acid galic

Tab. 2.6. Studii din literatură cu privire la efectele unor subproduse vinicole și a unor compuși polifenolici în alimentația porcilor (după Brenes și colab., 2016)

Tab. 2.6. Studies in the literature regarding the effects of wine by-products and polyphenolic compounds in the pigs diet. Adapted from Brenes et al., (2016)

Specia	Subprodus vinicol utilizat	Doza (g/kg)	Efect	Referințe
Porci	ESS (cu polifenoli)	2	Nici o influență asupra nivelului de antioxidanți oxidării lipidelor în carnea de porc crescuți în aer liber	Gonzalez și Tejeda, (2007)
	ESS (865 g GAE/kg)	0,1, 0,3, 0,7	Nici un efect asupra calității cărnii proaspete și gătită și stabilității oxidative	O'Grady și colab., (2008)
	Tescovină concentrată (62,1 g GAE/kg)	30	Îmbunătățește performanțele de creștere și digestibilitatea azotului. Modifică profilul în acizi grași din grăsimea subcutanată	Yan și Kim (2011)
	ESS (34, 46 și 65 mg/g of GA, C and EC)	In vitro (250 μg/ml)	Modifică fermentarea amidonului în microbiota fecală și ileală	Wang și colab., (2012)
	Tescovină fermentată	100–200	Crește numărul de bacterii benefice. Scad emisiile de AGV în fecale.	Cho și colab., (2012)
	Tescovină și extract de făină de tescovină (fără seminte) (85 g GAE/kg)	In vitro (0,02–2 μg/ml) In vivo 20	Prevenirea procesului inflamator intestinal Inhibarea proceselor inflamatorii în epiteliul intestinal și reducerea factorilor de transcripție NF-kB și Nrf2, răspunzători de stresul oxidativ în mucoasa duodenală la porci înțărcați	Gessner și colab., (2012, 2013)
	Semințe de struguri și extract de făină de tescovină (85 g GAE/kg)	10	Îmbunătățește conversia hranei la porci înțărcați. Modifică microbiota intestinală și efectul anti-inflamator	Fiesel și colab., (2014)

ESS- Extract de semințe de struguri, GAE-echivalenți acid galic, GA-acid galic, C-catechine, EC-epicatechine

Continuare Tab. 2.6/ Tab. 2.6. Continued

Specia	Subprodus vinicol utilizat	Doza (g/kg)	Efect	Referințe
Porci	ESS (polifenoli cu greutate moleculară mică)	10	Scade diareea indusă de E. coli la porci înțărcați.	Verhelst și colab., (2014)
	ESS (cu polifenoli)	1	Nu a prezentat nici o diferență în populația microbiană din cecum și fecale la porci înțărcați. Reduce valorile TBARS* în plasmă.	Zhang și colab., (2014)

ESS- Extract de semințe de struguri, GAE-echivalenți acid galic.

*TBARS- substanțe reactive cu acid tiobarbituric (produs rezultat în urma peroxidării lipidelor);

Tab. 2.7.Studii din literatură cu privire la efectele unor subproduse vinicole și a unor compuși polifenolici în alimentația iepurilor (după Brenes și colab., 2016)

Tab. 2.7.Studies in the literature regarding the effects of wine by-products and polyphenolic compounds in the rabbits diet. Adapted from Brenes et al., (2016)

Specia	Subprodus vinicol utilizat	Doza (g/kg)	Efect	Referințe
Iepuri	Făină din semințele de struguri decorticate	100	Nici un efect asupra performanțelor de creștere și calității carcasei la iepurii de îngrășare	Cavani și colab., (1988)
	Făină din pulpa strugurilor	280	Nici un efect asupra performanțelor de creștere. Creșterea proporției de AGV în cecum și proliferarea microflorei intestinale. Reducerea nivelului de Cu din plasmă.	Tortuero și colab., (1994)
	Tescovină	100–300	Creșterea numărului total de bacterii sulfat-reducătoare în cecum la iepurii de îngrășare. Scăderea indicelui de conversie al hranei. Creșterea utilizării proteinei brute digestibile. Reducerea acizilor grași volatili și amoniacului în cecum. Digestibilitatea, eficiența utilizării și fermentarea în cecum.	Motta-Ferreira et al. (1996)

	Făină din semințele de struguri degresate	25–75	Nici un efect asupra performanțelor de creștere și digestibilității nutrienților la iepurii de îngrășare și în lactație (25 g/kg)	<i>Nicodemus și colab., (2007)</i>
	ESS și EEP	2	Activarea statusului antioxidant și reducerea oxidării lipidelor din plasmă la iepurii cu hipercolesterolemie	<i>Choi și colab., (2010)</i>

ESS- Extract de semințe de struguri, EEP- extrat de pielețe de struguri GAE- echivalenți acid galic.

Tab. 2.8. Aplicații ale subproduselor vinicole ca antioxidanți naturali în carne și produsele de carne (Brenes și colab., 2016)

Tab 2.8. Applications of grape by-products as natural antioxidants in meat and meat products. Adapted from Brenes et al., (2016)

Extrakte din struguri	Concentrația	Produse de carne	Condiții de stocare	Efecte	Referințe
Extract de tescovină	0,1	Mușchi de pește înghețat	-10°C, 5-6 min	Oligomerii flavanoli inhibă oxidarea	<i>Pazos și colab., (2005)</i>
Extract de semințe	0,4, 0,8, 1,6	Piept de curcan gătit	Ambalat în vid, 13 zile	Inhibă râncezirea oxidativă și formarea compușilor volatili	<i>Mielnik și colab., (2006)</i>
Extract de semințe	2,5	Piept de pui gătit	4°C, 6 și 12 zile	Reduc valorile TBARS .	<i>Rababah și colab., (2006)</i>
Extract de semințe	1, 10	Carne de porc proaspătă și gătită	Depozitare prin refrigerare și congelare	Inhibă produșii primari și secundari de oxidare	<i>Brannan și Mah (2007)</i>
Extract de semințe	0,1-0,2	Chiftele crude de porc	Ambalat în vid, -18°C, 4 luni	Inhibă râncezirea oxidativă Tescovina a evidențiat cea mai bună activitate antioxidantă bazată pe valorile TBARS.	<i>Rojas și Brewer (2008)</i>
Extract de tescovină	24	Stavrid	-20°C, 6 luni	Inhibă râncezirea și oxidarea lipidelor	<i>Sánchez-Alonso și</i>

					<i>Borderías (2008)</i>
Extract de tescovină	5, 10, 15, 20	Hamburgeri de pui crud și gătit	Învelite în PVC, 4°C pentru 3, 5 și 13 zile	Îmbunătățește stabilitatea oxidativă	<i>Sayago-Ayerdi și colab., (2009)</i>
Extract de semințe	20	Mușchi de scrumbie tocată	-18°C, 3 luni	Reduc valorile TBARS și hidroxiperoxizii lipidici	<i>Ozen și colab., (2011)</i>
Extract de semințe	1	Chiftele crude de porc	2°C, 1, 6, 13, 20 zile	Reduc oxidarea lipidelor și limitează deteriorarea culorii Scăderea numărului total viabil (bacterii lactice <i>Pseudomonas</i> și bacterii aerobe psihotrope)	<i>Lorenzo și colab., (2014)</i>

*TBARS- substanțe reactive cu acid tiobarbituric (produs rezultat în urma peroxidării lipidelor;

2.2.1 Utilizarea la păsări

Există o serie de referințe în literatura de specialitate cu privire la utilizarea subproduselor vinicole (tescovina, semințe sau extracte de semințe) în alimentația păsărilor, în ultimii ani, cele mai multe studii au fost realizate la puii broiler de găină.

Efectele protective ale tescovinei și ale extractelor de semințe de struguri la puii aflați în creștere au fost studiate de către un grup de cercetători din Spania iar rezultatele au fost publicate într-o serie de lucrări (*Goni și colab., 2007, Brenes și colab., 2008; 2016; Viveros și colab., 2011*).

Goni și colab., (2007), în studiul lor, au introdus în hrana puilor de găină în vârstă de o zi, diferite cantități de tescovină (0,5%, 1,5% și 3%) și acetat α -tocoferil (200mg/kg) ca surse de fibre și antioxidanți. Includerea acestor concentrații de tescovină în hrana puilor nu a afectat performanțele de creștere și digestibilitatea proteinelor și aminoacizilor. În acest studiu s-a evidențiat, în schimb o creștere a activității antioxidante în hrana puilor broiler, în excretă și în carne. Rezultatele acestui studiu au confirmat de asemenea faptul că, tescovina și vitamina E pot întârzia oxidarea lipidelor în carnea de pui și pot reduce riscul de toxicitate cauzat de produșii rezultați în urma oxidării lipidice. Rezultate similare au fost evidențiate de *Tang și colab., (2001)*, care au utilizat

catechine din ceai; *De Winne și Dirinck, (1996)* au suplimentat vitamina E în hrana puilor broiler.

În urma suplimentării tescovinei în hrană, s-a observat o creștere a conținutului de vitamină E la nivelul ficatului, ceea ce a favorizat absorbția vitaminei E la nivel intestinal.

Cercetările privind noile surse de antioxidanți bioactivi s-au axat în principal pe antioxidanții naturali pentru că aceștia oferă mai multă siguranță, fiind mai puțin toxici față de cei sintetici.

Vitamina E este cel mai frecvent antioxidant utilizat în alimentația animalelor, însă poate prezenta unele dezavantaje în ceea ce privește originea sa sintetică sau bioeficacitatea sa în organism. Previne oxidarea acizilor grași nesaturați, a fosfolipidelor și a vitaminei A. De asemenea, ajută la menținerea stabilității membranei celulare și este esențială pentru menținerea în limite normale a funcțiilor neurologice.

Uleiul de semințe de struguri are un conținut ridicat în tocoferoli (vitamina E) ceea ce poate oferi un grad înalt de protecție antioxidantă pentru unele produse sau țesuturi animale care pot fi ușor oxidabile (*Demirun și colab., 1996*). Carnea de pasăre este relativ bogată în acizi grași polinesaturați și este prin urmare ușor susceptibilă la deteriorarea oxidativă (*Kanner, 1994*). Creșterea gradului de nesaturare a membranei musculare prin diferite manipulări crește sensibilitatea cărnii de pasăre la deteriorări oxidative în timpul stocării și drept consecință scade savoarea și valoarea sa nutrițională (*Enberg și colab., 1996*).

Stabilitatea oxidativă a cărnii de pasăre depinde în mare măsură de conținutul în α -tocoferol prezent în fosfolipidele membranelor celulare care la rândul său este dependent de nivelul de acetat α -tocoferil adăugat în hrană (*Wen și colab., 1997*). Suplimentarea hranei cu acest antioxidant a determinat creșterea vitaminei E în țesuturile musculare, îmbunătățind stabilitatea oxidativă în timpul depozitării cărnii (*Carreras și colab., 2004*).

În studiul realizat de *Brenes și colab., (2008)*, tescovina concentrată administrată până la 6% în hrana puilor broiler nu a afectat performanțele de creștere, digestibilitatea proteinelor și aminoacizilor. O mai bună stabilitate oxidativă a cărnii de pasăre a fost evidențiată în urma suplimentării hranei puilor cu concentrații mai mari de tescovină, prezența compușilor antioxidanți (în special a flavonoidelor) din tescovină a îmbunătățit conținutul de vitamină E la nivelul ficatului.

În urma acestor constatări ale autorilor *Goni și colab., (2007)* și *Brenes și colab., (2008)*, tescovina ar putea fi considerată o bună alternativă la suplimentarea hranei cu acetat α -tocoferil (vitamina E), putând favoriza

absorbția și creșterea nivelului de vitamină E la nivelul ficatului, menținând astfel o mai bună stabilitate oxidativă a cărnii în timpul stocării, datorate efectului antioxidant al vitaminei E.

În studiile efectuate de *Goni și colab., (2007)*; *Brenes și colab., (2008)* și *Viveros și colab., (2011)*, autorii au folosit cantități mai ridicate de 3% și 6% tescovină și extracte de semințe de struguri bogate în polifenoli în hrana puilor broiler. Astfel, în studiul efectuat de *Brenes și colab., (2008)*, folosirea unor cantități de 6% tescovină în hrana puilor broiler, la vârsta de 21 și 42 de zile, a determinat scăderea sporului în greutate (68 g) și creșterea I.C. (1,79 vs. 1,74). În schimb, în studiul efectuat de *Viveros și colab., (2011)*, folosirea aceleiași proporții de 6% tescovină în nutrețul combinat la vârsta de 21 de zile a puilor a determinat o îmbunătățire a I.C. cu 5,29% (1,43 vs. 1,51 kg n.c./kg spor) față de lotul de control.

Puii care au primit în hrană o proporție de 3% tescovină au înregistrat la vârsta de 21 de zile un spor de creștere mai ridicat cu 2,59% (17 g) și un indice de conversie al hranei mai redus cu 1,53% (1,29 vs. 1,31) (*Goni și colab., 2007*). Date similare au fost evidențiate și de *Brenes și colab., (2008)* care a folosit în hrana puilor 3% tescovină concentrată.

Alte surse vegetale bogate în polifenoli precum sorgul și fasolea au fost studiate în alimentația păsărilor. Utilizarea în hrană a acestor ingrediente bogate în polifenoli, a redus în mod semnificativ performanțele păsărilor, efect care a fost întâlnit și în cazul altor animale de fermă (*Jansman și colab., 1989*).

Prezența compușilor polifenolici în hrană poate avea unele efecte adverse asociate cu eficiența scăzută a nutrienților, în special a proteinelor și aminoacizilor (AA), inhibarea enzimelor digestive și excreția crescută de proteine endogene (*Butler și Rogler, 1992*; *Jansman și colab., 1994*). Polifenolii, în principal taninurile condensate, se leagă de proteine datorită interacțiunii dintre grupările lor hidroxil reactive cu grupările carbonil ale proteinelor. Ca o consecință a acestor combinații care se formează, digestibilitatea proteinelor și AA a fost redusă în urma introducerii în hrana puilor și a porcilor a sorgului și boabelor de fasole, bogate în polifenoli (*Jansman și colab., 1989*; *Ortiz și colab., 1993*).

În experimentele efectuate de *Goni și colab., (2007)*, tescovina a avut un conținut scăzut în polifenoli totali, de 4,86% și în taninuri condensate ceea ce nu a determinat scăderea în greutate a puilor.

Este cunoscut faptul că o mare parte dintre compușii polifenolici (procianidine) rămân neabsorbiți la nivel intestinal; s-a estimat că aproximativ 5-10% din totalul polifenolilor totali introduși prin hrană pot fi absorbiți în intestinul subțire (*Brenes și colab., 2016*). Restul polifenolilor care rămân

neabsorbiți (90–95% din totalul polifenolilor din hrană) se pot acumula în lumenul intestinal, iar aceștia împreună cu metaboliții lor ar putea avea un rol cheie pentru menținerea florei intestinale normale prin modularea microbiotei (*Selma și colab., 2009*).

Unii compuși polifenolici pot reduce, de asemenea, absorbția fierului și eventual a altor urme de metale. De exemplu, extractul de semințe de struguri a inhibat absorbția Zn (*Kim și colab., 2011*) sau a fierului hem într-o manieră dependentă de doză (*Ma și colab., 2011*) fermentația microbiană a proteinelor și / sau metabolismul aminoacizilor la om au fost de asemenea afectate (*Jacobs și colab., 2012*).

În general, efectele compușilor polifenolici asupra absorbției și asimilării diferiților nutrienți depinde de mai mulți factori inclusiv tipul de compus, concentrația sa, combinarea cu alți compuși, etc (*Martel și colab., 2010*).

Scăderea semnificativă și pronunțată a greutatei a fost evidențiată în unele studii, în urma utilizării unui extract de semințe de struguri care a fost raportată de *Hughes și colab., (2005)* și *Lau și King (2003)*.

Lau și King, (2003) au evidențiat o scădere în greutate la puii hrăniți cu concentrații ridicate (10 g/kg) de extracte de semințe de struguri conținând o cantitate de polifenoli de 85,4 g GAE/100 g și rezultând o concentrație în hrană de 5 g GAE/kg. Totuși, *Hughes și colab., (2005)* a raportat că nivelurile până la 10 g/kg de extracte de semințe de struguri în hrană nu au afectat performanțele puilor. Diferențele în conținutul polifenolic a extractelor de semințe de struguri pot explica aceste rezultate contradictorii.

Chamorro și colab., (2012) au arătat faptul că încorporarea extractelor de semințe de struguri în alimentația puilor până de 2,5g/kg (0,75g GAE/kg) nu a afectat performanțele de creștere sau digestibilitatea proteinelor. În schimb, acest studiu a evidențiat o scădere a concentrației de minerale (Cu și Zn, Fe) în plasmă. Compușii polifenolici din semințe pot prezenta proprietăți de chelatare cu mineralele. Reducerea conținutului de fier poate să explice în mod parțial activitatea antioxidantă a polifenolilor din extractele semințelor de struguri.

Și în studiul efectuat de *Brenes și colab., (2010)*, extractele de semințe de struguri încorporate în cantități mai mici de până la 0,36% în hrana puilor de carne, nu a afectat performanțele productive și digestibilitatea proteinelor.

Administrarea în hrana puilor al extractului de tescovină bogat în polifenoli (6% în hrană), a determinat creșterea raportului înălțime vilozități/adâncime cripte în jejun ceea ce a condus la îmbunătățirea funcțiilor digestive, creșterea suprafeței de absorbție și expresia enzimelor din marginea în perie (*Viveros și*

colab., 2011). Se produce și o modificare a populației bacteriene din intestin (o creștere a populației de bacterii benefice cum ar fi *Enterococcus*, și o descreștere a potențialilor patogeni ca cei din genul *Clostridium* (Gaňán și *colab.*, 2009; Viveros și *colab.*, 2011). Din studiile efectuate până în prezent se constată că numai un număr limitat de specii de bacterii sunt capabile să degradeze compușii polifenolici (*Eubacterium ramulus* și *Clostridium orbiscindens*) sau să inițieze dezvoltarea speciilor din genul *Proteobacteria* (Kemperman și *colab.*, 2014).

O creștere a înălțimii vilozităților intestinale a fost raportată la puii hrăniți cu o dietă cu un nivel scăzut proteină brută (CP) comparativ cu un regim alimentar care conține un nivel proteic etalon ($\geq 22\%$), și a fost explicată prin dezvoltarea vilozităților intestinale, sporind astfel eficiența digestiei și absorbției. Vilozitățile lungi sunt corelate cu îmbunătățirea stării de sănătate al intestinului (Baurhoo și *colab.*, 2011).

Suplimentarea dietei cu polifenoli a stimulat creșterea celulelor absorbante în peretele intestinului subțire, creșterea lungimii și diametrului vilozității, precum și adâncimea și lățimea criptei duodenului (Paul și *colab.*, 2007).

Dorri și *colab.*, (2012) în studiul lor au urmărit efectul diferitelor concentrații de tescovină asupra parametrilor biochimici din serul sanguin al puilor broiler în vârstă de 29 și 49 de zile. Din probele de sânge s-a determinat conținutul în trigliceride, colesterol total, lipoproteine cu densitate joasă (LDL) și cu densitate înaltă (HDL). Aceștia au ajuns la concluzia că utilizarea tescovinei în hrana puilor poate să îmbunătățească profilul lipoproteic și lipidic în sânge.

Studii cu privire la influența tescovinei, semințelor și extractelor de semințe asupra parametrilor productivi și calitativi ai oului au fost efectuate mai recent și la găinile ouătoare (Özgan și *colab.*, 2009; Silici și *colab.*, 2011; Kara și Kocaoglu-Guclu 2012, Kaya și *colab.*, 2014; Kara și *colab.*, 2016).

În studiul realizat de Kaya și *colab.*, (2014), suplimentarea hranei cu semințe (0,5%, 1%, 1,5%) și extracte de semințe de struguri (675, 1350 mg/kg) la găinile ouătoare a îmbunătățit performanțele bioproductive, prin creșterea semnificativă a producției de ouă. Utilizarea acestor subproduse în hrana găinilor ouătoare nu au avut nici un efect negativ asupra consumului de hrană și indicelui de conversie al hranei, cu excepția greutatei ouălor. Greutatea ouălor a scăzut la loturile cu semințe și extracte de semințe de struguri. Prezența compușilor polifenolici în hrană pot avea unele efecte metabolice negative care pot fi asociate cu eficiența scăzută a nutrienților în special a proteinelor, a inhibării enzimelor digestive și creșterii proteinelor endogene (Brenes și *colab.*, 2010).

Adăugarea de semințe și extracte de seminte de struguri în diferite cantități a crescut indicele albușului și unitatea Haugh la ouăle proaspete (*Kaya și colab., 2014*). Calitatea albușului este dependentă de cantitatea de β -ovomucină secretată de magnum, aceasta este esențial responsabilă pentru înălțimea gelatinoasă a albușului. Înălțimea mai ridicată a albușului la loturile tratate este datorat efectului protectiv al semințelor și extractelor semințelor de struguri, efect care poate fi pus pe seama proprietăților antioxidante ale polifenolilor asupra secreției de β -ovomucină în magnum (*Kaya și colab., 2014*).

În studiul realizat de *Kara și colab., (2016)* și *Kara și Kocaoglu-Guclu (2012)*, suplimentarea hranei cu tescovină în proporție de 2%, 4% și 6% nu a avut nici un efect negativ asupra producției de ouă, consumului de hrană și indicelui de conversie al hranei, la găinile ouătoare pe perioada năpârlirii (*Kara și Kocaoglu-Guclu, 2012*). Utilizarea tescovinei în hrana găinilor ouătoare nu a afectat indicele albușului, indicele gălbenușului, unitatea Haugh, greutatea specifică, culoarea gălbenușului, proporția de coajă și grosimea cojii la ouăle proaspete. Acest lucru este susținut și de cercetările efectuate de *Silici și colab., (2011)* care au adăugat în hrana prepelițelor diferite cantități tescovină (0,5%, 1% și 1,5%), acestea nu au influențat negativ unitatea Haugh, grosimea cojii și culoarea gălbenușului.

Özgan și colab., (2009) au demonstrat că utilizarea uleiului de semințe de struguri în hrana găinilor ouătoare nu influențează negativ performanțele productive (greutatea corporală, consumul de hrană, masa oului și eficiența hranei).

Suplimentarea hranei prepelițelor cu resveratrol extras din semințele de struguri nu a îmbunătățit parametri fizici de calitate ai oului (coaja oului, greutatea oului, indicele albuș, culoarea gălbenușului, etc) și nici nu a modificat parametrii productivi (*Şahin și colab., 2010*). Resveratrolul s-a dovedit a avea activități estrogenice prin legarea acestuia de receptorul de estrogen alfa și stimularea Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7), o proliferare a liniei celulare a cancerului mamar. Resveratrolul poate să crească absorbția și metabolizarea calciului în oase (*Liu și colab., 2005*). Utilizând în cercetările experimentale, șobolani ovariectomizați, *Liu și colab., (2005)*, au arătat că suplimentarea hranei acestora cu resveratrol (0,7 mg/kg), a determinat creșterea densității minerale osoase și a inhibat pierderea de calciu de la nivelul femurului, lucru care a fost asociat și cu un deficit în estrogeni.

Resveratrolul este un adevărat captator de grupări hidroxil, superoxid și de radicali induși de ioni metalici, poate crește activitatea enzimelor antioxidante (*Young și colab., 2000*), precum cea a catalazei, superoxid dismutazei, glutat

peroxidazei, oxidoreductazei chinone NADPH și glutation S-transferazei și de asemenea activează factorul nuclear derivat din eritroide, un factor de transcripție major care reglează răspunsul antioxidant (*Rubio și colab., 2008*). Resveratrolul are proprietăți lipofile și hidrofile, putând fi mai eficient decât alți antioxidanți (*Young și colab., 2000*).

Azeke și Ekpo, (2009) au demonstrat că polifenolii naturali, catechinele și flavonolii pot determina scăderea colesterolului din ou prin captarea speciilor reactive de oxigen și chelatarea ionilor metalici.

Yang și colab., (2003) au demonstrat că prin suplimentarea cu subproduse rezultate din ceaiul verde (surse bogate în polifenoli) în doze de 4 și 6% în hrana găinilor ouătoare a crescut nivelul acizilor docosahexaenoici în gălbenușul de ou. Acidul docosahexaenoic (din grupa acizilor omega-3) joacă un rol important în organism prin reglarea presiunii sângelui și concentrației de colesterol în sânge. Pe lângă aceste roluri, acidul docosahexaenoic mai are numeroase beneficii potențiale în reducerea bolilor cardiovasculare, rezoluția inflamației și importanța acestuia în funcția cognitivă și inhibarea evoluției bolilor neurodegenerative la persoanele în vârstă (*Whelan și colab., 2009*).

Agenții antioxidanți și unele substanțe naturale (ex: resveratrolul) cu proprietăți antioxidante sunt utilizați în mod frecvent pentru a preveni oxidarea acizilor grași polinesaturați din alimente iar suplimentarea hranei cu substanțe antioxidante (cum ar fi vitamina E, vitamina A și licopenul) este una dintre cele mai eficiente metode pentru a reduce peroxidarea lipidelor din ouă deoarece o parte dintre acești compuși este transferată în gălbenușul de ou (*Şahin și colab., 2010*).

Shi și colab., (2003) au raportat că puterea antioxidantă a proantocianidinelor este de 20 -50 de ori mai mare decât cea a vitaminelor E și C, putere care este dată de nivelul ridicat de oligomeri și proantocianidine polifenolice obținuți prin condensarea unităților flavani -3-oli, în special catechinele și epicatechinele din extractul de semințe de struguri.

Studii privind îmbunătățirea stabilității oxidative a ouălor și a cărnii prin intermediul antioxidanților din hrană evidențiază o relație invers proporțională între nivelul de antioxidanți alimentari și conținutul de malondialdehidă (marker de stres oxidativ) în gălbenușul de ou, carne, serul sanguin, acest compus organic fiind un indicator de peroxidare în produsele de pasăre (*Şahin și colab., 2010*).

Cercetări realizate de *Kara și colab., (2016)*, au evidențiat o reducere a malondialdehidei la ouăle depozitate la 4°C timp de 1-15 zile, ouă provenite de la găinile care au primit în hrană 4% și 6% tescovină. Acest studiu poate argumenta că polifenolii sau metaboliții acestora au fost absorbiți și distribuiți în

produs (ou) dar probabil în cantități neglijabile în comparație cu moleculele antioxidante endogene din albuș și gălbenuș (albumina, carotenoizi, tocoferoli, acid ascorbic, etc), încât sa contribuie considerabil la statusul antioxidant total. Un studiu asemănător a fost realizat la găinile care au primit în hrană 2% tescovină și care a indus scăderea malondialdehidei în gălbenușul ouălor proaspete în prima zi, la 0, 30 și 60 minute de incubare, însă modificări semnificative al acestui compus la ouăle stocate la +4°C timp de 15 și 30 de zile nu au fost evidențiate (*Kara și Kocaoglu-Guclu, 2012*).

Cercetări similare au fost realizate și pe perioada depozitării cărnii (4°C), în urma introducerii tescovinei (*Goñi și colab., 2007; Brenes și colab., 2008; Sayago-Ayerdi și colab., 2009*) și extractelor de semințe de struguri în hrana puilor broiler (*Smet și colab., 2008*) s-a constatat o reducere a peroxidării lipidelor în carnea de pui. *Turan și Öztürk, (2010)* au studiat efectele semințelor (0,5%, 1%, 2%) și extractelor semințelor de struguri (200, 400, 800 g/kg) și vitaminei E la puii broiler asupra statusului antioxidant al cărnii. Aceștia au concluzionat că aceste subproduse pot fi utilizate ca antioxidanți naturali în hrana puilor broiler. Acest efect al extractului de semințe de struguri de captare a radicalilor liberi se datorează conținutului în polifenoli (*Kaya și colab., 2014*).

Pe lângă activitatea antioxidantă, s-a dovedit că extractele de semințe de struguri acționează și ca agenți antibacterieni (*Chedea și colab., 2011*). *Yilmaz și Toledo, (2004)*, au indicat că procianidinele dimerice, trimerice, oligomerice și polimerice reprezintă fracțiunea majoră cu puterea antioxidantă cea mai ridicată din semințe de struguri din varietățile de struguri *Vitis Vinifera*: Merlot, Chardonnay and Muscadine.

Activitatea antimicrobiană a tescovinei fermentate s-a arătat mai eficace și semnificativ mai bună decât extractele de struguri ale fructelor întregi (*Thtmothe și colab., 2007*). Unele cercetări au arătat că extractele de semințe au avut o mai bună eficiență antimicrobiană decât alte fracțiuni ale strugurilor (*Xia și colab., 2010*).

Datorită proprietăților antibacteriene ale polifenolilor, subprodusele vinicole (tescovina, semințele) pot să modifice morfologia și microflora intestinului la păsări și pot crește gradul de biodiversitate al bacteriilor intestinale (*Viveros și colab., 2011*). Activitatea biologică a polifenolilor se poate exercita atât local (la nivelul tractusului intestinal), cât și sistemic (la nivelul întregului organism) (*Viveros și colab., 2011*), cu reflectare asupra statusului imun al organismului și în final asupra performanțelor de creștere sau productive.

Unii compuși cum ar fi resveratrolul, hidroxitirosolul, quercetine și unii acizi fenolici din struguri s-au dovedit a avea efecte inhibitorii asupra mai multor specii microbiene patogene (Azis și colab., 1998).

Unele studii au raportat faptul că, compușii fenolici au inhibat alte specii care provoacă toxiinfecții alimentare, cum sunt *Salmonella typhimurium* și *Listeria monocytogenes* (Sivarooban și colab., 2008).

Rodriguez-Vaquero și colab., (2007), au concluzionat că acidul cafeic și flavonoidele rutina și quercetina sunt compuși cu activitate inhibitoare mai mare asupra creșterii bacteriei *Listeria monocytogenes*.

Ozkan și colab., (2004); Papadopoulou și colab., (2005) au evidențiat că extractele de polifenoli din struguri pot influența microflora intestinală, prin stimularea bacteriilor benefice (*Lactobacillus* și de *Bifidobacterii*) și inhibarea celor patogene (*Propionibacterii*, *Bacteroides* și *Clostridii*). În mod similar, conținutul de fibre asociate cu polifenolii din tescovină ar putea juca un dublu mecanism, prin aceea de a stimula fermentația intestinală și de a influența în mod benefic producția unor metaboliți microbieni.

În urma acestor constatări privind conținutul în compuși biologic activi ai semințelor și pielitelor (tescovina) cât și a numeroaselor efecte benefice (cu deosebire profilactic, pe baza proprietăților antimicrobiene), folosirea subproduselor din vinificație în hrana păsărilor ar putea fi o bună alternativă la aditivii furajeri obținuți pe cale sintetică pentru a preveni unele boli și a îmbunătăți sănătatea animalelor.

Subprodusele din vinificație pot fi de asemenea utilizate în scop biostimulator pentru a urmări alte efecte benefice cum ar fi: stimularea creșterii și a consumului de hrană, îmbunătățirea digestiei și a valorificării hranei, creșterea capacității imunitare și pe aceste baze- îmbunătățirea performanțelor zootehnice în general

2.2.2 Utilizarea la alte categorii de animale monogastrice

Se cunosc numeroase studii care atestă efectele polifenolilor din subprodusele de vinificație sau din alte fructe sau plante asupra funcției imune la animale (McDouglas și colab., 2008) și la om (Percival, 2009), dar nu sunt pe deplin înțelese mecanismele implicate în aceste acțiuni. Efectele acestor compuși biologici activi asupra sistemului imunitar sunt asociate cu procese precum diferențierea și activarea celulelor imunitare. Printre mecanismele asociate cu reglarea imunității sunt modificările epigenetice, precum metilarea secvențelor reglatoare ale ADN-ului, modificările histonice și represia postranscripțională prin microARNs ce influențează expresia genelor cheie implicate în răspunsul imunitar (Cuevas și colab., 2013).

S-au raportat o serie de efecte locale și sistemice asupra căilor de producere a inflamației. Efectele locale includ inhibiția formării a numeroase citokine precum factorul de necroza tumorală α (TNF- α), interleukina (IL-6), interleukina (IL-10), interleukina (IL-17), interleukina 1 β (IL-1 β), interleukina gama (IF- γ), acestea fiind în corelație cu reducerea expresiei factorului nuclear kappa (NF- κ B) și ciclooxygenazei-2 (COX-2)– pașii precursori ai formării prostaglandinelor proinflamatoare (Cuevas și colab., 2013, Koulmann și Bohn, 2016). De asemenea, în circulația sistemică s-au găsit nivele reduse ale unor citokine de tipul TNF- α , IL-6 (Koulman și Bohn, 2016). Aceste rezultate confirmă teoria că polifenolii sau metabolizii lor acționează asupra cascadei de semnalizare intracelulară din celulele epiteliale intestinale și celulele imune infiltrate în intestin, asigurând reglarea citokinelor proinflamatorii (Koulmann și Bohn, 2016). În plus, numeroase studii susțin că majoritatea polifenolilor sunt și reexcretați în intestin (Brenes și colab., 2010), unde determină stimularea pe termen lung a celulelor natural killer și a celulelor T $\gamma\delta$ (obișnuit găsite din abundență în mucoase) (Percival, 2009, Koulman și Bohn, 2016) și probabil a limfocitelor B, din moment ce s-a dovedit creșterea excreției de Ig A la șobolani hrăniți cu extracte polifenolice din fructe (Koulman și Bohn, 2016), dar și creșterea nivelului seric al altor tipuri de Ig (M, G) la porci care au primit în hrană extracte polifenolice din diverse fructe, precum și modificarea producției de Igs (G, E) ale unor culturi celulare tratate cu fracțiuni polifenolice purificate din diverse plante (Cuevas și colab., 2013).

Polifenolii sunt de asemenea eficienți în modularea funcției limfocitelor B, implicate în imunitatea umorală. Aceste celule joacă rol în reglarea homeostaziei imunitare, independent de producerea Ig, precum activarea celulelor CD4+T, reglarea celulelor dendritice și imunității umorale (Cuevas și colab., 2013).

La porci și la alte animale monogastrice, perioada de înțărcare este o perioadă critică, de stres, ce poate fi adesea însoțită de creșterea predispoziției la infecții enterice și apariția tulburărilor intestinale precum diareea (Pie și colab., 2013). Această creștere a receptivității poate fi explicată printr-un proces inflamator ce se produce în intestin pe durata înțercării (Pie și colab., 2013). Procesul inflamator se datorează în principal transcripției factorilor nucleari kappa B (NF- κ B) (Rogler și colab., 1998). După declanșarea dată de citokine, speciile reactive de oxigen (ROS) și lipopolizaharide bacteriene factorul NF- κ B este translocat din citoplasmă în nucleu și activează expresia unor largi varietăți de gene ce codifică proteine proinflamatorii precum citokine, chemokine, molecule de adeziune sau enzime implicate în procesul inflamator (Sica și

colab., 1997). Acești mediatori ai inflamației, ca și ROS, produși pe parcursul procesului inflamator, contribuie la ruperea barierei epiteliale și favorizează atragerea și migrarea celulelor imune ce sporesc gradul de inflamație a intestinului la porci (*Ben-Neriah și Schmidt-Suppran*, 2007).

Ca un omolog al NF- κ B, factorul eritroid 2 (nuclear factor-erythroid 2-related factor-2) (Nrf2) – un factor de transcripție redox-sensitiv, joacă un rol protectiv în inflamație și în răspunsul la stimulii proinflamatori și prin urmare, protejează celulele de leziunile inflamatorii (*Rahman și colab.*, 2006). Nrf2 modulează apărarea celulară împotriva daunelor oxidative și electrofilice prin eliberarea rapidă a enzimelor antioxidante și detoxifiante de fază II și proteinelor ca răspuns la stres (*Lee și Johnson*, 2004). În condiții normale, factorul Nrf2 este reținut în citoplasmă prin interacțiunea cu proteina asociată 1 Kelch-like ECH (Keap1). Stresul oxidativ determină disocierea Keap1 de Nrf2 ceea ce permite ca Nrf2 să poată fi translocat în nucleu, să activeze genele antioxidante și citoprotective prin legare cu elemente ale răspunsului antioxidant (ARE) în regiunile promotor ale genelor țintă (*Niture și colab.*, 2010).

Deoarece inflamația intestinului la porci nu afectează doar funcția și integritatea intestinului, dar afectează de asemenea și performanțele de creștere, strategii dietetice de inhibare a procesului inflamator la nivelul intestinului subțire constituie obiective principale de studiu. Există numeroase cercetări la animale și om care au evidențiat că polifenolii din hrană, în special reprezentanți din grupul flavonoizilor sunt capabili să atenueze inflamația prin modularea activității NF- κ B și Nrf2 (*Rahman și colab.*, 2006).

Întărcarea porceilor este asociată cu o descreștere semnificativă a raportului înălțime vilozități/adâncime cripte în intestinul subțire, ceea ce duce la o scădere a capacității de digestie (*Pluske și colab.*, 1997).

Gessner și colab., (2013), au studiat posibilitatea suplimentării hranei cu extracte de făină de semințe și tescovină (fără semințe) în vederea verificării ipotezei conform căreia extractele bogate în polifenoli sunt capabile să inhibe procesele inflamatorii din mucoasa duodenală la porci. În urma administrării acestor subproduse bogate în polifenoli în hrană, rezultatele au evidențiat o suprimare a activității factorului NF- κ B în mucoasa duodenală precum și transcripției unor variate gene țintă pentru NF- κ B implicate în procesul inflamator. Această constatare arată că subprodusele utilizate exercită efecte antiinflamatorii în duoden la porci, și prin urmare acestea pot fi folosite ca strategii dietetice de inhibare a inflamației intestinale ce apare frecvent la porci, cu precădere după întărcare. Subprodusele vinicole utilizate în hrană nu au influențat statusul vitaminei E și sistemul antioxidant, dar a îmbunătățit indicele de conversie al hranei la porci, în perioada de creștere. În ansamblu, acest

studiu sugerează că extractele de struguri bogate în polifenoli, pot fi utilizate ca suplimente nutritive în nutriția porcilor cu scopul de a îmbunătăți starea de sănătate precum și performanțele acestora.

Rezultatele obținute de *Gessner și colab., (2013)*, sunt în conformitate și cu unele studii realizate in vitro pe celule epiteliale intestinale și cu studii in vivo care s-au efectuat în special pe linii de rozătoare cu colită acută sau cronică (*Romier și colab., 2009*), majoritatea acestor studii au fost realizate utilizând ceai verde ca sursă de polifenoli.

Există de asemenea și alte studii ce au scos în evidență efectul inhibitor al antocianidelor din struguri sau semințelor asupra procesului inflamator în celulele epiteliale intestinale (*Gessner și colab., 2011, Romier-Crouzet și colab., 2009*) sau în intestinul șobolanilor cu colită ulcerativă (*Wang și colab., 2011*). Având la bază aceste observații, suplimentarea cu polifenoli a fost propusă chiar ca o metodă medicală complementară pentru tratamentul bolii inflamatorii intestinale (*Biasi și colab., 2011*).

Hrana suplimentată cu polifenoli poate îmbunătăți statusul antioxidant în plasmă și în țesuturi și poate crește concentrația de tocoferol ca o consecință a acțiunii benefice a polifenolilor, de protejare a vitaminei E (*Zhu și colab., 1999*). Cu toate acestea, datele din literatura de specialitate cu privire la efectele polifenolilor din hrană asupra concentrației de tocoferol și statusului antioxidant din plasmă și țesuturi sunt neconcludente. În timp ce unele studii pe șobolani au raportat o creștere a concentrației de tocoferol din plasmă și țesuturi prin consumul a variate tipuri de flavonoizi (*Frank, și colab., 2003*), în alte studii nu s-a observat nici un efect (*Ameho, și colab., 2008*). La porci, un efect de protejare a tocoferolului datorat quercetinei a fost evidențiat atunci când alimentația acestora a fost mai deficitară în vitamina E (*Luehring și colab., 2011*). În schimb, s-a observat că, hrana porcilor care conținea concentrații optime de vitamina E, nu a determinat creșterea acestei vitamine în plasmă și țesut atunci când aceasta a fost suplimentată cu flavonoizi (*Augustin și colab., 2008*). Studiul lui *Wiegand și colab., (2010)*, realizat pe șobolani arată o dată în plus că flavonoizii din hrană nu afectează expresia genelor implicate în transferul de tocoferoli în lipoproteinele plasmatice, descompunerea și excreția prin bilă, ceea ce denotă că metabolizarea vitaminei E rămâne neschimbată.

Adăugarea tescovinei uscate în proporție de 5% în hrana porcilor de finisare ca sursă de antioxidanți și acizi grași polinesaturați (PUFA) a îmbunătățit concentrația în acizi grași Ω -3 PUFA, mai ales în acid alfa linolenic în mușchiul *Longissimus dorsi* (*Hăbeanu și colab., 2015*). În plus, compușii bioactivi din tescovină, intensifică efectul acestor subproduse prin creșterea concentrației de

C20: 5n-3 (acid eicosapentaenoic), cunoscut pentru beneficiile sale pentru sănătate (implicat în special în scăderea inflamației) (*Hăbeanu și colab., 2015*).

Shanmuganayagam și colab. (2007), au luat în studiu, iepurii, pentru a analiza potențialul compușilor polifenolici față de agregarea plachetară indusă de hipercolesterolemie. După administrarea sucului de struguri (225 ml/zi), bogat în polifenoli și a unei diete bogate în colesterol pentru 96 zile, agregarea trombocitelor la iepuri a fost semnificativ ameliorată iar dezvoltarea plăcilor de aterom pe pereții vaselor sanguine a fost redusă cu aproximativ 30% față de cea a grupului control.

Odată cu apariția sistemelor experimentale celulare și moleculare și a valoroaselor linii de șoareci transgenici, s-au realizat progrese relevante pentru înțelegerea mecanismelor implicate în activitatea polifenolilor. Efectele cele mai benefice ale polifenolilor naturali includ capacitatea acestora de a anihila radicalii liberi generați pe cale endogenă (*Lee și colab., 2015*) sau formați prin iradiere sau din substanțe xenobiotice (*Kalaiselvan și colab., 2015*). Studii actuale indică faptul că polifenolii se pot comporta de asemenea, ca și prooxidanți pentru inițierea speciilor reactive de oxigen ce mediază ruperea ADN-ului celular și ca o consecință, se produce moartea celulară (*Khan și colab., 2012*). Interesant este că, polifenolii naturali pot induce moartea celulară prin apoptoză în celulele preneoplazice sau neoplazice prin mecanisme diverse de inhibare a creșterii, precum activarea citocromului c și caspazei, oprirea ciclului celular și modularea căilor de semnalizare (NF-κB, JAK/STAT), având ca rezultat suprimarea progresiei tumorale (*Kubatka și colab., 2015*).

Cercetări cu privire la activitățile anticancerigene ale polifenolilor din hrană, au identificat noi molecule antitumorale ce pot fi utilizate în prevenția și terapia cancerului, singure sau în combinație cu chimioterapia sau radioterapia curentă (*Khan și Mukhtar, 2015*).

Senescenta celulară este un proces fiziologic de oprire ireversibilă a ciclului celular, ce contribuie la diverse procese fiziologice și patologice de îmbătrânire (*Hayflick, 1968*). Îmbătrânirea replicativă (RS) este asociată cu degradarea telomerelor după diviziuni celulare repetate, în timp ce senescenta prematură indusă de stres (SIPS) este un proces telomeric-independent ce se produce în răspunsul la semnalele oncogenice aberante, stresul oxidativ și degradarea ADN-ului. Conceptul de terapie pro-îmbătrânire a fost elaborat în ultimii ani ca o nouă abordare terapeutică a cancerului. Unele evidențe au demonstrat că terapia pro-îmbătrânire (TIS) este un mecanism critic prin care multe substanțe anticancerigene inhibă dezvoltarea tumorală (*Ewald și colab., 2010*). Modificările epigenetice, precum metilarea ADN-ului, nivelul acetilării histonice și expresia genelor de ARNm, reglează biologia celulelor stem canceroase, iar

inducerea îmbătrânirii premature în celulele tumorale s-a constatat a fi o însușire relevantă a multor compuși polifenolici din alimentație (*Vahid și colab., 2015*).

În experimentele pe șobolani, includerea flavonoidelor din struguri în hrană a determinat o scădere a peroxidării lipidelor din țesutul rinichiului, ficatului și plămân (*Rodrigo și colab., 2005*) și o activitate antioxidantă ridicată în intestinul gros (*Goni și Serrano, 2005*).

Extrakte de semințe de struguri utilizate la șobolani protejează ficatul împotriva degradării oxidative induse de iradierea in vivo și mențin activitățile superoxid dismutazei și catalazei la valori normale (*Cetin și colab., 2008*).

El-Alfy și colab., (2005) au observat o scădere a hiperglicemiei și o creștere a nivelului de insulină în serul șobolanilor, în urma introducerii proantocianidinelor din semințele de struguri în hrana acestora. În acest studiu s-a constatat și un efect puternic protector (antidiabetic) asupra inducerii diabetului cu alloxan (compus care induce diabetul zaharat). Această protecție este mediată prin prevenirea și refacerea sistemelor de apărare antioxidante pancreatice.

Cao și Ito., (2003), au raportat că uleiul de semințe de struguri prezintă multe activități farmaceutice, printre care cele datorate prevenirii oxidării lipoproteinelor de densitate joasă, prevenirea trombozei și bolilor cardiovasculare, reducerea colesterolului din ser, dilatarea vaselor sanguine și reglarea sistemului nervos vegetativ (autonom). Rezultatele acestui studiu au evidențiat că adăugarea de semințe și extrakte de semințe de struguri în hrană a determinat scăderea colesterolului plasmatic. Această reducere poate fi datorată compușilor polifenolici și celulozei din semințe care au condus la creșterea lipidelor în dejecții, și prin urmare a scăderii nivelului de colesterol în sânge. De asemenea și autorii *Carron și colab., (1999)*, au evidențiat o scădere a concentrației de colesterol și LDL-colesterol în serul șobolanilor, în urma introducerii în hrana acestora, a fibrelor alimentare și produse bogate în polifenoli obținute din tescovină.

Fracția nedigestibilă este componenta majoră a tescovinei (aprox. 80% din SU) care este greu degradată de monogastrice (*Bravo și Saura-Calixto, 1998*). Această fracție este o parte din structura tescovinei care nu poate fi degradată sau asimilată în intestinul subțire, dar poate fi utilizată ca substrat pentru microflora de fermentație și poate menține peristaltismul intestinal (*Saura-Calixto și colab., 2000*). Celuloza brută, compușii fenolici și proteinele sunt principalii constituenți ai fracției nedigestibile.

Fracția nedigestibilă (reziduul nedigestibil) a pielitelor și semințelor (reziduul 1 în figura 2.1) din tescovina strugurilor albi a fost determinată in vitro de *Goni și colab., (2005)* și este redată în tabelul 2.9.

Celuloza brută este componenta majoră (72-79%) a strugurilor rămasă în reziduu în urma diferitelor tratamente enzimaticе. Conținutul ridicat în proteine (14%) rămas în reziduurile nedigestibile indică faptul că aproximativ 88% din conținutul proteic al strugurilor nu este degradat de către enzimele digestive însă poate intra în structura fibrelor la nivelul intestinului gros (*Goni și colab., 2005*).

Polifenolii pot preveni degradarea proteinelor datorită formării complexelor insolubili cu proteinele și inhibării enzimelor proteolitice (*Butler, 1992*).

În ceea ce privește compuşii polifenolici, doar o parte din polifenolii totali extractabili din materia vegetală este solubilizată în fluidele intestinale putând fi disponibilă la nivelul intestinului subțire, iar o mare parte rămân în fracțiunea nedigestibilă (3,1%), oferind substrat pentru flora bacteriană în intestinul gros. Reziduurile nedigestibile sunt parțial degradate la nivelul intestinului de către microflora intestinală, componenta nedigestibilă reprezintă o sursă importantă de hrană pentru bacteriile intestinale (*Goni și colab., 2005*).

Déprez și colab., (2000), au raportat de asemenea că, constituenții fenolici majori din tescovină (proantocianidinele polimerice) sunt degradați de flora intestinală din organismul uman. Polifenolii sunt disponibili atât bacteriilor cât și organismului gazdă. Proteinele nedigestibile pot fi degradate de bacteriile intestinale aproximativ 60%-70%. Proteinele pot induce modificări în proliferarea bacteriilor și în sinteza produșilor finali de fermentație (*Morita și colab., 1999*).

Celuloza poate fi degradată de bacteriile din intestinul gros până la 30-32%, iar acizi grași cu lanț scurt (short-chain fatty acids-SCFAs) rezultați, și anume acidul acetic, acidul propionic și acidul butiric, pot fi metabolizați în epiteliul intestinal (butirat), în mușchi (acetat) și în ficat (propionat) (*Cummings și Macfarlane, 1997*). Structura pereților celulari și legăturile chimice care au loc în compoziția fracției nedigestibile pot modifica procesul de fermentație și totodată produșii de reacție (*Titgemeyer și colab., 1991*).

La ambele fracțiuni ale tescovinei, proporția în acizi grași cu lanț scurt, acid acetic:propionic:butiric (59:27:14) și procentul de fermentare (30-32%) au prezentat valori apropiate (tabel. 2.10).

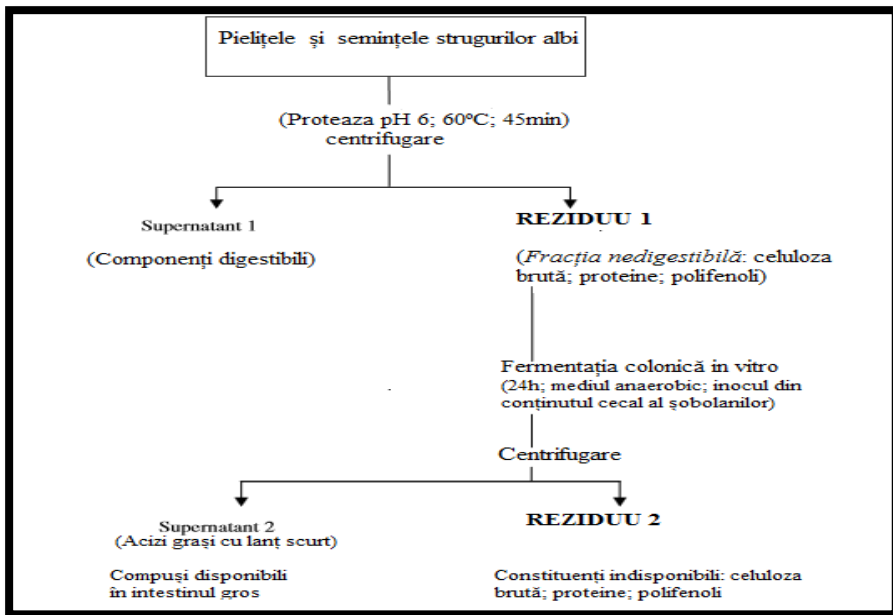


Fig. 2.1 Schema de lucru privind determinarea digestibilității și fermentației fracțiunilor din tescovină (studiu „in vitro”) (Goni și colab., 2005)

Fig. 2.1. Workflow scheme regarding the determination of digestibility and fermentation of grape pomace fractions („in vitro”). Adapted from Goni et al., (2005)

Tab. 2.9. Constituienții nedigestibili majori din semințele și pielețele strugurilor

Tab. 2.9. The average values of major non-digestible compounds in grape seeds and skins

Compuși	Pielețe	Semințe
Celuloza brută	77,2	78,9
Proteine	13,9	13,6
Polifenoli extractibili	3,10	3,61

Tab. 2.10. Procentul de fermentare^a și sinteza acizilor grași cu lanț scurt (SCFAs) (μmol/mg SU) a pielitelor și semințelor de struguri

Tab. 2.10. Fermentation rate and short-chain fatty acids production (SCFAs) (μmol/mg DM) of grape skins and seeds

	Pielețe	Semințe
Fermentare (%)	33,2	29,9
Total SCFAs	6,96	6,27
Acid acetic	4,09	3,63
Acid propionic	1,85	1,70
Acid butiric	1,02	0,94

^a Fermentabilitatea: [(SCFA din substrat) x (SCFA din lactoză⁻¹) x 100

Pentru a rezuma datele prezentate din studiul realizat de *Goni și colab.*, (2005), semințele și pielile strugurilor conțin trei fracțiuni diferite: (I) Frațiunea digestibilă (disponibilă în intestinul subțire); (II) fracțiunea nedigestibilă degradată de către microflora intestinală, (disponibilă în intestinul gros); (III) fracțiunea nefermentată și nedigestibilă (nedisponibilă). În studiul efectuat „in vitro”, proteinele, celuloza brută și compușii polifenolici din compoziția semințelor și pielilelor nu au fost degradate în mod egal de bacteriile intestinale în timpul fermentației (*Goni și colab.*, 2005).

Motta Ferreira și colab., (1996), în lucrarea lor, au arătat că tescovina poate fi înlocuită parțial cu lucerna ca sursă de fibre în alimentația iepurilor, fără să afecteze în mod negativ creșterea lor.

La porcine, se recomandă utilizarea tescovinei uscate, măcinate și fără ciorchine. Se poate încorpora până la 20% în hrana porcilor (*RNED*, 1988).

PARTEA A II A: CERCETĂRI PROPRII

PART II: OWN RESEARCH

CAPITOLUL III. SCOPUL, OBIECTIVELE ȘI ORGANIZAREA CERCETĂRILOR

CHAPTER III. GOAL, OBJECTIVES AND RESEARCH ORGANIZATION

3.1 SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR

Pe baza datelor din literatura de specialitate cu privire la conținutul chimic a subproduselor din industria de vinificație precum și la posibilitățile de utilizare a acestora în alimentația animalelor, scopul principal al acestui studiu a constat în caracterizarea chimică și stabilirea unui procedeu de conservare a unor subproduse și studiul posibilităților de utilizare a acestora în alimentația unor categorii de păsări (pui broiler de găină și găini ouătoare) și evidențierea influenței asupra performanțelor și calității producției obținute.

Pentru atingerea scopului propus, obiectivele cercetării au vizat următoarele aspecte:

- stabilirea unui procedeu de conservare al tescovinei în vederea unei valorificări mai bune în hrana păsărilor;
- determinarea și evaluarea comparativă a conținutului chimic al tescovinei și a fracțiunilor vegetale, respectiv semințe, pielețe și ciorchini, aparținând diferitelor soiuri de struguri;
- efectul unor subproduse vinicole în alimentația puilor broiler asupra performanțelor productive și a stării de sănătate;
- efectul unor subproduse vinicole în hrana găinilor ouătoare asupra parametrilor productivi și a calității ouălor.

Procedeu de conservare al tescovinei s-a făcut ținându-se cont de influența temperaturii de uscare asupra conținutului în polifenoli din tescovină.

În urma procesului de conservare, tescovina și fracțiunile acesteia, provenită de la diferite soiuri de struguri și obținute în ani diferiți au fost în continuare caracterizate din punct de vedere fizico-chimic în vederea valorificării cât mai eficiente în alimentația păsărilor.

În studiul experimental realizat pe puii broiler s-au evaluat performanțele de creștere și starea de sănătate a puilor în urma introducerii în hrana acestora a semințelor de struguri, tescovinei integrale și a extractului apos de polifenoli din tescovină.

În vederea stabilirii efectului acestora asupra performanțelor de creștere, pe parcursul experimentului s-au urmărit: evoluția greutății corporale, sporul în greutate, consumul de hrană, indicele de conversie al hranei și pierderile din efectiv. Pentru evaluarea stării de sănătate a puilor, la 40 de zile, din sângele acestora s-au determinat statusul antioxidant total și profilul hematologic iar pe fragmentele de țesut din stomac (glandular, mecanic), intestin (duoden, cecum), cord, ficat, splină, rinichi prelevate în urma sacrificării puilor, au fost realizate analizele histologice.

La găinile ouătoare s-a urmărit efectul tescovinei integrale și semințelor de struguri utilizate în hrană asupra parametrilor productivi și calitativi ai oului. În vederea stabilirii efectului subproduselor vinicole în alimentația găinilor ouătoare pe parcursul derulării experimentului, parametrii productivi urmăriți au fost: consumul mediu săptămânal și consumul total de hrană, producția de ouă și conversia nutrețului în ou. Pentru a urmări unele efecte ale subproduselor vinicole asupra calității ouălor am considerat că cel mai relevant parametru fizic de calitate al ouălor pe care îl putem urmări este gradul de prospețime al acestora. Astfel, s-a evaluat calitatea ouălor proaspete recoltate în prima zi și după 30 de zile de administrare a subproduselor vinicole în hrana găinilor. Pentru evaluarea gradului de degradare al prospețimii oului pe perioada stocării, acestea au fost depozitate la frigider la temperatura de 4°C, iar la sfârșitul fiecărei perioade de depozitare: 7, 14, 21, 28 de zile, s-au determinat parametrii fizici de calitate a oului, același procedeu a fost repetat și în a doua lună de experiment.

Parametrii fizici de calitate determinați la ouăle proaspete au fost: greutatea oului și a componentelor sale, grosimea cojii, culoarea gălbenușului, prospețimea oului apreciată prin valoarea indicelui Haugh, greutatea specifică (prin metoda soluțiilor saline) și punctele de apreciere ale prospețimii (indicele albuș și gălbenuș).

Indicatorii fizici interni de calitate analizați pe perioada stocării ouălor la 4°C au fost: greutatea oului, greutatea specifică (prin metoda soluțiilor saline), indicelui Haugh, indicele albușului și gălbenușului.

De asemenea, la sfârșitul experimentului s-au recoltat probe de ouă proaspete pentru determinarea statusului antioxidant total (TAS) din componentele oului (albuș, gălbenuș), colesterolului și acizilor grași din gălbenușul de ou cât și probe de sânge pentru determinarea TAS –ului din sângele găinilor.

3.2 ORGANIZAREA CERCETĂRILOR

Cercetările experimentale s-au desfășurat în cadrul biobazei Facultății de Zootehnie a USAMV, Iași. Probele de tescovină obținute din trei centre viticole: podgoria Huși, ferma Adamachi Iași, Stațiunea de Cercetare pentru Viticultură și Vinificație (SCVV) Iași au fost aduse la biobaza Facultății de Zootehnie a USAMV, Iași pentru a fi supuse uscării și separării fracțiunilor de tescovină (semințe, pielite și ciorchine).

Caracterizarea fizico-chimică a acestor subproduse vinicole s-a efectuat în cadrul Laboratorului de Control al Calității Nutrețurilor din cadrul Facultății de Zootehnie, a USAMV din Iași. Stabilirea procedurii de conservare și caracterizarea fizico-chimică au fost realizate în vederea unei mai bune valorificări în hrana păsărilor.

În studiul experimental realizat în perioada 31 octombrie- 10 decembrie 2014, s-a urmărit efectul tescovinei integrale, semințelor de struguri și extractului apos de polifenoli din tescovină în hrana puilor broiler de găină asupra performanțelor de creștere, a consumului de nutreț și a stării de sănătate.

Studiul experimental s-a realizat pe un efectiv de 250 pui broiler de găină nesexați, din hibridul de carne *COBB 500*, în perioada de vârstă 1-40 de zile. Efectivul a fost împărțit în șase loturi: control (LC) format din 70 de pui și cinci loturi experimentale (LT-1%; LT-2%; LS-0,5%; LS-1% și LEP) formate din câte 36 de pui; fiecare lot experimental a fost repartizat în trei țarcuri. Schema experimentală este prezentată în figura 3.1. În studiul experimental realizat pe găinile ouătoare, în perioada 20 martie- 30 aprilie 2015, s-a urmărit efectul tescovinei integrale și semințelor utilizate în hrană asupra parametrilor productivi și calitativi ai oului. Experimentul s-a desfășurat în hala de găini ouătoare aparținând Biobazei Facultății de Zootehnie a USAMV „Ion Ionescu de la Brad” Iași.

Cercetarea s-a realizat pe un număr de 48 găini ouătoare din hibridul comercial cu penaj maro Tetra-SL LL împărțit în patru loturi, respectiv un lot control (LC) și trei loturi experimentale (LT-2%, LT-4%, LS-2%) formate din câte 12 găini fiecare. Schema experimentală este prezentată în figura 3.1. Păsările au fost ținute în baterii structurate pe trei nivele, de tip BP3, oferind condiții pentru urmărirea consumului de nutreț și a producției de ouă. Au fost folosite păsări în vârstă de 60 de săptămâni.

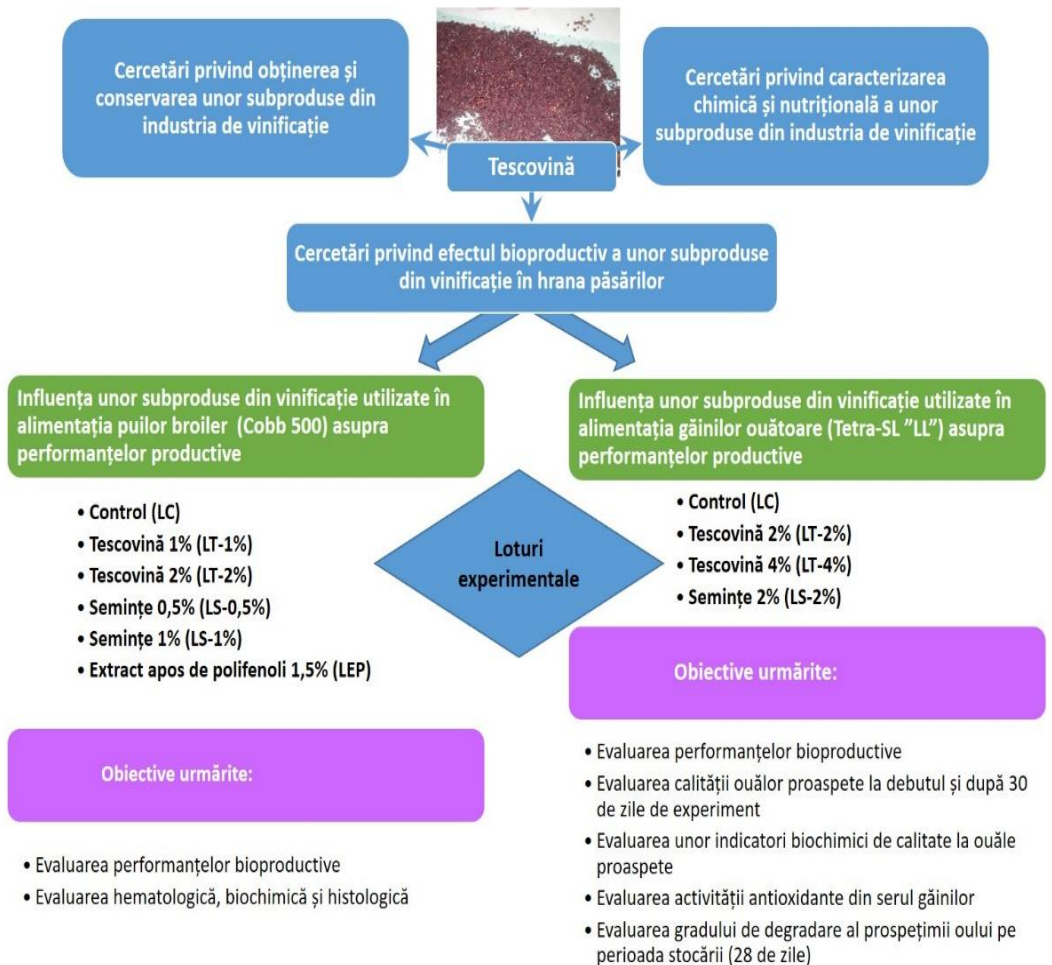


Fig. 3.1. Planul de organizare al cercetărilor

Fig. 3.1. Research organization design

CAPITOLUL IV. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

CHAPTER IV. RESEARCH MATERIAL AND METHODS

4.1 MATERIALE UTILIZATE

Materialele folosite în cercetările proprii se referă atât la materialul biologic folosit, respectiv la puii broiler de găină și găinile ouătoare cât și la nutrețurile și subprodusele vinicole administrate în alimentația acestora. În vederea atingerii scopului propus, tescovina și fracțiunile acesteia provenite de la diferite varietăți de struguri au fost mai întâi supuse unui proces de conservare prin uscare și caracterizate din punct de vedere nutrițional cu scopul de a le valorifica cât mai eficient în alimentația păsărilor.

4.1.1 Material biologic utilizat în cercetările proprii

În cadrul experienței efectuate pe puii broiler s-a utilizat ca material biologic hibridul comercial „Cobb-500”, pui nesexați, realizat de firma „Cobb Breeding Company Ltd” din Marea Britanie, fiind adaptat diverselor tipuri de climă și diferitelor sisteme de creștere. Acest hibrid prezintă o viabilitate excelentă, și nu necesită condiții speciale de creștere comparativ cu alți hibrizi. La vârsta de 42 zile, hibridul „Cobb 500”, poate realiza greutatea corporală medii, în cazul creșterii puilor nesexați, de 2,73 kg, cu un indice de conversie de 1,705 (*Cobb 500, Broiler Performance and Nutrition Supplement, 2012*).

În cadrul experienței efectuate pe găinile ouătoare s-a utilizat ca material biologic hibridul comercial cu penaj maro Tetra-SL LL, cu o producție de ouă cu coajă de culoare brună, realizat de Societatea Bábolna Tetra Kft. din Ungaria (*babolnatetra.com, hyline.com*). Persistența productivă a hibridului Tetra-SL LL foarte bună, poate ajunge până la vârsta de 90 de săptămâni (sau chiar mai mult), să obțină o producție de 420 ouă cu bune calități interne și externe și cu un consum mediu de nutreț de 108-114 g/găină. Este bine demonstrat faptul că problemele legate de calitatea cojii oului apar spre sfârșitul perioadei de ouat

putând cauza pierderi economice considerabile pentru producători (babolnatetra.com, hyline.com).

4.1.2 Material vegetal utilizat din industria de vinificație

În vederea efectuării analizelor chimice s-au prelevat patru tipuri de tescovină provenite de la următoarele soiuri de viță de vie: Aligoté (soi alb), Fetească neagră (soi roșu) și probe de tescovină provenite din amestecul a trei soiuri de struguri roșii și anume: Merlot (90%), Cabernet Sauvignon (6%) și Chambourcin (4%), din diferite centre viticole: podgoria Huși, ferma Adamachi Iași, SCVV Iași.

De la soiul de struguri roșii Fetească neagră, s-au colectat probe de tescovină în anul 2013 și în 2014, din ferma Adamachi (zona Copou), în vederea evidențierii diferențelor de compoziție chimică. Strugurii de la acest soi au fost recoltați la sfârșitul perioadei de maturare și supuși operațiilor de zdrobire, macerare-fermentare și presare. La finalul acestor operații, s-au prelevat diferite cantități de tescovină în saci de polietilenă și transportați cât mai repede posibil la biobaza Facultății de Zootehnie pentru a fi supuse procesului de uscare.

În urma uscării s-au prelevat probe de tescovină integrală și fracțiuni de tescovină (semințe, pielețe, ciorchini) în vederea efectuării analizelor chimice în cadrul Laboratorului de Control al Calității Nutrețurilor din cadrul Facultății de Zootehnie din Iași.

Tescovina din soiul de struguri albi Aligoté a fost obținută din zona viticolă Huși, strugurii au fost recoltați la sfârșitul perioadei de maturare, în condițiile climatice din anul 2013. În urma presării strugurilor albi, au fost colectate probe de tescovină și supuse uscării în vederea efectuării analizelor chimice.

Tescovina fermentată obținută din amestecul a trei soiuri de struguri roșii: Merlot (90%), Cabernet Sauvignon (6%) și Chambourcin (4%) a fost obținută de la Stațiunea de Cercetare Dezvoltare pentru Viticultură și Vinificație Iași, în condițiile climatice din anul 2014. Recoltarea s-a făcut la sfârșitul perioadei de maturare a strugurilor iar macerarea-fermentarea mustului pe boștină a durat patru zile. În urma operațiilor de macerare-fermentare și presare s-au prelevat probe de tescovină proaspătă, (~2 kg), pentru a fi supuse procedului de uscare în vederea stabilirii compoziției chimice.

4.1.3 Nutrețuri și subproduse vinicole folosite în hrana păsărilor

4.1.3.1 Nutrețuri combinate și subproduse vinicole folosite la puii broiler de găină

Hrana administrată puilor broiler de găină a fost concepută astfel încât să satisfacă cerințele în toate etapele de creștere, conform recomandărilor nutriționale din ghidul de management al hibridului studiat (COBB 500). Au fost alcătuite trei rețete de nutrețuri combinate distincte, specifice fiecărei perioade de creștere a puilor broiler studiați, respectiv: starter, creștere și finisare (tabel 4.1). Atât hrana cât și apa au fost administrate “ad libitum” la toate cele șase loturi.

Programul de hrănire a fost etapizat astfel: 1-10 zile perioada de demaraj, 11-26 de zile perioada de creștere, 27-40 de zile perioada de finisare.

Structura și caracteristicile nutriționale ale nutrețurilor combinate utilizate în hrana puilor broiler în toate cele 3 faze de creștere se regăsesc în *tabelul 4.1*.

Valoarea nutritivă a nutrețurilor, pentru fiecare fază de creștere a fost asemănătoare la toate loturile, variind doar factorul experimental, respectiv subprodusele vinicole folosite și proporția de participare a acestora.

Includerea factorilor experimentali a fost făcută prin reformularea rețetei de nutreț combinat ținându-se cont de compoziția chimică și valoarea nutritivă estimată pentru produsele testate, astfel încât cele șase loturi de pui au beneficiat de o hrană izocalorică și izoproteică.

Astfel, în structura nutrețului combinat a loturilor experimentale (LT-1%; LT-2%; LS-0,5%; LS-1%) s-au înglobat diferite cantități de tescovină și semințe măcinate provenite din soiul de struguri Fetească neagră, (obținute în 2014), începând din prima zi de viață a puilor și până la sacrificare (40 de zile).

În hrana puilor din lotul experimental LT-1%, s-a introdus tescovină 1%; la lotul experimental LT-2% tescovină 2%, la lotul experimental LS-0,5% s-au introdus semințe 0,5% iar la lotul experimental LS-1% semințe 1%. Aceste cantități de subproduse vinicole au fost introduse în nutrețul combinat în toate fazele de creștere (demaraj, creștere și finisare).

Pentru a putea observa efectul polifenolilor din tescovină asupra performanțelor de creștere și a stării de sănătate s-a administrat în apa de băut a lotului experimental LEP, o cantitate de 1,5% extract apos de polifenoli din tescovină, cu o concentrație totală în polifenoli de 1,82 g GAE /100 mL, începând de la vârsta de opt zile a puilor până la sacrificarea lor (40 de zile).

Din grupa nutrețurilor energetice s-au folosit porumbul, grâul, uleiul de floarea soarelui. Ca materii prime proteice s-au utilizat DDGS, șroturi de soia, full fat soya (ca proteice de origine vegetală).

Tab. 4.1. Compoziția și caracteristicile nutriționale ale nutrețurilor combinate (% din hrană)

Tab. 4.1. Composition and nutritional characteristics of mixed fodders (% of feed)

Structura	Demaraj 0-10 zile	Creștere 11-26 zile	Finisare 27-40 zile
Porumb	38,09	36,20	41,60
DDGS	7,50	-	-
Grâu	12,00	20,00	20,00
Șrot de soia	29,30	33,65	28,50
Full fat soia	7,00	-	-
Ulei de floarea-soarelui	1,00	6,25	6,23
DL-Metionină	0,40	0,33	0,28
L-Lizină	0,40	0,17	0,14
L-Treonină	0,10	0,04	0,05
Carbonat de calciu	1,80	1,15	1,10
Fosfat monocalcic	1,32	1,22	1,14
Sare	0,33	0,36	0,33
Premix	0,50	0,50	0,50
Salinomax	-	0,06	0,06
Salcurb	0,17	-	-
ButiPearl	0,02	-	-
Avatec	0,07	0,07	0,07
TOTAL	100	100	100
Caracterizare nutrițională			
Energie metabolizabilă (Kcal/kg)	2928	3121	3180
Proteină brută	23,16	21,3	19,33
Metionină+Cistină	1,114	0,973	0,879
Lizină	1,439	1,171	1,030
Celuloză brută	3,462	2,862	2,722
Calciu	1,104	0,81	0,759
Fosfor (t)	0,60	0,58	0,548
Grăsime brută	5,216	8,462	8,73
Raport energo-proteic	126,4	146,5	164,5

Porumbul reprezintă pentru păsări cereala cea mai bogată energetic, fiind foarte indicat pentru îngrășare, deoarece grăsimea se depune între fibrele musculare. Boabele de porumb prezintă un nivel energetic foarte ridicat, de peste 3300 Kcal EM/kg, pus pe seama unui conținut ridicat în amidon. În schimb, porumbul are un conținut redus în proteină (8-10%) și implicit în aminoacizi esențiali, precum: lizina, metionina, cistina, cisteina, triptofanul și treonina prezentând astfel o valoare biologică scăzută a acestuia. De asemenea, porumbul este sărac în celuloză (2,5%), vitamine, unele macro și microelemente și moderat în grăsimi (4-5%) (*Vacaru-Opriș și colab., 2002*).

Grâul reprezintă o importantă sursă de biotină, vitamină indispensabilă pentru păsări. Comparativ cu alte cereale, fosforul din grâu este mai bine asimilat de păsări, datorită cantităților mai ridicate de fitaze. Grâul are un nivel energetic de cca 3200 kcal EM/kg și un conținut în proteină brută de cca 11%. Echilibrul aminoacizilor esențiali la grâu este mai bun față de cel din porumb (*Pop și colab., 2006*).

DDGS este un nutreț rezultat din industria de bioetanol, destinat industriei zootehnice, cunoscut sub numele de cereale uscate distilate cu substanțe solubile (distillers dried grains with solubles -DDGS). Materia primă pentru obținerea DDGS-ului este porumbul, triticale, grâul și secara. Produsul se prezintă sub formă de pulbere sau granule având o culoare de la galben la galben brun. Acesta este un nutreț proteic a cărui aport în hrana animalelor în țări cu industrii de bioetanol puternice, precum SUA, a crescut în mod progresiv în ultimii ani. Prin conținutul ridicat de nutrienți: proteină brută (25-35%), grăsime (2-12,5%), fibră (2,5-9,5%), conținut mediu de aminoacizi cu valoare biologică ridicată, cca. 27% la care se adaugă conținutul de calciu, fosfor, magneziu, mangan și zinc, acest nutreț poate constitui baza oricărei rețete de nutrețuri combinate pentru animale. Valoarea medie a energiei brute a DDGS-ului este de cca 4700 kcal/kg, mai mare decât a porumbului, datorită tehnologiei aplicate. Raportul de concentrare a nutrienților este de 1:3 (conținutul de nutrienți dintr-un kg de DDGS este echivalent cu conținutul de nutrienți din 3 kg porumb). (*Kalscheur, 2006*).

Uleiul de floarea soarelui este o sursă foarte importantă atât de energie (conține cca 9200 kcal EM), cât și de acizi grași esențiali, al căror rol deosebit asupra creșterii puilor de găină este binecunoscut. Fiind o grăsime de natură vegetală, uleiul de floarea soarelui are efect "extra-caloric", determinând creșterea valorii energetice a nutrețului combinat peste nivelul calculat pe baza aportului fiecărui component și implicit reducerea indicilor de consum a hranei (*Pop și colab., 2006*).

Șroturile de soia reprezintă principala materie primă proteică utilizată în alimentația păsărilor, având un conținut ridicat în proteină (44-50%) și scăzut în celuloză (5,5-8,5%). Deși proteinele din șroturile de soia au un conținut ridicat în aminoacizi esențiali, pentru alimentația păsărilor, ele sunt considerate ca deficitare în aminoacizi sulfurați (*Pop și colab., 2006*).

Full fat soya este un produs foarte valoros, obținut prin extrudarea boabelor de soia, are un conținut ridicat de energie (cca 3400 kcal EM/kg), proteină brută (cca. 38 %) și aminoacizi esențiali (de exemplu: lizină 3 %, treonină 1,8 %, metionină+cistină 1,5%) (*Pop și colab., 2006*).

În general, nutrețurile energetice și proteice utilizate la producerea nutrețurilor combinate, nu satisfac cerințele puilor în minerale și aminoacizi. Pentru echilibrarea nutrețului combinat în macro și microelemente, s-a folosit o serie de suplimente minerale: fosfat monocalcic, carbonat de calciu, sare de bucătărie, premix vitamino-mineral, în proporții bine stabilite. În vederea asigurării necesarului de aminoacizi în hrana broilerilor, în nutrețul combinat s-au încorporat aditivi nutriționali sub forma aminoacizilor sintetici L- lizină, DL-metionină și L-treonină.

În nutrețul combinat s-a introdus și un aditiv pronutrițional respectiv *ButiPearl* (capsule de acid butiric) în faza de demaraj. Studiile privind utilizarea acestui aditiv în hrana puilor de găină au arătat că acidul butiric poate favoriza absorbția nutrienților la nivel intestinal, permițând astfel o mai bună valorificare a hranei. În rețeta nutrețului combinat au fost înglobați de asemenea și unii aditivi profilactici cum ar fi *Salinomax* și *Avatec* aparținând grupei coccidiostaticelor precum și un aditiv antimicrobian (*Salcurb*) cu scopul de a preveni unele boli infecțioase (coccidioza, salmoneloza).

4.1.3.2 Nutrețuri combinate și subproduse vinicole folosite la găinile ouătoare

În hrana găinilor ouătoare au fost folosite nutrețurile combinate produse de societatea SC Avicola Lumina SA din Constanța, alcătuite pe baza unor rețete întocmite conform normelor de hrană elaborate de NRC (1994). Structura și caracteristicile nutritive ale nutrețurilor utilizate sunt redate în tabelul 4.2. Rețeta nutrețului corespunde fazei III de ouat (sfârșitul de ouat), specifice vârstei gainilor (>60 săptămâni).

Din datele prezentate, se constată că rețeta de nutreț combinat utilizată se caracterizează printr-un conținut proteic de 16%, iar nivelul energetic al nutrețurilor combinate de 2750 Kcal EM /kg nutreț combinat. Aceste valori se încadrează în normele recomandate de NRC (1994) pentru găinile ouătoare crescute în sistem intensiv, în baterii de cuști. Conținutul în celuloză brută a fost de 4,95%, conținutul în calciu de 4,10% iar în fosfor disponibil de 0,37%.

Materiile prime care s-au folosit în alcătuirea nutrețului combinat au fost de bună calitate, conținutul lor în proteină brută și energie metabolizabilă încadrându-se în limitele indicate în literatura de specialitate.

Valoarea nutritivă a nutrețului combinat a fost asemănătoare la toate loturile, variind doar factorul experimental, respectiv subprodusele vinicole folosite și proporția de participare a acestora. Astfel, în structura nutrețului combinat a loturilor experimentale (LT-2%, LT-4%, LS-2%) s-au înglobat diferite cantități de tescovină și semințe măcinate provenite din soiul de struguri Fetească neagră, (obținute în 2014), pe toată perioada experimentului (42 zile).

Tab. 4.2. Structura și caracteristicile nutriționale al nutrețului combinat

Tab. 4.2. Structure and nutritional characteristics of mixed fodder

Ingrediente (%)	% în nutreț	Nutrienți	%
PORUMB 8%	25,00	Substanță uscată	88,61
GRÂU 11,50%	20,73	Grăsimă brută	4,30
SORG	15,00	Celuloză brută	4,95
ȘROT SOIA 46,0%	14,56	Proteină brută	16,00
ȘROT FLOARE 34,0%	10,00	EM GO (kcal/Kg)	2750
ULEI VEGETAL	2,58	Raport EM/PB	171,88
LIZINĂ	0,12	Calciu	4,10
DL - METIONINĂ	0,12	Fosfor total	0,57
TRIPTOFAN	0,02	Fosfor disponibil	0,37
CRETA (CaCO ₃) 38%	9,83	Sodiu	0,17
FOSFAT MONOCALCIC	0,92	Clor	0,25
SARE	0,25	Lizină	0,77
BICARBONAT	0,16	Lizină D. GO	0,70
BIOMIN 0.5% GO –A5 (cu enzime)	0,50	Metionină	0,39
AVIZANT galben 20S	0,0015	Met. D. GO	0,37
AVIZANT roșu 5	0,0025	Met. + Cis	0,67
MICOFIX	0,10	Met. + Cis D. GO	0,59
SAL CURB B	0,10	Treonină	0,56
TOTAL	100,00	Triptofan	0,19

În hrana găinilor din lotul experimental LT-2%, s-a introdus tescovină 2%; la lotul experimental LT-4% tescovină 4%, iar la lotul experimental LS-2% s-au introdus semințe 2%. Administrarea nutrețului combinat s-a făcut manual, la discreție, la fiecare lot experimental. Săptămânal a fost înregistrat consumul total de hrană.

4.2 METODE DE LUCRU FOLOSITE IN CERCETARE

Pentru a evalua influența factorilor experimentali, pentru buna desfășurare a cercetărilor s-au utilizat metode și tehnici standardizate, reglementate de legislația în vigoare, dar și aparatură performantă, calibrată, asigurându-se astfel valoarea reală a rezultatelor obținute.

4.2.1 Metode de caracterizare fizico-chimică a subproduselor din vinificație

4.2.1.1 Recoltarea, formarea și pregătirea probelor

Pentru stabilirea compoziției chimice a probelor de laborator este necesar să se efectueze înainte câteva operațiuni succesive foarte importante cum sunt: recoltarea, formarea și pregătirea probelor, pentru că acestea influențează în mare măsură rezultatele analizelor chimice.

După procesul de uscare s-au recoltat probe de tescovină integrală și separat fracțiuni solide (semințe, pielițe și ciorchini) în vederea determinării compoziției chimice. Prelevarea probelor elementare și obținerea probei omogenizate s-a realizat după metodologia precizată de Șara, 2005 și Avarvarei, 1999. Pregătirea probelor pentru analiză s-a făcut cu respectarea normelor prevăzute în standardele SR ISO 6498/2012 și STAS 21/3-73.

Din saci, probele elementare de nutreț combinat s-au recoltat cu ajutorul unei sonde, din partea superioară, de la mijlocul și partea inferioară a sacului. Probele elementare astfel prelevate s-au reunit, formând proba brută omogenizată. Proba astfel obținută a fost pusă în pungi de plastic și transportată în laborator în vederea pregătirii probei de laborator.

Proba de laborator s-a obținut prin reducerea probei brute, folosind metoda sferturilor (fig. 4.1-a.). Proba brută se întinde pe o suprafață plană într-un strat uniform de formă pătrată. Cu ajutorul unei rigle se împarte pătratul în patru triunghiuri. Se îndepărtează nutrețul din două unghiuri opuse, iar celelalte două se amestecă bine și se întind din nou în formă de pătrat, procedându-se în continuare în același fel, până când cantitatea de nutreț rămasă este egală cu masa probei de laborator.

Pentru a aduce proba la mărimea particulelor prevăzute în standard, s-a efectuat operațiunea de măcinare. Măcinarea se efectuează pentru a realiza o mai bună omogenizare, cât și pentru a ușura acțiunea reactivilor utilizați la analize. Nutrețurile și subprodusele vinicole au fost măcinate la moara mecanică de laborator Grindomix GM 200 (fig. 4.1-b.) până la particule de 1 mm

în diametru (fig. 4.2), după care au fost păstrate în borcane cu dop rodat până în momentul efectuării analizelor.

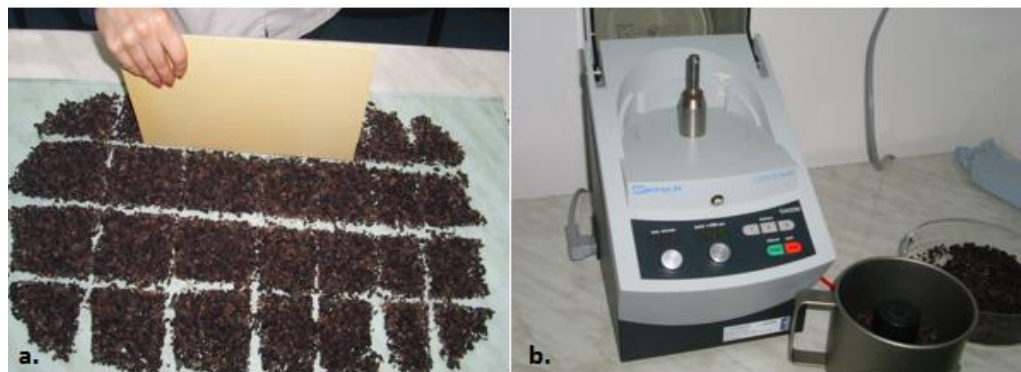


Fig. 4.1. Omogenizarea și mărunțirea probelor de tescovină uscată (a, b)

Fig. 4.1. Homogenization and grindig of dried grape pomace samples (a, b)

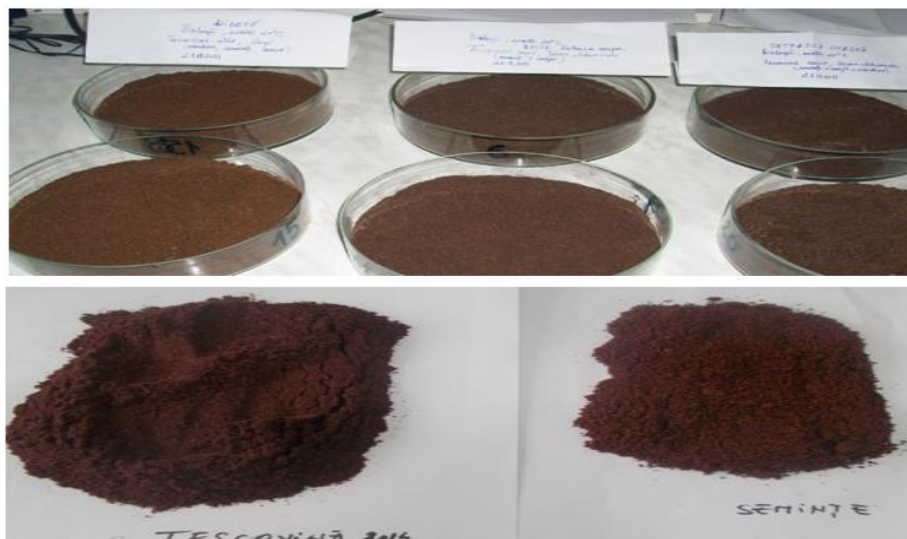


Fig. 4.2. Probe de subproduse vinicole (tescovină și semințe) măcinate la moara mecanică

Fig. 4.2. Samples of grape by-products (grape pomace and seeds) ground in the mechanical mill

4.2.1.2 Metode analitice de determinare a conținutului chimic

Prin analizele chimice efectuate, conform standardelor existente, s-au determinat: umiditatea, substanța uscată, cenușa brută, proteina brută, grăsimea brută, celuloza brută. Pe lângă aceste analize, s-au determinat și conținutul în acizi grași, în polifenoli totali și taninuri după metoda Folin-Ciocalteu; toate aceste analize sunt prezentate succint mai jos. Au fost

efectuate câte trei determinări pentru fiecare probă de tescovină (fracțiune) analizată.

Determinarea umidității (U) și a **conținutului de substanță uscată (SU)** s-au efectuat conform standardului SR ISO 6496:2001, prin procedeul de uscare la etuvă (fig. 4.3-a.), la temperatura de $103 \pm 1^\circ\text{C}$, timp de 6 ore, până la masă constantă, după care s-au răcit probele la exicator și s-au cântărit în fiolă (fig. 4.3-b.). Operația de uscare s-a repetat până când diferența de masă dintre două cântăriri succesive nu a depășit 0,6 mg.

Umiditatea corespunde pierderii de masă înregistrată în timpul uscării (1) iar diferența între 100 și umiditatea nutrețului corespunde substanței uscate (2).

$$U_a (\%) = \frac{m_p - m_{p.usc.}}{m_p} \times 100 \quad (1)$$

$$SU (\%) = 100 (\%) - U_a (\%) \quad (2)$$

unde: U_a - este conținutul absolut de apă, %;

m_p – masa probei luate în lucru, în grame;

$m_{p.usc.}$ – masa probei uscate, în grame.

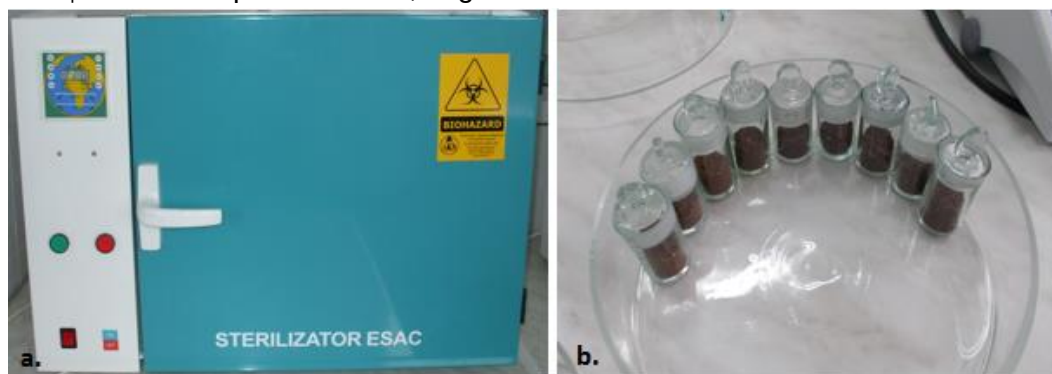


Fig. 4.3. Determinarea umidității și a conținutului de substanță uscată (a.-etuvă electrică-tip ESAC 50, b.-fiolă de cântărire cu probe)

Fig. 4.3. Determination of moisture and dry matter content (a.- type 50 ESAC electric oven-, b.- weighing ampoules with samples).

Cenușa brută (CenB) reprezintă reziduul natural care rămâne după calcinarea nutrețului și care conține pe lângă componenții minerali existenți inițial în nutreț și eventualele impurități anorganice (Avarvarei, 1999). Cenușa brută s-a determinat respectând standardul SR ISO 2171:2010 (fig. 4.4); principiul metodei constă în calcinarea probei la temperatura de 550°C , timp de 4 -5 ore, până la masă constantă. Probele au fost calcinate în cuptorul

electric până când pe suprafața reziduului nu s-au mai observat puncte negre, fapt ce a indicat o calcinare completă și corectă.

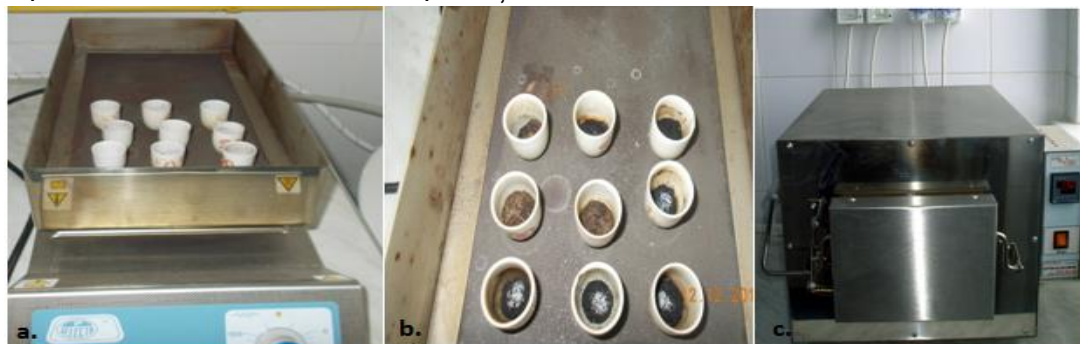


Fig. 4.4 Determinarea conținutului în cenușă brută (a,b. -creuzete cu probe pe baia de nisip, b.- cuptorul de calcinare-SUPERTERM)

Fig. 4.4 Determination of crude ash content (a,b- crucibles with samples on the sand bath, b.- SUPERTERM furnace).

După calcinarea completă creuzetele s-au scos din cuptor și s-au introdus în exicator pentru a se răci. După răcire creuzetele s-au cântărit și reintrodus în cuptorul de calcinare încă o oră, operațiunea repetându-se până când diferența dintre cântăriri nu a depășit valoarea de 0,0025 g.

După atingerea masei constante a creuzetelor conținând proba calcinată,

cenușa brută s-a calculat conform relației:
$$\text{Cen. B (\%)} = \frac{c \cdot 100}{m}$$

(3)

unde: c – cenușa brută, în grame; m – masa probei de analiză, în grame

Raportarea conținutului de cenușă brută la substanța uscată a nutrețului s-a

făcut conform relației:
$$\text{Cen. B (\% din SU)} = \frac{c \cdot 100}{m \cdot (100 - Ua)} \cdot 100 \quad (4)$$

Substanțele organice (SO) s-au stabilit prin calcul și reprezintă diferența dintre substanța uscată și cenușa brută, conform relației: $\text{SO \%} = \text{SU\%} - \text{Cen.B\%}$ (5)

unde: **SU** – substanța uscată a nutrețului și **Cen. B** – cenușa brută a nutrețului.

Substanța organică a unui nutreț este alcătuită din proteină brută (PB), grăsime brută (GB), celuloză brută (CB) și substanțe extractive fără azot (SEN), vitamine, enzime, hormoni (Avarvarei, 1999).

Determinarea proteinei brute (PB) s-a făcut prin metoda Kjeldahl conform standardului SR EN ISO 5983-1:2006/AC:2009. Metoda constă în dozarea azotului total dintr-o probă și transformarea azotului în proteină brută prin multiplicarea cu un factor (6,25). Determinarea proteinei brute prin metoda Kjeldahl se realizează în trei etape de lucru și anume: mineralizarea (fig. 4.5), distilarea (fig. 4.6) și titrarea (fig. 4.7).

Pentru determinarea conținutului de proteină brută din subprodusele vinicole și nutrețuri s-a folosit următoarea aparatură de laborator: balanță analitică DENVER PI-214, Sistem Kjeldahl - Velp de dozare a azotului, sticlărie de laborator specifică analizei (pipete, biuretă, baloane Erlenmeyer, baloane cotate etc.).

Reactivii utilizați au fost: acid sulfuric (H_2SO_4) concentrat (98%, $\rho=1,84\text{g/cm}^3$) și soluție de H_2SO_4 0,1 N; soluție concentrată de hidroxid de sodiu (NaOH) 32-35% și soluție de 0,1 N NaOH ; catalizator (amestec de K_2SO_4 și $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$); indicator roșu de metil și fenolftaleină.

Mineralizarea, este etapa în care o cantitate de 1g de probă se tratează cu 25 cm^3 de H_2SO_4 concentrat în prezența a 10 -15 g de catalizator, la fierbere azotul din combinațiile organice trece în combinație anorganică (sulfat de amoniu).



Fig. 4.5. Determinarea proteinei brute: mineralizarea probelor

Fig.4.5. Determination of crude protein: samples mineralization

Distilarea, este etapa în care proba mineralizată este supusă încălzirii în prezența NaOH concentrat. Amoniacul gazos este captat în balonul de colectare cu H_2SO_4 de concentrație și volum cunoscut. În aparatul de distilat, peste proba mineralizată se adaugă câteva picături de fenolftaleină, apă și NaOH concentrat în cantitate de 2-3 ori mai mare decât mărimea probei.



Fig. 4.6. Determinarea proteinei brute: distilarea probelor
Fig.4.6. Determination of crude protein: samples distillation

Titrare este ultima etapă, în care excesul de H_2SO_4 se titrează cu o soluție de NaOH 0,1 N de aceeași normalitate, până la virarea culorii, de la roșu la galben deschis; prin diferență se stabilește cantitatea de H_2SO_4 combinat cu NH_3 (amoniacul).



Fig. 4.7. Determinarea proteinei brute: titrarea probelor
Fig.4.7. Determination of crude protein: samples titration

Conținutul în proteină brută este dat de relația:

$$N_t = \frac{(n_1 \times f_1 - n_2 \times f_2) \times 0,0014 \times 6,25 \times 100}{m} \quad (6)$$

unde: n_1 = mL sol. H_2SO_4 0,1N (din paharul colector); f_1 = factorul de corecție al soluției de H_2SO_4 0,1N;

n_2 = mL soluție NaOH 0,1N (folosiți la titrarea excesului de H_2SO_4 0,1N); f_2 = factorul de corecție al soluției de NaOH 0,1N;

0,0014 = coeficient (1 cm^3 de sol. H_2SO_4 0,1N se combină cu amoniacul corespunzător a 0,0014 g N);

6,25 = factor de conversie a azotului în echivalenți proteină brută;

100 = exprimarea procentuală;

m = masa probei de analizat (g).

Determinarea cantității de grăsime brută (GB) din probele de analizat s-a realizat respectând standardul în vigoare SR ISO 6492:2001 și metodologia de lucru în laborator după Avarvarei, 1999.

Principiul metodei constă în proprietatea grăsimilor de a se dizolva în solvenți organici cum ar fi eterul, benzenul, acetona, cloroformul sau sulfatul de carbon.

Determinarea grăsimii brute din probele de analizat s-a făcut prin metoda Soxhlet-indirectă folosind ca solvenți de extracție eterul de petrol și cloroformul (fig. 4.8). La terminarea extracției, cartușele din hârtie de filtru uscate în prealabil la temperatura camerei, s-au introdus în etuvă cca. o oră la 105° C. După răcire în exicator, cartușele s-au cântărit iar diferența dintre greutatea pliculețului înainte de degresare și greutatea după degresare reprezintă grăsimea brută în grame, exprimarea procentuală făcându-se după relația de calcul:

$$GB\% = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m} \quad (7)$$

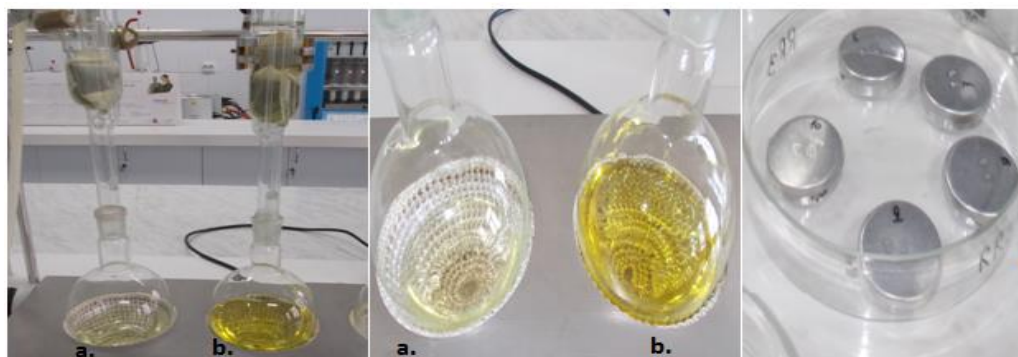
unde: m_1 – greutatea pliculețului cu probă înainte de degresare;

m_2 – greutatea pliculețului cu probă după degresare;

m – greutatea probei de analiză.

Exprimarea rezultatului raportat la substanța uscată a nutrețului

□ analizat s-a făcut folosind relația: $GB (\% \text{ din SU}) = \frac{(m_1 + m_2) \cdot 100}{m \cdot (100 - Ua)} \cdot 100 \quad (8)$



□ Fig. 4.8. Determinarea grăsimii brute prin metoda Soxhlet (a.-lipidele extrase din tescovina albă și b.-din cea roșie)

Fig. 4.8. Determination of crude fat using Soxhlet method (a.- lipids extracted from the white grape pomace b.-from the red grape pomace)

Determinarea celulozei brute (CB): metodologia de laborator folosită, a fost conform standardului în vigoare SR EN ISO 6865:2002, utilizând sistemul pentru extracția fibrelor VELP - FIWE 6.

Metoda presupune două etape ce se succed, compuse dintr-o „digestie acidă” cu H_2SO_4 (fig. 4.9) urmată de o primă filtrare și „digestia alcalină” cu KOH (fig. 4.10) urmată de o a doua filtrare.

La sfârșitul acestor două etape de hidroliză, proba se degresează cu câte 30 mL acetonă, după care creuzetele filtrante se introduc în etuvă la 105°C până la masă constantă. După cântărire se calcinează în cuptorul de calcinare la 550°C și apoi se răcesc în exicator. Pierdere de masă în urma calcinării corespunde cu masa de fibră brută a probei analizate.



Fig. 4.9. Determinarea celulozei brute: digestia acidă (cu acid sulfuric)

Fig. 4.9. Determination of crude cellulose: acid digestion (using sulfuric acid)



Fig. 4.10. Determinarea celulozei brute: digestia alcalină (cu hidroxid de potasiu)

Fig. 4.10. Determination of crude cellulose: alkaline digestion (using potassium hydroxide)

Conținutul de celuloză brută a probei pentru analiză s-a calculat prin

$$\text{relația: unde: } CB\% = \frac{m_2 - m_3}{m_1} \cdot 100 \quad (9)$$

m_1 – masa probei pentru analiză, în grame;

m_2 – masa creuzetului de calcinare împreună cu creuzetul de filtrare și reziduul obținut după uscare la 105°C, în grame;

m_3 – masa creuzetului de calcinare împreună cu creuzetul de filtrare și reziduul obținut după calcinare la 550°C, în grame.

Determinarea conținutului în pereții vegetali insolubili în apă (PVIA)

Parametrul PVIA (pereți vegetali insolubili în apă) reprezintă totalitatea constituenților parietali care sunt nedigestibili la păsări (Carré și Rozo, 1990; Carré, 1990).

Determinarea pereților vegetali insolubili în apă din probele de tescovină și fracțiunile acesteia (fig. 4.11) din soiul de struguri Fetească neagră (obținută în 2014) s-a realizat în laboratorul de nutriție la Unitatea de Cercetare Avicolă (URA) din cadrul INRA din Franța, conform metodei de lucru descrisă de Carré și Brillouet, (1989).

Carré și Brillouet, 1989, a elaborat o procedură -gravimetric enzimatică de extracție a pereților celulari insolubili în apă (incluzând pectine). Această metodă este frecvent utilizată în laborator pentru analiza fracțiunii nedigestibile a nutrețurilor utilizate la păsări în vederea includerii acesteia în ecuația de predicție a energiei metabolizabile (Carré, 1991).

Metoda are la bază trei etape de lucru în vederea eliminării constituenților care nu intră în structura pereților celulari și anume:

- amidonul care este solubilizat prin încălzire și prin degradare cu ajutorul unei α -amilaze (provenită de la *Bacillus licheniformis*: Thermamyl 120 L Sigma A3 403) termostabile la 95°C, pH 5,6 timp de 10 min.
- proteinele care sunt solubilizate prin intermediul unui detergent (dodecil-sulfat de sodiu și prin degradare cu o protează (pronaza E provenită de la *Streptomyces griseus*) la 40°C, pH 7,5 timp de 1 oră. Cei doi constituenți sunt eliminați prin spălare cu apă și apoi cu metanol;
- lipidele care sunt solubilizate cu ajutorul unui solvent (cloroform-metanol 2:1; v/v) și eliminat în cursul spălării.

Reziduul insolubil este apoi deshidratat cu acetonă, uscat în etuvă (1 oră la 103°C) și ars în cuptorul de calcinare (500°C, cel puțin 2 ore). Pierderea de

masă a reziduului (peretelui) este determinată prin cântărire înainte și după calcinare.



Fig. 4.11. Determinarea conținutului în pereții vegetali insolubili în apă
Fig. 4.11. Determination of water-insoluble cell-walls

Substanțele extractive neazotate (SEN) sunt o grupă eterogenă de substanțe în a căror componență intră amidonul, zaharurile simple, dextrinele, dizaharidele, pentozanii, pectina, taninii, saponinele etc. Determinarea substanțelor extractive neazotate se face prin diferență utilizând formula de calcul (Avarvarei, 1999):

$$\text{SEN \%} = \text{SO\%} - (\text{PB \%} + \text{GB\%} + \text{CB\%}) \quad (10)$$

Determinarea energiei brute (EB): cantitatea de energie conținută într-un nutreț este cunoscută sub numele de energie totală sau energie brută.

Determinarea energiei brute a tescovinei din soiul Fetească neagră (2014) și a fracțiunilor acesteia s-a făcut în laboratorul de nutriție la Unitatea de Cercetare Avicolă (URA) din cadrul INRA din Franța, iar aparatul folosit a fost C 7000 – IKA (fig. 4.12-a.).

Calorimetrul IKA C 7000 este un sistem de combustie pentru determinarea căldurii de ardere a unității de masă a unei probe solide sau lichide, cu funcționare adiabatică, fără transfer de căldură între bomba calorimetrică (vasul de combustie) și exterior. Temperatura este măsurată direct în vasul de descompunere. Timpul necesar pentru măsurare este redus: variază între 3-7 minute în funcție de natura probei.

Procedura de lucru s-a realizat respectând standardul ISO 1928:2009 și este prezentată succint mai jos:

O cantitate cântărită de 1 g probă, introdusă într-un creuzet de metal (fig 4.12-b.), s-a așezat pe o sârmă de platină, ale cărei capete s-au legat de doi electrozi fixați de capacul bombei metalice. Pe firul de sârmă s-a înfășurat un fir de bumbac iar capătul acestuia s-a introdus în interiorul creuzetului cu combustibilul, pentru a provoca arderea acestuia (fig 4.12-c.). Camera a fost închisă etanș, într-o atmosferă de oxigen (30 bari) și suspendată într-o baie de apă. Un curent electric care trece prin sârma de platină aprinde firul de bumbac și proba, provocând o ardere completă cu formare de H_2O , CO_2 și, în cazul proteinelor, sulf, oxizi de azot și fosfor. După ce s-a făcut corecția pentru înmagazinarea de căldură în calorimetru, căldura de ardere poate fi calculată pe baza greutății apei din baie și a modificării temperaturii sale.



Fig. 4.12. Determinarea energiei brute (a.- Calorimetrul IKA; b.-probe sub forma unor pastile; c,d-bomba calorimetrică)

Fig. 4.12. Determination of gross energy (a.- IKA Calorimeter; b.- pills form samples; c,d.- bomb calorimeter)

Profilul de acizi grași din probele de tescovină și semințe din soiul de struguri Fetească neagră (2014) s-a determinat prin metoda gaz cromatografică, în laboratorul de nutriție, URA din cadrul INRA.

Principiul metodei constă în transformarea în esteri metilici a acizilor grași din proba supusă analizei, urmată de separarea componentelor pe coloană cromatografică și determinarea procentuală a acizilor grași din grăsimea determinată.

Extracția uleiului din probă (2,5g) s-a făcut utilizând ca solvent un amestec de cloroform-metanol (2:1, v/v) (Folch și colab., 1957; Cristie, 1973). Astfel, amestecul probă și solvent s-a omogenizat la malaxorul Ultra-Turrax iar filtratul obținut s-a trecut în pâlnia de separare, s-a agitat și s-a lăsat pentru decantare 20 ore. După decantare s-a recuperat într-un balon faza inferioară conținând cloroformul și lipidele și s-a adus la sec prin evaporarea cloroformului la rotavaporul rotativ.

Saponificarea acizilor grași va permite metilarea astfel fiind determinați prin cromatografie gazoasă. După recuperarea lipidelor, esterii metilici ai acizilor grași au fost pregătiți după metoda descrisă de *Morrison și Smith, (1964)* și analizați la gaz cromatograful (fig. 4.13) Perkin Elmer Clarus 580 (Inc., SUA) prevăzut cu detector cu ionizare în flacără (FID) cu coloană capilară și fază staționară polară tip Elite-225, cu lungimea de 30 m, diametrul interior 0,25 mm și cu grosimea filmului de 0,25 μm . (fig. 4.13).

Temperatura la injectorul cromatografului s-a fixat la 250°C, s-a reglat debitul gazului purtător (N, H₂, aer gaz de ardere) iar în cromatograf s-a injectat câte 0,3 μL din proba de analiză (sub formă de ester metilici în heptan).

Calibrarea și determinarea picurilor s-au bazat pe standarde autentice ale acizilor grași, procurate de la Sigma Aldrich (St. Louis USA). Cantitatea de acizi grași existentă în probă (grăsime) s-a calculat raportându-se aria probei la aria etalonului de diluție.

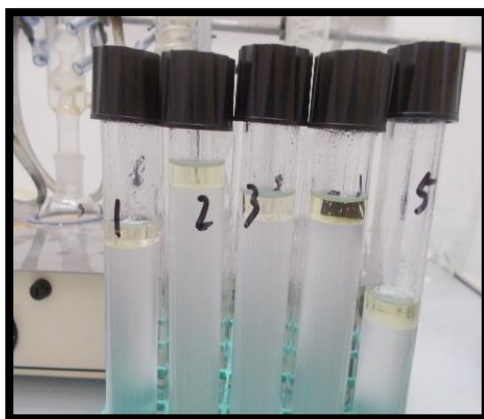




Fig. 4.13. Extracția și determinarea acizilor grași la gaz cromatograf

Fig.4.13. Extraction and determination of fatty acid gas using gas chromatograph

Rezultatele au fost exprimate pentru fiecare acid gras în procente (%) de esteri metilici ai acizilor grași (FAME).

De asemenea, au fost calculate și principalele clase de acizi grași (AG), astfel:

Total AG saturați = $C_{10:0} + C_{12:0} + C_{14:0} + C_{15:0} + C_{16:0} + C_{17:0} + C_{18:0}$;

Total AG mononesaturați = $C_{15:1} + C_{16:1} + C_{18:1} + C_{20:1} + C_{22:1}$;

Total AG polinesaturați = $C_{18:2n-6} + C_{20:2n-6} + C_{20:3n-6} + C_{20:4n-6} + C_{22:4n-6} + C_{18:3n-3} + C_{20:3n-3}$;

Total AG n-6 polinesaturați = $C_{18:2n-6} + C_{20:2n-6} + C_{20:3n-6} + C_{20:4n-6} + C_{22:4n-6}$; Total AG n-3 polinesaturați = $C_{18:3n-3} + C_{20:3n-3}$.

Determinarea polifenolilor totali și a taninurilor din tescovină

Probele de tescovină și semințe din diferite varietăți de struguri au fost în prealabil degresate pentru a îndepărta substanțele cu caracter lipofil (uleiuri volatile, acizi, vitamine, gliceride, etc) prezente în tescovină și semințe. Extracția acestor substanțe din materialul vegetal s-a realizat cu ajutorul eterului de petrol, prin metoda clasică Soxhlet.

Polifenolii totali și taninurile din extractele alcoolice (50%) (fig. 4.14) obținute din probele de tescovină (fracțiuni) degresate conform brevetului (Bișboacă, 2012) s-au determinat după metoda Folin-Ciocalteu descrisă de Singleton și Rossi (1965) și Tarcău și colab., (2013).

Probele de tescovină degresate sub formă de pudră (3g) au fost extrase cu 50 ml soluție apoasă de etanol de 50% (v/v), timp de 24 h, la termostat la temperatura de 45°C, cu agitare intermitentă (Bișboacă, 2012). După 24h de

termostatare, extractele au fost răcite și centrifugate la 5000 rpm, timp de 15 min, pentru recuperarea supernatantelor (soluția probă de bază basic- BSS). Pentru determinarea taninurilor s-a folosit schema de lucru propusă de *Tarcău și colab., (2013)*. Doi mililitri de BSS au fost prelevați într-un flacon Erlenmeyer (50 mL) în care s-au introdus 8 mL de apă și 10 mL de tampon acetat (soluția 1 S1). S-au prelevat zece mililitri de S1 în care s-au adăugat 50 mg de caseină, agitându-se timp de 45 min, (adsorbția taninurilor). După adsorbția pe caseină a taninurilor și filtrare s-a obținut soluția 2, S2. Din fiecare soluție S1 și S2 s-a prelevat 1 ml pentru determinarea polifenolilor totali folosind metoda *Singleton și Rossi, (1965)*, în care s-au adăugat 3 mL de reactiv Folin-Ciocalteu (FCR), 20,0 de mL soluție de $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, de concentrație 10%.

Absorbanța a fost măsurată la lungimea de undă de 760 nm la spectrofotometrul UV. mini 1240 SHIMADZU. Conținutul de polifenoli totali și taninuri s-a exprimat în echivalenți gram de acid galic per kg (g GAE/kg), folosind curba etalon cu soluții standard în domeniul 0,01 mg la 1 mg/mL. Ecuația de calibrare pentru acidul galic a fost: $y = 0,9343x - 0,0103$, (fig.4.15) observându-se o bună linearitate ($R_2=0,9995$).

Diferențele dintre conținutul în polifenoli totali determinați în soluția 1 (S1) și soluția 2 (S2) (polifenolii totali - polifenolii neadsorbiți pe caseină) corespund concentrației de taninuri din probele analizate. Conținutul de polifenoli totali s-a exprimat în echivalenți gram de acid galic per kg (g GAE/kg).



Fig. 4.14. Extracția polifenolilor la termostat (a.) și pregătirea soluțiilor pentru determinarea polifenolilor totali (b.)

Fig. 4.14. Extraction of polyphenols to the thermostat (a.) and preparation of the solutions for total polyphenols determination (b.)

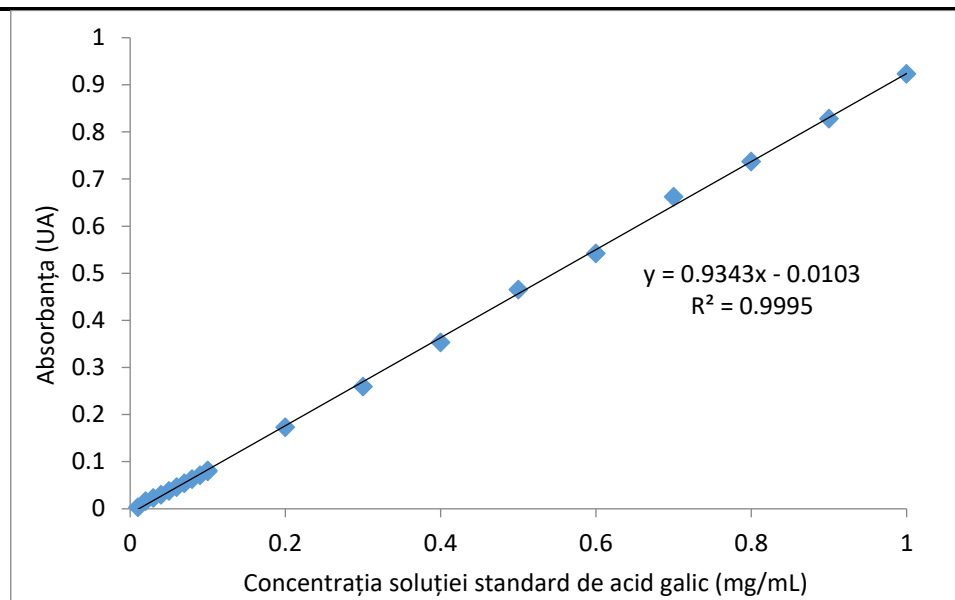


Fig. 4.15. Curba etalon pentru determinarea polifenolilor totali și taninurilor

Fig. 4.15. The standard curve for the determination of total polyphenols and tannins

4.2.2 Metode de evaluare a performanțelor productive

4.2.2.1 Evaluarea performanțelor productive la puii broiler

Pentru a evalua influența subproduselor din industria de vinificație în hrana puilor broiler, pe parcursul desfășurării cercetărilor, s-a urmărit pe loturi evoluția greutatei corporale, a sporului în greutate iar pentru aprecierea modului în care a fost valorificată hrana au fost înregistrate săptămânal la 7, 14, 21, 28, 35-a zi și la sacrificare, cantitățile de nutrețuri ingerate pe baza cărora au fost calculate consumurile totale și cele specifice de nutrețuri combinate/kg spor; în paralel cu observații asupra mortalității.

Pentru stabilirea greutatei corporale și a sporului în greutate, s-au cântărit individual toți puii din efectiv. În urma cântării puilor broiler s-a făcut media greutatei corporale a acestora, pe fiecare lot în parte, iar prin diferența greutății medii inițiale față de greutatea medie anterioară, s-a stabilit sporul mediu în greutate săptămânal și total al păsărilor din lotul respectiv.

Consumul total de nutreț combinat s-a calculat adunând consumurile săptămânale de nutreț. Consumul total de nutreț combinat/cap/săptămână s-a calculat raportând cantitatea totală de nutreț din perioadă la numărul de zile furajate din perioada respectivă.

Calcululele privind sporul mediu zilnic și consumul specific pentru 1 kg spor au fost făcute după tehnicile cunoscute.

Pentru stabilirea procentului de mortalitate a păsărilor, s-a raportat numărul de pierderi din fiecare lot la numărul de păsări cu care s-a făcut popularea.

La sfârșitul perioadei experimentale (40 de zile) Factorul de Eficiență European (EEF) sau indice de eficiență la broiler (PEF) a fost calculat pe baza vârstei puilor la sacrificare (40 de zile), mediei greutatei corporale (kg /pasăre), mortalității (%) și consumului specific de nutreț (kg n.c/kg spor).

4.2.2.2 Evaluarea performanțelor productive la găinile ouătoare

Pe parcursul desfășurării cercetărilor pe găinile ouătoare au fost culese următoarele date primare necesare stabilirii performanțelor productive:

- *starea de sănătate, morbiditatea și comportamentul găinilor* prin observații zilnice asupra efectivului de găini luat în studiu.

- *evoluția greutății corporale*, stabilită prin cântăriri individuale a găinilor ouătoare, la începutul și la sfârșitul perioadei experimentale, valorile fiind exprimate în g. La aprecierile gravimetrice s-a folosit o balanță electronică Shimadzu BW12KH, cu interval de măsurare de 0,1 g- 12000 g.

- *producția de ouă* a găinilor pe perioada experimentală s-a realizat prin înregistrarea zilnică a numărului de ouă produse de găinile din fiecare lot, iar în final pe întreaga perioadă experimentală s-a calculat producția totală de ouă, exprimată în buc. *Intensitatea de ouat*, exprimată în procente, a fost stabilită prin raportarea nr. de ouă produse zilnic la efectivul de păsări aflat în exploatare în momentul calculului.

- *consumul mediu zilnic* individual de hrană (g), a fost calculat pe baza consumului total și a numărului de zile furajate. Consumul total a fost calculat prin diferența între nutrețul combinat administrat și resturile neconsumate, apreciate săptămânal.

- *conversia hranei* (kg n.c./ou) s-a calculat prin raportarea consumului de nutreț administrat păsărilor din fiecare lot de experiență la producția totală de ouă a fiecărui lot.

4.2.3 Metode de apreciere a calității ouălor

Ouăle cu anomalii morfologice (ouă prea mari, ouă prea mici, ouă cu coajă rău formată sau ouă fără coajă, etc) cât și pierderile în timpul recoltării au fost identificate și înregistrate pe fiecare lot în parte și apoi raportate la producția totală de ouă a lotului respectiv.

Pentru a urmări unele efecte ale subproduselor vinicole asupra calității ouălor am considerat că cel mai relevant parametru fizic de calitate al ouălor pe care îl putem urmări este gradul de prosepțime al acestora.

Gradul de prosepțime poate fi apreciat prin determinarea indicelui albușului și a gălbenușului și greutateii specifice ouălor (prin metoda soluțiilor saline). Astfel, s-a evaluat calitatea ouălor proaspete recoltate în prima zi și după 30 de zile de administrare cu subproduse vinicole în hrana găinilor. Pentru evaluarea gradului de degradare al prosepțimii oului pe perioada stocării, acestea au fost depozitate la frigider la temperatura de 4°C, iar la sfârșitul fiecărei perioade de depozitare: 7, 14, 21, 28 de zile, s-au determinat parametri fizici de calitate a oului.

Având în vedere faptul că am dispus de un număr mai mic de păsări și de ouă pe lot (12 capete/lot) ne-am gândit la un protocol de lucru reprezentativ pentru aprecierea calității fizice a oului astfel încât să putem observa însemnătatea statistică a datelor.

Astfel, începând cu prima zi de administrare în hrana păsărilor cu subproduse vinicole s-au recoltat ouă cinci zile consecutiv de la cele 4 loturi de experiență pentru depozitare la frigider la 4°C (timp de 0, 7, 14, 21 și 28 de zile) -**prima serie de ouă (I serie)** iar același procedeu a fost repetat și în a doua lună de experiment, după 30 de zile- **a doua serie de ouă (II-serie)**.



Fig. 4.16. Ouă proaspete recoltate de la găini

Fig. 4.16. Fresh eggs harvested from hens

Probele de ouă proaspete recoltate (fig. 4.16) au fost analizate din punct de vedere fizic, determinându-se greutatea oului și a componentelor sale, grosimea cojii, greutatea specifică, culoarea gălbenușului, prosepțimea oului apreciată prin valoarea indicelui Haugh și punctele de apreciere ale prosepțimii (indice albuș și gălbenuș).

Indicatorii fizici interni de calitate analizați pe perioada stocării ouălor au fost: greutatea oului, greutatea specifică (prin metoda soluțiilor saline), indicelui Haugh, indicele albușului și gălbenușului.

Greutatea medie a ouălor (g) a fost determinată prin cântărirea individuală a acestora din fiecare lot în parte, la aparatul Egg Analyzer (fig.4.17).



Fig. 4.17. Determinarea greutății oului la aparatul Egg Analyzer
Fig. 4.17. Determination of egg weight using the Egg Analyzer device

Greutatea specifică s-a determinat prin metoda soluțiilor saline (fig. 4.18), utilizând 11 vase cu soluții de NaCl a căror densitate crește progresiv cu 0,004, menținute la aceeași temperatură. Oul analizat a fost trecut succesiv dintr-un vas în altul, fiind scurs și șters de soluția anterioară; vasul în care oul s-a ridicat la suprafață a indicat, prin densitatea soluției sale, greutatea specifică a acestuia. Valorile redată ca rezultate ale cercetărilor proprii reprezintă media a 8 determinări/fiecare lot.



Fig. 4.18. Determinarea greutății specifice a ouălor
Fig. 4.18. Determination of egg specific gravity

Structura ouălor a fost pusă în evidență prin raportarea componentelor acestora (albuș, gălbenuș, coajă) la greutatea lor. Cântăririle componentelor ouălor s-au efectuat la balanța tehnică de laborator. Greutatea albușului a fost

apreciată prin calcul matematic, fiind exprimată ca diferență dintre greutatea oului întreg și suma greutateilor celorlalte componente ale oului, apreciate gravimetric.

Indicele Haugh, folosit pentru aprecierea calității proteinelor din albușul de ou și are la bază corelația dintre înălțimea albușului dens (h) și greutatea oului (G), fiind determinat după relația:

$$\text{U.H.} = 100 \log (h - 1,7 \times G^{0,37} + 7,57)$$

în care: U.H. sunt unități Haugh (indicele Haugh);

h = este înălțimea albușului dens, în mm

G = greutatea oului, în g.

Indicele Haugh al ouălor (UH) s-a determinat cu ajutorul aparatului electronic „Egg Analyzer” (fig. 4.17). Un ou bun trebuie să aibă între 74,5 și 89,5 U.H.

Indicele albușului, s-a stabilit prin raportul dintre înălțimea albușului și diametrul lui (fig. 4.19).



Fig. 4.19. Determinarea indicelui albușului

Fig. 4.19. Determination of albumen index

Indicele gălbenușului, s-a determinat prin raportul dintre înălțimea gălbenușului și diametrul lui (fig. 4.20).



Fig. 4.20. Determinarea indicelui gălbenuşului

Fig. 4.20. Determination of yolk index

Intensitatea de culoare a gălbenuşului (fig. 4.21) s-a determinat la aparatul Egg Analyzer. Acesta foloseşte scara La Roche care cuprinde 15 eşantioane de culoare, numerotate de la 1 la 15. Până la 2, pe scara La Roche, gălbenuşul este de culoare foarte deschisă, între 2 şi 7, culoarea este galbenă, cu nuanţe din ce în ce mai deschise, iar după 7, culoarea virează spre oranj; dublul gradelor La Roche plus 1, reprezintă micrograme caroten gălbenuş. (Vacaru-Opriş, 2002; Helena Bovšková şi colab., 2014).



Fig. 4.21. Determinarea intensităţii culorii gălbenuşului la aparatul Egg Analyzer şi compararea acesteia cu evantaiul de culori Hoffman-La Roche

Fig. 4.21. Determination of yolk colour intensity using the Egg Analyzer device and comparison with the Hoffman-La Roche colour fan decks

Grosimea cojii minerale a fost dată de media determinărilor efectuate pe fragmente de coajă, fără membrane cochiliere, provenite din trei regiuni diferite

ale fiecărui ou (vârful ascuțit, zona mediană și vârful rotunjit), după spălarea lor cu apă distilată și uscarea timp de 24 ore la temperatura de 60°C. Măsurătorile au fost efectuate cu ajutorul unui dispozitiv cu ceas micrometric cu comparator (fig. 4.22).



Fig. 4.22. Determinarea grosimii cojii minerale
Fig.4.22. Determination of mineral shell thickness

Măsurătorile parametrilor fizici luați în studiu s-au efectuat în laboratorul disciplinei de Avicultură și în laboratorul de control al calității nutrețurilor din cadrul Facultății de Zootehnie, Iași.

4.2.4 Metode de determinare a unor indicatori biochimici, hematologici și histologici

4.2.4.1 Indicatori biochimici, hematologici și histologici analizați la puii broiler

În vederea stabilirii efectului subproduselor vinicole și a extractului apos de polifenoli administrat în apă de băut asupra metabolismului păsărilor și pentru a putea justifica științific rezultatele de producție s-au prelevat probe de sânge și țesut de la un număr de subiecți pentru a efectua diferite analize hematologice, biochimice și histologice. Aceste analize reprezintă o modalitate foarte bună de a evalua starea de sănătate a păsărilor sau evoluția unei stări patologice.

4.2.4.1.1 Recoltarea sângelui

Recoltarea probelor de sânge s-a făcut prin metoda clasică. Această metodă presupune introducerea acului pentru injecții intravenoase în venă, lăsând sângele să curgă liber în vacutainer (un tub vidat, închis ermetic cu dop de cauciuc) sau aspirând sânge în seringă.

Tehnica de recoltare: recoltarea sângelui de la pasăre s-a efectuat din vena axilară; puiul a fost așezat într-o poziție relaxantă. Locul de elecție s-a curățat de pene prin smulgerea lor și s-a dezinfectat cu alcool medicinal. S-a făcut stază locală (favorizând acumularea sângelui în vas) apoi s-a puncționat vena și s-a recoltat sânge în tuburile pregătite în prealabil.

Probele de sânge au fost prelevate la sfârșitul perioadei experimentale, la 40 zile, din vena axilară de la subiecți a căror masă corporală a fost egală cu masa medie a puiilor din lotul respectiv.

Probele de sânge necesare determinării profilului hematologic au fost recoltate pe anticoagulant utilizând ca substanță K₃-EDTA-ul (sarea acidului etilen-diamino-tetraacetic), concentrația recomandată de EDTA este de 1,2 – 2,0 mg/mL de sânge. Recoltarea s-a făcut în vacutainere cu dop de culoare mov (fig. 4.23 - a) , iar cele necesare determinării statusului antioxidant total s-au făcut pe un activator de coagulare (care accelerează formarea cheagului), în vacutainere cu capac roșu (fig. 4.23 -b).

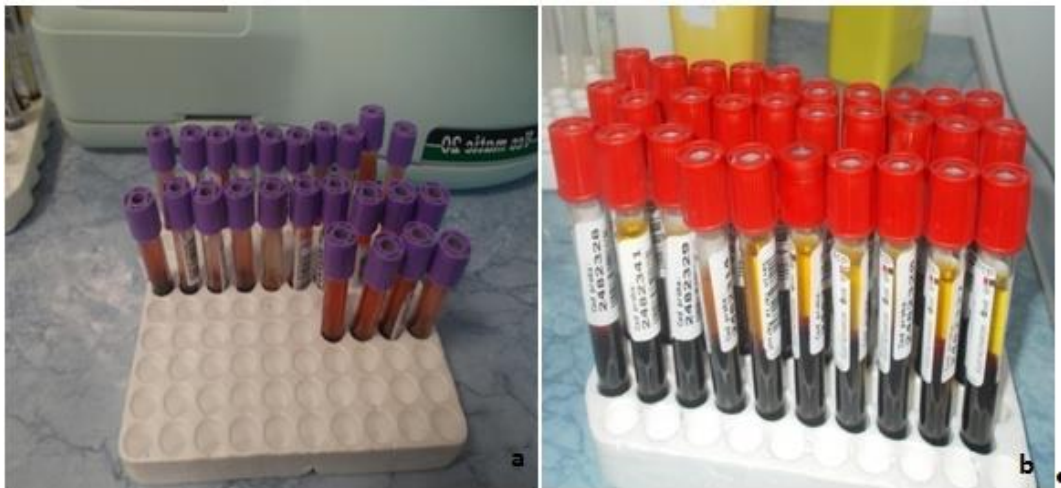


Fig. 4.23 Vacutainere cu probe de sânge pentru determinarea profilului hematologic (a) și TAS-ului (b)

Fig. 4.23. Vacutainers with blood samples for haematological profile (a) and TAS determination (b).

Pentru analizele hematologice tubul a fost umplut cel puțin trei sferturi pentru ca raportul sânge/anticoagulant să fie optim iar pentru analiza activității antioxidante s-a recoltat o cantitate de 3-5 mL sânge/vacum.

Pentru determinarea profilului hematologic s-au prelevat probe de la 4 pui (2 masculi și 2 femele) iar pentru determinarea statusului antioxidant total (TAS), recoltarea s-a făcut de la 5 pui (3 masculi și 2 femele).

Probele de sânge au fost duse imediat în laborator pentru determinarea profilului hematologic iar cele recoltate pentru analiza TAS-ului au fost supuse centrifugării pentru a recupera serul sanguin și stocate la congelator la temperatura de -30°C pentru a fi analizate ulterior.

Obținerea plasmei și a serului

Unele funcții ale sângelui pot fi explorate prin determinări efectuate pe probe de plasmă sau probe de ser. Atât plasma sanguină, cât și serul sanguin reprezintă partea lichidă a sângelui (partea globulară fiind reprezentată de hematii, leucocite și trombocite).

Spre deosebire de plasmă, care conține toate substanțele organice și anorganice prezente în sângele circulant, serul sanguin este lipsit de fibrinogen, deoarece acesta se transformă în fibrină în timpul procesului de coagulare, fiind inclus în coagul.

Retracția cheagului și deci exprimarea serului depind de numărul de plachete sanguine (trombocite) din sânge. Aceste elemente figurate ale sângelui conțin un factor care asigură retracția cheagului, cunoscut sub numele de retractozim sau trombostenină, asemănător actinei și miozinei din celulele musculare.

Obținerea plasmei: sângele s-a recoltat pe anticoagulant, apoi a fost supus centrifugării. Sângele s-a separat în două straturi: un strat inferior, sedimentul, de culoare roșie, reprezentat de hematii și un strat superior (supernatantul) – un lichid clar, de culoare galben-pai, care reprezintă plasma (fig. 10). La limita dintre stratul inferior și cel superior se află un strat îngust abia vizibil, albicios, reprezentat de leucocite și trombocite.

Obținerea serului: sângele s-a recoltat în vacutainer, s-a lăsat să coaguleze; coagulul s-a desprins de pereții vacutainerului iar acesta s-a menținut la temperatura ambientală, timp de 24 de ore.

Prin retracția coagulului se exprimă serul sanguin. În cazul vacutainerelor cu dop roșu pentru determinarea statusului antioxidant, probele de ser obținute prin centrifugare la 3500 rpm, timp de 5 minute, au fost congelate la temperatura de -30°C pentru a fi analizate ulterior.

4.2.4.1.2 Metode de determinare a profilului hematologic

Sângele la pasăre este alcătuit din eritrocite, leucocite granulare (heterofile, eozinofile și bazofile) și negranulare (subdivizate în limfocite și monocite) și trombocite suspendate în plasmă. Ceea ce deosebește eritrocitul aviar de cel al mamiferelor este nucleul, prezența în citoplasmă a mitocondriilor și probabil, a reticulului endoplasmatic, caracteristici comune cu celula somatică tipică (Chelaru Ana, 2000).

Cuantificarea parametrilor hematologici asociată uneori cu examinarea frotiului de sânge aduce informații prețioase care să ateste starea de sănătate a puilor.

Analiza hemoleucogramei a constatat în măsurarea următorilor parametrii: hematocritul (%), concentrația de hemoglobină (g/dl), numărul de eritocite (mil/mm^3), indici eritocitari (constante eritocitare derivate)- volumul eritocitar mediu (VEM μm^3), hemoglobina eritocitară medie (HEM pg), concentrația medie de hemoglobină (CHEM g/dl sau %), număr de leucocite (mii/mm^3) cu formula leucocitară (heterofile, eozinofile, bazofile, monocite, limfocite).

Determinarea numărului de celule roșii și albe s-a făcut prin metoda hemocitometrică, utilizând soluția Natt-Herrick după *Campbell (1995)*; hematocritul (HCT) și hemoglobina (Hb) au fost măsurate prin metoda macrohematocritului și respectiv colorimetrică Sahli, metode descrise de *Pierson, (2000)*. Volumul eritocitar mediu (VEM), hemoglobina eritocitară medie (HEM) și concentrația medie de hemoglobină (CHEM) au fost calculate în conformitate cu *Campbell (1988)*. Formula leucocitară s-a determinat prin citirea frotiului sanguin, colorat prin metoda May-Grunwald-Giemsa (*Douglas și Wardrop, 2010*).

Parametrii hematologici au fost efectuați manual în cadrul laboratorului privat „Praxis”, metodele de lucru fiind prezentate detaliat mai jos:

Determinarea hematocritului s-a realizat prin metoda macrohematocritului. Hematocritul reprezintă exprimarea procentuală a volumului globular sanguin în raport cu volumul sângelui total.

Tehnica de lucru: în două eprubete se introduce sânge bine omogenizat în prealabil. Sângele se eliberează în eprubetă cu pipeta Pasteur, începând de la fundul eprubetei, evitând pătrunderea bulelor de aer.

Eprubetele pline de sânge se echilibrează la o balanță, apoi se introduc în centrifugă și se centrifughează la 3000 rotații pe minut, timp de 3 minute. Sângele se separă în două straturi: plasmă și sedimentul de hematii.

Se măsoară înălțimea coloanei de hematii (h) și cea a sângelui total (H) și se aplică următoarea formulă de calcul:

$$Ht\% = \frac{h \times 100}{H}$$

Pentru determinarea hemoglobinei s-a utilizat metoda colorimetrică Sahli. Această metodă folosește: hemoglobinometrul Sahli, acid clorhidric N/10 și apă distilată.

Hemoglobinometrul Sahli este alcătuit dintr-un comparator și o pipetă capilară cu capacitatea de 20 mm^3 (0,02 mL) (*fig. 4.24*). Comparatorul este

format dintr-un dublu martor (reprezentat de două baghete de sticlă colorate în galben brun) și o eprubetă specială cu două tipuri de gradații: una în g/dl, alta în % (la 100 corespund 16 g/dl).



Fig. 4.24. Hemoglobinometrul Sahli

Fig. 4.24. Hemoglobinometer Sahli

Tehnica de lucru: cu o pipetă Pasteur se introduce HCl N/10 în eprubetă gradată până la diviziunea 10 a gradației procentuale. În pipeta capilară se aspiră sânge până la semn (0,02mL). Se șterge vârful pipetei, apoi se eliberează conținutul în eprubeta gradată, amestecând sângele cu HCl. După omogenizare, se așteaptă 5 minute, timp în care amestecul devine brun închis prin formarea clorhidratului de hematină. Se adaugă apoi apă distilată, picătură cu picătură, amestecând cu o baghetă de sticlă. Când culoarea lichidului din eprubetă devine identică cu a martorului se citește gradația corespunzătoare (în g/dl) la meniscul inferior.

Numărul de eritrocite s-a determinat prin metoda hemocitometrică. Această metodă utilizează camera de numărat Bürker –Türk, pipeta Potain pentru eritrocite și lichidul de diluție Hayem.

Camera de numărat Bürker –Türk prezintă o depresiune centrală unde sunt gravate una sau două rețele pe care se face numărătoarea (fig. 4.25). Rețeaua camerei de numărat este alcătuită din 9 pătrate de ordinul I, fiecare având latura de 1 mm². În fiecare pătrat de ordinul I se găsesc 16 pătrate de ordinul II, cu latura de 1/5 mm și suprafața de 1/25 mm². În pătratul central de ordinul I, în interiorul fiecărui pătrat de ordinul II, se află și pătrățele de ordinul III, cu latura de 1/20 mm și suprafața de 1/400.

Pipeta Potain pentru eritrocite este reprezentată de un tub capilar prevăzut la un capăt cu o bulă de diluție (fig. 4.26-a). Extremitatea cu bulă de

diluție se continuă cu un tub de cauciuc prevăzut cu o piesă bucală (fig 4.26-b). Tubul capilar prezintă 3 diviziuni: 0,5; 1; 101.

Lichidul de diluție Hayem determină distrugerea elementelor albe, dar conservă hematiile.

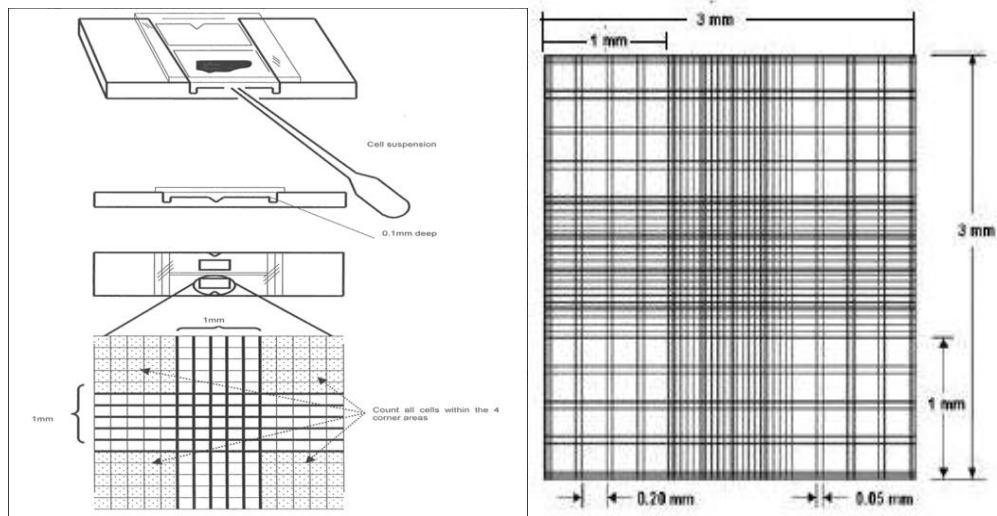


Fig. 4.25. Bürker –Türk system

Fig. 4.25. Rețeaua Bürker –Türk



Fig. 4.26. Pipeta Potain pentru eritrocite

Fig. 4.26. Pipette Potain for erythrocytes

Tehnica de lucru: în pipeta Potain se aspiră sânge (omogenizat în prealabil) până la diviziunea 0,5, fără bule de aer. Se aspiră apoi lichid de diluție până la diviziunea 101. Se obține astfel diluția 200 (sângele diluat de 200 de ori). După omogenizarea conținutului pipetei (fără a agita brusc deoarece se

distrug hematiile), se îndepărtează primele 1-2 picături, iar următoarea picătură se depune în camera de numărare acoperită în prealabil cu o lamelă. Camera se lasă în poziție orizontală 2-3 minute pentru sedimentarea hematiilor, apoi se examinează la microscop cu obiectivul mic.

Se vor număra hematiile din pătratul central de ordinul I, dar numai din 5 pătrate de ordinul II (4 în diagonală și al 5-lea dintr-un colț liber). În total se numără hematiile din 80 pătrățele de ordinul III (5×16). În interiorul pătratului de ordinul II numărarea hematiilor se face zig-zag, iar în interiorul pătratului de ordinul III se numără hematiile cuprinse în pătrat și cele aflate pe două dintre laturi.

Se aplică următoarea formulă de calcul:

$$E \text{ (mil./}\mu\text{L)} = M_{III} \times S \times I \times D$$

în care:

M_{III} – media eritrocitelor numărate pe un pătrat de ordinul III

S – suprafața unui pătrat de ordinul III (400)

I – înălțimea camerei de numărare (10)

D- diluția utilizată (200)

Principalele constante eritrocitare derivate sunt: volumul eritrocitar mediu (VEM); hemoglobina eritocitară medie (HEM); concentrația în hemoglobină eritocitară medie (CHEM). În calculul constantelor eritrocitare derivate se folosesc rezultatele testelor de explorare a eritrocitelor: hematocritul (Ht), hemoglobina (Hb) și numărul de eritrocite (E). Alături de eritrocite, hematocrit, hemoglobină, constantele eritrocitare derivate sunt utilizate pentru diagnosticul stărilor de anemie.

Volumul eritrocitar mediu (VEM) reprezintă volumul mediu al unui eritrocit izolat. Se exprimă în μ^3 . Se calculează după formula:

$$VEM = \frac{Ht \times 10}{E}$$

în care: Ht = hematocritul exprimat în %

E = nr de eritrocite exprimat în mil./ μ l

Hemoglobina eritocitară medie (HEM) reprezintă conținutul mediu în hemoglobină al unei hematii (eritrocit). Se exprimă în picograme. Se calculează după formula:

$$HEM = \frac{Hb \times 10}{E}$$

în care: Hb = hemoglobina exprimată în g/dl

E = nr de eritrocite exprimat în mil./ μ l

Concentrația în hemoglobina eritocitară medie (CHEM) reprezintă media concentrației în hemoglobină a hematiei. Se exprimă în % sau în g/dl masă eritocitară. Se calculează după formula:

$$CHEM = \frac{Hb}{Ht} \times 100$$

Numărul de leucocite (globulele albe) s-a determinat prin metoda hemocitometrică, ca și în cazul eritrocitelor. Această metodă folosește camera de numărat Bürker –Türk, pipeta Potain pentru leucocite și lichidul de diluție Türk.

Camera de numărat este aceeași cameră utilizată pentru numărarea globulelor roșii.

Pipeta Potain pentru leucocite prezintă un tub capilar prevăzut la un capăt cu o bulă de diluție mai mic decât cea pentru eritrocite; diviziunile de pe tub sunt: 0,5; 1; 10.

Lichidul de diluție Türk produce liza hematiilor și colorează ușor nucleul leucocitelor.

Tehnica de lucru: se aspiră sânge cu pipeta până la diviziunea 1, se șterge vârful pipetei, apoi se aspiră lichid de diluție până la diviziunea 1. Se obține astfel diluția 10. În cazul numărării leucocitelor, se utilizează mai frecvent diluția 10.

Conținutul pipetei se omogenizează, apoi se îndepărtează 1-2 picături, iar următoarea picătură se depune în camera de numărat între lamă și lamelă. După 1-2 minute, camera încărcată se examinează la microscop și se numără leucocitele din cel puțin 4 pătrate de ordinul I. De regulă se numără leucocitele din cele 4 pătrate de ordinul I aflate în colțurile rețelei. Numărul total de leucocite obținut la numărătoare (N) se utilizează pentru calcularea numărului de leucocite pe μl (mm^3) de sânge.

Formula de calcul:

$$L \text{ (mii}/\mu l) = M_1 \times I \times D, \text{ în care: } M_1 = \frac{N}{4}; I = 10; D=10 \text{ sau } 20$$

Formula leucocitară: reprezintă exprimarea procentuală a numărului de neutrofile, eozinofile, bazofile, monocite și limfocite observate microscopic pe frotiul de sânge.

Tehnica de lucru: se depune pe frotiu o picătură de ulei de cedru cu rolul de a clarifica imaginea și se examinează frotiul cu obiectivul de imersie și luminozitate puternică.

Citirea frotiului se face mergând în zig-zag pe marginile frotiului. Pe măsură ce se întâlnesc în câmpul microscopic, leucocitele se notează într-un tabel, diferențiindu-le în cele 5 categorii: 3 tipuri de leucocite polimorfonucleare (neutrofile, eozinofile, bazofile) și două tipuri de leucocite mononucleare

(limfocite, monocite). Se numără în total 100-200 de leucocite, apoi se face exprimarea procentuală pentru fiecare categorie în parte.

Recunoașterea leucocitelor în frotiu de sânge colorat MGG:

Neutrofilele sunt relativ voluminoase, cu nucleu nesegmentat (cele tinere) sau cu 2-6 segmente nucleare unite prin punți fine de cromatină (cele mature). Citoplasma este foarte discretă, colorată în cărămiziu-pal sau violet și conține granule foarte fine. La păsări, corespunzătoare neutrofilelor sunt granulocitele heterofile, cu granulații în formă de bastonașe.

Eozinofilele sunt voluminoase, au nucleul slab colorat, segmentat, acoperit parțial cu granulații; granulațiile sunt roșii-cărămizii, mari, sferice, uniforme, prezente în toată citoplasma.

Bazofilele sunt mai puțin voluminoase, au granule de un albastru-violaceu intens, heterogene ca mărime, formă și dimensiuni și nu ocupă toată citoplasma.

Limfocitele sunt de dimensiuni diferite: mari, mijlocii și mici, au nucleul rotund, ovalar sau reniform, colorat în albastru intens. Citoplasma este reprezentată de o bandă îngustă, bleu perinucleară, obișnuit fără granulații, uneori pot apare în citoplasmă câteva granulații.

Monocitele sunt similare limfocitelor, dar mai voluminoase (sunt cele mai mari leucocite) cu nucleul reniform sau de formă neregulată și cu citoplasmă bine reprezentată.

4.2.4.1.3 Metoda de evaluare a statusului antioxidant total (TAS)

Activitatea antioxidantă din serul puilor broiler s-a evaluat prin măsurarea statusului antioxidant total, prin metoda ABTS utilizând kitul produs de RANDOX (Crumlin, Anglia), în conformitate cu instrucțiunile producătorului. Evaluarea TAS-ului din probele de sânge s-a efectuat în cadrul laboratorului privat „Praxis” cu ajutorul analizorului biochimic automat RX Imola (Randox).

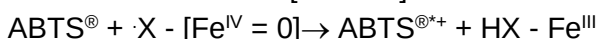
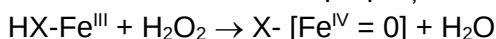
Această metodă se bazează pe capacitatea compușilor antioxidanți din fluidele fiziologice de a anihila radicalul cationic ABTS⁺ și de a reduce radicalul la forma neutră incoloră, comparativ cu un antioxidant standard (analog al vitaminei E, Trolox).

Metoda de evaluare a statusului antioxidant total a fost descrisă pentru prima oară de *Miller și colab., (1993)*, și a fost realizată pentru a măsura activitatea antioxidantă a compușilor antioxidanți puri, solubili în apă sau în fluidele organismului.

În estimarea statusului antioxidant al serului se iau în considerare o serie de compuși antioxidanți din serul animal, cum sunt albumina, acidul uric, acidul ascorbic, alfa-tocoferolul, bilirubina, transferina, feritina, ceruloplasmina,

haptoglobina și enzimele antioxidante serice (Lovasova și Sesztakova, 2009; Hayden și Tyagi, 2004).

Principiul acestei metode se bazează pe activitatea peroxidazei a met-mioglobinei. Cromogenul ABTS (2,2' azino-di- [3-etilbenzotiazolin- sulfonat]) este incubat cu o peroxidază (met-mioglobină și H_2O_2 (peroxidul de hidrogen) pentru a produce radicalul cation ABTS^{•+}. Culoarea relativ stabilă a acestuia, albastru-verzui, este măsurată la lungimea de undă de 600 nm. Antioxidanții din proba analizată determină îndepărtarea producției de culoare a cromogenului ABTS la un nivel care este proporțională cu concentrația lor.



În care:

$HX-Fe^{III}$ = Met-mioglobina

$X - [Fe^{IV} = O]$ = Ferril-mioglobina

$ABTS^{\circ}$ = 2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzotiazolin sulfonat].

$ABTS^{\circ}$ este o marcă înregistrată de Boehringer Mannheim

Stabilitatea și pregătirea reactivilor a fost realizată conform instrucțiunilor din manualul de lucru prezentate de producătorul RANDOX.

Tab. 4.2. Compoziția reactivilor

Tab. 4.2. The composition of reagents

Conținut	Concentrațiile în test
R1. Soluție Tampon (Buffer) Soluție salină tamponată cu fosfat (PBS)	80 mmol/L, pH 7,4
R2. Cromogen Met-mioglobina ABTS [®]	6,1 μmol/L 610 μmol/L
R3. Substrat Peroxid de hidrogen (sub formă stabilizată)	250 μL
CALIBRARE. Standard 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic acid	lot specific

Trolox-ul (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic acid), un derivat solubil în apă al vitaminei E a fost utilizat ca standard pentru această metodă. Este un antioxidant utilizat în aplicații biologice sau biochimice, pentru a reduce stresul oxidativ. Capacitatea antioxidantă (TAS) a fost exprimată în echivalenți Trolox (TEAC) care este definită ca fiind concentrația (mmol/L) de trolox (mmol Eq Trolox/L) cu capacitatea antioxidantă echivalentă a unei soluții de 1.0

mmol/L de substanță analizată. S-a utilizat o curbă standard trolox cuprinsă între 0 – 2,29 mmol/L.

În studiul nostru, analizorul biochimic automat folosit pentru determinarea statusului antioxidant total din probele de ser a fost RX Imola (producător RANDOX).

RX Imola este un analizor compact de chimie clinică (fig. 4.27), complet automat și cu un mare număr de teste pe oră (400 teste fotometrice), teste de tipul: cu punct final, cinetice, turbidimetrice, ISE folosind o gamă largă de reactivi, calibratori și controale.



Fig. 4.27. Analizor biochimic automat RX Imola

Fig. 4.27. Automatic biochemical analyzer RX Imola

Calculul TAS s-a efectuat conform instrucțiunilor producătorului:

$$\text{Factor} = \frac{\text{Concentrația standardului}}{\Delta A - \Delta A \text{ standard}} \quad (1)$$

$$\text{mmol/L} = \text{Factor} \times (\Delta A \text{ blank} - \Delta A \text{ probă}) \quad (2)$$

4.2.4.1.4 Tehnica de prelucrare a probelor histologice

În urma sacrificării puilor broiler, la 40 de zile au fost prelevate fragmente de țesut din stomac (mecanic, glandular), intestin (duoden, cecum) și organe interne (inimă, rinichi, splină și ficat) apoi fixate în formaldehidă 10%, incluse în parafină, secționate și colorate prin colorațiile HEA, PAS, May Grünwald Giemsa.

Pentru prelucrarea probelor histologice, acestea au fost supuse unui protocol descris de *Mogoanță și colab., (2007)* care s-a derulat după următorii timpi operatori: recoltare, fixare, includere în parafină, secționare la microtom, colorare, montare și examinarea microscopică propriu-zisă.

I. Recoltarea: s-au prelevat fragmente de stomac (mecanic, glandular), intestin (duoden, cecum) și organe interne (inimă, rinichi, splină și ficat) de la puii broiler. Dimensiunile probei prelevate au fost de aproximativ 0,5cm³* 15 mm lungime, 10 mm lățime și 5-7 mm grosime, pentru ca fixatorul să pătrundă repede în toată proba. După o fixare de câteva ore, probele au fost fasonate cu lame ascuțite, noua grosime fiind de 4-5 mm, apoi au fost introduse în fixator proaspăt.

II. Fixarea: a fost executată în flacoane de sticlă de 100-200 ml, în care volumul fixatorului este de aproximativ 20 ori mai mare față de cel al pieselor din interior.

S-a utilizat formaldehidă (formol) 10% soluție apoasă ca fixator pentru o bună capacitate de fixare prin coagulare a proteinelor structurale și a vitezei de penetrare, toleranța și intervalul de timp foarte mare pe durata căruia asigură conservarea.

Fixarea histologică are un triplu scop:

1. oprirea fenomenelor vitale din țesuturile fixate, pentru a surprinde microscopic aspectele histopatologice existente în piesă în momentul recoltării și pentru a preveni fenomenul de autoliză post-mortală;

2. întărirea pieselor fixate în vederea operațiunilor histologice ulterioare (secționarea);

3. sterilizarea pieselor (majoritatea fixatorilor chimici sunt buni dezinfectanți).

III. Includerea la parafină: s-a derulat în patru faze succesive:

1. *Deshidratarea* este necesară pentru eliminarea apei din țesuturi, în vederea impregnării ulterioare a pieselor în parafină. Aceasta a fost executată trecând piesele prin băi cu alcool etilic și alcool absolut.

2. *Clarificarea* a fost executată în vederea extragerii etanolului din piese. Operațiunea a fost executată prin băi cu xilen (dimetilbenzenul), în diferiți timpi.

3. *Impregnarea cu parafină:* operațiunea a fost executată în termostatul de includere în parafină, la temperatura de 56°C, în trei băi de parafină lichidă, a câte trei ore în fiecare baie. Obiectivul acestui timp operator este de a aduce piesa într-o stare de rigiditate și de omogenitate optimă în vederea secționării.

4. *Includerea propriu-zisă:* a fost efectuată cu ajutorul unor forme din aluminiu care permit includerea simultană a 10-12 piese, sau cu ajutorul unor casete histologice de unică folosință din material plastic. Includerea propriu-zisă sau turnarea blocului are drept scop încorporarea piesei impregnată cu parafină într-un bloc din același material.

IV. Secționarea

Secționarea histologică s-a realizat cu ajutorul microtomului pentru parafină care oferă condiții pentru obținerea unor secțiuni cu grosimea de 5-6μm.

În timpul secționării, țesuturile incluse în parafină sunt ușor comprimate și apar pliuri, ambele fenomene făcând secțiunile improprii pentru examenul microscopic. Pentru eliminarea acestui inconvenient s-a recurs la etalarea secționărilor pe lame de sticlă port-obiect cu ajutorul apei calde.

Pieșele incluse în parafină au fost secționate la grosimea de 5μm. Examenul s-a făcut pe 70-100 secțiuni, provenite din serii diferite.

V. Colorarea

Secțiunile au fost colorate prin metoda de orientare generală Hematoxină–Eozină – Albastru de metil (HEA), conform următorilor timpi operatori:

1. *Deparafinarea*: efectuată cu Benzen (I, II, III, IV);
2. *Rehidratarea*: efectuată cu alcool etilic, alcool absolut și apă;
3. *Colorarea*: s-a realizat în următoarea ordine folosind: hematoxină Mayer x 1; apă robinet – pasaj; apă distilată x2; apă distilată- pasaj; eozină 1%; apă distilată- pasaj; albastru de metil 1%; apă distilată – pasaj.
4. *Deshidratarea*: efectuată cu alcool etilic și alcool absolut;
5. *Clarificarea*: s-a realizat folosind următorii reactivi: Benzen I (10 min); Benzen II (10 min); Toluen I (10 min); Toluen II (10 min); Xilen I (10 min) și Xilen II (10 min).
6. *Montarea*: secțiunile au fost montate cu balsam de Canada sau balsam Eukitt.

Reactivi folosiți :

1. Hematoxilina Mayer
2. Apă litinată
3. Eozină 1%
4. Albastru de metil 1 %

Colorația Acid Periodic-Fuxină Schiff (PAS) și Albastru Alcian

I. Deparafinarea ca la HEA; II. Rehidratarea ca la HEA; III. Colorarea: s-a realizat folosind în următoarea ordine soluțiile: acid periodic 1% (10 min); apă robinet (5 min); apă distilată-pasaj; reactiv Schiff-x 5 (6-15 min); apă sulfuroasă-x7 (3 min); apă sulfuroasă (3 min); apă sulfuroasă (4 min); apă robinet-pasaj; albastru Alcian (5min); apa de robinet –pasaj; hematoxină Mayer -x1 (4 min); apă robinet-pasaj; apă litinată (5 min) și apă distilată-pasaj; *IV. Deshidratare*: efectuată cu alcool etilic și alcool absolut; *V. Clarificarea ca la HEA; VI. Montarea ca la HEA.*

Prepararea reactivului Schiff: s-a dizolvat 1g fuxină bazică într-un balon cu capacitatea de 1 L, conținând 200 mL apă distilată fierbinte și s-a lăsat la fierbere 5 minute. Soluția a fost răcită până la 50°C, filtrată iar la filtratul obținut

s-a adăugat 20 mL acid clorhidric 1N. S-a continuat răcirea până la 25°C și s-a adăugat metabisulfid de sodiu sau potasiu;. Soluția a fost lăsată la întuneric 18-24 ore, după care s-a adăugat 2 g cărbune activat pulbere, s-a agitat timp de 1 minut, după care s-a filtrat. Soluția trebuie să fie limpede, incoloră sau ușor gălbuie; aceasta a fost conservată la întuneric și la 0-4°C.

Colorația May Grünwald Giemsa: s-a efectuat în următorii timpi operatori:

I. Deparafinarea ca la HEA; II. Rehidratarea ca la HEA; III. Colorarea: soluție May Grünwald x 8 (5 min); soluție Giemsa x1 (15-30 min); apă distilată- pasaj; apă acetilată 0,5 % x10- 20 secunde; apă distilată- pasaj; alcool metilic 80%-pasaj; *IV. Deshidratare ca la HEA; V. Clarificare ca la HEA; VI. Montarea ca la HEA - reactivi folosiți:* soluție May Grünwald concentrată; soluție Giemsa ; soluție Giemsa concentrată 50 mL; apă distilată 50 mL; apă acetilată - 1 %; acid acetic glacial 1 mL; apă distilată 100 mL.

Investigații morfometrice s-au efectuat pe 20 de vilozități intacte și 30 de cripte alese din duoden la fiecare pui din loturile luate în studiu. Celulele imunopozitive din duoden au fost numărate din 20 de câmpuri, utilizând micromerul ocular la o magnificație 40x unde sunt prezente plasmocite conținând IgA distribuite pe o suprafață de 100.000 μm^2 . Nodulii limfoizi care conțin și plasmocite au fost evitate. Plasmocitele conținând IgA au fost numărate din *lamina propria* a vilozităților și au fost comparate între loturile experimentale cu lotul de control.

4.2.4.2 Indicatori biochimici analizați la găinile ouătoare

În vederea stabilirii efectului subproduselor vinicole utilizate în hrana găinilor ouătoare asupra calității ouălor s-au prelevat probe de ouă proaspete, la sfârșitul experimentului, de la fiecare lot experimental pentru determinarea activității antioxidante (TAS) din componentele oului (albuș, gălbenuș), colesterolului și acizilor grași din gălbenușul de ou. De asemenea au fost prelevate și probe de sânge pentru determinarea TAS –ului din sângele găinilor.

4.2.4.2.1 Indicatorii biochimici de calitate a ouălor

4.2.4.2.1.1 Acizii grași și colesterol

Profilul de acizi grași din probele de gălbenuș de ou s-a determinat prin cromatografie gazoasă după Regulamentul Comisiei (EC) nr.152/2009 (Jurnalul Oficial al Uniunii Europene, 2009) și după metodele descrise de Ropotă și colab., (2008) și Criste și colab., (2007) în cadrul Institutului de Biologie și Nutriție Animală (IBNA), Balotești.

La sfârșitul experimentului (40 de zile), s-au recoltat câte 15 ouă de la fiecare lot de experiență, (5 determinări/lot; 3 ouă/replicare); probele de gălbenuș au fost uscate la etuvă la temperatura de 60°C în vederea determinării acizilor grași.

Determinările au fost efectuate pe gaz cromatograful Perkin Elmer Clarus 500 (Inc., SUA) cu FID și injecție capilară. Coloană capilară este o fază staționară polară, modelul BPX-70, cu lungimea 60 m x 0.25 mm.d.i x 0.25 μm grosime film. În GC s-a injectat 1 μL din proba de analiză (sub formă de esteri metilici în n-hexan).

Cantitatea de acizi grași existentă în probă (grăsime) s-a calculat raportându-se aria probei la aria etalonului de diluție. Rezultatele au fost exprimate pentru fiecare acid gras în % de esteri metilici ai acizilor grași.

Determinarea colesterolului din probele de gălbenuș de ou s-a realizat prin metoda gaz-cromatografică în cadrul aceluiasi laborator (IBNA, Balotești). Principiul metodei constă în saponificarea probei (1g) cu soluție de KOH 5% în metanol (pH2) , urmată de extracția în eter de petrol, concentrare la rotavapor și reluare în cloroform. Se splitază proba (1μl) în GC după care se separă pe coloana cromatografică, apoi se compară cu cromatografia etalon prin măsurarea ariei picului și se determină cantitativ colesterolul.

Determinările au fost efectuate pe gaz cromatograful Perkin Elmer Clarus 500 prevăzut cu FID echipat cu o coloană de separare capilară HP-5 cu lungime 30 mm x 0,32 mm d.i.x 0,10μm diam. film. Rezultatul s-a exprimat în mg colesterol existent în 100 g SU sau la proba ca atare.

4.2.4.2.1.2 Statusul antioxidant total (TAS)

Pentru determinarea activității antioxidante (TAS) din componentele oului (albuș, gălbenuș) s-au prelevat 3 g probă de albuș și respectiv de gălbenuș și s-au omogenizat cu 15mL de apă distilată prin agitare timp de 1 minut. Probele au fost centrifugate la 2090 g timp de 15 minute pentru obținerea supernatantelor apoase (*Jung și colab., 2011*). În soluția de ABTS (400 μL) s-a adăugat 40 μL substrat și 4 μL de supernatant obținut după centrifugare, conform instrucțiunilor din manualul de lucru prezentate de producătorul RANDOX. Reactivii folosiți au fost prezentați în subcapitolul: 4.2.4.1.3. Pentru determinarea TAS-ului, la sfârșitul experimentului, de la fiecare lot experimental s-au recoltat câte 8 ouă (4 determinări/lot; 2 ouă/replicare). Evaluarea TAS-ului din probele de ou s-a efectuat în cadrul laboratorului privat „Praxis” cu ajutorul analizorului biochimic automat RX Imola (Randox).

4.2.4.2.2 Indicatori biochimici sanguini la găinile ouătoare

4.2.4.2.2.1 Statusul antioxidant total

Evaluarea TAS-ului din serul găinilor ouătoare s-a efectuat prin metoda ABTS utilizând kitul produs de RANDOX (Crumlin, Anglia), în conformitate cu instrucțiunile producătorului. Reactivii folosiți au fost prezentați în subcapitolul anterior: 4.2.4.1.3. S-au prelevat 4 probe de sânge din fiecare lot experimental. Determinările au fost efectuate în cadrul laboratorului privat „Praxis”.

4.2.5 Metode de analiză statistică

Datele analitice și experimentale obținute au fost prelucrate și interpretate statistic, calculându-se estimatorii de poziție și de variație (media aritmetică $\bar{X}$, respectiv varianța S^2 , deviația standard s , deviația standard a mediei $s_{\bar{x}}$ și coeficientul de variație $V\%$) și se va stabili semnificația diferențelor, acolo unde există (Sadu Gh., 1995).

Media aritmetică ($\bar{X}$) este cantitatea obținută din raportarea sumei diferitelor valori ale variabilei ($\sum x$) la numărul de observații corespundente (n), și reprezintă valoarea în jurul căreia variază caracterul studiat.

Media aritmetică este dată prin relația:
$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n} \quad (1)$$

Varianța (S^2) reprezintă gradul de variabilitate a unui caracter, fiind o măsură a variabilității acestuia. Relația de calcul:

$$S^2 = \frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n-1} \quad (2)$$

Numărul care stă la baza acestei mărimi este suma pătratelor abaterilor de la medie care rezultă din relația: $\sum x^2 = \sum (x - \bar{x})^2$ (3)

Deviația standard sau abaterea standard (s) este caracteristica cea mai utilizată a dispersiei, este principala măsură sau estimată a variabilității și a gradului de dispersie a variatelor în jurul mediei. Deviația standard este o cifră absolută și se măsoară cu aceeași unitate ca și variabila corespondentă și se determină prin relația: $s = \sqrt{s^2}$ (4)

Deviația standard a mediei ($s_{\bar{x}}$) este valoarea care arată abaterea sau eroarea mediei aritmetice empirice față de media adevărată teoretică. Este o cifră absolută și, ca și media și abaterea standard și se calculează după

formula: $\pm s_{\bar{x}} = \pm \frac{s}{\sqrt{n}}$ (5)

Coeficientul de variație (V%) indică direct variabilitatea relativă a populației față de medie, adică gradul de omogenitate a populației. Se calculează după relația:

$$V\% = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad (6)$$

În funcție de valoarea coeficientului de variație, se stabilește dacă o populație este foarte omogenă (atunci când V% este mai mic de 10%), cu omogenitate medie (atunci când V% este între 10 și 20%) sau foarte heterogenă (atunci când V% este mai mare de 20%).

Pentru a testa omogenitatea mediilor și semnificația diferențelor dintre medii s-au folosit ca modele matematice de calcul: tehnica ANOVA (**Analiza varianței**), testul F (Fisher-test de comparare a dispersiilor)- care are la bază tehnica ANOVA, testul t (Student).

Analiza varianței (ANOVA) este o tehnică care poate fi folosită pentru compararea mediilor a două sau mai multe seturi de probe (loturi), dar are avantajul că poate compara în același timp mediile mai multor probe. ANOVA este o tehnică parametrică deci pot fi utilizate toate ipotezele propuse (*Gauthier și Hawley, 2015; Zamfirescu și Zamfirescu, 2009*).

Tehnicile ANOVA utilizate în cercetările proprii au fost:

ANOVA simplă sau unifactorială - este modelul cel mai simplu dintre tehnicile ANOVA, se folosește pentru două eșantioane independente.

ANOVA factorială cel mai utilizat fiind bifactorială - este un model mai complex, testând efectele mai multor variabile independente (factori) asupra unei variabile dependente. Poate fi utilizată în cazul măsurătorilor repetate dacă sunt manipulați cel puțin doi factori.

Testul F (testul Fisher) se utilizează pentru verificarea egalității dispersiilor a două variabile independente repartizate normal (*Zamfirescu și Zamfirescu, 2009*).

Prin aplicarea **testului Student** (testul "t") s-au comparat mediile ($\bar{X}$) a diferitelor probe sau varianțe prin testarea diferenței (d) dintre acestea și a abaterii de la diferența adevărată. Pentru calcularea lui "t" s-au folosit următoarele formule:

$$t = \frac{X_1 - X_2}{sd} \dots \dots \dots (7)$$

$$sd = \sqrt{\frac{S_1^2 - S_2^2}{n}}, \text{ când } n_1 = n_2 \text{ sau } \dots \dots (8)$$

$$sd = \sqrt{\frac{S_1^2 - S_2^2}{n_1 - n_2}}, \text{ când } n_1 \text{ este diferit de } n_2 \dots \dots \dots (9)$$

unde: X_1, X_2 –media probelor

sd - abaterea standard a diferenței

$s_1^2-s_2^2$ – varianța valorilor individuale ale probelor comparate

n- numărul probelor

După aflarea valorii "t" s-a făcut compararea și testarea semnificațiilor diferențelor dintre probe, stabilindu-se gradele de semnificație, care s-au făcut prin compararea valorii "t" calculată, fără a ține cont de semn, cu valoarea "t" tabelară potrivit gradelor de libertate (*Zamfirescu și Zamfirescu, 2009*).

Pe baza rezultatelor obținute la testul "t" se poate concluziona că există o probabilitate de 95% ca valorile mediilor aritmetice obținute din calcul să fie cuprinse în limitele de siguranță, respectiv în intervalul de siguranță al valorilor limită. Diferența dintre mediile a două probe se consideră ca fiind:

- Nesemnificativă când $t < t_{0,05} (N.S)$
- Semnificativă când $t \geq t_{0,05} (*)$
- Distinct semnificativă când $t \geq t_{0,01} (**)$
- Foarte semnificativă când $t \geq t_{0,001} (***)$

Pragul de semnificație folosit la toate testele statistice a avut la bază valoarea $p < 0,05$.

În cercetarea realizată pe puii broiler de găină s-a utilizat testul de corelație Pearson pentru a evalua gradul de dependență între consumul de hrană -vârstă precum și producția de ouă - vârstă. Corelația Pearson este o tehnică care măsoară și descrie gradul de asociere lineară dintre două variabile cantitative continue normal distribuite.

Coeficientul de corelație Pearson ia valori între -1 și +1 indicând puterea (valoarea coeficientului) și direcția (semnul coeficientului) asocierii liniare. Cu cât coeficientul de corelație are valori mai apropiate de 1 sau -1, cu atât corelația dintre variabilele x și y este mai puternică. Pe măsură ce coeficientul de corelație se apropie de zero, scade și intensitatea legăturii dintre cele două variabile. Valoarea absolută indică puterea asocierii: semnul + (direct proporțional)/ semnul - indică (invers proporțional) direcția asocierii.

În vederea obținerii predicțiilor de degradare a polifenolilor în funcție de temperatura de uscare a tescovinei am folosit analiza regresiei. Regresia este o procedură de predicție care ne arată cum o variabilă (y) este dependentă de altă variabilă (x). Dacă există o relație de linearitate între variabilele de interes putem identifica o ecuație simplă pentru a prezice o variabilă cunoscând cealaltă variabilă. Variabila rezultată este variabila y, iar variabila predictor este variabila x.

În cazul studiului nostru, „x” reprezintă valorile polifenolilor (tanini, antociani) iar „y”- valorile temperaturilor. Ecuația de regresie obținută a fost utilizată pentru

a estima proporția de degradare a polifenolilor (exprimată în procente) în funcție de temperatură.

Reprezentarea „boxplot” (denumită și „cutie mustață”, „cutie Tukey” sau diagramă sub formă de cutie), este o metodă de reprezentare numerică și grafică a datelor statistice pentru poziția relativă a valorilor unui eșantion, fiind inventată în 1977 de John Tukey. O diagramă de tip Boxplot reflectă grafic rezumarea prin cele 5 valori ale unei distribuții: valoarea minimă, prima quartilă, mediana, a treia quartilă și valoarea maximă.

1. Limita inferioară: $LQI = Q1 - 1,5IQR$ (valoarea minimă denumită și percentila 0 este cea mai mică valoare observată din șirul de valori, exceptând valorile aberante).

2. $Q1$ - Quartila inferioară delimitează cele mai mici 25% din valorile observate.

3. $Q2$ - Mediana delimitează 50% din valori (intervalul cuprins între cea mai mică valoare observată și mediana conține 50% din valorile observate, iar intervalul cuprins între valoarea mediana și cea mai mare valoare observată conține celelalte 50% din valorile observate)

4. $Q3$ - Quartila superioară delimitează cele mai mari 25% din valorile observate.

5. Limita superioară: $LQS = Q3 + 1,5IQR$ (valoarea maximă denumită și a 100-a percentilă este cea mai mare valoare observată, exceptând valorile aberante.

Reprezentarea grafică pentru „boxplot” este redată în figura 4.28 și 4.29.

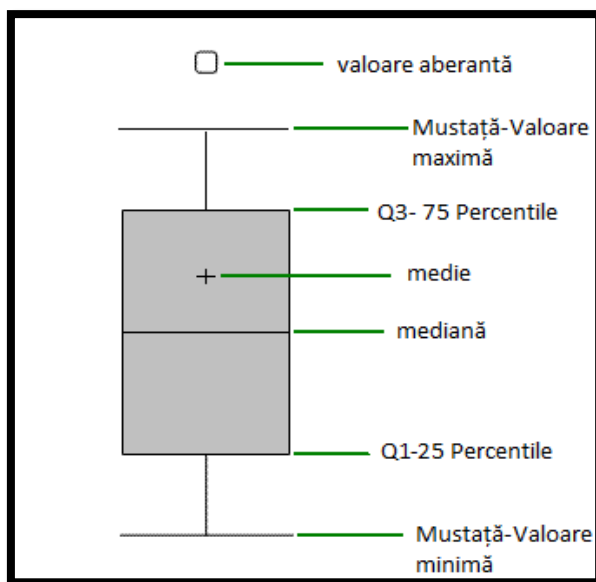


Fig. 4.28. Reprezentarea „boxplot”

Fig. 4.28. „Boxplot” representation

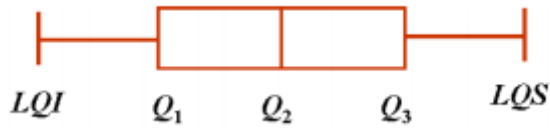


Fig. 4.29. Reprezentarea „boxplot”

Fig. 4.29. „Boxplot” representation

Intervalul dintre quartile IQR este intervalul cuprins între Q_3 și Q_1 . Intervalul IQR este reprezentat grafic printr-un dreptunghi (cutie). În interiorul cutiei se află mediana care este reprezentată grafic printr-o linie orizontală. Intervalele ($V_{\min}$, Q_1) și (Q_3 , $V_{\max}$) sunt reprezentate de câte o linie („mustață”) trasată în continuarea dreptunghiului.

Reprezentarea „boxplot” poate să pună în evidență prezența valorilor extreme sau a valorilor aberante (en: outliers), respectiv acele valori care se îndepărtează sensibil de restul valorilor eșantionului și care, din punct de vedere statistic, nu caracterizează populația statistică respectivă. De asemenea, reprezentarea „boxplot” poate să scoată în evidență simetria sau asimetria distribuției frecvenței relative (Zamfirescu și Zamfirescu, 2009).

Prelucrarea statistică a datelor s-a realizat automat cu ajutorul computerului utilizând pachetul software Microsoft Office 2010 și 2016 (Microsoft Inc., SUA).

CAPITOLUL V. CERCETĂRI PRIVIND OBȚINEREA ȘI CONSERVAREA UNOR SUBPRODUSE DE VINIFICAȚIE UTILIZATE ÎN EXPERIENȚELE PROPRII

CHAPTER V. RESEARCH ON OBTAINING AND PRESERVATION OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS USED IN OWN EXPERIMENTS

5.1 PROCEDEUL DE CONSERVARE A TESCOVINEI ȘI MODUL DE OBȚINERE A FRAȚIUNILOR SOLIDE

În stare proaspătă, tescovina are un conținut ridicat în apă (peste 60%) ceea ce nu permite conservarea acesteia un timp îndelungat. De asemenea prezența zaharurilor crește procesul de alterare a acestui subprodus, necesitând astfel o uscare prealabilă pentru a preveni degradarea determinată de atacul microorganismelor prezente în mediu.

Uscarea tescovinei în spații bine aerisite sau prin expunerea acesteia la soare (*Guemour și colab., 2010*) poate reprezenta o modalitate de stocare a acesteia, în vederea unei valorificări mai bune în hrana animalelor.

Procesul de uscare a tescovinei poate fi realizat astfel încât conținutul în polifenoli să se păstreze cât mai mult posibil. În literatura de specialitate sunt puține date cu privire la influența temperaturii de uscare asupra conținutului de polifenoli totali, antociani și taninuri.

S-a dovedit că, conținutul de polifenoli din struguri se degradează în timpul procesului de uscare. Astfel, studiul efectuat de *Larrauri și colab., (1996)*, a arătat că uscarea tescovinei la temperaturi sub 60°C nu a determinat o degradare foarte mare a polifenolilor însă uscarea la 100°C a determinat o scădere destul de mare a acestora.

Pentru a identifica gradul de degradare al polifenolilor în timpul procesului de uscare și în vederea stabilirii temperaturii optime de uscare tescovina a fost

supusă la diferite temperaturi, respectiv la 20°, 38° și 50°C (*Pascariu și colab., 2014*).

Tescovina proaspătă rezultată din procesul de vinificație a strugurilor roșii (soiul Fetească neagră-2013), obținută de la ferma V. Adamachi, a fost adusă la biobaza Facultății de Zootehnie a USAMV Iași și supusă uscării, în vederea determinării conținutului în polifenoli.

Tescovina a fost uscată în moduri diferite: uscare la temperatura camerei (20 °C), timp de cinci zile, sau uscare în etuvă la temperatura de 38 °C și respectiv 50°C; timp de trei zile. La finalul procesului de uscare s-a determinat umiditatea relativă (~6%U).

Procesul de uscare la temperatura camerei, s-a făcut natural, într-un spațiu curat și bine aerisit, la o temperatură constantă de 20°C, timp de 5 zile. Tescovina a fost întinsă pe o plasă din fibră de sticlă într-un strat subțire de 1-2 cm (fig. 5.1; 5.8.-a, b). În vederea grăbirii procesului de uscare, tescovina a fost întoarsă de câteva ori pe zi.



Fig. 5.1. Uscarea tescovinei proaspete pe fibră de sticlă

Fig. 5.1. Fresh grape pomace drying on fiberglass

Rezultatele obținute în acest studiu au evidențiat o scădere semnificativă ($p < 0,001$) a conținutului în polifenoli totali, taninuri și antociani, odată cu creșterea temperaturii în timpul procesului de uscare al tescovinei (tabel 5.1).

Utilizând extractele polifenolice brute pentru determinarea taninurilor s-a constatat o scădere a conținutului în tanini și o creștere a conținutului în polifenoli neadsorbiți în extractele cu caseină.

Aceasta ar presupune o degradare a taninurilor, în funcție de temperatură, care este posibil să conducă la compuși neadsorbiți pe caseină. În sprijinul acestei presupunerii vin valorile polifenolilor totali determinate după adsorbția pe caseină (tabel 5.1).

Tab. 5.1. Conținutul în polifenoli totali, antociani și taninuri (medie ± deviația standard) în funcție de temperatura de uscare

Tab. 5.1. The amount of total polyphenols, anthocyanins and tannins (average ± standard deviation), depending on the drying temperature

Temperatura de uscare (°C)	Polifenoli totali (g/kg)	Tanini (g/kg)	Polifenoli totali neadsorbiți pe caseină (g/kg)	Antociani (g/kg)
20°C	21,68 ± 0,50*	15,34 ± 0,39*	6,19 ± 0,15*	0,42 ± 0,005*
38°C	19,38 ± 0,10*	11,63 ± 0,95*	6,76 ± 0,95*	0,33 ± 0,002*
50°C	17,92 ± 0,46*	11,04 ± 0,34 ^{NS}	6,87 ± 0,17*	0,31 ± 0,002*
Anova p-value	9,02E-49	1,5E-22	1,16E-08	3,36E-08

Notă: Valorile marcate cu * sunt statistic semnificative la pragul $p < 0,001$ - testul -t Student; n=4, NS-nesemnificativ

Rezultatele au evidențiat o reducere importantă a conținutului de polifenoli îndeosebi la variantele de temperatură: 20°C și 38°C, verificată statistic folosind testul-F (test for two samples variances) și testul-t (Student), pentru a observa semnificația diferențelor între temperaturile de uscare. Astfel, în cazul polifenolilor totali au rezultat diferențe foarte semnificative ($p < 0,001$) între probele uscate la temperatura de 20°C și 38°C și respectiv între 38 °C și 50°C, ceea ce a permis calcularea unei curbe de regresie (fig. 5.2), folosind pentru aceasta valorile relative rezultate în urma determinărilor polifenolilor totali (PT).

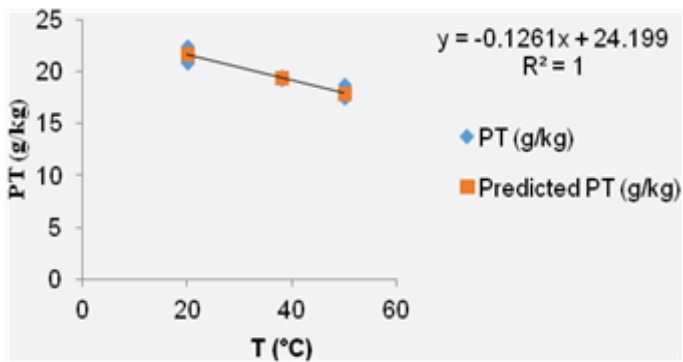


Fig. 5.2 Curba de regresie obținută pentru degradarea polifenolilor totali

Fig. 5.2. The regression curve obtained for total polyphenols degradation

Ecuția de regresie obținută ($y = -0.1261x + 24.199$), a fost folosită pentru estimarea proporției de degradare a polifenolilor totali în funcție de temperatură (fig. 5.2).

S-a considerat că tescovina uscată la 20°C prezintă concentrația cea mai mare (de 100%) în polifenoli totali comparativ cu celelalte probe de tescovină uscată la diferite temperaturi în etuvă. Astfel pentru a calcula predicția de degradare termică, fiecare valoare obținută din calcul ecuației a fost raportată la valoarea cea mai mare și anume la valoarea maximă de polifenoli totali obținută în cazul tescovinei uscate la 20 °C.

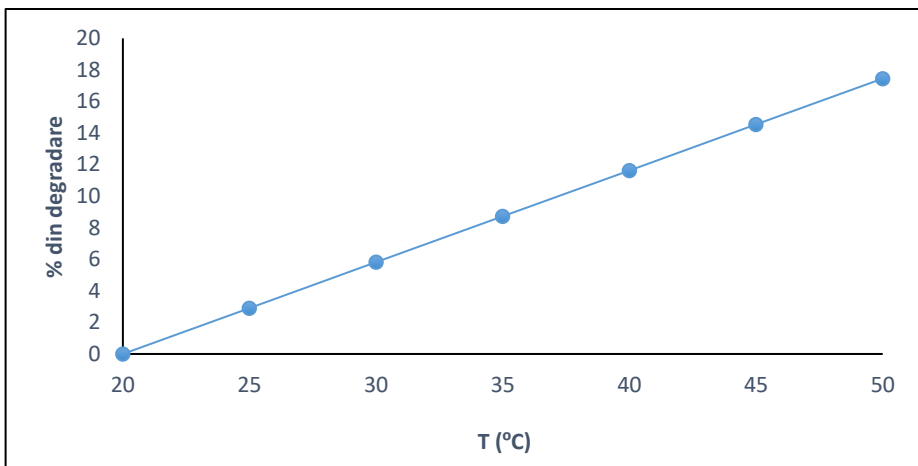


Fig. 5.3. Estimarea proporției de degradare a polifenolilor totali

Fig. 5.3. The estimation of total polyphenols degradation rate

În reprezentarea grafică (fig. 5.3) se constată că degradarea polifenolilor totali crește progresiv odată cu creșterea temperaturii; valoarea maximă de degradare fiind de 17,45% în cazul temperaturii de 50°C.

Folosind aceeași manieră de calcul și în cazul taninurilor (Ta) s-au putut observa diferențe foarte semnificative, cu un interval de confidență de peste 99,9% ($p < 0,001$), doar între variantele de uscare la 20°C și 38°C (fig. 5.4).

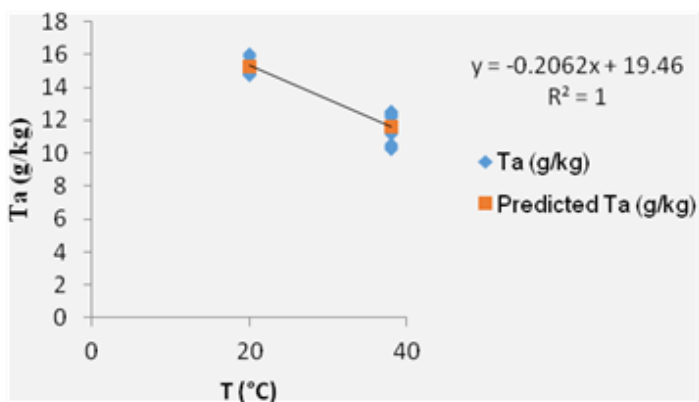


Fig.5.4. Curba de regresie obținută pentru degradarea taninurilor

Fig. 5.4. The regression curve obtained for tannins degradation

În variantele de uscare la temperaturile de 38°C și 50°C, valorile au prezentat un interval de confidență sub 99% ($p < 0,05$), ceea ce nu permite calcularea unei curbe de regresie, pentru a putea estima gradul de degradare al taninurilor (procentual).

Pe baza valorilor relative ale taninurilor rezultate în variantele de uscare la 20°C și 38°C s-a obținut ecuația de regresie ($y = -0.2062x + 19.46$), care a fost utilizată pentru estimarea proporției de degradare a taninurilor (fig. 5.5).

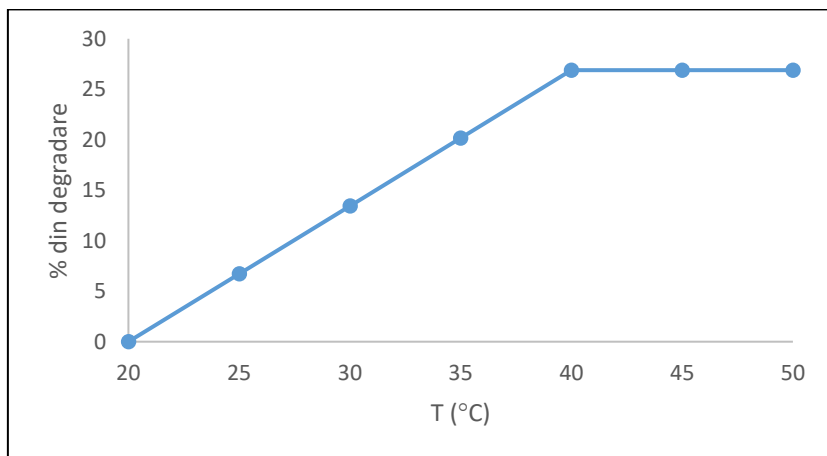


Fig. 5.5. Estimarea proporției de degradare a taninurilor

Fig. 5.5. The estimation of tannins degradation rate

În figura 5.5. se observă o degradare progresivă a taninurilor până la temperatura de 40°C, valoarea maximă de degradare fiind de 26,89%, după care valorile rămân constante.

În cazul antocianilor (An) s-au obținut valori foarte semnificative ($p < 0,001$) între temperaturile de uscare: 20°C și 38°C și respectiv între 38 °C și 50°C; astfel au fost luate în calcul toate variantele de uscare pentru calcularea curbei de regresie (fig. 5.6) și pentru estimarea proporției de degradare a antocianilor în funcție de temperatură (fig. 5.7).

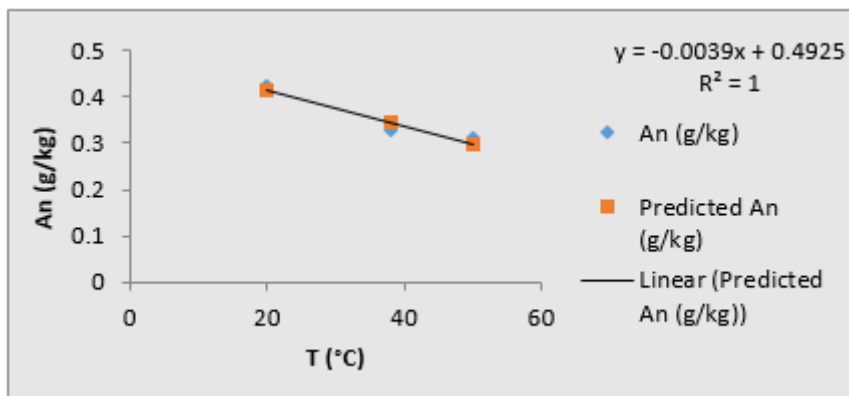


Fig. 5.6. Curba de regresie obținută pentru degradarea antocianilor

Fig.5.6. Regression curve obtained for anthocyanins degradation

În reprezentarea grafică (fig. 5.7) se constată o creștere progresivă a degradării antocianilor odată cu creșterea temperaturii de uscare; valoarea maximă de degradare fiind de 28,23% la temperatura de 50°C.

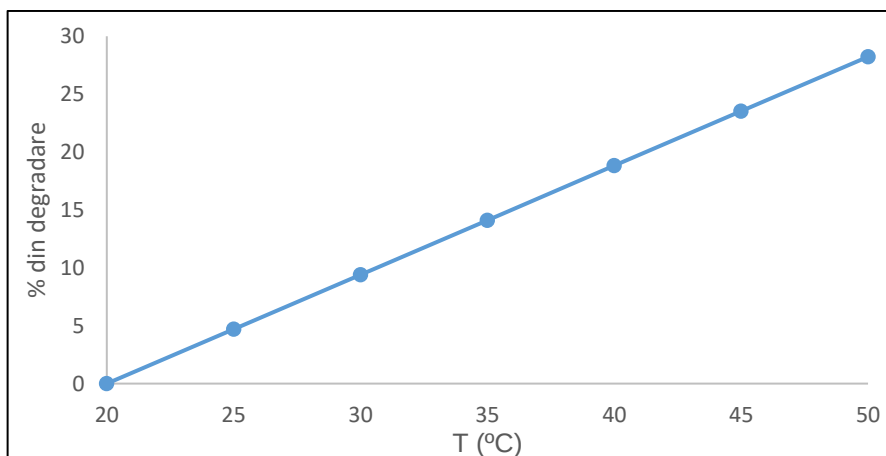


Fig. 5.7. Estimarea proporției de degradare a antocianilor

Fig. 5.7. The estimation of anthocyanins degradation rate

Având în vedere faptul că nu există o metodă unică pentru determinarea polifenolilor totali, a taninurilor și antocianilor, precum și metode standard pentru uscarea tescovinei, compararea datelor obținute în cercetările noastre este dificil a fi comparate cu puținele date care se găsesc în literatura de specialitate (*Khanal și colab., 2009; Khanal, și colab., 2010; Patras și colab., 2010*), cu privire la efectul temperaturii de uscare asupra polifenolilor, dar considerăm că aduc un plus de informație în acest sens.

Din acest studiu reiese că temperatura optimă de uscare a tescovinei pentru păstrarea compușilor cu proprietăți biologice active în vederea utilizării în hrana animalelor este de 20°C. Acest aspect este susținut prin repetarea determinărilor și calculul statistic efectuat.

Toate probele de tescovină obținute din cele trei centre viticole au fost aduse la biobaza Facultății de Zootehnie a USAMV, Iași pentru a fi supuse uscării naturale, în vederea caracterizării compoziției chimice și nutriționale și utilizării în hrana animalelor (tescovina provenită din soiul de struguri Fetească neagră, obținută în anul 2014).

Pentru a ușura separarea semințelor de pielițe și ciorchini, o parte din cantitatea de tescovină proaspătă a fost separată de semințe înaintea uscării.

Separarea semințelor s-a făcut manual cu ajutorul plasei din fibră de sticlă și a unei site cu diametru ochiurilor de 2 mm (*fig. 5.8-c, d*). În urma înlăturării semințelor, ciorchinii și pielițele rezultate au fost întinse pe o altă plasă pentru uscare.



Fig. 5.8 Uscarea tescovinei proaspete (a, b) și separarea semințelor de pielițe și ciorchine (c,d)

Fig. 5.8. Fresh grape pomace drying (a, b) and the separation of the seeds from skins and stalks (c,d)

5.2 PROCEDEUL DE OBTINERE A EXTRACTULUI APOS DE POLIFENOLI DIN TESCOVINĂ UTILIZAT ÎN EXPERIMENT

Procedeul de obținere a extractului apos de polifenoli din tescovină folosit în apa de băut a puilor broiler (LEP) s-a făcut conform brevetului de invenție (RO 125704) descris de *Bișboacă, 2012* iar pentru a ne adapta condițiilor noastre de laborator, au fost realizate câteva modificări ale acestuia.

Tescovina uscată provenită de la soiul de struguri Fetească neagră (obținută în anul 2014) a fost supusă unui proces de măcinare la moara mecanică de laborator Grindomix GM 200 până la particule de 1 mm în diametru. Procesul de extracție a polifenolilor s-a făcut folosind o soluție apoasă de etanol de 50% (v/v). Extractul obținut a fost filtrat printr-o hârtie de filtru Whatman No. 4 pentru a îndepărta reziduurile nedorite.

Filtratul alcoolic rezultat a fost încărcat într-un rotavapor (Heidolph Laborota 4002 control) pentru recuperarea alcoolului etilic, rezultând astfel o soluție apoasă concentrată în polifenoli (*fig. 5.9*).

Soluția apoasă de polifenoli obținută a fost păstrată la frigider în sticlă brună închisă ermetic, la temperatura de 4°C și administrată apoi în apa de băut a lotului experimental (LEP). S-a utilizat o cantitate de 1,5% extract apos de polifenoli din tescovină, cu o concentrație totală în polifenoli de 1,82 g GAE /100 mL începând de la vârsta de opt zile a puilor (*fig. 5.10; 5.11*) până la sacrificarea lor (40 de zile).



Fig. 5.9. Prepararea extractului apos de polifenoli și recuperarea alcoolului etilic la rotavapor

Fig. 5.9. Preparation of aqueous extract of polyphenols and ethyl alcohol recovery using the rotavapor (rotary evaporator)



Fig. 5.10. Pregătirea extractului polifenolic în laborator
Fig. 5.10. Polyphenolic extract preparation in the laboratory

Procedeul de obținere al extractului de polifenoli s-a efectuat în Laboratorul de Control al Calității Nutrețurilor din cadrul Facultății de Zootehnie, a USAMV din Iași.

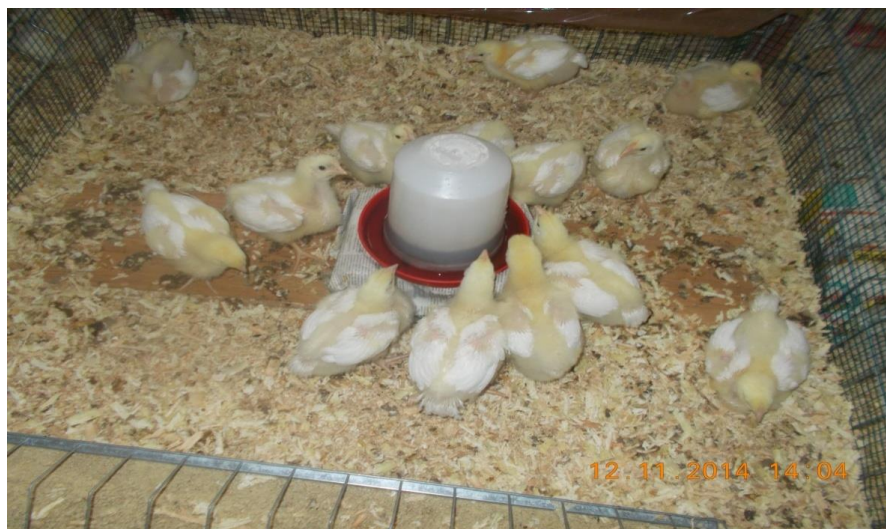


Fig. 5.11. Administrarea extractului apos de polifenoli în apa de băut a puilor
Fig. 5.11. Administration of aqueous extract of polyphenols in drinking water of chickens

CAPITOLUL VI. CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ ȘI NUTRIȚIONALĂ A UNOR SUBPRODUSE DIN VINIFICAȚIE

CHAPTER VI. PHYSICO-CHEMICAL AND NUTRITIONAL CHARACTERIZATION OF SOME GRAPE BY-PRODUCTS

6.1 PLANUL DE ORGANIZARE AL CERCETĂRII

6.1.1 Obiectivele și organizarea cercetării

Obiectivul acestui studiu a constat în determinarea și evaluarea comparativă a conținutului chimic al tescovinei și a fracțiunilor vegetale, respectiv semințe, pielețe și ciorchini, aparținând diferitelor soiuri de struguri.

Probele de tescovină obținute din trei centre viticole: podgoria Huși, ferma Adamachi Iași, Stațiunea de Cercetare Dezvoltare pentru Viticultură și Vinificație (SCVV) Iași au fost aduse la biobaza Facultății de Zootehnie a USAMV, Iași pentru a fi supuse uscării și separării fracțiunilor de tescovină, conform schemei de lucru prezentată mai jos (tabel. 6.1).

Caracterizarea fizico-chimică a acestor subproduse vinicole s-a efectuat în cadrul Laboratorului de Control al Calității Nutrețurilor din cadrul Facultății de Zootehnie, a USAMV din Iași.

În urma procesului de conservare, cele patru tipuri de tescovină și fracțiunile acestora provenite de la diferite soiuri de struguri și obținute în ani diferiți au fost în continuare caracterizate din punct de vedere fizico-chimic în vederea valorificării cât mai eficiente în alimentația păsărilor.

La tescovina din soiul Fetească neagră (2014), au fost efectuate și alte analize chimice (profilul în acizii grași, PVIA, energia brută) în laboratorul de nutriție la Unitatea de Cercetare Avicolă (URA) din cadrul Institutului Național de Cercetare Agronomică (INRA) din Franța.

Înainte de caracterizarea și evaluarea comparativă a conținutului chimic s-a determinat mai întâi proporția fracțiunilor celor patru tipuri de tescovină, aceasta fiind redată în tabelul 6.2. Cunoașterea proporției fracțiunilor din biomasa tescovinei va permite o mai bună interpretare a conținutului chimic.

Tab. 6.1. Planul de organizare al cercetării

Tab. 6.1. Research organization design

Material vegetal utilizat din vinificație				
Aligoté <i>2013-Podgoria Huși</i>		Fetească neagră <i>2013-Ferma Adamachi</i>	Fetească neagră <i>2014- Ferma Adamachi</i>	Amestec <i>(Merlot, Cabernet, Sauvignon, Chambourcin) 2014-SCVV Iași</i>
Fracțiuni analizate	- Tescovină integrală	- Tescovină integrală	- Tescovină integrală	- Tescovină integrală
	- Semințe	- Semințe	- Semințe	
	- Pelițe	- Pelițe	- Pelițe+ciorchini	
	- Ciorchini	- Ciorchini		
Obiectiv urmărit: Analiza și evaluarea comparativă a conținutului chimic				
Analiza chimică brută- USAMV, Iași. • SU • CenB • SO • PB • GB • CB • SEN			Alte analize (Fetească neagră, 2014) INRA/URA, Franța. • Acizii grași (tescovină, semințe) • Pereți vegetali insolubili in apă (PVIA) (tescovină, semințe, pelițe) • Energia brută (tescovină, semințe, pelițe)	
Alte analize - USAMV, Iași. • Polifenoli totali • Taninuri				

Tab. 6.2. Proporția fracțiunilor de tescovină (%)

Tab.6.2. Proportion of grape pomace fractions (%)

Tipul de tescovină	Pelițe (%)	Semințe (%)	Ciorchine (%)
Fetească neagră (2013)	33,76	59,47	6,77
Aligoté (2013)	42,17	56,83	1,00
Fetească neagră (2014)	40,35	50,00	9,65
Amestec din 3 soiuri de struguri (2014)	38,40	54,40	7,20

6.2 COMPOZIȚIA FIZICO-CHIMICĂ A TESCOVINEI INTEGRALE

Rezultatele obținute cu privire la compoziția chimică a celor patru tipuri de tescovină integrală au fost analizate comparativ, ținându-se cont de varietatea de struguri (culoare) și anul de obținere al acestora (2013; 2014).

Astfel, din analiza comparativă a compoziției chimice a tescovinei provenită din soiul de struguri roșii (Fetească neagră – 2013) și albi (Aligoté-2013) (fig. 6.1) reiese că tescovina strugurilor roșii are un conținut semnificativ mai ridicat în substanță uscată ($92,30 \pm 0,01\%$ SU), cenușă brută ($7,12 \pm 0,05\%$ CenB), proteină brută ($16,60 \pm 0,12\%$ PB), grăsime brută ($10,19 \pm 0,09\%$ GB) și polifenoli totali ($2,20 \pm 0,08\%$ PT) față de cea albă. În schimb, tescovina strugurilor albi a prezentat un conținut semnificativ mai ridicat în substanță organică ($92,85 \pm 0,19\%$ SO), celuloză brută ($32,28 \pm 0,76\%$ CB) și substanțe extractive neazotate ($38,70 \pm 0,49\%$ SEN).

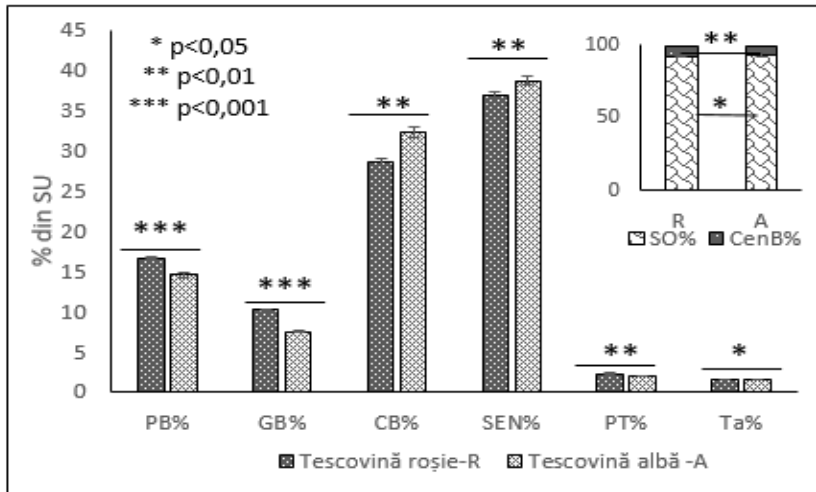


Fig. 6.1. Compoziția chimică a tescovinei roșii și albe (obținută în 2013)

Fig. 6.1. The chemical composition of red and white grape pomace (obtained in 2013)

Taninurile (Ta%) au prezentat valori apropiate atât în tescovina strugurilor roșii cât și în cea albă, respectiv 1,54% și 1,44%. Rezultate acestor analize chimice sunt în relație cu cele obținute la fracțiunile acestor două soiuri de struguri.

Din reprezentarea grafică (fig. 6.2.) a diferențelor relative dintre componentele din tescovina strugurilor roșii și albi, se evidențiază că tescovina roșie are un conținut mai ridicat în CenB cu 10,11%; în PB cu 14,65%, în GB cu 37,85% și în PT cu 12,49% față de cea albă. În schimb, tescovina strugurilor

albi a prezentat un conținut mai mare în CB cu 11,62% și în SEN cu 4,51% față de cea roșie.

Creșterea componentelor din tescovina strugurilor roșii obținută în 2013 (CenB%, PB%, GB%, PT%) poate fi datorată proporției mai mari de ciorchine (6,77%) și semințe (59,47%) comparativ cu tescovina strugurilor albi care a avut o proporție mai mică în aceste fracțiuni, și anume: ciorchine (1%) și semințe (56,83%).

Conținutul mai ridicat în CB% și SEN% în tescovina strugurilor albi s-ar putea datora proporției mai mari de pielite (42,17%) comparativ cu cea roșie (33,76%).

Prin procesul de presare, în cazul vinificației în roșu are loc strivirea și fărâmițarea pielitelor ceea ce poate conduce la scăderea proporției acestor fracțiuni în masa boștinei (tescovinei). Un timp mai mare de contact între must și părțile solide ale strugurilor conduce la scăderea conținutului de polifenoli, inclusiv a taninurilor, din tescovină (Gomez-Plaza și colab., 2006).

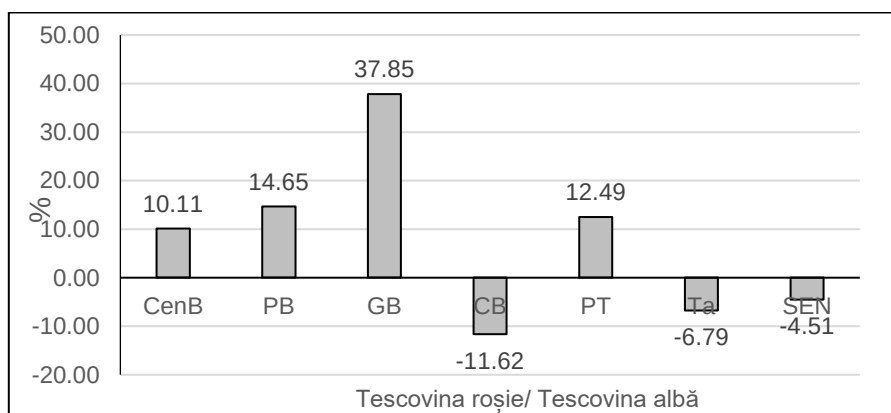


Fig. 6.2. Diferențe relative ale diferitelor componente chimice din tescovina strugurilor roșii și albi (ambele obținute în 2013)

Fig. 6.2. Relative differences of the various chemical components of red and white grape pomace (both of them obtained in 2013)

Conținutul tescovinei strugurilor albi și roșii studiate au avut valori apropiate cu cele din cercetările efectuate de către Aslanian și colab., (2011); Baumgartel și colab., (2007) și mai mari față de cele determinate de Zalikarenab și colab., (2007) (tabel.6.3); diferențele apărute pot fi datorate arealelor de producție, soiurilor și varietăților de struguri prelucrate în industria de vinificație, proporției de semințe, pielite și ciorchine din biomasa tescovinei (Baumgartel și colab., 2007, Rondeau și colab., 2013).

Compoziția chimică a tescovinei din soiul de struguri Fetească neagră obținută în anul 2013 și 2014 este redată în figura 6.3. Din rezultatele prezentate

se constată că tescovina obținută în anul 2014 a avut un conținut semnificativ mai ridicat în substanță uscată ($94,06 \pm 0,02\%$ SU), substanță organică ($94,12 \pm 0,05\%$ SO), celuloză brută ($30,27 \pm 0,70\%$ CB), polifenoli totali ($4,00 \pm 0,06\%$ PT), taninuri ($3,34 \pm 0,07\%$ Ta) și substanțe extractive neazotate ($41,05 \pm 0,64\%$ SEN). În schimb, tescovina obținută în anul 2013 a prezentat un conținut semnificativ mai ridicat în cenușă brută ($7,12 \pm 0,05\%$ CenB), proteină brută ($16,60 \pm 0,12\%$ PB) și grăsime brută ($10,19 \pm 0,09\%$ GB), față de cea obținută în 2014.

Tab. 6.3. Date din literatura de specialitate și din cercetările proprii cu privire la compoziția tescovinei albe și roșii (% din SU)

Tab..6.3. Data gathered from specialty literature and from own research regarding the composition of white and red grape pomace (% of DM)

Compoziția chimică	Cercetări proprii		Baumgartel și colab., 2007)		Aslanian și colab., (2011)		Zalikarenab și colab., (2007)	
	TR	TA	TR	TA	TR	TA	TR	TA
SU (g/kg)	92,30	90,41	27,3	30,5	80,6	88,44	90,6	92,0
SO	92,29	92,85	94,3	93,3	94,58	94,35	93,5	92,31
PB	16,60	14,48	15,5	9,3	13,97	15,48	8,9	12,2
GB	10,19	7,40	7,0	4,8	11,33	11,31	7,1	5,0
CB	28,54	32,28	31,2	19,9	-	-	32,4	17,6
Polifenoli totali	2,20	1,95	5,9	5,1	-	-	2,56	1,96
Taninuri fenolice	1,54	1,44	4,5	2,8	-	-	2,02	1,54
Taninuri condensate extractibili	-	-	2,1	3,6	-	-	-	-
Energia brută (MJ/kg/SU)	-	-	20,8	18,7	-	-	-	-

TR- tescovina roșie; TA-tescovina albă; SU= substanță uscată; SO= substanță organică; PB= proteină brută; GB= grăsime brută; CB= celuloză brută.

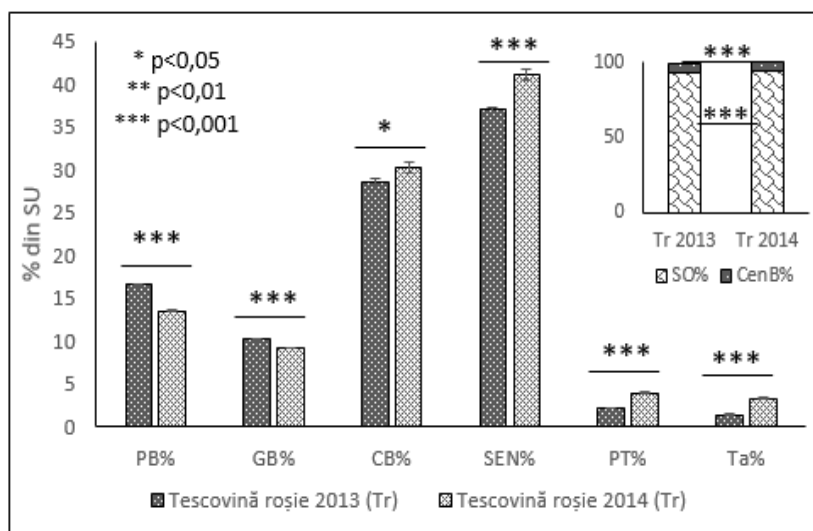


Fig. 6.3. Compoziția chimică a tescovinei din soiul Fetească neagră (2013-2014)

Fig. 6.3. The chemical composition of grape pomace from the Fetească neagră variety (2013-2014)

Diferențele de compoziție chimică între cele două tipuri de tescovină pot fi datorate proporției de semințe, pielite și ciorchine din masa tescovinei, condițiilor pedoclimatice din anii respectivi, tehnologiei de prelucrare a strugurilor, duratei de macerare-fermentare pe boștină și perioadei de păstrare a tescovinei. În cazul tescovinei obținute în anul 2014, proporția de semințe a fost de 50%, 40,35% de pielite iar de ciorchine 9,65% (tab.6.1).

În figura următoare (fig. 6.4) este prezentată analiza comparativă a compoziției chimice a tescovinei obținute din soiul de struguri Fetească neagră (2014) și a tescovinei provenite din amestecul a trei soiuri de struguri roșii (2014) și anume: Merlot (90%), Cabernet Sauvignon (6%) și Chambourcin (4%).

Din analiza comparativă reiese că tescovina rezultată din soiul de struguri Fetească neagră este mai valoroasă sub aspectul compoziției chimice; aceasta având un conținut semnificativ mai ridicat în SU%, CenB%, PB%, PT% și Ta% comparativ cu cea obținută din amestecul a trei soiuri de struguri.

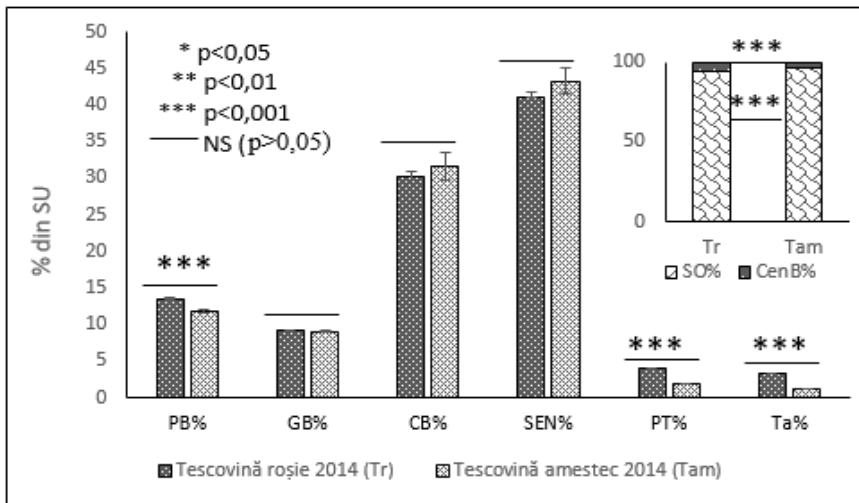


Fig. 6.4. Compoziția chimică a tescovinei (2014)

Fig. 6.4. The chemical composition of grape pomace (2014)

Diferențele de compoziție chimică între cele două tipuri de tescovină pot fi datorate arealelor de producție, soiurilor și varietăților de struguri, condițiilor pedoclimatice, tehnologiei de prelucrare a strugurilor, duratei de macerare-fermentare pe boștină și perioadei de păstrare a tescovinei.

În urma evaluării compoziției chimice efectuată pe tescovina din diferite soiuri de struguri și obținută în ani diferiți se pot evidenția valori variabile în componente chimice, după cum reiese în *tabelul 6.4*: cenușă brută între 4,27-7,12%; proteină brută între 11,80-16,60%; grăsime brută între 7,40-10,19%; celuloză brută între 28,54-32,28%; polifenoli totali între 1,90-4,00%; taninuri între 1,28-3,34% și substanțe extractive neazotate între 36,95-43,29%.

Având în vedere conținutul mai ridicat în componente chimice în special în polifenoli, al tescovinei din soiul de struguri roșii Fetească neagră obținută în anul 2014 s-a optat pentru utilizarea acesteia în alimentația păsărilor.

Pe lângă componentele chimice analizate în laboratorul de Control al Calității Nutrețurilor, din cadrul USAMV Iași, în perioada stagiului realizat la Institutul INRA din Franța, s-a determinat și energia brută, conținutul în pereți vegetali insolubili în apă (PVIA) respectiv profilul în acizi grași al tescovinei și fracțiunilor acesteia din soiul de struguri roșii Fetească neagră (2014).

Valoarea energiei brute a tescovinei înregistrată la bomba calorimetrică a fost de **21,71 MJ/kg SU**; această valoare poate fi comparată cu cea obținută de către *Baumgartel și colab., (2007)*, în tescovina roșie și anume de 20,80 MJ/kg SU.

În probele de tescovină, **conținutul în pereți vegetali insolubili în apă (PVIA)** a înregistrat o valoare medie de **66,76 ± 0,22 % din SU** (62,42 % produsul brut). Conținutul în PVIA este superior față de ceilalți nutrienți prezenți în tescovină, putând astfel conchide faptul că fracția pereților celulari (nedigestibilă) este componenta majoră a tescovinei. Valoarea obținută în cercetările noastre a fost mai ridicată față de cele obținute de *Sousa și colab., (2014)* și *Bampi și colab., (2010)*, cuprinse între: 31,66-46,17g/100g.

Tab. 6.4. Compoziția chimică a tescovinei din diferite soiuri de struguri și obținută în ani diferiți

Tab. 6.4. The chemical composition of grape pomace from different varieties of grapes, obtained in different years

Specificare		Aligoté (soi alb) -2013	Fetească neagră (soi roșu) - 2013	Fetească neagră (soi roșu) - 2014	Amestec din 3 soiuri (roșii) de struguri -2014
SU%		90,41 ± 0,03	92,30 ± 0,01	94,06 ± 0,02	93,15 ± 0,01
% din SU	CenB	6,46 ± 0,17	7,12 ± 0,05	5,53 ± 0,05	4,27 ± 0,07
	SO	92,85 ± 0,19	92,29 ± 0,09	94,12 ± 0,05	95,73 ± 0,07
	PB	14,48 ± 0,32	16,60 ± 0,12	13,55 ± 0,04	11,80 ± 0,16
	GB	7,40 ± 0,13	10,19 ± 0,09	9,24 ± 0,08	9,05 ± 0,11
	CB	32,28 ± 0,76	28,54 ± 0,52	30,27 ± 0,70	31,59 ± 1,95
	SEN	38,70 ± 0,49	36,95 ± 0,33	41,05 ± 0,64	43,29 ± 1,73
	PT	1,95 ± 0,04	2,20 ± 0,08	4,00 ± 0,06	1,90 ± 0,01
	Ta	1,44 ± 0,03	1,54 ± 0,06	3,34 ± 0,07	1,28 ± 0,01

În ceea ce privește **acizi grași**, tescovina analizată s-a caracterizat printr-un conținut total în acizi grași saturați de ~17,08%, din care cei mai importanți au fost acizii grași palmitic (11,96%) și stearic (4,58%). De asemenea, s-a constatat un conținut ridicat în acizi grași nesaturați (82,92%), evidențiindu-se o pondere importantă a acizilor grași polinesaturați de 61,08%, așa cum reiese în *tabelele 6.5; 6.6*.

Analizând acizii grași mononesaturați, se observă o pondere apreciabilă a acidului oleic de 20,85%, însă dintre polinesaturați predominant este acidul gras linoleic (59,73%).

Dintre cele două grupe de acizi grași polinesaturați (omega-3, omega-6), ponderea cea mai mare o are acidul linoleic din familia n-6 (acizi grași esențiali).

În consecință, calitatea grăsimii din tescovină și implicit valoarea biologică este dependentă de conținutul în *acizi grași și antioxidanți*.

Având în vedere nivelul ridicat de acizi grași polinesaturați care se regăsesc în tescovină (61,08%) concomitent cu concentrațiile reduse de acizi grași saturați (17,08%), putem considera că acest subprodus poate fi o sursă interesantă de PUFA pentru hrana păsărilor.

Tab. 6.5. Conținutul în acizi grași a tescovinei roșii -2014 (%)

Tab. 6.5. The fatty acid content of red grape pomace – 2014 (%)

Lipide totale %	7,83 ± 1,13		
Acizii grași			
Capric (C10:0)	0,02 ±0,001	Linoleic (18:2)	59,73 ± 5,63
Lauric (C12:0)	0,04 ± 0,01	Linolenic (C18:3)	0,80 ± 0,05
Miristic (C14:0)	0,16 ± 0,02	Arachidic (C20:0)	0,27 ± 0,08
Miristoleic (C14:1)	0,05 ± 0,01	Eicosenoic (C20:1)	0,14 ± 0,02
Pentadecanoic (C15:0)	0,01 ± 0,003	Arachidonic (C20:4)	0,27 ± 0,25
Palmitic (C16:0)	11,96 ± 2,10	Eicosapentaenoic (C20:5)	0,04 ± 0,004
Palmitoleic (C16:1)	0,64 ± 0,45	Erucic (C22:1)	0,16 ± 0,08
Heptadecanoic (C17:0)	0,04 ± 0,02	Docosatetraenoic (C22:4)	0,05 ± 0,05
Stearic (C18:0)	4,58 ± 0,75	Docosapentaenoic (C22:5)	0,02 ± 0,01
Oleic (C18:1)	20,85 ± 2,00	Docosahexanoic (C22:6)	0,17 ± 0,18

Tab. 6.6. Ponderea principalelor clase de acizi grași regăsite în tescovina roșie-2014 (%)

Tab. 6.6. Major classes of fatty acids found in red grape pomace 2014 (%)

Acizi grași	%
Acizii grași saturați (SFA)	17,08
Acizii grași mononesaturați (MUFA)	21,84
Acizii grași nesaturați (UFA)	82,92
Acizii grași polinesaturați (PUFA)	61,08
Acizii grași polinesaturați n-6	60,06
Acizii grași polinesaturați n-3	1,03

În funcție de proporția fracțiunilor solide (semințe, pielite și ciorchini), compoziția chimică și valoarea nutrițională a tescovinei poate să varieze destul de mult, ținând cont de rezultatele analizelor chimice prezentate anterior. Prin urmare, cunoașterea soiului și a varietăților de struguri, a proporției dar și a conținutului chimic al fiecărei fracțiuni din biomasa tescovinei este necesară pentru o utilizare mai eficientă în hrana animalelor.

6.3 COMPOZIȚIA CHIMICĂ A SEMINȚELOR

Compoziția chimică a semințelor provenite din tescovina strugurilor roșii, din soiul Fetească neagră, obținută în anul 2013, și din soiul alb Aligoté (2013) este redată în figura 6.5. Prin evaluarea comparativă a compoziției chimice s-a evidențiat un conținut semnificativ mai ridicat în substanță uscată ($93,09 \pm 0,04\%$ SU), substanță organică ($96,92 \pm 0,16\%$ SO), proteină brută ($14,47 \pm 0,25\%$ PB), grăsime brută ($14,82 \pm 0,6\%$ GB), polifenoli totali ($4,22 \pm 0,08\%$ PT) și taninuri ($3,63 \pm 0,09\%$ Ta) la semințele provenite din tescovina strugurilor roșii. În schimb, semințele din tescovina strugurilor albi au prezentat un conținut semnificativ mai mare în cenușă brută ($3,52 \pm 0,14\%$ CenB) și substanțe extractive neazotate ($30,05 \pm 2,83\%$ SEN).

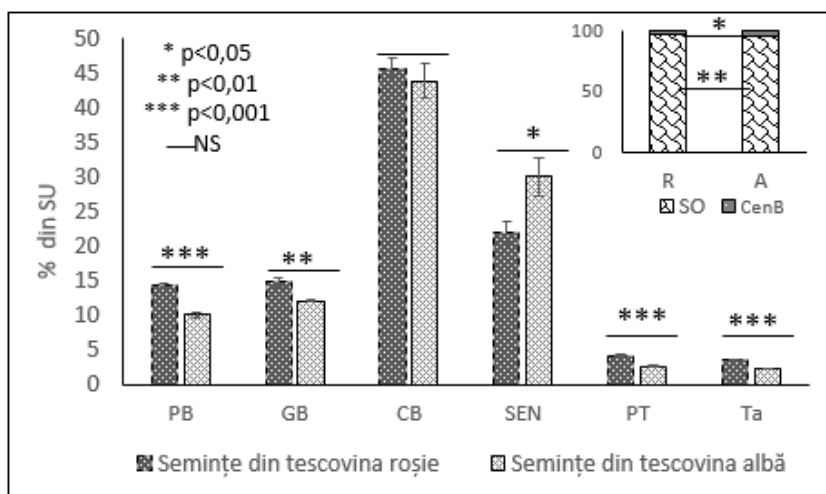


Fig. 6.5. Compoziția chimică a semințelor (2013)

Notă: NS (nesemnificativ- $p > 0,05$)

Fig. 6.5. The chemical composition of the seeds (2013)

Note: NS (insignificant- $p > 0.05$)

În literatura de specialitate sunt date insuficiente cu privire la conținutul proteinelor în semințele de struguri (Kamel și colab., 1985; Ohnishi și colab., 1990). Semințele nu sunt considerate a fi o sursă importantă de proteine, cum sunt leguminoasele, nucile sau alte surse vegetale proteice dar totuși conțin în jur de 11-13% proteine (Goni și colab., 2005). Conținutul semințelor în proteine poate varia în mod semnificativ în funcție de varietatea strugurilor, condițiile de fertilizare și climatizare.

Proteina din semințele de struguri este considerată a fi o proteină nedigestibilă, rezistentă la degradare (Saura-Calixto și colab., 1991). Acest lucru poate fi datorat interacțiunii puternice ale taninurilor cu proteinele.

Combinățiile care au loc între proteine și taninuri limitează digestibilitatea proteinei din semințele de struguri, deoarece se consideră că taninurile sunt inhibitori ai enzimelor digestive (*Alipour și Rouzbehan, 2010*).

În ceea ce privește conținutul în ulei, semințele de struguri provenite din soiurile roșii au un conținut mai ridicat comparativ cu cele provenite din soiurile albe (*Dorobanțu și Beceanu, 2008*). Conținutul semințelor în uleiuri poate varia de la 11,6-19,6%, fiind dependent de varietatea și maturitatea strugurilor (*Rao, 1994; Llobera și Canellas, 2007*).

Uleiul din semințele de struguri reprezintă o sursă bogată de acizi grași polinesaturați și de antioxidanți (polifenoli, vitamina E) (*Dorobanțu și Beceanu, 2008*).

În general, semințele de struguri roșii conțin cantități mai ridicate de compuși polifenolici, comparativ cu semințele din strugurii albi (*Fuleki și Ricardo da Silva, 1997*). Conținutul în polifenoli totali din tescovină diferă în funcție de varietățile de struguri, condițiile de mediu și climat, tipul de sol, gradul de coacere și metoda de procesare a strugurilor în procesul de vinificație (*Fuleki și Ricardo da Silva, 1997*).

Strugurii conțin un număr mare de substanțe fenolice a căror importanță în metabolismul și dezvoltarea viței de vie este egală cu a glucidelor, acizilor organici, substanțelor proteice și a sărurilor minerale. Dintre compușii fenolici care se află în cantitatea cea mai mare în semințe, predominante sunt catechinele, urmate de epicatechine, procianidine B1 și B2, acidul galic și epicatechin-O- galate (*Chamorro și colab., 2012*).

S-a evidențiat că uleiul semințelor de struguri conține cantități ridicate în taninuri, de 1000 de ori mai mari decât în alte uleiuri de semințe (*Rao, 1994*). Beneficiile pentru sănătate a catechinelor și procianidinelor fac ca extractele semințelor de struguri să fie utilizate ca suplimente în industria alimentară, pentru conservarea produselor alimentare, precum și în domeniul farmaceutic, utilizate ca suplimente pentru menținerea sănătății (*Jayaprakasha și colab., 2001*).

Rezultatele cercetărilor noastre privind conținutul chimic brut al semințelor de struguri pot fi comparabile cu cele obținute de *Kamel și colab., (1985)* și anume: 8,2% PB; 14% GB; 2,2% CenB; 38,6 % CB și 37,0% SEN.

Analiza comparativă a valorilor componentelor chimice a semințelor din tescovina strugurilor roșii din soiul Fetească neagră obținută în ani diferiți, 2013 și respectiv 2014, este prezentată în figura 6.6.

Rezultatele relevă faptul că semințele din tescovina obținută în anul 2013 au avut un conținut semnificativ mai ridicat în substanță organică ($96,92 \pm 0,16\%$

SO), proteină brută ($14,47 \pm 0,25\%$ PB), grăsime brută ($14,82 \pm 0,6\%$ GB) și celuloză brută ($45,57 \pm 1,62\%$ CB) față de cea obținută în anul 2014. Semințele din tescovina obținută în anul 2014 au prezentat în schimb un conținut semnificativ mai ridicat în substanță uscată ($94,25 \pm 0,006$), polifenoli totali ($5,23 \pm 0,09$) taninuri ($4,47 \pm 0,10$) și substanțe extractive neazotate ($33,74 \pm 0,56$).

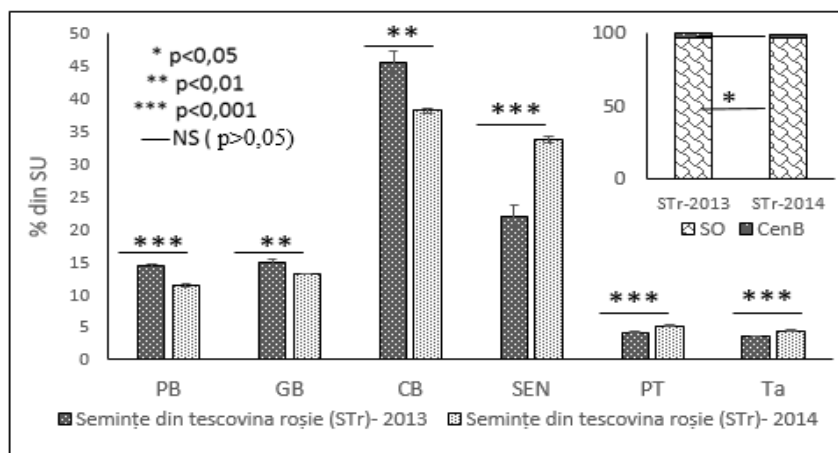


Fig. 6.6. Compoziția chimică a semințelor din tescovina obținută în 2013 și 2014

Fig. 6.6. The chemical composition of the seeds from the red grape pomace obtained in 2013 and 2014

Diferențele de compoziție chimică a semințelor provenite din tescovina aceluiasi soi de struguri dar obținută în ani diferiți pot fi datorate condițiilor pedoclimatice, tehnologiei de prelucrare a strugurilor, duratei de macerare-fermentare pe boștină și perioadei de păstrare a tescovinei.

Factorii de mediu au un impact major în biosinteza și acumularea compușilor polifenolici în plante. Acești factori pot fi pedoclimatici (tipul de sol, expunere la soare, precipitațiile) sau agronomici (precum variațiile generate de cultivarea în câmpuri, cultură biologică etc.). Expunerea la soare are un impact considerabil asupra biosintezei și acumulării compușilor polifenolici în plante. La temperaturi ridicate, de până la $35-36^{\circ}\text{C}$, nivelul compușilor polifenolici crește constant. În general, conținutul în acizi fenolici scade odată cu coacerea fructului, antocianii având o evoluție inversă (Țârdea și colab., 2000).

În cazul în care durata de macerare-fermentare este mai lungă, aproape întreaga fracțiune de carbohidrați solubili este fermentată de populațiile microbiene, specifice vinului (Baumgartel și colab., 2007). De asemenea, atunci când durata de macerare este prelungită, compușii polifenolici pot fi extrași în vin într-o cantitate mai mare din fracțiunile solide ale boștinei, ceea ce poate duce la scăderea acestora în tescovină.

Compoziția chimică efectuată la semințele diferitelor soiuri de struguri au evidențiat valori variabile în componente chimice (tabel. 6.7): cenușă brută între 3,08-3,52%; proteină brută între 10,14-14,47%; grăsime brută între 12,15-14,82%; celuloză brută între 38,19-45,57%; polifenoli totali între 2,72-5,23%; taninuri între 2,26-4,47% și substanțe extractive neazotate între 22,07-33,74%.

Tab. 6.7. Compoziția chimică a semințelor din diferite soiuri de struguri și obținută în ani diferiți

Tab. 6.7. The chemical composition of the seeds from different varieties of grapes, obtained in different years

Specificare		Aligoté (soi alb) 2013	Fetească neagră (soi roșu) 2013	Fetească neagră - 2014
SU%		92,61±0,06	93,09±0,04	94,25±0,006
% din SU	CenB%	3,52±0,14	3,08±0,16	3,27±0,06
	SO%	96,20±0,16	96,92±0,16	96,53±0,06
	PB%	10,14±0,41	14,47±0,25	11,38±0,31
	GB%	12,15±0,18	14,82±0,6	13,21±0,07
	CB%	43,86±2,53	45,57±1,62	38,19±0,42
	SEN%	30,05±2,83	22,07±1,54	33,74±0,56
	PT%	2,72±0,03	4,22±0,08	5,23±0,09
	Ta%	2,26±0,03	3,63±0,09	4,47±0,10

Valoarea energiei brute a semințelor din soiul de struguri Fetească neagră (2014) înregistrată la bomba calorimetrică în cadrul laboratorului de nutriție INRA, a fost de **23,51 MJ/kg SU**.

În probele de semințe, conținutul în **pereți vegetali insolubili în apă (PVIA)** a înregistrat o valoare medie de **70,54 ± 0,95% din SU** (66,17% produs brut).

În ceea ce privește conținutul în **acizi grași**, semințele analizate s-au caracterizat printr-un conținut total în acizi grași saturați de ~11,93%, din care cei mai importanți au fost acizii grași palmitic (8,10%) și stearic (3,51%). De asemenea, s-a constatat un conținut ridicat în acizi grași nesaturați (88,07%), evidențiindu-se o pondere importantă a acizilor grași polinesaturați de 69,59%, așa cum reiese în *tabelul 6.8 și 6.9*.

Analizând acizii grași mononesaturați, se observă o cantitate apreciabilă a acidului oleic de 17,80%, însă dintre polinesaturați predominant este acidul gras linoleic (69,14%).

Dintre cele două grupe de acizi grași polinesaturați (omega-3, omega-6), cantitatea cea mai mare o are acidul linoleic din familia n-6 (acizi grași esențiali).

Având în vedere nivelul ridicat de acizi grași polinesaturați care se regăsesc în semințe (69,59%) concomitent cu concentrațiile reduse de acizi grași saturați (11,93%), putem considera că acest subprodus poate fi o sursă interesantă de PUFA pentru hrana păsărilor.

Rezultatele cercetărilor proprii privind conținutul de acizi grași în semințele de struguri sunt comparabile cu cele din literatura de specialitate. Astfel, acizii grași prezenți în cantitatea cea mai mare în uleiul semințelor de struguri, au fost acidul linoleic (66,76-73,61%), acidul oleic (17,8-26,5%), acidul palmitic (6,35-7,93%) și respectiv acid stearic (3,64-5,26%) (*Ohnishi și colab., 1990; Kamel și colab., 1985; Beveridge și colab., 2005*).

Tab. 6.8. Conținutul în acizi grași a semințelor din tescovina roșie -2014 (%)

Tab. 6.8. The amount of fatty acids contained in seeds from red grape pomace -2014 (%)

Lipide totale	10,00 ± 0,06
Acizii grași	
Capric (C10:0)	0,005 ± 0,001
Lauric (C12:0)	0,008 ± 0,01
Miristic (C14:0)	0,10 ± 0,06
Miristoleic (C14:1)	0,15 ± 0,17
Pentadecanoic (C15:0)	0,02 ± 0,02
Palmitic (C16:0)	8,10 ± 0,32
Palmitoleic (C16:1)	0,34 ± 0,19
Heptadecanoic (C17:0)	0,03 ± 0,02
Stearic (C18:0)	3,51 ± 0,10
Oleic (C18:1)	17,80 ± 0,77
Linoleic(C18:2)	69,14 ± 1,74
Linolenic (C18:3)	0,35 ± 0,12
Arachidic (C20:0)	0,16 ± 0,02
Eicosenoic (C20:1)	0,15 ± 0,04
Arachidonic (C20:4)	0,03 ± 0,05
Eicosapentaenoic (C20:5)	0,06 ± 0,05
Erucic (C22:1)	0,05 ± 0,01

Tab. 6.9. Ponderea principalelor clase de acizi grași regăsite în semințele din tescovina roșie 2014

Tab. 6.9. Major classes of fatty acids found in the seeds from red grape pomace 2014

Acizi grași	%
Acizii grași saturați (SFA)	11,93
Acizii grași mononesaturați (MUFA)	18,49
Acizii grași nesaturați (UFA)	88,07
Acizii grași polinesaturați (PUFA)	69,59
Acizii grași polinesaturați n-6	69,17
Acizii grași polinesaturați n-3	0,41

Compoziția chimică reprezintă cel mai important indicator pentru a estima valoarea nutritivă a semințelor. Datorită prezenței cojilor, semințele de struguri au un conținut foarte ridicat în celuloză brută (peste 38%) (*Kamel și colab., 1985*). Prezența celulozei cât și a taninurilor poate determina scăderea digestibilității semințelor de struguri.

Semințele degresate prezintă un conținutul ridicat în lignină (40-60%) ceea ce determină scăderea digestibilității semințelor și prin urmare valoarea nutritivă, limitând astfel utilizarea lor în hrana animalelor (*Cottyn și colab., 1981*). Digestibilitatea substanței organice este de aproximativ 40% pentru semințele cu uleiuri (integrale) și respectiv 20% pentru semințele degresate (fără uleiuri) (*Cottyn și colab., 1981; INRA, 1988*).

Digestibilitatea scăzută a semințelor degresate influențează valoarea nutritivă, aceasta fiind estimată la 0,25 UFL/kg din SU (*Magnier, 1991*). Semințele care conțin uleiuri sunt din punct de vedere energetic mai bogate (<0,3 UFL/kg din SU) decât cele degresate (*INRA, 1988*). Utilizarea semințelor de struguri ca supliment unic în hrana animalelor nu este recomandă.

În vederea conservării corespunzătoare a semințelor de struguri și pentru a preveni alterarea lor, care atrage scăderea conținutului și calității uleiului, se impune ca acestea să fie uscate, prin reducerea umidității până la 6-7%, după ce au fost separate din tescovină.

Datorită conținutului ridicat în polifenoli al semințelor de struguri, acestea pot prezenta un mare interes pentru hrana animalelor (*Scalbert și Williamson, 2000; Brenes și colab., 2008*) datorită numeroaselor proprietăți benefice ale compușilor bioactivi (antioxidante, antimicrobiene, antimetanogene etc) pentru sănătatea animalelor.

6.4 COMPOZIȚIA CHIMICĂ A PIELIȚELOR ȘI CIORCHINILOR

Compoziția chimică a pielitelor provenite din tescovina strugurilor roșii din soiul Fetească neagră obținută în anul 2013 și respectiv din soiul alb Aligoté (2013) este redată în figura 6.7.

Analiza comparativă a valorilor componentelor chimice prezentate în figura 6.7 relevă că pielitele din tescovina strugurilor roșii au un conținut semnificativ mai ridicat în substanță uscată ($93,04 \pm 0,01\%$ SU), grăsime brută ($3,65 \pm 0,22\%$ GB), polifenoli totali ($1,95 \pm 0,05\%$ PT), taninuri ($1,30 \pm 0,01\%$ Ta) și substanțe extractive neazotate ($53,54 \pm 0,72\%$ SEN), apreciere susținută de calculul statistic ($p < 0,001$). Pielitele din tescovina strugurilor albi au prezentat în schimb, un conținut semnificativ mai mare în celuloză brută ($17,53 \pm 0,27\%$ CB).

Conținutul în cenușă brută și proteină brută a fost mai ridicat în pielitele strugurilor roșii ($11,60 \pm 0,23\%$ CenB; $19,08 \pm 0,66\%$ PB) față de cele din strugurii albi ($10,89 \pm 0,14\%$ CenB; $18,40 \pm 0,23\%$ PB).

Studiul efectuat de Deng și colab., (2011) cu privire la conținutul chimic al pielitelor la cinci varietăți de struguri (două albe și trei roșii) relevă faptul că pielitele strugurilor albi au un conținut în proteină de 5,38-6,54% iar la cele roșii de 11,26-12,34%. În cercetările proprii s-au obținut valori mai ridicate atât în pielitele strugurilor albi (18,40%) cât și la cele roșii (19,08%).

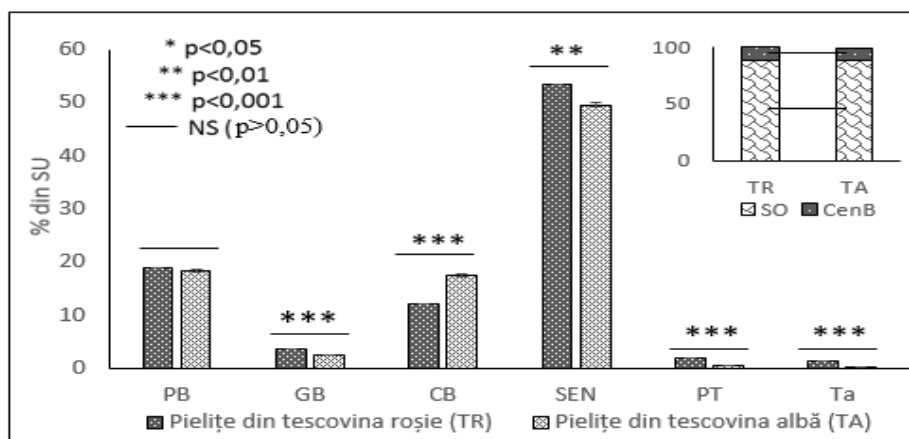


Fig. 6.7. Compoziția chimică a pielitelor din tescovina roșie și albă

Fig. 6.7. The chemical composition of the skins from red and white grape pomace

În ceea ce privește conținutul în celuloză brută, Deng și colab., (2011) au obținut la strugurii albi valori cuprinse între 17,3-28,0%, foarte apropiate de cele obținute în cercetările proprii, respectiv 17,53%. În schimb, în cazul pielitelor de la strugurii roșii, aceștia au obținut valori mai ridicate (51,1-56,3%) comparativ

cu CB% obținută în studiul nostru, respectiv 12,13%. Diferențele de conținut pot fi datorate varietăților de struguri analizați, de condițiile de fertilizare cât și de tipul de sol.

Rezultatele proprii privind conținutul în cenușă brută, grăsime brută, polifenoli totali și taninuri din pielițe sunt comparabile cu cele din literatura de specialitate (*Deng și colab., 2011; Kammerer și colab., 2004*).

Pielițele constituie o sursă bogată și relativ ieftină de antociani (*Mazza, 1995*). Antocianii prezintă o serie de proprietăți benefice, dintre care cea mai importantă constă în efectul antioxidant (*Scalbert și Williamson, 2000*).

Conținutul de antociani din pielițe variază în funcție de metoda de vinificație utilizată și durata măcerării. Prin macerare-fermentare nu se poate extrage întreaga cantitate de antociani, ci doar 25-40% din potențialul antocianic al strugurilor: 25-35% la soiurile cu strugurii intens colorați și 30-40% la cele cu strugurii mai slab colorați. În primele 2-3 zile se constată o extracție rapidă a antocianilor și creșterea intensității culorii vinului; după a șasea zi se înregistrează o diminuare a intensității culorii datorită adsorbției antocianilor în boștină și oxidării lor de către enzime (*Țârdea și colab., 2000*).

Analiza comparativă a compoziției chimice a pielițelor și ciorchinilor provenite din tescovina strugurilor roșii din soiul Fetească neagră obținută în anul 2013 și 2014 este redată în *figura 6.8*. Rezultatele obținute relevă că pielițele provenite din tescovina din anul 2014 au avut un conținut semnificativ mai ridicat în substanță uscată ($93,21 \pm 0,02\%$ SU), substanță organică ($92,60 \pm 0,21\%$ SO), celuloză brută ($19,31 \pm 0,35\%$ CB), polifenoli totali ($2,92 \pm 0,03\%$ PT) și taninuri ($2,36 \pm 0,06\%$ Ta), apreciere susținută de calculul statistic ($p < 0,001$). În schimb, pielițele din tescovina obținută în anul 2013 au prezentat un conținut semnificativ mai mare în proteină brută ($19,08 \pm 0,66\%$ PB) și cenușă brută ($11,60 \pm 0,23\%$ CenB) comparativ cu cea din 2014.

În ceea ce privește conținutul în grăsime brută și substanțe extractive neazotate, pielițele provenite din tescovina din 2013 și 2014, nu au prezentat diferențe semnificative între aceste componente chimice ($p > 0,05$).

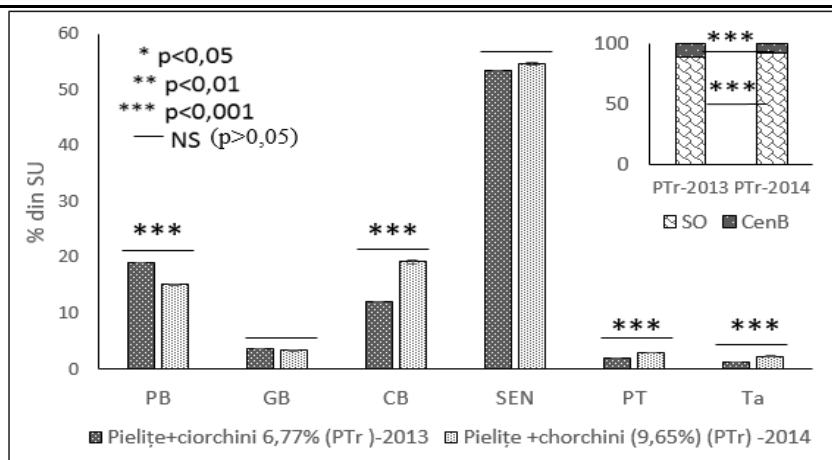


Fig. 6.8. Compoziția chimică a pielitelor și ciorchinilor (soiul Fetească neagră)

Fig. 6.8. The chemical composition of the skins and stalks (Fetească neagră variety)

Creșterea valorilor componentelor din pielitele provenite din tescovina din anul 2014 poate fi datorată proporției mai mari de ciorchini: 9,65 g ciorchine din 100g de pielite și ciorchine față de cea obținută în anul 2013 și anume 6,77 g ciorchine din 100g.

Diferențele de compoziție chimică ale pielitelor și ciorchinilor din tescovina obținută în ani diferiți pot fi datorate de asemenea și condițiilor pedoclimatice din anii respectivi, tehnologiei de prelucrare a strugurilor (desciorchinarea), duratei de macerare-fermentare pe boștină și perioadei de păstrare a tescovinei.

Compoziția chimică efectuată pe pielitele diferitelor soiuri de struguri au evidențiat valori variabile în componente chimice: cenușă brută între 7,40-11,60%; proteină brută între 15,26-19,08%; grăsime brută între 2,43-3,65%; celuloză brută între 12,13-19,31%; polifenoli totali între 0,58-2,92%; taninuri între 0,25-2,36% și substanțe extractive neazotate între 49,64-54,67%.

Valoarea energiei brute a pielitelor din soiul de struguri Fetească neagră (2014) înregistrată la bomba calorimetrică în cadrul laboratorului de nutriție INRA, a fost de **19,46 MJ/kg SU**.

În probele de pielite, conținutul în **pereți vegetali insolubili în apă (PVIA)** a înregistrat o valoare medie de **60,80 ± 0,11% din SU** (56,88% produs brut).

În figura următoare (fig. 6.9) sunt prezentate rezultatele cu privire la conținutul chimic al ciorchinilor proveniți din tescovina strugurilor roșii din soiul Fetească neagră din anul 2013 și respectiv albi din soiul Aligoté (2013).

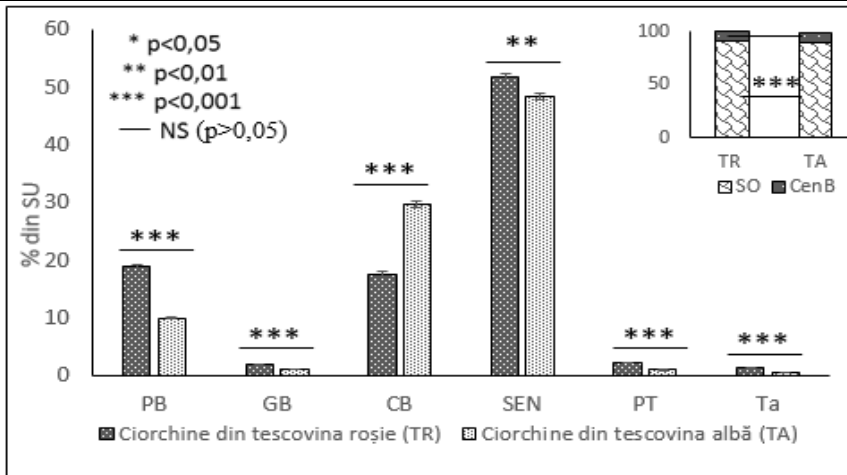


Fig. 6.9. Compoziția chimică a ciorchinilor

Fig. 6.9. The chemical composition of the stalks

Analiza comparativă a compoziției chimice relevă și de această dată că ciorchinii din tescovina strugurilor roșii au un conținut semnificativ mai ridicat în componente chimice: substanță uscată ($90,16 \pm 0,005\%$ SU), substanță organică ($90,38 \pm 0,08\%$ SO), proteină brută ($19,01 \pm 0,26\%$ PB), grăsime brută ($1,88 \pm 0,08\%$ GB), polifenoli totali ($2,15 \pm 0,004\%$ PT), taninuri ($1,49 \pm 0,01\%$ Ta) și substanțe extractive neazotate ($51,79 \pm 0,72\%$ SEN), apreciere susținută de calculul statistic ($p < 0,001$). Un conținut semnificativ mai ridicat s-a înregistrat în celuloză brută ($p < 0,001$) numai în cazul ciorchinilor din tescovina strugurilor albi și anume $29,79 \pm 0,48\%$.

Conținutul de celuloză brută în ciorchini poate fi comparat cu cel obținut în studiul *Llobera și Canellas, (2007)* și anume $31,6\%$, fiind dependent de soiul și varietatea strugurilor.

Compoziția chimică efectuată pe ciorchinii din cele două soiuri de struguri a evidențiat valori variabile în componente chimice: cenușă brută între $9,43-9,62\%$; proteină brută între $9,96-19,01\%$; grăsime brută între $1,20-1,88\%$; celuloză brută între $17,70-29,79\%$; polifenoli totali între $1,02-2,15\%$; taninuri între $0,66-1,49\%$ și substanțe extractive neazotate între $48,54-51,79\%$.

Având în vedere faptul că fracțiunile de ciorchini prezintă un conținut mai mare de CB% ($17,7-29,8\%$) se impune îndepărtarea ciorchinilor din tescovină atunci când aceasta este introdusă în hrana păsărilor.

6.5 CONCLUZII PARȚIALE

- evaluarea comparativă a compoziției chimice a fracțiunilor vegetale aparținând soiurilor de struguri albi (Aligoté) și roșii (Fetească neagră) a evidențiat conținutul mai ridicat în substanțe cu rol nutrițional în fracțiunile din tescovina strugurilor roșii Fetească neagră (obținută în 2013): PB, GB, CB, PT și Ta în semințe; GB, SEN, PT și Ta în pielețe; PB, GB, SEN, PT și Ta în ciorchine.
- analizele comparative ale compoziției chimice efectuate la semințele diferitelor soiuri de struguri au evidențiat valori variabile în componente chimice (% din SU): cenușă brută între 3,08-3,52%; proteină brută între 10,14-14,47%; grăsime brută între 12,15-14,82%; celuloză brută între 38,19-45,57%; polifenoli totali între 2,72-5,23%; taninuri între 2,26-4,47% și substanțe extractive neazotate între 22,07-33,74%.
- acizii grași din semințele din soiul de struguri Fetească neagră (2014) s-au caracterizat printr-un conținut ridicat în acizi grași polinesaturați (69,59%), evidențiindu-se o pondere ridicată a acidului gras linoleic de 69,14% (omega -6).
- analizele comparative ale compoziției chimice efectuate pe pielețele diferitelor soiuri de struguri au evidențiat valori variabile în componente chimice (% din SU): cenușă brută între 7,40-11,60%; proteină brută între 15,26-19,08%; grăsime brută între 2,43-3,65%; celuloză brută între 12,13-19,31%; polifenoli totali între 0,58-2,92%; taninuri între 0,25-2,36% și substanțe extractive neazotate între 49,64-54,67%.
- evaluarea comparativă a compoziției chimice efectuate pe tescovina obținută din diferite soiuri de struguri a evidențiat valori variabile în componente chimice (% din SU): cenușă brută între 4,27-7,12%; proteină brută între 11,80-16,60%; grăsime brută între 7,40-10,19%; celuloză brută între 28,54-32,28%; polifenoli totali între 1,90-4,00%; taninuri între 1,28-3,34% și substanțe extractive neazotate între 36,95-43,29%.
- tescovina din soiul de struguri Fetească neagră (2014) s-a caracterizat printr-un conținut ridicat de acizi grași polinesaturați de 61,08%, dintre aceștia ponderea cea mai mare a avut-o acidul linoleic de 59,73%.
- datorită conținutului mai ridicat în componente chimice în special în polifenoli (4,00% din SU), al tescovinei din soiul de struguri roșii

Fetească neagră obținută în anul 2014, comparativ cu celelalte varietăți analizate, s-a optat pentru utilizarea acesteia în alimentația păsărilor.

- rezultatele obținute în urma determinării compoziției chimice a fracțiunilor de tescovină și a tescovinei integrale susțin posibilitatea utilizării lor sau a tescovinei în hrana animalelor de fermă, cu respectarea nivelului maxim admis de celuloză brută pentru specia și categoria de animale vizată.

CAPITOLUL VII. INFLUENȚA UNOR SUBPRODUSE DE VINIFICAȚIE UTILIZATE ÎN ALIMENTAȚIA PUILOR BROILER ASUPRA PERFORMANȚELOR PRODUCTIVE ȘI A UNOR INDICATORI DE STATUS FIZIOLOGIC

CHAPTER VII. THE INFLUENCE ON THE PRODUCTION PERFORMANCE AND CERTAIN INDICATORS OF THE PHYSIOLOGICAL STATUS OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS USED IN THE BROILER CHICKENS FEEDING

7.1 PLANUL DE ORGANIZARE AL CERCETĂRILOR

7.1.1 Obiectivele cercetărilor

Obiectivele acestui studiu au constat în urmărirea evoluției greutateii corporale, sporului în greutate, consumului de hrană, consumului specific, pierderilor din efectiv și stării de sănătate a puilor broiler, ca urmare a introducerii unor subproduse vinicole în hrana lor. Pentru evaluarea stării de sănătate a puilor, la finalul experimentului s-au determinat profilul hematologic și activitatea antioxidantă din sângele acestora și de asemenea s-a efectuat examenul histologic pe fragmente de țesut (stomac, intestin, cord, ficat, splină, rinichi).

7.1.2 Organizarea și desfășurarea cercetărilor

Cercetarea s-a desfășurat în cadrul biobazei Facultății de Zootehnie a USAMV, Iași.

În studiul experimental realizat în perioada 31 octombrie- 10 decembrie 2014, s-a urmărit efectul tescovinei integrale, al semințelor de struguri și extractului apos de polifenoli din tescovină în hrană, asupra performanțelor de creștere, a consumului de nutreț și a stării de sănătate a puilor broiler de găină.

Studiul experimental s-a realizat pe un efectiv de 250 pui broiler de găină nesexați, din hibridul de carne *COBB 500*, în perioada de vârstă 1-40 de zile. Efectivul a fost împărțit în șase loturi: control (LC) format din 70 de pui și cinci loturi experimentale (LT-1%; LT-2%; LS-0,5%; LS-1% și LEP) formate din 36 de pui fiecare; fiecare lot experimental a fost repartizat în trei țarcuri. Planul general de organizare al experimentului este prezentat în tabelul 7.1.

Tab. 7.1. Planul de organizare al cercetărilor

Tab. 7.1. Research organization design

Lotul	Hrană administrată	Subprodus vinicol utilizat	Obiective urmărite în experiment
Control LC	Nutreț combinat specific hibridului „Cobb 500”	-	<i>Parametrii productivi urmăriți:</i>
Experimental LT-1%		Tescovină 1%	• Evoluția greutateii corporale
Experimental LT-2%		Tescovină 2%	• Sporul în greutate
Experimental LS-0,5%		Semințe 0,5%	• Consumul de hrană
Experimental LS-1%		Semințe 1%	• Consumul specific (kg n.c./kg spor)
Experimental LEP		Extract apos de polifenoli administrat în apa de băut (1,5%)	• Pierderile din efectiv
			<i>Parametrii sanguini și histologici urmăriți:</i>
			• Profilul hematologic
			• Activitatea antioxidantă
			• Examenul histologic

7.1.3 Condiții asigurate în vederea desfășurării cercetărilor

Pentru a se asigura condiții de igienă, înainte de introducerea în adăpost a efectivului de pui, s-au efectuat operațiuni specifice de curățenie și dezinfecție a adăpostului, a echipamentelor de lucru, a căilor de acces cu diferite soluții decontaminante (cloramină, clor, formol).

Curățarea și decontaminarea sunt necesare pentru a elimina ciupercile, bacteriile și celelalte microorganisme și pentru a evita îmbolnăvirea puilor.

Pentru asigurarea confortului de creștere a puilor, înainte de populare am efectuat:

- curățarea halei: înlăturarea prafului și pânzelor de păianjen;
- spălarea halei cu soluție decontaminantă: tavanul, pardoseala, utilajele, aleile de acces;
- montarea țarcurilor metalice;
- reparația, inspectarea și dezinfectarea echipamentului tehnologic, conductei de apă;
- introducerea așternutului în adăpost;
- decontaminarea adăpostului și a căilor de acces cu formol;
- ventilația intensă a adăpostului pentru îmbunătățirea calității aerului.

Perioada de decontaminare a durat aproximativ două săptămâni iar în ultimele zile hala a fost lăsată într-o perioadă de vid sanitar.

În hală au fost montate 20 țarcuri metalice (fig. 7.1) și echipamentul tehnologic (adăpatoarele prin picurare cu pahar colector); așternutul format din talaș s-a introdus în strat de 6-8 cm în fiecare țarc.



Fig. 7.1. Pregătirea țarcurilor în adăpost înainte de popularea puilor broiler
Fig. 7.1. The shelter pens preparation before the broiler chickens population

La începutul experimentului s-a așternut un strat mai subțire de talaș, care s-a completat o dată la două zile cu altul proaspăt pus deasupra, până când s-a considerat că este necesară schimbarea lui. Odată cu creșterea puilor, așternutul a fost schimbat mai des, o dată la 2-3 zile pentru a menține o bună igienă a puilor și pentru a preveni creșterea gazelor nocive (NH₃; CO₂; CO) care ar fi putut duce la diferite afecțiuni respiratorii, ascită, scăderea ratei de creștere etc.

În fiecare țarc s-au introdus adăpători cu picurător și hrănituri metalice pentru distribuirea manuală a hranei. Sistemul de adăpare a fost compus din țevi

pătrate din plastic prin care apa este adusă către păsări cu ajutorul niplurilor picurătoare. Acestea sunt în poziție normal-închisă pentru a nu face risipă de apă. În momentul în care pasărea acționează cu ciocul asupra niplului acesta este mișcat în sus sau spre lateral și apa începe să se scurgă pe el. Când pasărea ia ciocul de pe niplu acesta revine la poziția inițială și oprește curgerea ca și un robinet automat. Înălțimea sistemului de adăpare a fost reglată prin ridicarea întregii linii de adăpare în funcție de faza de creștere a puilor. În primele zile, adăpătorile tip picurător au fost reglate la înălțimea ochiului, astfel încât puii să poată observa ușor stropul de apă din vârful picurătorului.

Pentru a ajuta puii să se adapteze la noul mediu și pentru a-i încuraja să consume hrană și apă, lumina a fost reglată la o intensitate mare (25 de lucși) în primele zile, specific hibridului. Începând cu ziua a șaptea, programul de iluminat a inclus și perioade de întuneric, care totalizează cel puțin 6 ore și o reducere treptată a intensității luminii (5-10 lucși) conform recomandărilor din ghidul tehnologic al hribidului Cobb 500. Iluminatul constituie un aspect deosebit de important, deoarece puii sunt sensibili la intensitatea și durata fluxului luminos. În cazul puilor, lumina reprezintă un stimul fiziologic, care influențează comportamentul social și funcționarea sistemului vegetativ.

Puii de carne necesită condiții optime de temperatură și umiditate. Cerințele referitoare la condițiile de temperatură și umiditate din adăpost s-au făcut după ghidul tehnologic specific hibridului Cobb 500. Din prima zi de viață, temperatura ambientală indicată în manualul de management este de 33-34°C. Temperatura scade cu 0,5°C zilnic, astfel încât la sfârșitul primei săptămâni de viață să ajungă la aproximativ 30°C. Temperatura din hală a fost înregistrată cu ajutorul termometrelor obișnuite, prin plasarea lor în capetele halei. Valoarea recomandată în prima săptămână, a umidității relative (UR) în adăpost este de circa 30-50%, urmând să crească la sfârșitul primei săptămâni de viață la 40-60%.

La populare, puii în vârstă de o zi (fig. 7.2-a, b, c) au fost repartizați în șase loturi, respectiv un lot control (LC) și cinci loturi experimentale (LT-1%; LT-2%; LS-0,5%; LS-1% și LEP). S-a urmărit să se asigure condiții identice de întreținere pentru puii din lotul control și din loturile experimentale.

În primele trei zile ale etapei de demaraj, puilor li s-a administrat hrană în cantități mici de 2-4 ori pe zi.

Permanent s-a urmărit comportamentul puilor pentru a se asigura temperatura și umiditate optimă și un front de hrănire și adăpare corespunzător.

Pe parcursul desfășurării experimentului s-au înregistrat datele privind evoluția greutatea corporale a puilor, consumul de hrană și mortalitatea.

La sfârșitul experimentului, datele înregistrate au fost prelucrate pentru evidențierea rezultatelor zootehnice obținute.

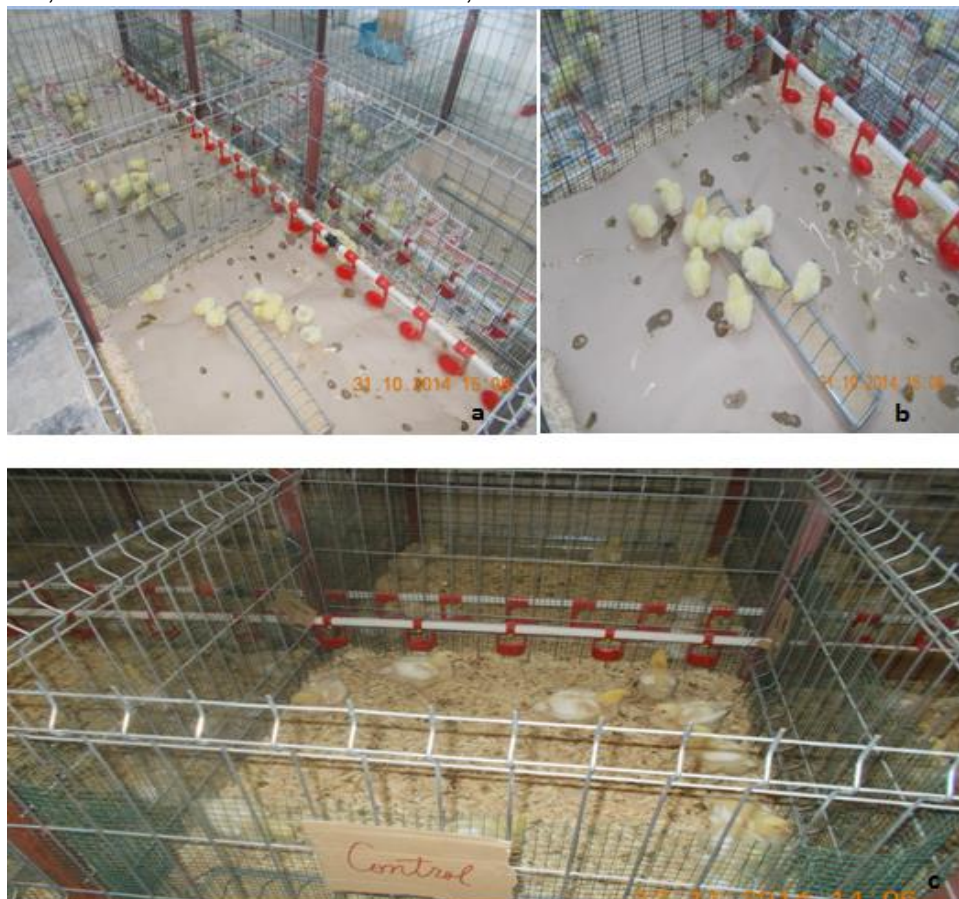


Fig. 7.2. Popularea puilor în țarcuri. Prima zi de viață (a, b); după 12 zile de viață (c)

Fig. 7.2. Chickens' population in the pens. First day of life (a, b) after 12 days of life (c)

7.2 EVALUAREA PERFORMANȚELOR PRODUCTIVE

7.2.1 Evoluția greutății corporale

Aprecierea dinamicii de creștere în greutate s-a făcut prin cântărirea individuală, săptămânal, a întregului efectiv. Rezultatele cu privire la evoluția greutății corporale a puilor broiler sunt prezentate în figura 7.3.

La populare, s-au înregistrat valori ale greutății vii pentru puii luați în studiu, cuprinse între 42,79-44,42g/cap (tabel. 7.2). Cea mai mică medie s-a înregistrat la lotul experimental LEP (42,79 g), iar cea mai mare valoare a fost înregistrată de lotul LS-0,5% (44,42 g). Omogenitatea a fost foarte bună pentru loturile

experimentale, întrucât variabilitatea a fost sub 8% și bună (mijlocie) pentru lotul de control (10,21%).

În urma aplicării testului Anova unifactorial nu s-au evidențiat diferențe statistice semnificative între cele șase loturi de experiență.

Tab. 7.2. Greutatea vie a puilor la vârsta de o zi (g)

Tab. 7.2. Live weight of chicks at one day of age (g)

Loturi	n	$\bar{x} \pm s$ (g)	$\pm$ % față de LC	V%
LC	70	43,93 $\pm$ 4,49	-	10,21
LT-1%	36	43,22 $\pm$ 3,35	-1,60	7,75
LT-2%	36	43,39 $\pm$ 3,12	-1,21	7,20
LS-0,5%	36	44,42 $\pm$ 2,69	1,14	6,05
LS-1%	36	43,31 $\pm$ 3,26	-1,40	7,54
LEP	36	42,79 $\pm$ 2,98	-2,59	6,97

Testul Anova unifactorial

Nu sunt diferențe statistic semnificative ($p > 0,05$)

La începutul experienței, greutatea medie corporală a puilor din cele șase loturi de experiență a fost aproximativ egală, însă s-a diferențiat pe parcurs, astfel încât în final a crescut la puii din loturile experimentale care au primit în hrană tescovină: LT-1% și respectiv LT-2% (fig. 7.3) și în mod semnificativ la puii din lotul cu semințe 0,5% ($p < 0,01$).

În schimb, puii din lotul experimental care au primit în hrană semințe în proporție de 1% (LS-1%), au înregistrat o scădere distinct semnificativă în greutate chiar din prima săptămână de creștere ($p < 0,01$), cu diferențe foarte semnificative ($p < 0,001$) în cea de-a patra săptămână, față de lotul de control. În următoarele zile, greutatea medie corporală a puilor din lotul LS-1% s-a menținut în continuare scăzută, fără însă a înregistra diferențe statistic semnificative față de lotul de control.

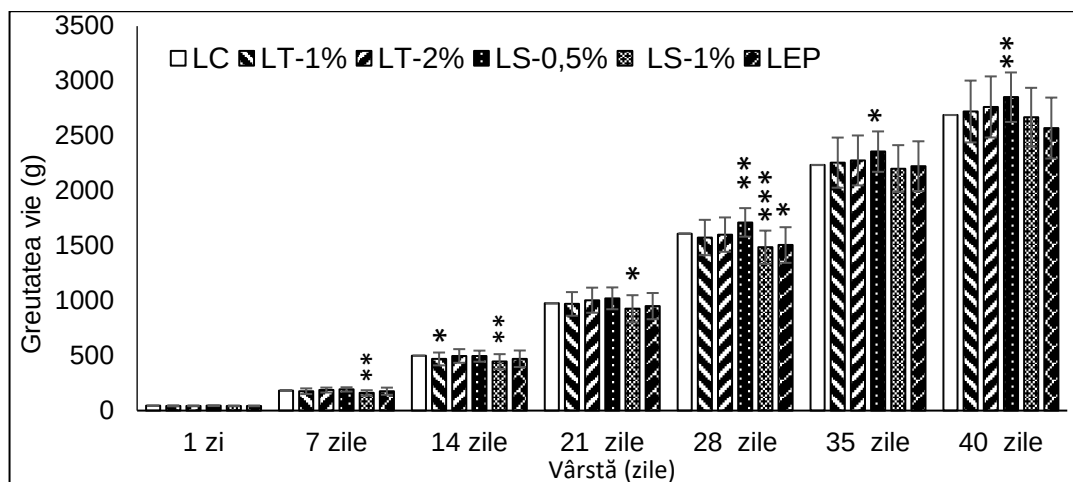


Fig. 7.3. Dinamica greutatei corporale a puilor studiați (g/pui) ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 7.3. The dynamic of the studied chickens body weight (g/bird) ($\bar{x} \pm s$)

Semnificația diferențelor între lotul LC și loturile experimentale: * = $p < 0,05$;

** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

În ceea ce privește puii din lotul LEP, aceștia au prezentat o scădere în greutate încă din primele două săptămâni de administrare în apa de băut a extractului apos de polifenoli, fiind însă semnificativ mai redusă în cea de-a treia săptămână de administrare ($p < 0,05$).

Lotul care a primit în hrană o proporție de 0,5% semințe a prezentat pe întreaga perioadă de creștere o evoluție foarte bună privind greutatea corporală medie, cu diferențe statistic semnificative începând cu cea de-a patra săptămână de experiment.

La ultima cântărire, corespunzătoare vârstei de 40 de zile, cea mai mare greutate medie corporală a fost înregistrată de lotul experimental LS-0,5%, cu 6,03% (2853,21 g) mai mare față de lotul de control (2690,84 g), urmată de loturile care au primit în hrană tescovină și anume cu 2,74% (2764,61 g) la lotul LT-2% și respectiv cu 1,20% (2723,06 g) la lotul LT-1%. Cele mai scăzute greutate medii corporale au fost înregistrate de lotul LEP, cu 4,41% (2572,29 g) și de lotul LS-1% cu 0,70% (2671,94 g).

La finalul experienței, când aceștia au fost sacrificați (40 de zile), omogenitatea a fost mijlocie pentru loturile de experiență, valorile variabilității au fost cuprinse între 7,52-10,46% (tabel 7.3).

Tab. 7.3. Greutatea vie a puilor la vârsta de 40 de zile (g)

Tab. 7.3. Chickens' live weight at the age of forty days (g)

Loturi	n	$\bar{x} \pm s$ (g)	$\pm$ % față de LC	V%
LC	70	2690,84 $\pm$ 281,33	-	10,46
LT-1%	36	2723,06 $\pm$ 277,98	1,20	10,21
LT-2%	36	2764,61 $\pm$ 225,17	2,74	8,14
LS-0,5%	36	2853,21 $\pm$ 266,69**	6,03	9,35
LS-1%	36	2671,94 $\pm$ 277,37	-0,70	10,38
LEP	36	2572,29 $\pm$ 193,48	-4,41	7,52

Testul F (Fisher), Testul t-student

** diferențe distinct semnificative față de lotul LC ($p < 0,01$)

7.2.2 Sporul mediu săptămânal de creștere în greutate și cumulat

La finalul fiecărei săptămâni de viață a puilor, s-a calculat sporul mediu săptămânal de creștere în greutate și la final sporul mediu cumulat.

Pe parcursul perioadei de creștere sporurile săptămânale înregistrate de puii din loturile de experiență au avut evoluții variabile (fig. 7.4).

La puii din loturile care au primit în hrană diferite proporții de tescovină s-au observat în primele trei săptămâni de creștere valori ale sporurilor apropiate lotului de control, cu excepția lotului LT-1%, care a înregistrat în a doua săptămână un spor mediu săptămânal mai scăzut cu 6,84%, fiind în relație cu greutatea corporală înregistrată ($p < 0,05$). Sporuri mai ridicate ale celor două loturi cu tescovină s-au evidențiat spre finalul experimentului, începând cu vârsta de 35 de zile a puilor.

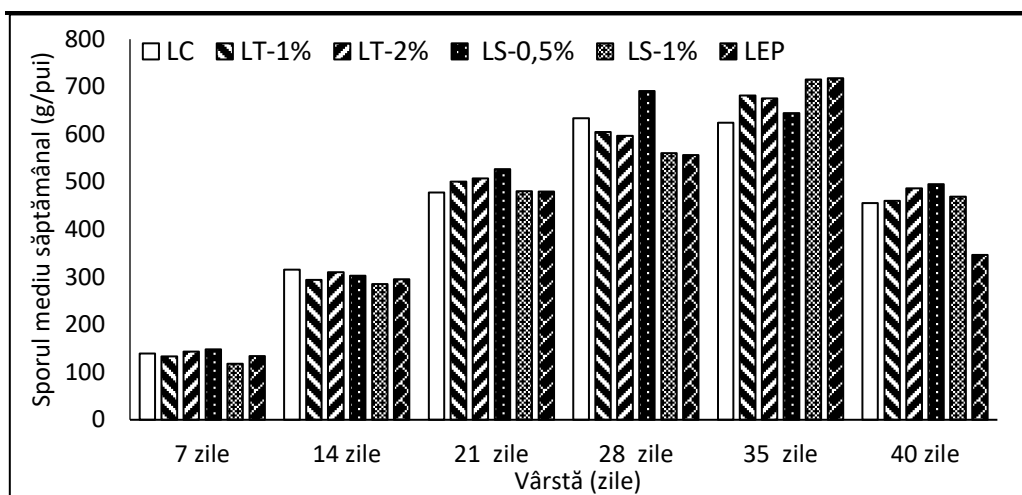


Fig. 7.4. Evoluția sporului mediu săptămânal în greutate la puii broiler studiați
 Fig. 7.4. Evolution of the average weekly weight gain of the studied broiler chickens

Puii din lotul cu 0,5% semințe (LS-0,5%) au prezentat pe întreaga perioadă experimentală cele mai bune sporuri de creștere, fiind în concordanță cu greutatea corporală obținute. Perioada în care s-au evidențiat cele mai mari sporuri de creștere a fost săptămâna a 4-a de viață a puilor, înregistrându-se un spor mediu săptămânal, semnificativ mai ridicat cu 9,01% (691,21 g/pui).

În schimb, proporția de 1% semințe în hrana puilor a determinat scăderea sporului în greutate chiar din primele două săptămâni, și în special în cea de-a patra săptămână de experiment; înregistrându-se în această perioadă un spor mediu săptămânal în greutate mai scăzut cu 11,64% (560,31 g/pui) față de lotul de control (634,09 g/pui). Sporuri mai ridicate la lotul LS-1% s-au evidențiat spre finalul experimentului, în special la vârsta de 35 de zile a puilor, înregistrându-se un spor mediu săptămânal superior cu 14,53% (715,47 g/pui) față de lotul de control (624,72 g/pui). Diferențele de sporuri înregistrate la vârsta de 35 și 40 de zile între lotul LS-1% și lotul de control nu sunt în relație cu cele obținute la greutatea corporală, diferențele de sporuri fiind mult mai mari.

Concomitent cu lotul LS-1%, și în cazul lotului LEP s-a evidențiat o reducere a sporului în greutate încă din prima săptămână de administrare în apa de băut a extractului apos de polifenoli, (cu 6,36%), scăzând foarte mult la vârsta de 28 de zile cu 12,29% și la 40 de zile cu 23,84%, comparativ cu lotul de control. În cazul lotului LEP, cele mai ridicate sporuri s-au evidențiat la vârsta de 35 de zile a puilor, înregistrându-se un spor mediu săptămânal superior cu 14,96% (718,14 g/pui) față de lotul de control (624,72 g/pui). Diferențele de sporuri înregistrate la vârsta de 35 zile între lotul LEP și lotul de control nu sunt în

concordanță cu cele obținute la greutatea corporală, diferențele de sporuri fiind mai ridicate.

La finalul experienței, corespunzătoare vârstei de 40 de zile, sporurile medii cumulate de creștere înregistrate au fost mai ridicate la lotul LS-0,5% cu 6,12% și la loturile cu tescovină în hrană: LT-2% cu 2,81% și LT-1% cu 1,23% (fig. 7.5). Cele mai scăzute sporuri totale s-au înregistrat la loturile: LEP cu 4,44% și LS-1% cu 0,69%.

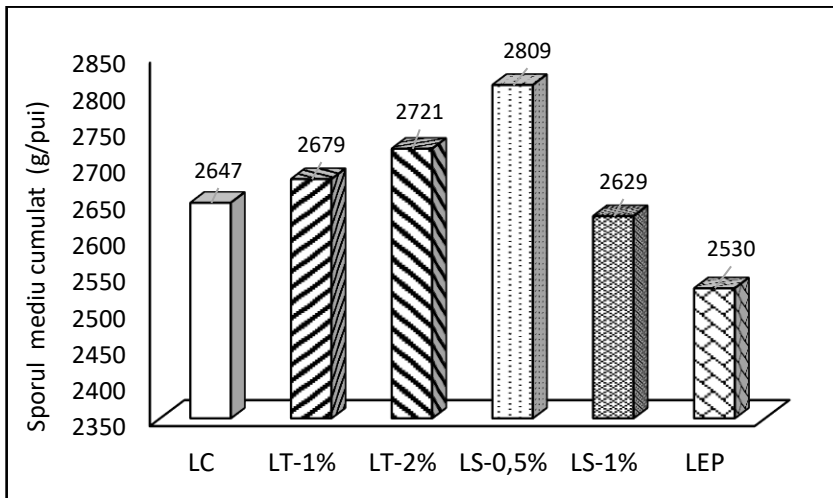


Fig. 7.5. Sporul mediu cumulat în greutate la puii broiler studiați

Fig. 7.5. Average weight gain cumulated of the studied broiler chickens

7.2.3 Consumul de nutreț și conversia hranei

Din datele prezentate în fig. 7.6, se pot observa consumuri săptămânale de hrană mai scăzute la loturile experimentale față de cele obținute la lotul de control.

Astfel, în primele trei săptămâni, consumul mediu de hrană a fost mai scăzut la loturile experimentale față de lotul de control. Aceste diferențe de consum pot fi corelate și cu sporurile de creștere înregistrate în primele două săptămâni, fiind mai mici la loturile experimentale comparativ cu lotul de comparație.

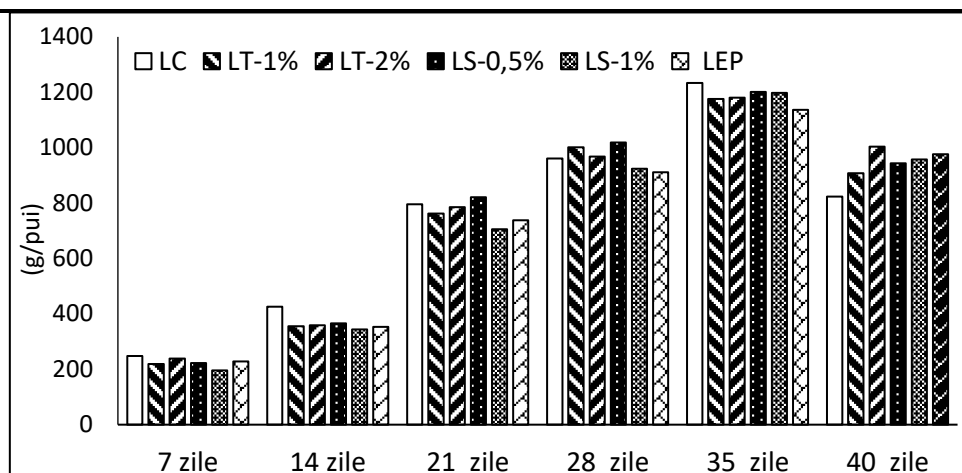


Fig. 7.6. Consumul mediu săptămânal de hrană la puii broiler studiați
 Fig. 7.6. The average weekly feed intake of the studied broiler chickens

La vârsta de 28 de zile, au fost înregistrate consumuri mai ridicate de hrană la loturile experimentale: LS-0,5% cu 5,97%, lotul LT-1% cu 4,20% și la lotul LT-2% cu 0,68%. Cele mai scăzute consumuri de hrană s-au evidențiat la lotul LEP cu 5,25% și la lotul LS-1% cu 3,85%.

Consumul mediu de hrană înregistrat la puii din lotul LS-0,5% ar putea fi corelat și cu sporul lor în greutate obținut la această vârstă. Diferențele de consum înregistrate la loturile care au primit în nutrețul combinat tescovină ar putea fi justificate prin faptul că puii s-au adaptat mai bine la hrană după a patra săptămână de viață, însă acest lucru nu s-a putut observa și în sporul lor în greutate.

La vârsta de 35 de zile se poate observa o scădere a consumului de hrană la loturile experimentale față de lotul control. Astfel, consumul mediu a fost mai redus cu 7,92% la LEP, cu 4,68% la LT-1%, cu 4,31% la LT-2%, cu 2,94% la LS-1% și cu 2,62% la LS-0,5%. În pofida faptului că puii de la loturile experimentale au consumat mai puțină hrană în această săptămână, aceștia au înregistrat în schimb sporuri de creștere mai mari față de control, în special la loturile LEP și LS-1% (fig. 7.4).

La vârsta de 40 de zile, consumul mediu de hrană a crescut la loturile experimentale cu 21,89% la lotul LT-2%, cu 18,58% la LEP, cu 16,25% la lotul LS-1%, cu 14,62% la lotul LS-0,5% și cu 10,30% la lotul LT-1%, față de LC.

La finalul perioadei experimentale, consumul mediu total de hrană la loturile experimentale a fost mai mare cu 1,90% la LS-0,5% și cu 1,03% la LT-2%, și mai scăzut cu 3,66% la lotul LS-1%, cu 3,26 la lotul LEP și cu 1,46% la lotul LT-1% față de lotul control (fig. 7.7).

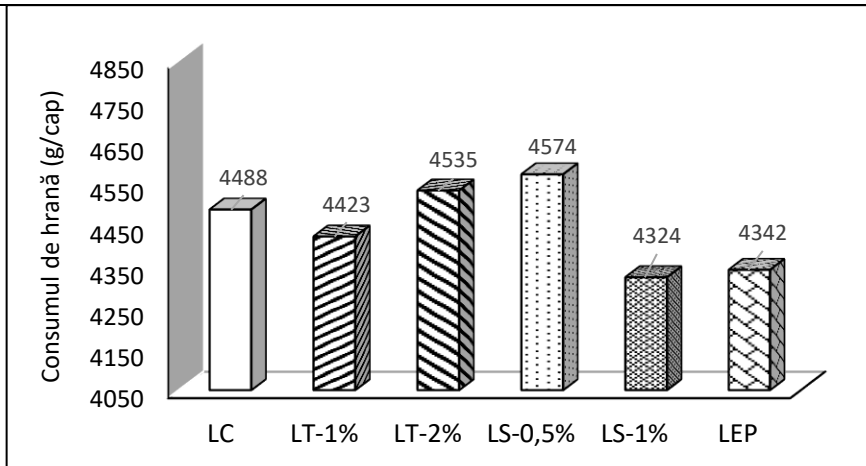


Fig. 7.7. Consumul mediu total de hrană la puii broiler studiați

Fig. 7.7. The total average feed intake of the studied broiler chickens

În ceea ce privește indicele de conversie al hranei (tabel. 7.4, fig 7.8), la vârsta puiilor de 40 de zile, loturile experimentale au realizat un indice de consum (I.C.) mai redus cu 3,97% (1,628 kg n.c./kg spor), la lotul LS-0,5%, cu 2,99% (1,645 kg n.c./kg spor) la lotul LS-1%, cu 2,66% (1,65 kg n.c./kg spor) la lotul LT-1% și cu 1,73% (1,666 kg n.c./kg spor) la lotul LT-2%. În schimb, lotul LEP a înregistrat un indice de conversie mai ridicat cu 1,23% (1,717 kg n.c./kg spor) față de lotul de control care a realizat un I.C. de 1,696 kg n.c./kg spor.

Tab. 7.4. Indicele de conversie al hranei la puii broiler studiați

Tab. 7.4. Feed conversion rate of the studied broiler chickens

Loturi	Sporul mediu total de creștere (g/cap)	Consumul mediu total de hrană (g/cap)	I.C. Total (kg n.c./kg spor)	± % față de LC
LC	2646,91	4488,18	1,696	100
LT-1%	2679,47	4422,74	1,651	-2,66
LT-2%	2721,21	4534,50	1,666	-1,73
LS-0,5%	2808,79	4573,66	1,628	-3,97
LS-1%	2628,63	4323,89	1,645	-2,99
LEP	2529,50	4341,93	1,717	1,23

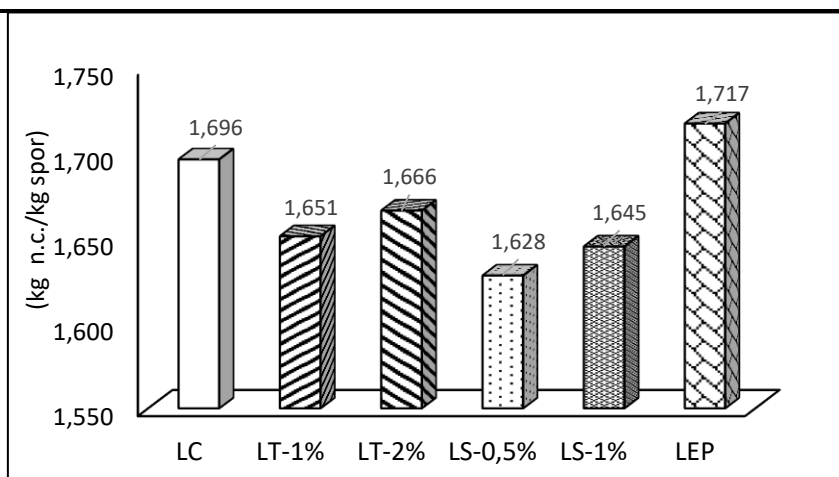


Fig. 7.8 Indicele de conversie al hranei la puii broiler studiați

Fig. 7.8. Feed conversion rate of the studied broiler chickens

Deși, puii din loturile LC și LEP au realizat un indice de conversie al hranei mai ridicat decât cei din loturile LS-0,5%, LT-1% și LT-2%, acesta nu se regăsește în sporurile de creștere în greutate înregistrate.

Din cele prezentate, referitor la indicele de conversie al hranei, reiese că puii broiler care au primit în nutrețul combinat o proporție de 0,5% semințe, respectiv 1 și 2% tescovină au realizat o conversie mai bună a hranei, valorile obținute fiind mai reduse față de lotul de control cu- 1,73% și respectiv cu 3,97%. Deși, lotul LS-1% care a realizat un indice de conversie mai redus al hranei (1,645 kg n.c./kg spor), acesta nu se regăsește și în sporul de creștere înregistrat.

Există câteva referințe în literatura de specialitate cu privire la utilizarea tescovinei în hrana puilor broiler. Efectele protective ale tescovinei și ale extractelor de semințe de struguri la puii în creștere au fost studiate de către un grup de cercetători din Spania iar rezultatele au fost publicate într-o serie de lucrări (*Brenes și colab., 2008; Goni și colab., 2007; Viveros și colab., 2011*). Folosirea unor proporții mai mici de tescovină de 0,5% și 1,5% în hrana puilor nu a ameliorat performanțele de creștere, valorile obținute fiind apropiate de lotul care nu a primit în alimentație tescovină (*Goni și colab., 2007; Brenes și colab., 2008*).

Rezultatele noastre sunt comparabile cu cele obținute de *Goni și colab., (2007)* la vârsta de 21 de zile și respectiv cu *Brenes și colab., (2008)* la vârsta de 21-42 de zile care au administrat cantități mai mici de tescovină (0,5%, 1,5% și 3%) în hrana puilor broiler.

În general, efectul compușilor polifenolici asupra absorbției și asimilării a diferiți nutrienți depinde de mai mulți factori inclusiv tipul de compus, dozajul

său, combinarea cu alți compuși etc (Martel și colab., 2010). Scăderea semnificativă și pronunțată a greutateii a fost evidențiată în unele studii (Hughes și colab., 2005 și Lau și King, 2003), în urma utilizării unui extract de semințe de struguri.

În studiul efectuat de Chamorro și colab., (2012), concentrația mai redusă de 5 g/kg de extract de semințe de struguri în hrană a cauzat un efect negativ asupra performanțelor de creștere. Conținutul de polifenoli totali în 0,5% GSE în hrană a condus la o concentrație de 1,5 g GAE/kg deoarece extractul de semințe de struguri a avut un conținut de numai 29,6 g GAE/100 g.

În experimentul nostru, concentrația de 1,5% administrată în apa de băut a puilor a determinat un efect negativ asupra performanțelor de creștere. Conținutul total de polifenoli în extractul administrat în apa de băut a fost de 1,82 g GAE /100 mL.

Efectul polifenolilor a fost studiat la puii broiler utilizând în hrană ingrediente cum ar fi sorgul și boabele de fasole. În general, concentrații relativ ridicate de polifenoli obținute în urma suplimentării hranei cu aceste ingrediente au redus performanțele puilor, precum și la alte animale de fermă (Jansman și colab., 1989; Nyachotti și colab., 1997). Prezența compușilor polifenolici în hrană poate avea unele efecte adverse asociate cu eficiența scăzută a nutrienților, în special a proteinelor și AA, inhibarea enzimelor digestive și excreția crescută de proteine endogene (Butler și Rogler, 1992; Jansman și colab., 1994).

Polifenolii, dar mai ales taninurile condensate, se leagă de proteine datorită interacțiunii dintre grupările lor hidroxil reactive cu grupările carbonil ale proteinelor. Ca o consecință a acestor combinații care se formează, digestibilitatea proteinelor și AA a fost redusă în urma introducerii în hrana puilor și a porcilor a sorgului și boabelor de fasole, bogate în polifenoli (Jansman și colab., 1989; Ortiz și colab., 1993).

7.2.4 Pierderile din efectiv

Pe parcursul desfășurării experienței au fost înregistrate unele pierderi din efectiv, care se înscriu în limite normale (4-5%) pentru hibridul studiat. Cele mai multe pierderi înregistrându-se în prima și a doua săptămână de viață a puilor, la lotul LC (4,29%) și LS-1% (5,56%), fiind de natură accidentală (tabel 7.5).

Pentru tot efectivul luat în lucru (250 cap.), pierderile au fost de 3,2%, valoare care se încadrează în limitele normale prevăzute de ghidul de creștere al hibridului COBB 500 (4%).

Nutrețurile combinate utilizate în hrana puilor nu au avut o influență negativă asupra stării de sănătate; prin urmare, proporțiile de 1 și 2% tescovină și

respectiv 0,5 și 1% semințe folosite în hrana puilor cât și administrarea de 1,5% extract apos de polifenoli din tescovină în apa de băut, nu au influențat pierderile din efectiv.

Tab. 7.5. Evoluția ieșirilor din efectiv

Tab. 7.5. Flock losses dynamics

Loturi de experiență	Efectivul la începutul experienței (pui)	Efectivul la sfârșitul experienței (pui)	Pierderi (cap)	%
LC	70	67	3	4,29
LT-1%	36	35	1	2,78
LT-2%	36	35	1	2,78
LS-0,5%	36	34	1	2,78
LS-1%	36	35	2	5,56
LEP	36	36	0	0

7.2.5 Factorul de eficiență european (EEF)

Din analiza valorilor calculate pentru EEF (tabel. 7.6) se poate constata că cele mai bune valori au fost înregistrate de puii care au primit în hrană o proporție de 0,5% semințe respectiv 1 și 2% tescovină, fapt ce se datorează în special greutateii vii mai ridicate la sfârșitul perioadei experimentale dar și gradului mai bun de valorificare al hranei (tabel. 7.6).

În comparație cu puii din lotul LC, valoarea EEF a fost mai mică cu 1,36% la puii din lotul LEP. Această diferență înregistrată față de puii din lotul LC, se datorează influenței negative pe care l-a avut extractul de tescovină, concentrat în polifenoli asupra vitezei de creștere și gradului de valorificare al hranei.

Tab. 7.6. Factorul de eficiență european (EEF)

Tab. 7.6. The European efficiency factor (EEF)

Loturi	Vârsta (zile)	Greutate medie corporală (kg)	Viabilitate (%)	I.C (kg n.c./ kg spor)	EEF	
					Absolută	Relativă
LC	40	2,691	95,71	1,696	380	100
LT-1%	40	2,723	97,22	1,651	401	105,59
LT-2%	40	2,765	97,22	1,666	403	106,20
LS						112,14
0,5%	40	2,834	97,22	1,639	426	
LS-1%	40	2,672	94,44	1,645	384	101,00
LEP	40	2,572	100	1,717	375	98,64

7.3 EVALUAREA HEMATOLOGICĂ, BIOCHIMICĂ ȘI HISTOLOGICĂ

7.3.1 Profilul hematologic

Analizele hematologice au fost efectuate pe probele de sânge recoltate la finalul perioadei experimentale (40 zile) de la câte 4 indivizi/lot (2 cocoșei + 2 puicute) folosind sistemul "vacutainer". Prin analize hematologice de laborator specifice, din probele de sânge s-au investigat următorii parametri: hematocritul (%), concentrația de hemoglobină (g/dl), numărul de eritrocite (mil/mm^3), volumul eritrocitar mediu ($\text{VEM } \mu\text{m}^3$), hemoglobina eritocitară medie (HEM pg), concentrația medie de hemoglobină (CHEM g/dl sau %), numărul de leucocite (mii/mm^3), cu formula leucocitară (heterofile, eozinofile, bazofile, monocite, limfocite) ca elemente specifice metabolismului animal.

În conformitate cu datele prevăzute de Wakenell, (2010) valorile eritrocitelor, hemoglobinei și HEM obținute la toate loturile luate în studiu s-au situat în limite normale, în timp ce hematocritul și VEM-ul au evidențiat valori mai mari, iar CHEM valori mai mici (tabel 7.7). Diferențele pot fi atribuite liniei de pui broiler utilizată în experiment și metodei de determinare sau nutriției și vârstei puiilor (Habibu și colab., 2013). Puii broiler din specia *Gallus gallus domesticus*, în general tind să aibă mai puține eritrocite, dar de dimensiuni mai mari (Wakenell, 2010), ca și în prezentul studiu, inclusiv la lotul de control.

Tab. 7.7. Valorile parametrilor eritrocitari la puii broiler studiați

Tab. 7.7. Red blood cells parameter values of the studied broiler chickens

Parametrii eritrocitari	Valori de referință ¹	Loturi experimentale ²					
		LC	LT-1%	LT-2%	LS-0,5%	LS-1%	LEP
Eritrocite totale / RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	2,5 – 3,5	2,71 $\pm$ 0,19	2,74 $\pm$ 0,10	2,58 $\pm$ 0,17	2,77 $\pm$ 0,07	2,71 $\pm$ 0,11	2,79 $\pm$ 0,13
Hemoglobină/ Hb (g/dL)	10 - 13	10,13 $\pm$ 0,75	10,35 $\pm$ 0,44	9,63 $\pm$ 0,75	10,38 $\pm$ 0,25	9,88 $\pm$ 0,25	10,25 $\pm$ 0,29
Hematocrit/ Ht (%)	22 - 35	40,00 $\pm$ 1,83	40,63 $\pm$ 1,11	38,00 $\pm$ 2,58	40,50 $\pm$ 1,35	39,38 $\pm$ 0,95	40,25 $\pm$ 0,65
VEM / MCV (fl)	90 - 140	148,09 $\pm$ 4,36	148,19 $\pm$ 2,79	147,38 $\pm$ 6,53	146,47 $\pm$ 3,19	145,55 $\pm$ 4,83	144,56 $\pm$ 4,62
HEM / MCH (pg)	33 - 47	37,44 $\pm$ 1,10	37,74 $\pm$ 0,58	37,28 $\pm$ 0,60	37,53 $\pm$ 1,03	36,51 $\pm$ 1,44	36,83 $\pm$ 1,96
CHEM / MCHC(g/dL)	26 - 35	25,29 $\pm$ 0,79	25,47 $\pm$ 0,41	25,34 $\pm$ 1,28	25,64 $\pm$ 1,20	25,08 $\pm$ 0,16	25,47 $\pm$ 0,83

¹Wakenell, 2010

²Anova: Two-Factor With Replication, Semnificația diferențelor: NS = $P > 0,05$.

Indicii hematologici ai seriei roșii se corelează cu statusul nutrițional al puilor. Hematocritul este unul dintre indicatorii sugestivi ai prezenței în organism a unor factori stimulatori sau inhibitori ai procesului fiziologic de hematopoeză (Ogunwole, 2014).

Valoarea mai ridicată a hematocritului la toate loturile tratate, ca și la control, comparativ cu datele de referință (Wakenell, 2010) este un indicator al unei diete bogate proteic și al absenței inhibitorilor hematopoetici. Totuși, Hb înregistrează o reducere nesemnificativă la loturile cu doze mai mari de tescovină și semințe față de martor, iar HEM-ul are o valoare redusă nesemnificativ la lotul LEP.

Deși modificările sunt nesemnificative, se poate lua în discuție, conceptul hormesis (răspunsul bifazic dependent de doză), conform căruia dozele mici au efect stimulator, iar dozele mari, efect inhibitor (Calabrese, 2008).

Analiza parametrilor hematologici ai seriei roșii scoate în evidență faptul că subprodusele vinicole introduse în alimentația puilor nu au indus modificări importante asupra tabloului hematologic.

În tabelul 7.8 se evidențiază valorile medii ale numărului de leucocite totale (WBC) și ale numărului de leucocite diferențiate (heterofile, eozinofile, bazofile, monocite, limfocite), precum și ale raportului Heterofile/ Limfocite (HF/LF) la puii hrăniți cu subproduse vinicole, comparativ cu puii din lotul de control.

WBC a prezentat modificări distinct semnificative la puii care au primit în hrană tescovină, o creștere a valorii medii fiind observată la un adaos de LT-1% ($p < 0,01$) și o reducere în cazul unui adaos de LT-2% ($p < 0,01$). Creșterea WBC la puii din lotul LT-1% este realizată pe seama unei creșteri, deși nesemnificativă statistic ($p > 0,05$), a numărului de limfocite chiar peste limita superioară de referință. Reducerea WBC la puii LT-1% este realizată datorită unei reduceri semnificative a numărului de neutrofile ($p < 0,05$), deși scade nesemnificativ și numărul de limfocite ($p > 0,05$). La ambele loturi tratate cu tescovină, raportul HF/LF este subunitar ($0,68 \pm 0,040$) respectiv $0,64 \pm 0,030$) comparativ cu un raport aproape unitar la lotul de control și la celelalte loturi LS și LEP ($p > 0,05$).

Eozinofilele au înregistrat creșteri semnificative la lotul tratat cu LEP ($p < 0,05$) și distinct semnificative la lotul LS-1% ($p < 0,01$). Bazofilele au crescut semnificativ la loturile LEP, respectiv LS-0,5% ($p < 0,05$), dar creșterea a fost foarte semnificativă la lotul LT-2% ($p < 0,001$). Monocitele nu au prezentat modificări semnificative statistic la nici unul din loturile experimentale.

Tab. 7.8. Valorile parametrilor leucocitari sanguini la pui broiler studiați

Tab. 7.8. White blood cells parameter values of the studied broiler chickens

Parametrii leucocitari	Valori de referință ¹	LC	LT-1%	LT-2%	LS-0,5%	LS-1%	LEP
Leucocite (WBC) ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	12,0-30,0	30,00 $\pm$ 0,622	33,15 $\pm$ 0,330**	24,10 $\pm$ 1,015**	31,20 $\pm$ 2,815 ^{NS}	31,75 $\pm$ 0,854 ^{NS}	31,05 $\pm$ 1,112 ^{NS}
Heterofile (Hf) ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	3,0-6,0	13,76 $\pm$ 1,800	12,05 $\pm$ 0,280 ^{NS}	8,157 $\pm$ 0,190*	13,44 $\pm$ 1,120 ^{NS}	13,25 $\pm$ 0,740 ^{NS}	13,62 $\pm$ 0,920 ^{NS}
Eozinofile ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0,0-1,0	0,34 $\pm$ 0,210	0,91 $\pm$ 0,250 ^{NS}	0,62 $\pm$ 0,030 ^{NS}	0,91 $\pm$ 0,380 ^{NS}	2,63 $\pm$ 0,380**	1,56 $\pm$ 0,400*
Bazofile ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	rare	0,09 $\pm$ 0,060	0,84 $\pm$ 0,370 ^{NS}	0,76 $\pm$ 0,060***	2,79 $\pm$ 0,800*	0,82 $\pm$ 0,530 ^{NS}	1,39 $\pm$ 0,510*
Monocite ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0,15-2,0	1,89 $\pm$ 0,630	1,11 $\pm$ 0,570 ^{NS}	0,59 $\pm$ 0,190 ^{NS}	1,78 $\pm$ 0,210 ^{NS}	1,67 $\pm$ 0,180 ^{NS}	1,89 $\pm$ 0,490 ^{NS}
Limfocite (Lf) ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	7,0-17,5	14,40 $\pm$ 1,830	18,04 $\pm$ 0,830 ^{NS}	12,93 $\pm$ 0,440 ^{NS}	12,97 $\pm$ 2,450 ^{NS}	13,54 $\pm$ 1,310 ^{NS}	13,34 $\pm$ 0,710 ^{NS}
Raport Hf:Lf	0,14-1,40 ²	1,06 $\pm$ 0,260	0,68 $\pm$ 0,040 ^{NS}	0,64 $\pm$ 0,030 ^{NS}	1,17 $\pm$ 0,260 ^{NS}	1,03 $\pm$ 0,170 ^{NS}	1,02 $\pm$ 0,060 ^{NS}

Semnificația diferențelor între lotul LC și loturile experimentale: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$, ^{NS} - $p > 0,05$, (Medie $\pm$ Eroare standard).

¹Valori hematologice la puii broiler (*Gallus gallus domesticus*) (Bounous și Stedman, 2000).

²Raportul HF:LF la vârsta de 44-zile (raport sex 1:1) (Nowaczewski și Kontecka, 2012).

Se cunosc numeroase studii care atestă efectele polifenolilor din subprodusele de vinificație sau din alte fructe sau plante asupra funcției imune la animale (McDouglas și colab., 2008, Park, 2013) și la om (Percival, 2009), dar nu sunt pe deplin înțelese mecanismele implicate în aceste acțiuni. S-au raportat o serie de efecte locale și sistemice asupra căilor de producere a inflamației (Cuevas și colab., 2013, Koulmann și Bohn, 2016).

În prezentul studiu, numărul WBC s-a modificat semnificativ la loturile de pui care au primit în hrană tescovină, efectul fiind dependent de cantitatea utilizată în hrană. Puii care din lotul LT-1% au înregistrat la sfârșitul perioadei experimentale o creștere a WBC, iar lotul LT-2% a evidențiat o reducere a WBC.

La ambele loturi cu tescovină, raportul Hf/Lf este subunitar, încadrându-se în limitele fiziologice, dar fiind mai mic decât în cazul lotului de control și al celorlalte loturi experimentale. După cum explică alți autori, modificarea acestui indice al statusului fiziologic la pui în sensul creșterii, ar sugera fie o stimulare antigenică necontrolată a sistemului imun, fie condiția de stres (De Marco, 2015), aspect neidentificat în cazul studiului nostru. Lotul LT-1% a prezentat o ușoară creștere a numărului de Lf sanguine, un număr redus de plasmocite la nivelul epiteliului intestinal și totodată cea mai mare adâncime a criptelor duodenale (tabel 7.9), ceea ce indică inițierea reactivității imune sistemice cu transmigrare limfocitară, dar absența proliferării locale a celulelor epiteliale sau de tip imun. La o cantitate de LT-2% introdusă în hrana puilor, reducerea WBC sanguine s-a realizat printr-o diminuare evidentă a numărului de Hf sanguine, fapt ce se explică probabil prin fenomenul de marginație leucocitară (atașarea de peretelele vascular, în principal a Hf), ca urmare a efectului chemoatractant al xenobioticelor polifenolice restante la nivel intestinal. Sunt investigații pe culturi celulare care arată că polifenolii din vinul roșu au acționat semnificativ în reglarea moleculelor de aderare intracelulară (molecule de adeziune intracelulară - ICAM-1), importante pentru transmigrare endotelială, precum și în reglarea unor chemokine cu acțiune chemoatractantă față de neutrofile, dar și reglarea proteinei VCAM-1 de aderare a altor celule imune la celulele vasculare (Kaulmann și Bohn, 2016). O stimulare antigenică locală mai puternică este reflectată în studiul nostru și de creșterea foarte semnificativă a numărului de plasmocite în *lamina propria* a vilozităților duodenale la puii din lotul LT-2% (tabel 7.9). În plus, au crescut foarte semnificativ și bazofilele sanguine. Alături de Hf, bazofilele sunt considerate efectori în primele faze ale procesului inflamator acut la păsări, ca și în reacțiile de hipersensibilitate (Campbell, 1988).

La cele două loturi studiate de noi care au primit în hrană seminte de struguri (LS) în cantități diferite, ca și la lotul cu extract polifenolic în apa de băut, reactivitatea locală intestinală, ca și răspunsul leucocitar sistemic au fost diferite. La lotul cu LS-0,5 % nu s-au produs modificări histomorfologice semnificative la nivel intestinal, plasmocitele din *lamina propria* intestinală au crescut ușor, dar nesemnificativ (tabel 7.9), iar parametrii leucocitari nu au evidențiat modificări, cu excepția bazofilelor sanguine care au înregistrat o creștere semnificativă. În schimb, lotul cu LS-1% a evidențiat modificări histomorfologice semnificative, cu un raport înălțime vilozitate/adâncime criptă foarte mare, alături de o creștere semnificativă a numărului de plasmocite în epiteliul intestinal (tabel 7.9), ca și de o evidentă creștere ($p < 0,01$) a numărului de eozinofile sanguine. Eozinofilele sunt asociate reacțiilor alergice în general

(Haile, 2014), dar unele studii sugerează ca eozinofilele la păsări participă la reacția de hipersensibilitate de tip întârziat (Campbell, 1988). Remarcăm faptul că cele două loturi cu semințe se află la extreme în privința performanțelor de creștere, cantitatea mai mică influențând favorabil creșterea, nu însă și cantitatea mai mare de semințe introdusă în hrană în acest studiu, care nu numai că nu a produs ameliorarea performanțelor, dar chiar a determinat o diminuare a acestora. În același sens s-au produs modificări ale performanțelor la puii din lotul LEP, alături de creșterea semnificativă a tuturor parametrilor histomorfologici, a ambilor indici ai reactivității alergice – Bazofile și Eozinofile sanguine, precum și creșterea foarte semnificativă a numărului de plasmocite din mucoasa duodenală.

După cum precizează Percival, 2009, situația ideală pentru sănătatea unui organism este un răspuns imun rapid urmat imediat de o supresie imună, aspect care a fost posibil în cazul experimentului nostru la introducerea în hrană a unei cantități de LS-0,5%, când organismul a fost doar pus în gardă, fără a depăși limitele fiziologice ale reacției imune. Nu s-a obținut acest model de reactivitate imună nici în cazul loturilor LS-1% și LEP, fiind vorba de aceasta dată de un exces de reactivitate imună atât locală cât și generală.

7.3.2 Activitatea antioxidantă

Activitatea antioxidantă s-a evaluat prin măsurarea statusului antioxidant total din serul puilor broiler, prin metoda ABTS.

Urmărind rezultatele statusului antioxidant total prezentate în figura 7.9, se constată că acesta nu a prezentat modificări semnificative ($p > 0,05$) la loturile tratate, dar s-a observat o reducere progresivă, odată cu creșterea dozei administrate, în special la lotul cu extract polifenolic în apa de băut, și anume 1,078 mmol/L LEP, aspect care susține o dată în plus principiul hormesis.

Rezultatele obținute sunt similare cu cele raportate de Goñi și colab., (2007) și Brenes și colab., (2008). Dozarea TAS-ului poate avea o importanță majoră pentru monitorizarea activității antioxidante din serul puilor aflați în creștere.

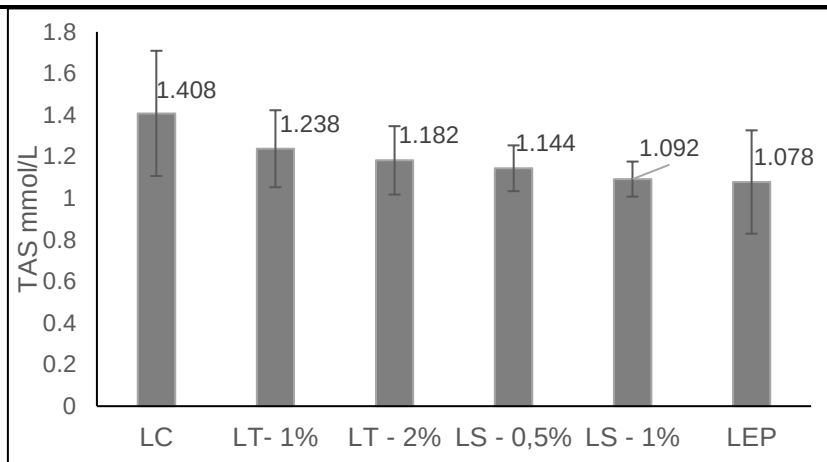


Fig. 7.9. Statusul antioxidant total măsurat în serul puilor studiați

Fig. 7.9. The total antioxidant status measured in the studied chickens' serum

Gliadine și colab., (2007) precizează că polifenolii sunt prezenți în plasmă, dar contribuția lor la statusul antioxidant total este probabil neglijabilă în comparație cu moleculele antioxidante endogene (enzime antioxidante, acidul ascorbic, tocoferolul, acidul uric, bilirubina, glutationul). Această afirmație este justificată prin faptul că concentrația de malondialdehidă- (marker de stres oxidativ) din plasma șobolanilor a scăzut atunci când aceștia au fost hrăniți cu extracte de plante bogate în polifenoli. Acest lucru sugerează că polifenolii sau metabolizii acestora din extracte sunt absorbiți în plasmă iar aceștia nu reduc substanțial capacitatea antioxidantă (*Manach și colab., 2004*).

7.3.3 Examenul histologic

În urma sacrificării puilor broiler, la 40 de zile au fost prelevate de la fiecare lot de pui (3 pui pe lot) fragmente de țesut din stomac (glandular, mecanic), intestin (duoden, cecum) și organe interne (inimă, rinichi, splină și ficat) pentru evaluarea histologică de rutină. Țesuturile au fost secționare (5 μ m) și colorate cu Hematoxină– Eozină – Albastru de metil (HEA), Acid Periodic-Fuxină Schiff (PAS) și May Grünwald Giemsa. Pentru fiecare țesut au fost analizate trei secțiuni iar modificările histopatologice au fost examinate la microscopul optic.

Referitor la modificările care au avut loc la nivelul **stomacului glandular** (proventricul), la toate loturile experimentale în *lamina propria* a mucoasei, în jurul glandelor tubuloase simple s-au evidențiat aglomerări limfoepiteliale pe suprafețe mari (fig.7.11;7.12, 7.13; 7.14).

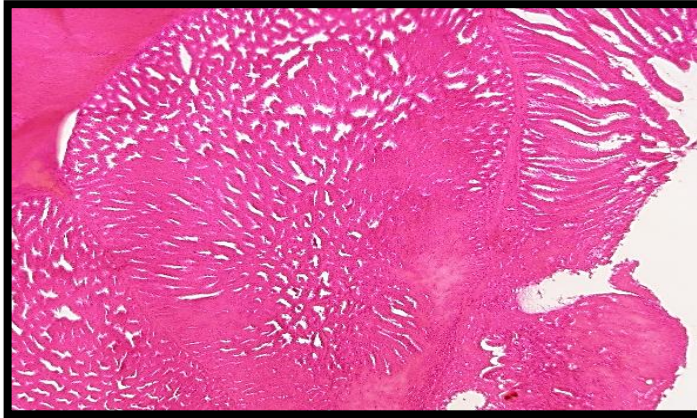


Fig. 7.10. Secțiune histologică prin stomacul glandular la LC - aspect normal (Col. HE x200)

Fig. 7.10. Histological section through the glandular stomach at LC – normal aspect (Col. HE x200)

Nu au fost evidențiate alte modificări prin secțiunile stomacului glandular la loturile experimentale, acestea prezentând un aspect normal.

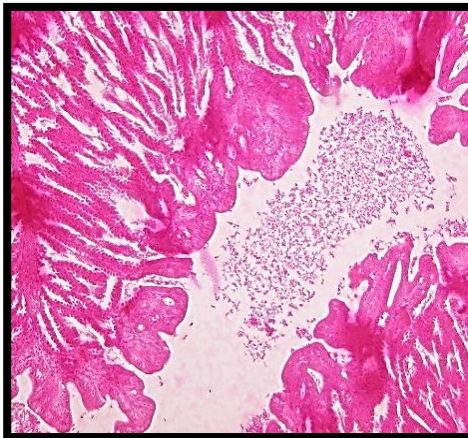


Fig. 7.11. Secțiune histologică prin stomacul glandular la LS-1% - stânga: Glanda saciformă cu aspect normal; dreapta: Aglomerare limfoepitelială în mucoasa stomacului glandular (Col HE x100)

Fig. 7.11. Histological section through the glandular stomach at LS -1% – left: The normal looking saccular gland; right: lymphoepithelial agglomeration in the glandular stomach's lining (Col HE x100)

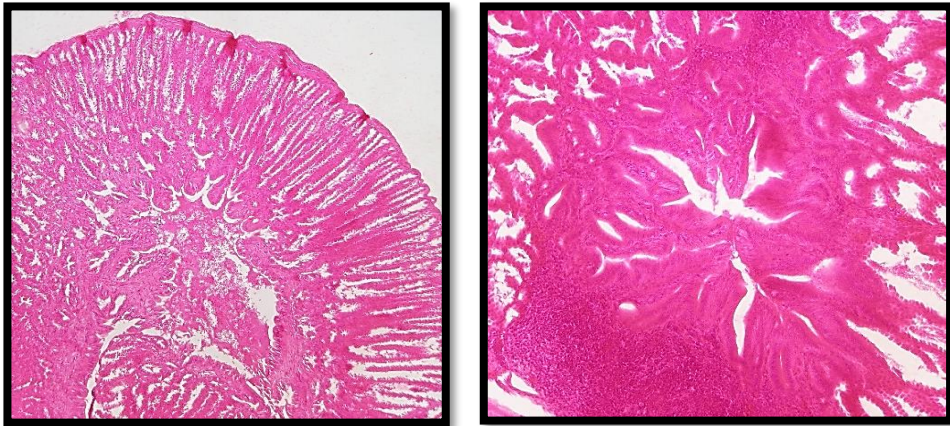


Fig. 7.12. Secțiune histologică prin stomacul glandular la LS-0,5% - stânga: Glandă saciformă cu secreție și celule exfoliate asociate; **dreapta:** Aglomerari limfoide în lamina propria a mucoasei (Col. HE x200)

Fig. 7.12. Histological section through the glandular stomach at LS-0.5% – left :saccular gland with secretion and associated exfoliated cells; **right:** Lymphoid aggregates in the lining's lamina propria (Col. HE x200)



Fig. 7.13. Secțiune histologică prin stomacul glandular la LT-1%, indicând aglomerări limfoepiteliale în lamina propria (Col HE x100).

Fig. 7.13. Histological section through the glandular stomach at LT-1%, indicating lymphoepithelial agglomerations in lamina propria (Col. HE x100)

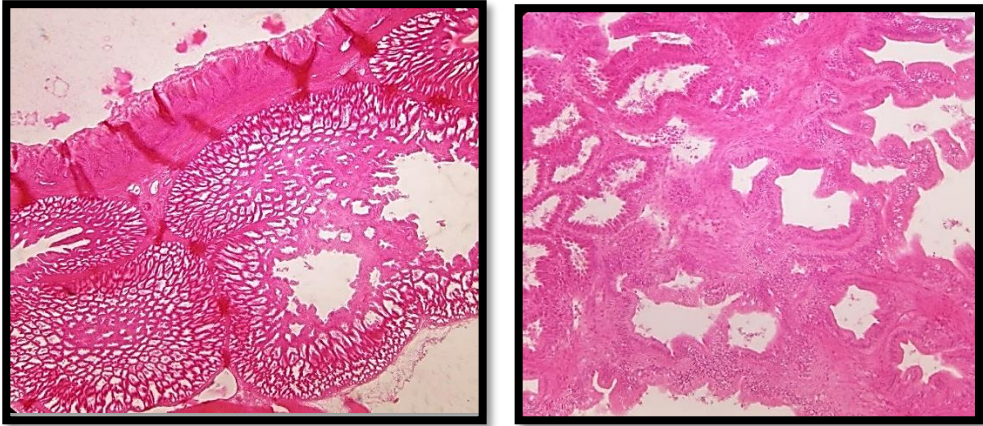


Fig. 7.14 Secțiune histologică prin stomacul glandular la LT-2%- stânga: Aglomerări limfoepiteliale în *lamina propria* a mucoasei stomacului; **dreapta:** Glande saciforme cu aspect normal, unele au epiteliul canalelor secundare cubic stratificat (Col HE x400)

Fig. 7.14. Histological section through the glandular stomach at LT-2%- left: lymphoepithelial agglomerations in stomach lining's *lamina propria*; **right:** normal looking saccular glands, some of them with the secondary channels's layered cubic epithelium (Col HE x400).

Stomacul muscular (pipota sau titrurator) se caracterizează prin dezvoltarea pronunțată a musculoasei, având rol de mărunțire a hranei (păsările sunt lipsite de dinți). Aceasta este alcătuită din 3 straturi: longitudinal extern, subțire; circular mijlociu, cel mai dezvoltat și oblic intern (Solcan, 2011; Cotea, 2005).

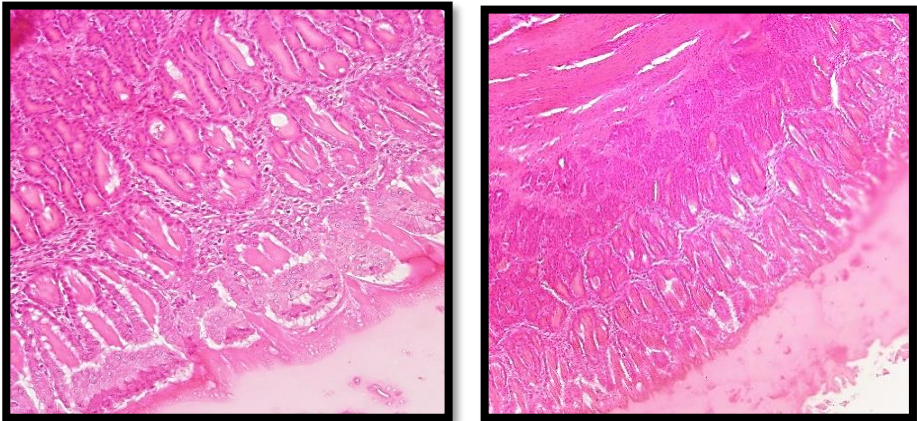


Fig. 7.15. Secțiune histologică prin stomacul mecanic la LEP- stânga:- aspect normal (col. HE x200); **la LS- 1% -dreapta:** aspect normal (Col HE x100)

Fig. 7.15. Histological section through the mechanical stomach at LEP - left:- normal aspect (Col. HE x200); at LS-1% - right: normal aspect (Col HE x100)

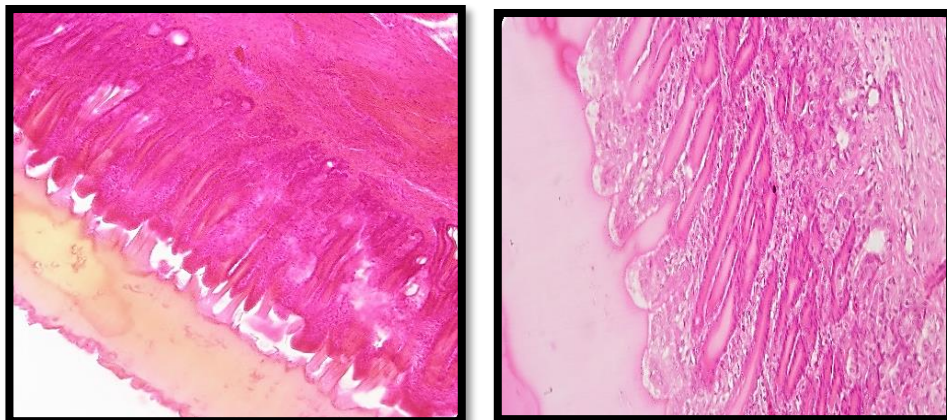


Fig. 7.16. Secțiune histologică prin stomacul mecanic la LS-0,5%- stânga, dreapta - aspect normal (col. HE x100, x200)

Fig. 7.16. Histological section through the glandular stomach at LS 0.5% – left, right: normal aspect (Col HE x200)

Mucoasa stomacului mecanic nu a prezentat modificări la loturile experimentale cu excepția puilor din LT-2%. La puii lotul LT-2% apare o reacție de tip alergic. În *lamina propria* se observă numeroase eozinofile, iar în cuticulă numeroase celule exfoliate.

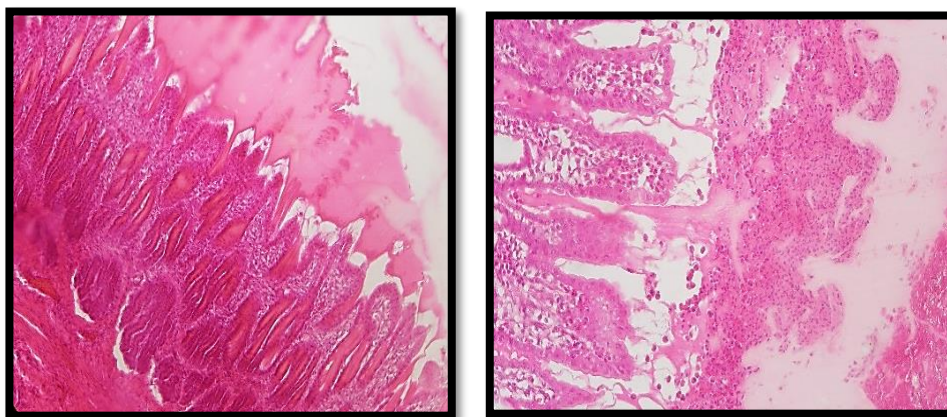


Fig. 7.17. Secțiune histologică prin stomacul mecanic la LT-1%.- stânga: Infiltrație limfoidă difuză în lamina propria (Col HE x200); la LT-2%- dreapta: Infiltrație eozinofilică în lamina propria. Cuticula prezintă și celule exfoliate în număr mare, cu numeroase eozinofile (Col. HE x400).

Fig. 7.17. Histological section through the mechanical stomach at LT-1% - left: Diffuse lymphoid infiltration in the lamina propria (Col HE x200); Eosinophilic infiltration in the lamina propria. at LT - 2% -right: The cuticule presents several exfoliated cells, with multiple eosinophils (Col. HE x400).

Hiperplazia și hipercheratoza mucoasei stomacului, respectiv a cuticulei, cu modificări evidente ar putea fi atribuită efectului iritant al extractului de struguri asupra mucoasei și submucoasei. Date din literatură cu referire la om și la animale sugerează că tractul gastrointestinal este o țintă sensibilă a toxicității (Araya și colab., 2004; Kudair și colab., 2012).

Intestinul subțire este principalul loc pentru absorbția produselor digerate. Starea funcțională al intestinului subțire se caracterizează parțial prin înălțimea vilozităților și adâncimea criptelor. Înălțimea vilozităților și raportul înălțime vilozități/adâncime cripte este legat de performanța de creștere și metabolizarea crescută a nutrienților, lucru care indică creșterea suprafeței de absorbție și contribuie la desfășurarea digestiei enzimatice și a transportului mai intens de substanțe nutritive de la suprafața vilozităților (Montagne și colab., 2003, Sieo și colab., 2005; Miles și colab., 2006).

Înălțimea vilozităților intestinale (μm) a fost foarte semnificativă ($p < 0,001$) la lotul LT-2% (6741 ± 461), și semnificativă ($p < 0,05$) la puii din loturile LS-1% (4442 ± 284), LEP (4194 ± 490) și LT-1% (4024 ± 436) comparativ cu lotul control (tabel. 7.9).

O particularitate a vilozităților intestinale a lotului LS-1% constă în prezența unui număr mare de vilozități principale din care se desprind vilozități secundare (fig. 7.19-d). Acestea au probabil rolul de a mări suprafața de absorbție a nutrienților. Adâncimea criptelor (μm) este foarte mare ($p < 0,001$) la loturile cu tescovină, la LT-1% (999 ± 52), LT-2% (967 ± 22) și semnificativă la LEP. La loturile cu semințe în hrană, adâncimea criptei a scăzut foarte semnificativ ($p < 0,001$) la lotul LS-1% și distinct semnificativ ($p < 0,01$) la lotul LS-0,5%. Raportul dintre înălțime vilozități/adâncime cripte este semnificativ mai mare la puii din lotul LS-1% (13,67) urmat de puii din loturile LS-0,5% (8,71), LT-2% (6,97) și LEP (5,72). În cazul lotului LT-1%, acesta a prezentat un raport mai scăzut dar nesemnificativ față de lotul LC. Aria vilozităților a fost foarte semnificativă la puii din LEP, distinct semnificativă la LS-1% și semnificativă la LS-0,5% și LT-1%.

Tab. 7.9. Parametrii histomorfologici ai duodenului și numărul plasmocitelor (secretoare de IgA) marcate pozitiv pentru IgA la puii broiler¹

Tab. 7.9. The duodenum's histomorphological parameters and the amount of positively marked for IgA plasma cells (IgA secretory components) of the studied broiler chickens¹

Parametrii	LC	LT-1%	LT-2%	LS-0,5%	LS-1%	LEP
Înălțimea vilozităților (μm)	3021±337	4024 ± 436*	6741± 461***	3567 ± 373 ^{NS}	4442 ± 284*	4194 ± 490*
Raport înălțime vilozități/adâncime cripte	4,86±0,28	4,03 ± 0,30 ^{NS}	6,97 ± 0,45**	8,71± 0,38***	13,67 ± 0,37***	5,72 ± 0,38 ^{NS}
Suprafața ariei vilozității (μm ² /vililor)	1724,67± 223,83	2020,97± 144,95*	1903,994 ±209,96 ^{NS}	2107,8± 120,790*	2791,126 ±132,664**	6108,973 ±340,489***
Înălțimea epiteliului (μm)	74 ± 9	98 ±10 ^{NS}	85 ±6 ^{NS}	125±13**	86 ± 10 ^{NS}	94 ± 26 ^{NS}
Adâncime cripte (μm)	621 ± 28	999± 52***	967± 22***	409 ± 56**	325 ±43***	733± 20*
Plasmocite IgA (Nr/10 ⁶ μm ²)	51,20 ± 1,53	49,80 ± 1,79 ^{NS}	129,50± 2,96***	54,90± 1,72 ^{NS}	76,40 ± 3,37***	158,20 ± 3,79***

Semnificația diferențelor între lotul LC și loturile experimentale: * = p<0,05; ** = p< 0,01; *** = p< 0,001, ^{NS}- p>0.05, (Medie ± Eroare standard)

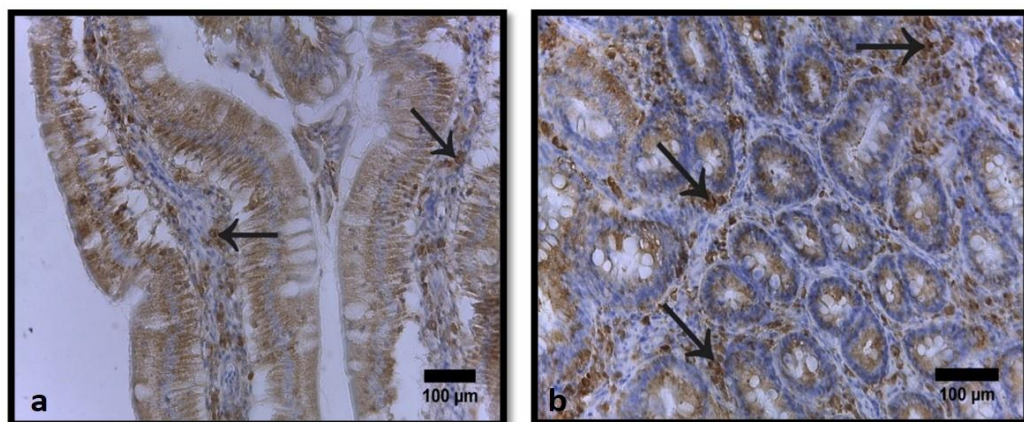


Fig. 7.18. Duodenul puilor din lotul control. (a) Plasmocite IgA (celule) în lamina propria a vilozităților duodenale (săgeți). Col IHC pentru IgA. (b) Plasmocite în lamina propria a mucoasei duodenale. Plasmocite IgA situate în spațiul interglandular. Col IHC pentru IgA. Celulele pozitive au fost colorate în maro (săgeți).

Fig. 7.18. The control group chicken's duodenum. (a) IgA plasma cells present in the duodenal villi's lamina propria (arrows). Col IHC for IgA. (b) Plasmocytes in the duodenal lining's lamina propria. IgA plasma cells present in the interglandular space. Positive cells were stained brown (arrows).

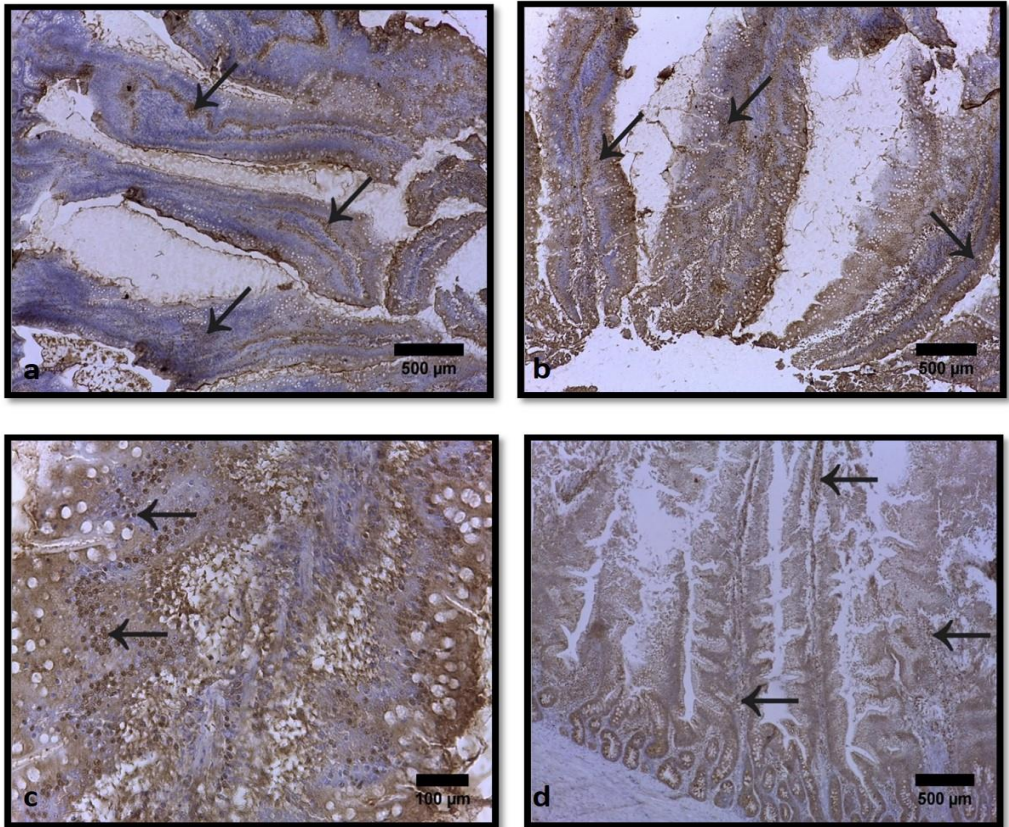


Fig. 7.19 (a) Duodenul puilor din lotul LT-2%. Villozități intestinale lungi cu un număr mare de plasmocite IgA în axul vilozităților (săgeți) și periglandular. Col IHC pentru IgA. **(b) Duodenul puilor din lotul LEP.** Villozități lungi cu un număr mare de plasmocite în lamina propria și intraepitelial (săgeți). Col IHC pentru IgA. **(c) Duodenul puilor din lotul LEP.** Villozități lungi cu un număr mare de plasmocite în lamina propria și intraepitelial (săgeți). Col IHC pentru IgA. **(d). Duodenul puilor din lotul LS-1%.** Villozități principale din care se desprind altele secundare. Plasmocite IgA în lamina propria a mucoasei. Col IHC pentru IgA. Celulele pozitive au fost colorate în maro (săgeți).

Fig. 7.19 (a) The LT-2% group chicken's duodenum. Long intestinal villi with a great number of IgA plasma cells in the villi shaft (arrows) and in the periglandular shaft. **(b) The LEP group chickens' duodenum.** Long villi with a great number of plasma cells in the lamina propria and intraepithelial. Col IHC for IgA. **(c) The LEP group chickens' duodenum.** Long villi with a great number of plasma cells in the lamina propria and intraepithelial (arrows) Col IHC for IgA. **(d) The LS-1% group chickens' duodenum.** Main villi from witch secondary villi derive. IgA plasma cells in the lining's lamina propria. Col IHC for IgA. Positive cells were stained brown (arrows).

Înălțimea epiteliului a fost distinct semnificativă ($p < 0,01$) la lotul LS-0,5% și semnificativă ($p < 0,05$) la lotul LT-1%. Nu au fost evidențiate diferențe semnificative la celelalte loturi experimentale.

Plasmocitele IgA au fost evidențiate în număr mare în *lamina propria* a vilozității intestinale la loturile LEP, LT-2% (fig. 7.19-a,b,c) și intraepitelial la loturile LT-1% (fig. 7.19-d). Numărul plasmocitelor IgA a fost foarte semnificativ ($p < 0,001$) la puii din loturile LEP, LT-2% și LS-1%. La lotul LT-1%, numărul a scăzut nesemnificativ ($p > 0,05$) față de lotul LC. Plasmocitele IgA pozitive apar atât în *lamina propria* din axul vilozităților și periglandular dar și intraepitelial (fig. 7.18 a,b; fig. 7.19 a,b,c,d).

Raportul înălțime vilozități/adâncime cripte este un indicator al capacității digestive a intestinului subțire, lucru care reiese și din studiul nostru. O creștere a acestui raport corespunde unei creșteri a digestiei și a absorbției (*Montagne și colab., 2003*).

Deși loturile LS-1% și LEP au prezentat valori mai mari ale înălțimii vilozității, adâncimii cripte și raportului înălțime vilozități/adâncime cripte, acestea nu pot fi corelate cu greutatea corporală a puilor obținute la 40 de zile. În cazul LEP, acest lucru poate fi explicat prin faptul că administrarea extractului de tescovină concentrat în polifenoli (1,82 g GAE/100 mL) după prima săptămână de experiment a avut un efect negativ asupra creșterii în greutate, efect care poate fi pus pe seama conținutului ridicat în taninuri. Același lucru poate fi explicat și în cazul lotului cu semințe LS-1%, proporția mai mare de semințe în hrana puilor a avut un efect negativ asupra creșterii puilor, lucru care poate fi datorat conținutului mai ridicat în polifenoli (5,23%) și în celuloză brută a semințelor de struguri (38,19%) putând astfel afecta digestibilitatea nutrienților și în final performanțele de creștere a puilor.

La aceleași loturi (LS-1% și LEP) după a 5-a săptămână de experiment (vârsta de 35 de zile a puilor) s-a evidențiat un spor de creștere semnificativ mai ridicat față de lotul de control, sporul mediu săptămânal fiind mai mare cu 14,96% (718,14 g/pui) la lotul LEP și cu 14,53% (715,47 g/pui) la LS-1% comparativ cu lotul de control (624,72 g/pui) (fig. 7.4). Acest lucru poate justifica creșterea înălțimii vilozităților și raportului înălțime vilozități/adâncime cripte la finalul experimentului. Din cele prezentate mai sus, am putea conchide faptul că în prima perioadă de creștere concentrația mai mare de polifenoli în extractul de tescovină sau în surse bogate în polifenoli (semințe) a avut un efect tardiv asupra creșterii, fiind necesară o perioadă de adaptare a organismului la acești compuși introduși în hrană. Astfel, îmbunătățirea parametrilor histomorfologici ai duodenului și a funcțiilor intestinale conduce la o mai bună absorbție a substanțelor nutritive și în final la ameliorarea performanțelor zootehnice.

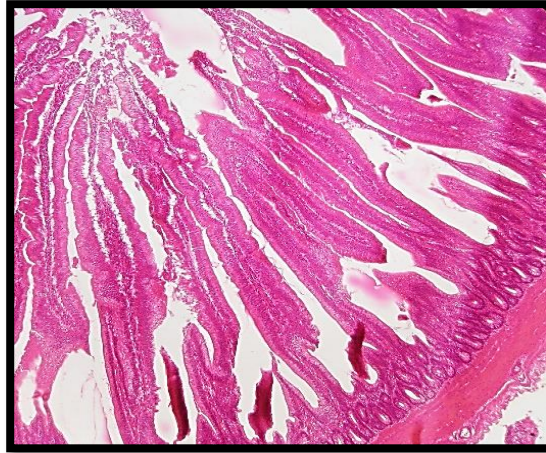


Fig. 7.20. Secțiune histologică prin duoden la LC, indicând vilozități intestinale cu procese degenerative la polul luminal (Col.HE x100).

Fig. 7.20. Histological section through the duodenum to LC, indicating intestinal villi with degenerative processes at the luminal pole (Col.HE x100).

Duodenul puilor din lotul LEP prezintă vilozități intestinale cu aspect normal. În lamina propria apare o infiltrație limfoidă difuză, normală (fig.7.21).

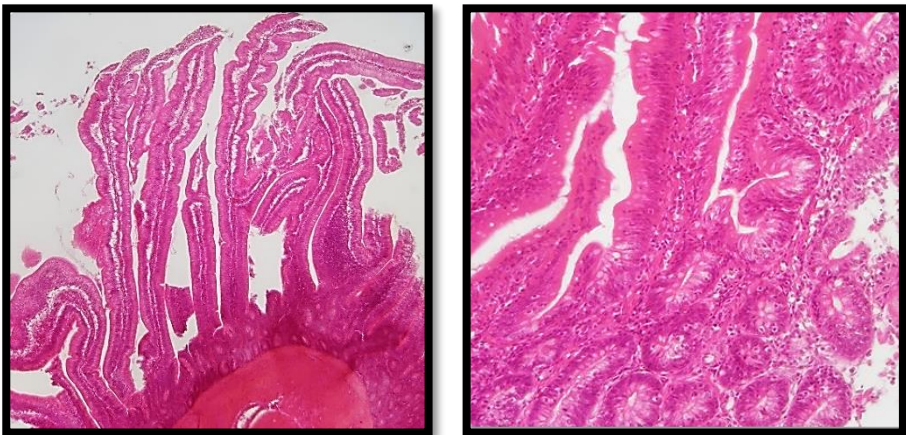


Fig. 7.21. Secțiune histologică prin duoden la LEP -stânga: Vilozități intestinale cu aspect normal (Col.HE x100) - dreapta: În lamina propria apare o infiltrație limfoidă difuză, normală (Col.HE x 400).

Fig. 7.21. Histological section through the duodenum to LEP - left: Intestinal villi with normal aspect (Col.HE x100) - right: a diffuse, normal lymphoid infiltration appears in the lamina propria (Col.HE x 400).

Vilozitățile intestinale ale puilor din lotul LS-1% și LS-0,5% sunt hipertrofiate cu pliuri secundare. Epiteliul intestinal prismatic cu platou striat alternează cu unul format din celule gigant multinucleate (fig.7.22; 7.23).

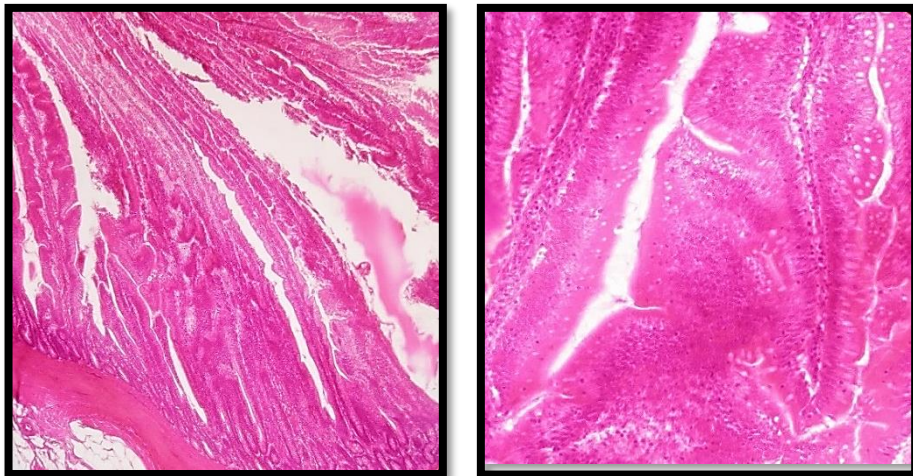


Fig. 7.22. Secțiune histologică prin duoden la LS-1%. Vilozitățile intestinale sunt hipertrofiate cu vilozități secundare. Epiteliul intestinal prismatic cu platou striat alternează cu unul format din celule gigant multinucleate (Col. HE x100 - stânga.; x400-dreapta.).

Fig. 7.22. Histological section through the duodenum to LS-1%. -The intestinal villi are hypertrophied with secondary villi. The prismatic intestinal epithelium with striated plate interchanges with an epithelium consisting of multinucleated giant cells (Col. HE x100 - left; x400- right).

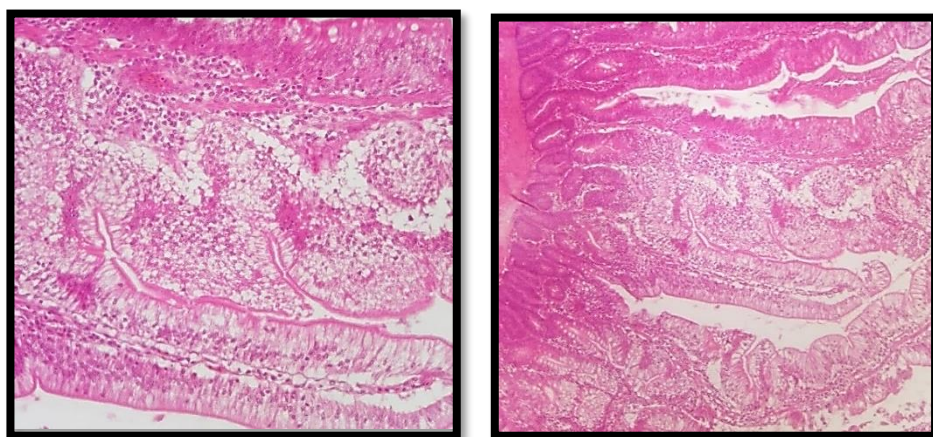


Fig. 7.23. Secțiune histologică prin duoden la lotul LS-0,5%. stânga, dreapta - Epiteliul mucoasei este prismatic simplu cu platou striat care alternează cu unul modificat format din celule multinucleate gigant. În lamina propria apare o infiltrație limfoidă difuză normală (Col HE x200).

Fig. 7.23. Histological section through the duodenum at the LS-0.5% group. left, right - The mucosal epithelium is prismatic, simple, with a striated plate and interchanges with a modified one, consisting of multinucleated giant cells. A diffuse, normal lymphoid infiltration appears in the *lamina propria* (Col HE x200).

În duodenul puilor din LT-1% se evidențiază aglomerări limfoepiteliale în *lamina propria* a mucoasei. Epiteliul prismatic simplu cu platou striat alternează cu cel format din celule multinucleate gigant (*fig.7.24*). La lotul LT-2% vilozitățile intestinale prezintă proliferații limfoepiteliale extinse caracteristice unei inflamații cronice cu proliferarea fibrelor conjunctive (*fig.7.25*). În intestin, infiltrațiile cu celule mononucleare în mucoasă se pot datora efectelor polifenolilor asupra sistemului imunitar (*Kudair și colab., 2012*).

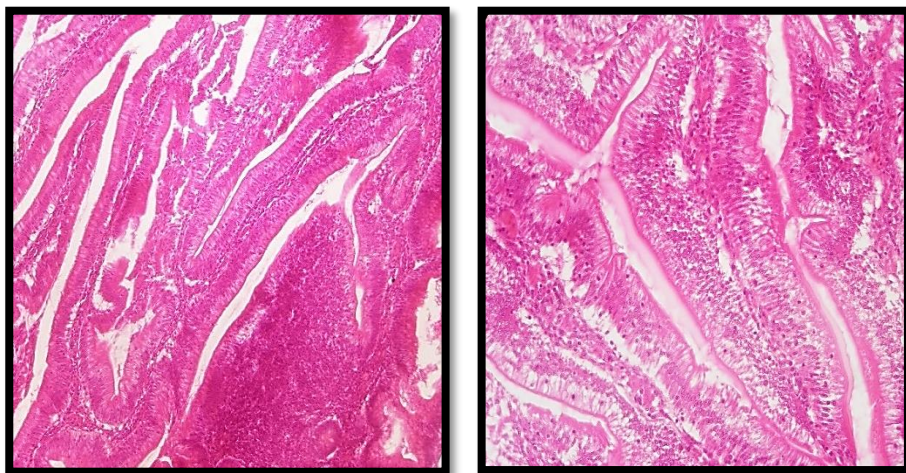


Fig. 7.24. Secțiune histologică prin duoden la lotul LT-1% - Aglomerare limfoepitelială în *lamina propria* a mucoasei. Epiteliul prismatic simplu cu platou striat alternează cu cel format din celule multinucleate gigant. (Col HE x200- **stânga**; x400- **dreapta**).

Fig. 7.24. Histological section through the duodenum at the LT-1% group- Lymphoepithelial agglomeration present in the lining's *lamina propria*. The prismatic simple epithelium with striated plate interchanges with an epithelium consisting of multinucleated giant cells (Col. HE x200 - **left**; x400- **right**).

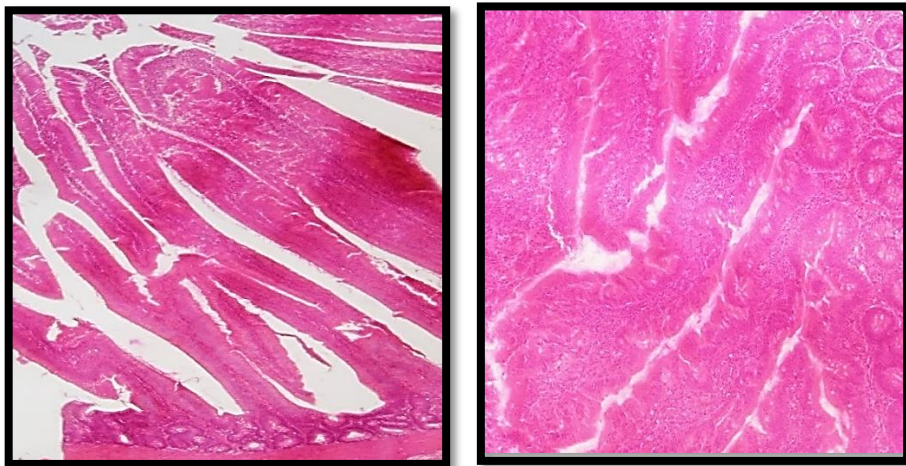


Fig. 7.25. Secțiune histologică prin duoden la LT-2% - Vilozități intestinale cu proliferare limfoidă importantă caracteristică unei inflamații cronice (Col HE x200)

Fig. 7.25. Histological section through the duodenum at the LT-2% group - Intestinal villi with important lymphoid proliferation, feature of a chronic inflammation (Col HE x200)

Au fost evidențiate modificări în morfologia intestinală în urma introducerii subproduselor vinicole în dietele șobolanilor, porcilor și la om (*Butler și Rogler 1992, Viveros și colab., 2011*). Suplimentarea dietei cu polifenoli a stimulat creșterea celulelor absorbante în peretele intestinului subțire, creșterea lungimii și diametrului vilozităților, precum și adâncimea și lățimea criptei duodenului (*Paul și colab., 2007*).

Administrarea în hrana puilor al extractului de tescovină bogat în polifenoli (6% în hrană), a determinat creșterea raportului înălțime vilozități/adâncime cripte în jejun ceea ce a condus la îmbunătățirea funcțiilor digestive, creșterea suprafeței de absorbție și expresia enzimelor din marginea în perie (*Viveros și colab., 2011*).

Ig A sintetizată de plasmocite, are un rol important în protejarea suprafeței mucoasei prin neutralizarea toxinelor, împiedicând atașarea virusurilor, bacteriilor de suprafața mucoasei (*Schroeder și colab., 2010*), având rol similar cu IgA de la mamifere (*Wieland și colab., 2004*).

Intestinul gros este format din cecum, colon și rect respectiv cloacă, cu structură histologică asemănătoare. Structura intestinului gros este reprezentată de mucoasă, submucoasă, musculoasă și seroasă (*Solcan, 2011; Cotea, 2005*).

Mucoasa la lotul control nu prezintă modificări morfologice (*fig.7.26*). La puii din lotul EP se observă vilozități mai lungi și o proliferare limfoidă difuză în

lamina propria (fig.7.26, imagine dreapta). La celelalte loturi în *lamina propria* se pot observa infiltrații limfoide difuze periglandular și proliferarea epiteliului glandular (fig. 7.27;7.28).

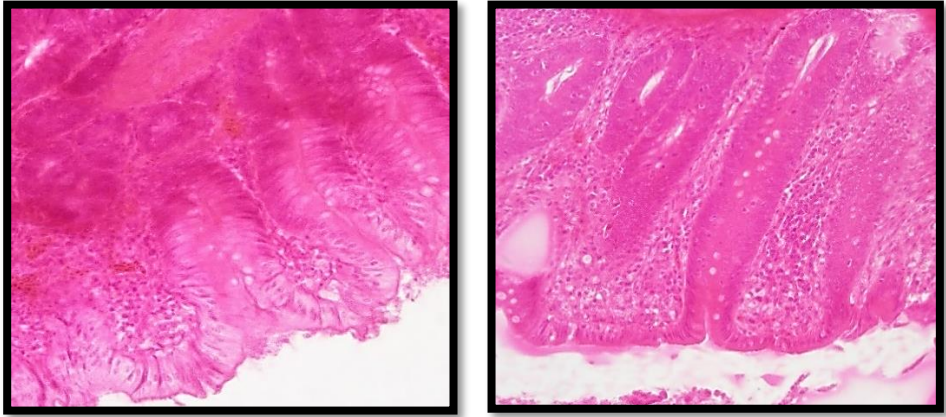


Fig. 7.26. Secțiune histologică prin cecum la lotul LC- stânga: incluzând glande tubulare simple cu infiltrație limfoidă difuză redusă, periglandular; în rest aspect normal (Col HE x400); **la lotul LEP-dreapta:** glande tubulare simple, mai lungi, în lamina propria infiltrație limfoidă moderată (Col HE x400).

Fig. 7.26. Histological section through the cecum to the LC group – left: including simple tubular glands with reduced diffuse lymphoid infiltration, periglandular; normal aspect (Col HE x400); **at the LEP group-right:** simple, longer tubular glands, mild lymphoid infiltration, including diffuse, periglandular lymphoid infiltration in the lamina propria (Col HE x400);

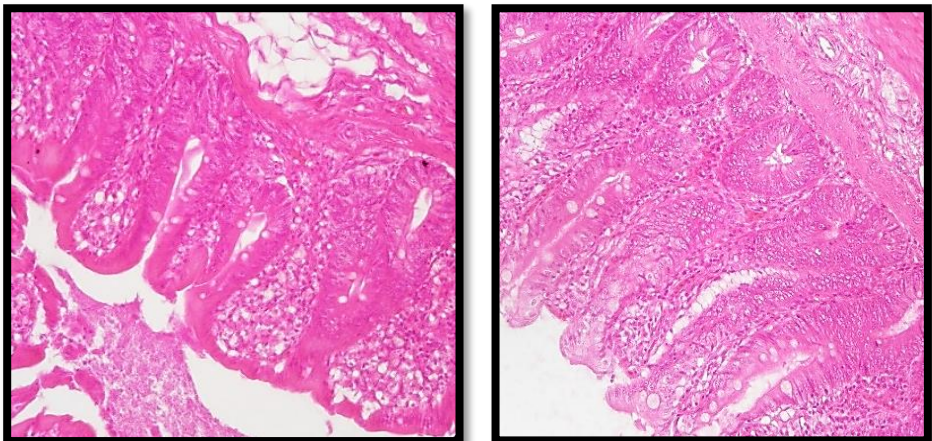


Fig. 7.27. Secțiune histologică prin cecum la LS-1%-stânga: incluzând infiltrație limfoidă difuză, periglandulară în lamina propria (Col HE x400); **la LS-0,5%-dreapta:** mucoasă cu infiltrație difuză limfoidă, glande cu epiteliul proliferat (Col HE x 400).

Fig. 7.27. Histological section through the cecum to the LS-1%-group- left: including diffuse lymphoid infiltration, periglandular in lamina propria (Col HE x400); **at LS-0,5%- – right:** diffuse mucosal lymphoid infiltration, proliferated epithelium glands (Col HE x 400).

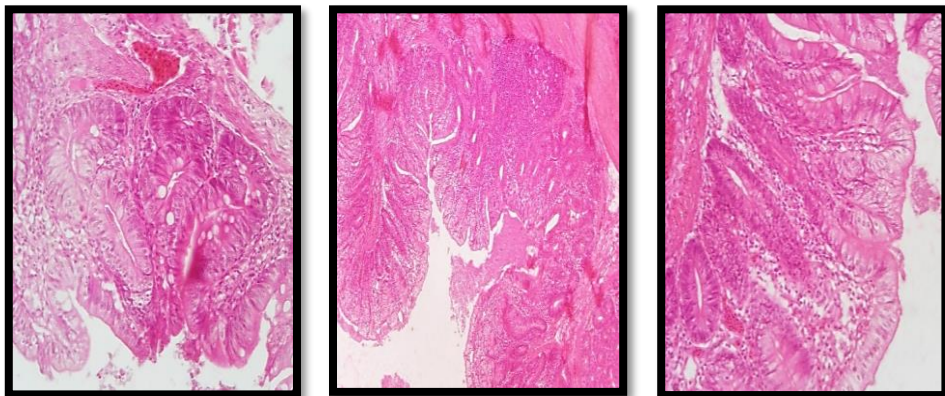


Fig. 7.28. Secțiune histologică prin cecum la LT-1%-stânga: cu aspect normal (Col HE x400); **la LT-2%-centru, dreapta:-** cu aspect normal (Col HE x 100 - **centru**; x 200 - **dreapta**).

Fig. 7.28. Histological section through the cecum to the LT-1% group: : normal aspect (Col HE x400); **at LT-2%-group- center, right:** normal aspect (Col HE x 100 - **center**; x 200 - **right**).

Cordul este un organ muscular care prin contracția ritmică pompează sângele în sistemul circulator. Regiunea centrală fibroasă a inimii numită impropriu schelet fibros, asigură baza de susținere a valvelor cardiace și constituie locul de origine și inserție a fibrelor cardiace (Solcan, 2011; Cotea, 2005).

Modificări ale miocardului s-au evidențiat doar la LT-1% și LT-2% în care sunt prezente celule musculare striate de tip cardiac ușor ondulate, capilare cu eritocite printre ele (fig.7.29). În rest aspect normal cu mici zone de necroză.

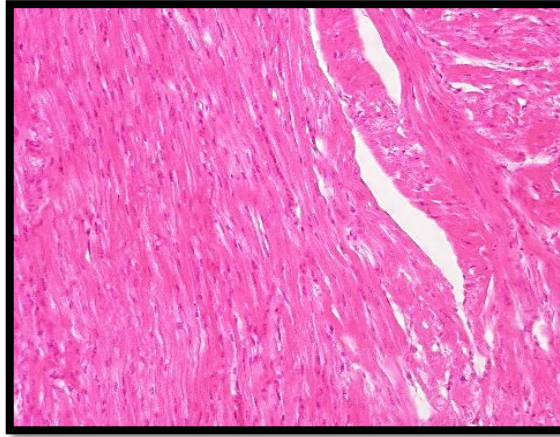


Fig. 7.29. Secțiune histologică prin cord la lotul LC -aspect normal (Col HE x200)

Fig. 7.29. Histological section through the heart at the LC group - normal aspect (Col HE x200)

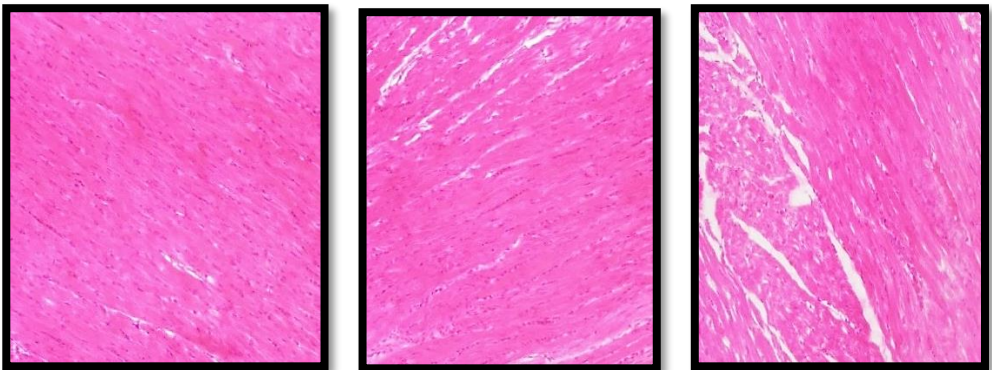


Fig. 7.30. Secțiune histologică prin cord la lotul LEP -stânga: aspect normal (Col HE x 100); la lotul LS-1%- centru: aspect normal (Col HE x200); la lotul LS-0,5%-dreapta: aspect normal. Col HE x200.

Fig. 7.30. Histological section through the heart at the LEP group - left: normal aspect (Col HE x 100); center: normal aspect at the LS-1% - (Col HE x200); at the LS-0,5%-right: normal aspect Col HE x200.

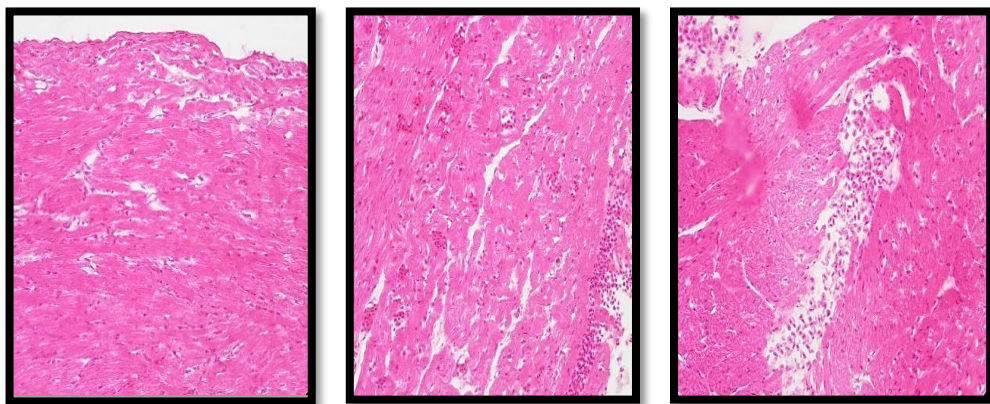


Fig. 7.31. Secțiune histologică prin cord la lotul LT-1% - stânga: incluzând fibre musculare striate de tip cardiac pe alocuri ușor ondulate, cu mici zone de necroză (Col HE x 200); **la lotul LT-2%- centru, dreapta:-** celule musculare striate de tip cardiac ușor ondulate, capilare cu eritocite printre ele. Aspect normal (**centru**), mici zone de necroză (**dreapta**). (Col HE x200).

Fig. 7.31. Histological section through heart at the LT-1% left: including cardiac striated muscle tissue, slightly curled sometimes, with small necrosis areas (Col HE x 200); **at the LT-2% group – center, right:** slightly curled cardiac striated muscle cells, with RBC capillary among them. Normal aspect (**center**), small necrosis areas (**right**) (Col HE x200).

Ficatul este considerat «laboratorul organismului», având funcții complexe, metabolice și de sinteză. Majoritatea substanțelor nutritive absorbite la nivel intestinal ajung prin vena portă la ficat, excepție fac lipidele complexe (chilimicronii) care sunt transportate prin circulația limfatică. Ficatul are un rol important în colectarea, transformarea și acumularea metaboliților precum și neutralizarea și eliminarea substanțelor toxice (Solcan, 2011; Cotea, 2005).

Ficatul puilor din loturile LC și LEP prezintă un aspect normal (fig.7.32). Ficatul la lotul LS-1% are aspect normal, cu excepția celulelor Kupffer care sunt activate. Se pot observa și aglomerări limfoide în spațiul portobiliar (fig.7.33).

Celulele Kupffer au următoarele funcții în organism: metabolizarea hematiilor senescente; digestia hemoglobinei; secreția unor proteine cu rol în imunitate; distrugerea bacteriilor care ajung în vena portă de la nivelul intestinului gros. Celulele Kupffer reprezintă aprox 15% din populația celulară hepatică, fiind localizate mai ales în regiunea periportală a lobulului hepatic (Solcan, 2011; Cotea, 2005).

Steatoză hepatică microcitară și macrocitară a fost evidențiată la loturile LS-0,5%, LT-1% și LT-2% (fig.7.34; 7.35). În ficatul puilor LT-2% în spațiile portobiliare apar și infiltrații limfoide (fig.7.35-imagine dreapta).

Lipidele și carbohidrații sunt depozitați în hepatocite sub formă de trigliceride respectiv glicogen, care au rolul de a asigura suportul energetic al organismului. În hepatocite sunt depozitate și vitaminele, în special vitamina A. Aceasta ajunge prin sânge de la intestin și este depozitată de celulele Ito din ficat (Solcan, 2011).

Celulele Ito, prezintă picături de lipide care conțin vitamina A având următoarele funcții într-un ficat sănătos: absorbția, depozitarea și eliberarea retinoizilor; sinteza și secreția mai multor proteine (colagenul), proteoglicani ai matricei extracelulare; secreția unor factori de creștere și a unor citokine; reglarea diametrului sinusoidelor hepatice ca răspuns la acțiunea diferitelor substanțe reglatoare (ex prostaglandinele, tromboxanul A2). În timpul bolilor hepatice, aceste celule sunt capabile să producă o cantitate mare de colagen, cauzând fibroza caracteristică cirozei hepatice (Cotea și Cotea, 2006).

Infiltrația cu celule mononucleare, în special în ficat, stomac și formarea de granuloame precoce în ficat, pot fi atribuite compușilor activi precum flavonoizii antioxidanți și alcaloizii ce pot acționa ca stimulatori imunitari. Unii autori (Ohtani., 2007; Kudair și colab., 2012) sugerează unele creșteri ale imunității anti-tumorale în cancerul colorectal la om, observându-se că infiltrațiile limfocitare sunt semnificative în acest tip de cancer (Ohtani, 2007).

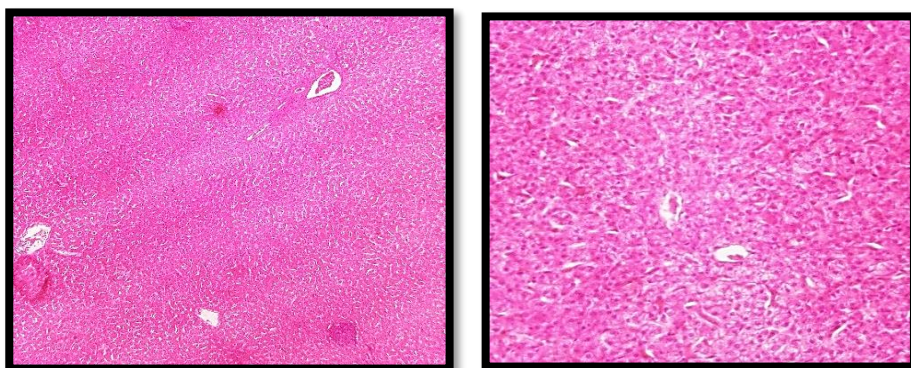


Fig. 7.32. Secțiune histologică prin ficat la lotul LC – stânga: aspect normal (Col.HE x 100) la lotul LEP -dreapta: aspect normal (Col.HE x 200)

Fig. 7.32. Histological section through the liver at LC group - left: normal aspect (Col.HE x 100) at the LEP group - right: normal aspect (Col.HE x 200)

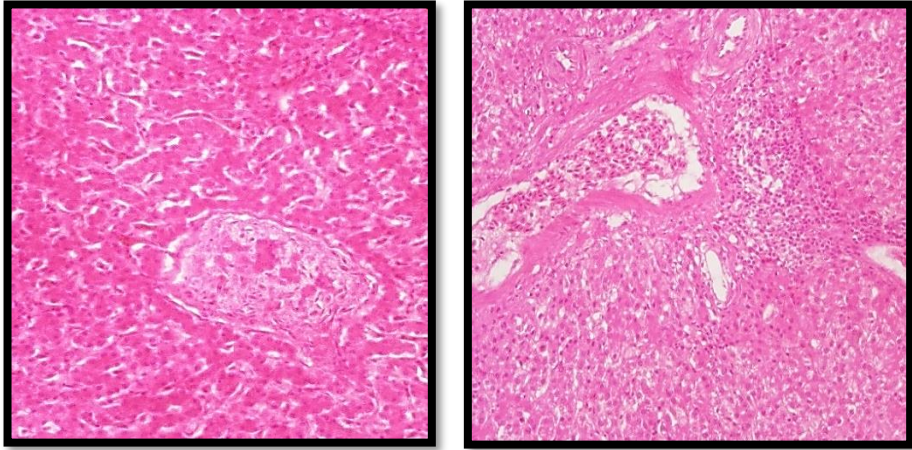


Fig. 7.33. Secțiune histologică prin ficat la lotul LS-1%-stânga: aspect normal, celule Kupffer activate (Col HE x200). **-dreapta:** Aglomerare limfoidă în spațiul portobiliar (Col HE x100).

Fig. 7.33. Histological section through the liver at LS-1% group left: - normal aspect, activated Kupffer cells (Col HE x200). **right:** lymphoid agglomeration in the porto biliary space (Col HE x100).

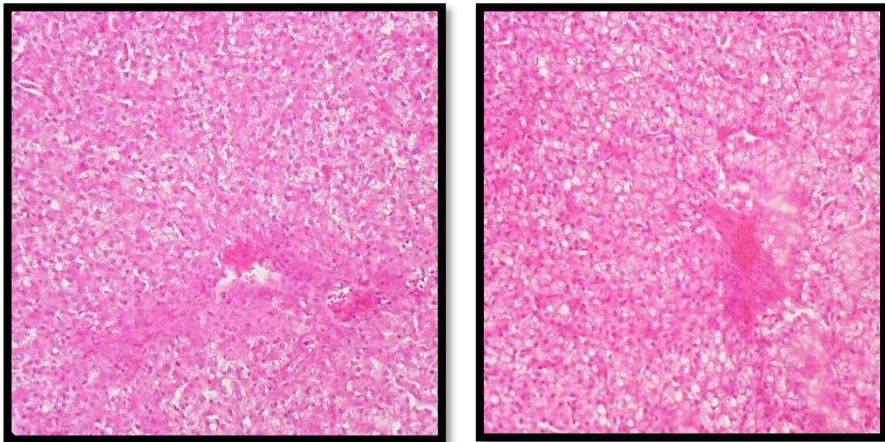


Fig. 7.34. Secțiune histologică prin ficat la lotul LS-0,5%- stânga, dreapta: incluzând steatoză hepatică microcitară și macrocitară (Col HE x200)

Fig. 7.34. Histological section through the liver at LS-0.5% group- left, right: including microcytic and macrocytic hepatic steatosis (Col HE x200)

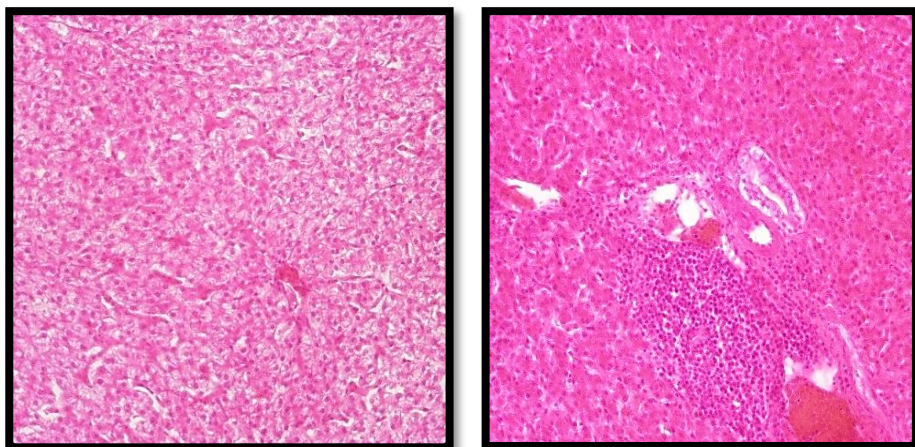


Fig. 7.35. Secțiune histologică prin ficat la lotul LT-1% - stânga: Steatoză microcitară (Col HE x 200) la lotul LT-2% - dreapta: infiltrație limfoidă în spațiul portobiliar, celule Kupffer activate (Col HE x200)

Fig. 7.35. Histological section through the liver at LT-1% group – left: microcytic hepatic steatosis (Col HE x 200) at LT-2% group – right: lymphoid infiltration, in the porto biliary space, activated Kupffer cells (Col HE x200)

Splina este cel mai mare organ limfatic din organism și singurul situat pe traiectul circulației sanguine. Prin numărul mare de celule care fagocitează, ea are un rol important în reținerea antigenilor care pătrund prin sistemul circulator sanguin. De asemenea este considerată *cimitirul eritrocitelor* deoarece are o funcție hemolitică, în splină fiind distruse eritrocitele senescente. Splina, alături de celelalte organe limfoide, are funcție limfopoietică, produce limfocite activate care vor fi eliberate în sânge (Solcan, 2011; Cotea, 2005).

Splina nu prezintă modificări morfologice la loturile experimentale, secțiunile realizate pe splină relevă aspecte normale.

Măduva osoasă a fost supusă unei proliferări ale celulelor stem cu prezența unui număr mare de megacariocite. Hiperplazia țesutului hematopoetic poate fi determinată de anemia hemolitică, fiind un răspuns fiziologic obișnuit cu scopul de a crește producția de celule sanguine în măduva osoasă cu forme imature ce apar în circulație, indicând că eritropoeza compensatorie a fost supresată. Cu alte cuvinte, măduva osoasă a loturilor experimentale, departe de a fi inhibată, produce de fapt celule roșii într-o rată considerabil mai rapidă decât în mod normal, având o însemnătate crescută pentru a ajuta animalul să-și mențină indicii hematologici în vederea compensării pierderilor continue de sânge (Kudair și colab., 2012).

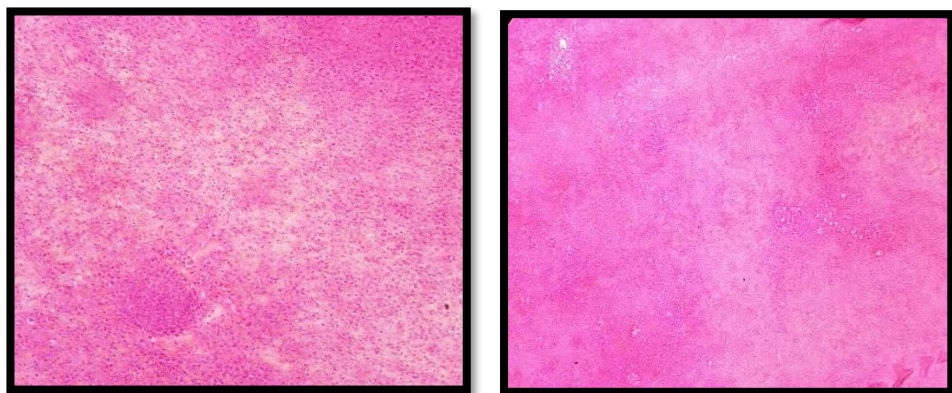


Fig. 7.36. Secțiune histologică prin splină la lotul LC- stânga: Aspect normal (Col HE x200)

la lotul LEP-dreapta: Aspect normal (Col HE x100).

Fig. 7.36. Histological section through the spleen at the LC group – left: normal aspect (Col HE x200) to the LEP group – right: normal aspect (Col HE x100).

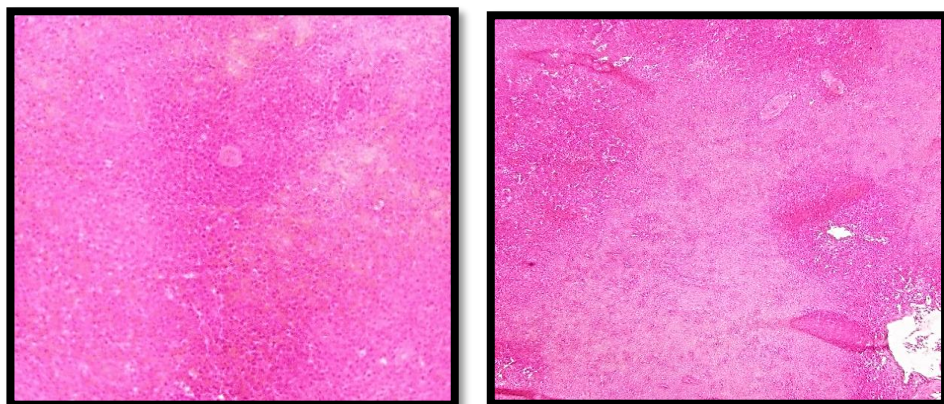


Fig. 7.37. Secțiune histologică prin splină la lotul LS-1% - stânga: Aspect normal (Col HE x200) la lotul LS-0,5% - dreapta: aspect normal (Col HE x100)

Fig.7.37. Histological section through the spleen at the LS-1% group - – left: normal aspect (Col HE x200) to the LS-0.5% - right: normal aspect (Col HE x100).

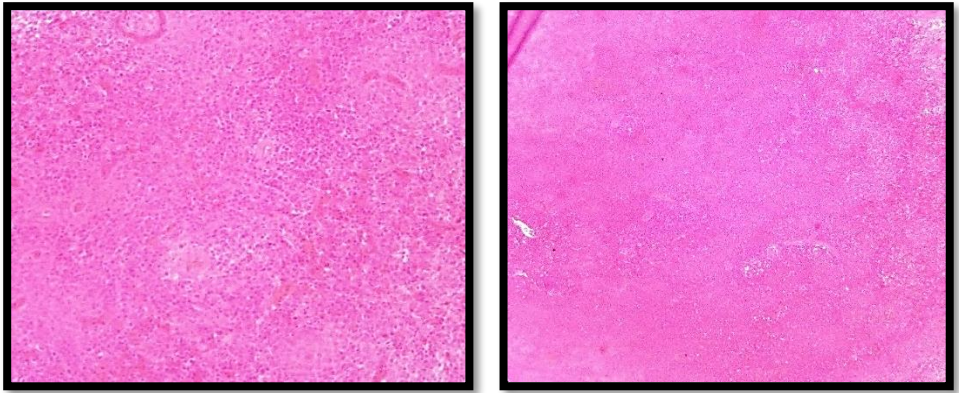


Fig. 7.38. Secțiune histologică prin splină la lotul LT-1% - stânga: Aspect normal (Col HE x200) la lotul LT-2%- dreapta: Aspect normal (Col HE x100).

Fig. 7.38. Histological section through the spleen at the LT-1% group – left: normal aspect (Col HE x200) at the LT-2%- right: normal aspect (Col HE x100).

Rinichiul asigură reglarea osmotică a celorlalte lichide ale corpului. Este acoperit de o capsulă fibroasă. La mamiferele inferioare este format dintr-un singur lob, constituit dintr-o piramidă Malpighi (care are formă de con) (Solcan, 2011).

Corpusculii Malpighi sunt responsabili pentru filtrarea plasmei sanguine. Corpusculul Malpighi este format din capsulă cu peretele epitelial dublu Bowmann și glomerul (Cotea, 2005).

Rinichiul nu prezintă modificări morfologice la LC (fig.7.39). La celelalte loturi experimentale apar corpusculi Malpighi normali care alternează cu unii care prezintă caracteristicile glomerulonefritei, cu numeroase celule la nivelul glomerulului și nodulii formați din mononuleate.

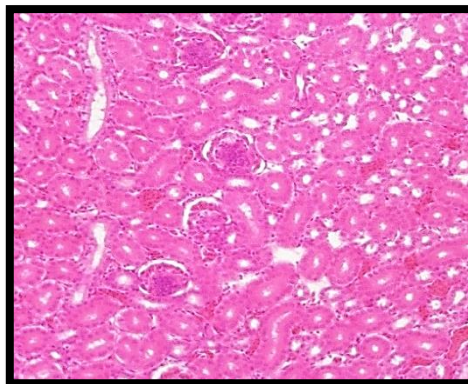


Fig. 7.39. Secțiune histologică prin rinichi la lotul LC- Aspect normal (Col HE x200)

Fig. 7.39. Histological section through the kidneys at LC group - normal aspect (Col HE x200)

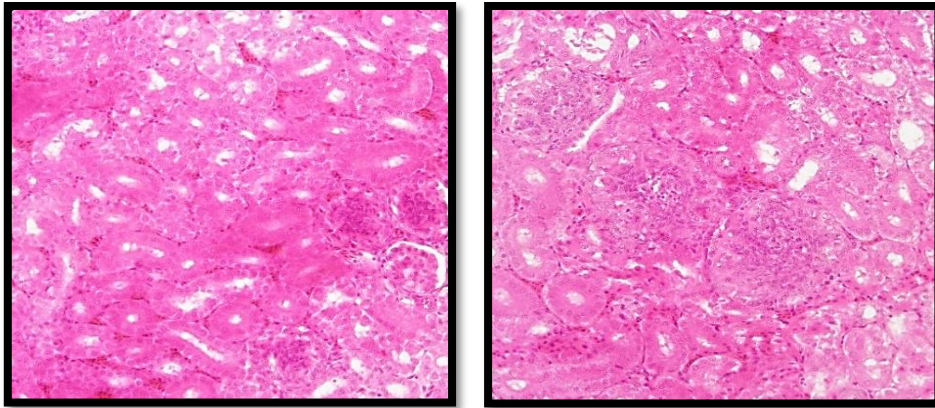


Fig. 7.40. Secțiune histologică prin rinichi la lotul LEP - stânga: aspect normal (Col HE x200); dreapta: Corpusculi Malpighi măriți în volum cu numeroase celule specifice glomerulonefritei (Col HE x200)

Fig. 7.40. Histological section through the kidneys at LEP group - left: normal aspect (Col HE x200); right: volume-increased Malpighi corpuscles with multiple glomerulonephritis specific cells (Col HE x200)

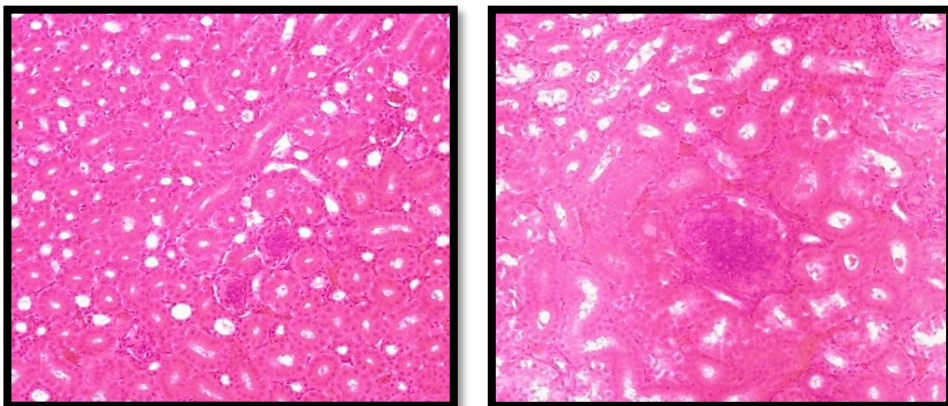


Fig. 7.41. Secțiune histologică prin rinichi la lotul LS-1% Corpuscul Malpighi cu hipercelularitate la nivelul glomerulului. Tubi uriniferi cu aspect normal (Col HE x100 - stânga;; x 200-dreapta).

Fig. 7.41. Histological section through the kidneys at the LS-1% Malpighi corpuscles with hypercellularity in the glomerulus. Uriniferous tubes with normal aspect (Col HE x100 - left;; x 200-right).

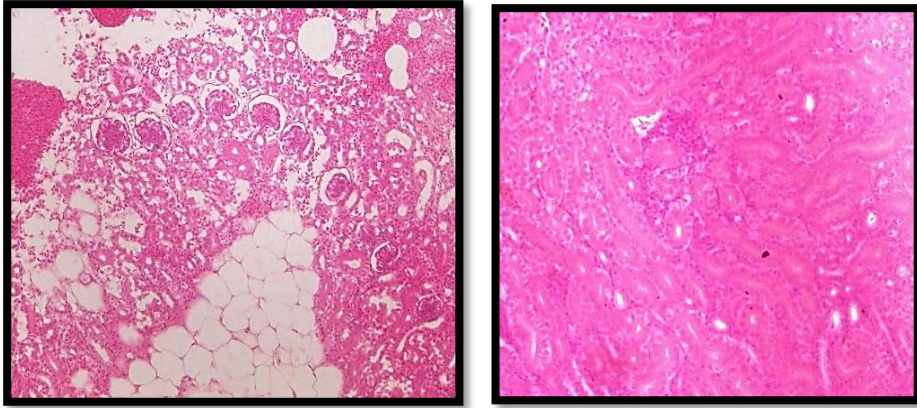


Fig. 7.42. Secțiune histologică prin rinichi la lotul LS-0,5% - stânga: Mici zone de congestie. Corpusculii Malpighi și tubii uriniferi cu aspect normal (Col. HE x200); **la lotul LT-1%- dreapta:** Tubii contorți primari prezintă semne de degenerare hidropică, reversibilă (Col. HE x 200).

Fig. 7.42. Histological section through the kidneys at LS-0.5% - left: Small congestion areas. Malpighi corpuscles and uriniferous tubes with normal aspect (Col. HE x200); **at the LT- 1% group right:** Primary convoluted tubes show signs of reversible hydropic degeneration (Col. HE x 200).

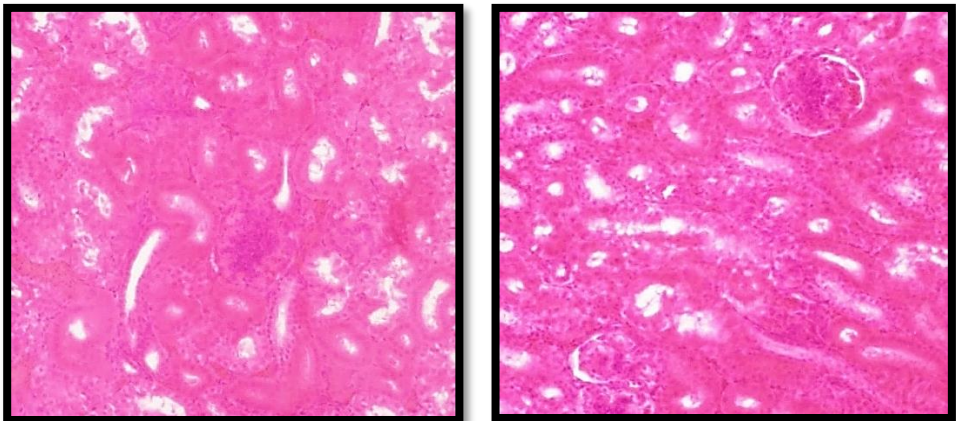


Fig.7.43. Secțiune histologică prin rinichi la lotul LT-2% - stânga, dreapta: Corpuscul Malpighi cu numeroase celule la nivelul glomerulului, lumenul tubilor uriniferi este evident (Col. HE x 200.)

Fig.7.43. Histological section through the kidneys at the LT-2% group – left, right: Malpighi corpuscle with multiple cells in the glomerulus, the uriniferous tubes' lumen is evident (Col. HE x 200)

7.4 CONCLUZII PARȚIALE

- rezultatele obținute în cercetările proprii referitoare la performanțele realizate de puii broiler în urma introducerii în hrana acestora unor subproduse vinicole, au evidențiat o evoluție foarte bună privind greutatea corporală medie la puii din lotul care a primit în hrană o cantitate de 0,5% semințe (LS-0,5%), pe toată durata creșterii, aceasta fiind semnificativ mai mare ($p < 0,01$) față de lotul de control.
- introducerea tescovinei în proporție de 1 și 2% în hrana puilor broiler a fost benefică, cu o ușoară influență pozitivă asupra performanțelor de creștere. Puii din loturile cu tescovină în hrană au realizat greutate corporale medii superioare cu 32,2 g (1,2%) la lotul LT-1% și cu 73,8 g (2,74%) la lotul LT-2%. Cele mai reduse greutăți medii corporale au fost înregistrate de lotul LEP, cu 4,41% și de lotul LS-1% cu 0,70%.
- puii broiler care au primit în nutrețul combinat o proporție de 0,5% semințe, respectiv 1 și 2% tescovină au realizat o conversie mai bună a hranei, la 40 de zile, valorile obținute fiind mai reduse față de lotul de control cu 3,97% la lotul LS-0,5%; cu 2,66% la LT-1% și cu 1,73% la LT-2%.
- proporția de 1% semințe în hrana puilor broiler a afectat performanțele de creștere, putând avea un efect tardiv asupra creșterii puilor. Pe întreaga perioadă de creștere puii au înregistrat greutăți corporale medii și consumuri de hrană mai reduse, comparativ cu lotul de control.
- includerea extractului de polifenoli în apa de băut a puilor din lotul 1,5% LEP a afectat performanțele de creștere încă din prima perioadă de experiment, sporurile mai scăzute s-ar putea datora nivelului ridicat de polifenoli din extractul de tescovină având un posibil efect tardiv asupra creșterii puilor.
- activitatea antioxidantă și indicii hematologici ai seriei roșii investigați nu au evidențiat modificări importante la puii din loturile experimentale care au primit în hrană subproduse vinicole.
- leucocitele din sângele periferic s-au modificat la toate loturile experimentale, comparativ cu lotul de control. Astfel, WBC a crescut semnificativ ($p < 0,01$) la lotul LT-1% (prin reducerea limfocitelor și scăderea raportului Hf/Lf) dar a scăzut semnificativ ($p < 0,01$) la lotul LT-2% (prin reducerea heterofilelor – $p < 0,05$ și a raportului Hf/Lf) – dovada a efectului imunomodulator, dependent de concentrația în polifenoli a tescovinei. În plus, eozinofilele au crescut semnificativ la lotul LS-1% ($p < 0,01$) și la lotul cu LEP ($p < 0,05$), iar bazofilele au crescut la toate

loturile experimentale, semnificativ la loturile cu LS-0,5% și LEP ($p < 0,05$) și foarte semnificativ la lotul LT-2% ($p < 0,001$) – dovada a unei reactivități hiperimune la concentrațiile mari de polifenoli. În același timp, la loturile experimentale s-a evidențiat prin coloratie IHC un număr mare de plasmocite IgA în *lamina propria* a vilozităților intestinale, creșterile fiind foarte semnificative la loturile cu LT-2%, LS-1% și LEP ($p < 0,001$). Polifenolii (flavonoizii) prezenți în subprodusele vinicole ar putea avea un efect protector asupra organismului prin neutralizarea radicalilor liberi (efecte antioxidante) și activarea sistemului imunitar, stimulând producția de globule albe, în vederea protejării organismului față de agenții infecțioși.

- examenul histologic nu a scos în evidență modificări morfologice importante la nivelul organelor interne la loturile experimentale, acestea au prezentat în general, un aspect normal.
- creșterea înălțimii vilozităților duodenale a fost foarte semnificativă la lotul LT-2% ($p < 0,001$), și semnificativă ($p < 0,05$) la puii din loturile LT-1%, LS-1% și LEP față de lotul LC. Creșterea raportului înălțime vilozități/adâncime cripte a fost asociată cu îmbunătățirea performanțelor de creștere la loturile LT-2% și LS-0,5%.
- subprodusele vinicole ar putea fi folosite ca stimulatori de creștere în hrana puilor broiler putând să favorizeze buna funcționare a intestinului, măbind suprafața de absorbție a nutrienților, și inducând, dependent de doză, efecte imunomodulatoare locale și sistemice.

CAPITOLUL VIII. INFLUENȚA UNOR SUBPRODUSE DE VINIFICAȚIE UTILIZATE ÎN ALIMENTAȚIA GĂINILOR OUĂTOARE ASUPRA PERFORMANȚELOR PRODUCTIVE ȘI A CALITĂȚII OUĂLOR OBȚINUTE

CHAPTER VIII. THE INFLUENCE ON THE PRODUCTION PERFORMANCE AND THE QUALITY OF EGGS OBTAINED OF SOME WINE INDUSTRY BY-PRODUCTS USED IN THE LAYING HENS FEEDING

8.1 PLANUL DE ORGANIZARE AL CERCETĂRILOR

8.1.1 Obiectivele cercetărilor

Obiectivele acestui studiu au constat în urmărirea parametrilor productivi și calitativi ai oului ca urmare a introducerii unor subproduse vinicole (tescovină și semințe) în hrana găinilor ouătoare. Astfel, pe parcusul derulării experimentului, s-au urmărit: evoluția greutatei corporale, producția de ouă, consumul de nutreț, conversia hranei și starea de sănătate a păsărilor.

Pentru a urmări unele efecte ale subproduselor vinicole asupra calității ouălor am considerat că cel mai relevant parametru fizic de calitate al ouălor pe care îl putem urmări este gradul de proapețime. Astfel, s-a evaluat calitatea ouălor proaspete recoltate în prima zi și după 30 de zile de administrare cu subproduse vinicole în hrana găinilor. Pentru evaluarea gradului de degradare al proapețimii oului pe perioada stocării, acestea au fost depozitate la frigider la temperatura de 4°C, iar la sfârșitul fiecărei perioade de depozitare: 7, 14, 21, 28 de zile, s-au determinat parametrii fizici de calitate a oului, același procedeu a fost repetat și în a doua lună de experiment, după 30 de zile.

Au fost recoltate ouă cinci zile consecutiv de la cele 4 loturi de experiență pentru depozitare la frigider la 4°C (timp de 0, 7, 14, 21 și 28 de zile) iar același procedeu a fost repetat și în a doua lună de experiment, după 30 de zile.

Ouăle cu anomalii morfologice (ouă prea mari, ouă prea mici, ouă cu coajă rău formată sau ouă fără coajă, etc) cât și pierderile în timpul recoltării au fost identificate și înregistrate pe fiecare lot în parte și apoi raportate la producția totală de ouă.

Indicatorii fizici analizați la ouăle proaspete au fost: greutatea medie a oului și a componentelor sale, grosimea cojii, culoarea gălbenușului, prospețimea apreciată prin valoarea indicelui Haugh, greutatea specifică (prin metoda soluțiilor saline) și punctele de apreciere ale prospețimii (indicele albuș și gălbenuș).

Indicatorii fizici interni de calitate analizați pe perioada stocării ouălor la 4°C au fost: greutatea oului, greutatea specifică (prin metoda soluțiilor saline), indicelui Haugh, indicele albușului și gălbenușului.

De asemenea, la sfârșitul experimentului (42 zile) s-au prelevat probe de ouă proaspete pentru determinarea statusului antioxidant total (TAS) din componentele oului (albuș, gălbenuș), colesterolului și acizilor grași din gălbenușul de ou cât și probe de sânge pentru determinarea TAS –ului din sângele găinilor.

8.1.2 Organizarea și desfășurarea cercetărilor

În studiul experimental realizat pe găinile ouătoare, în perioada 20 martie-30 aprilie 2015, s-a urmărit efectul tescovinei integrale și al semințelor utilizate în hrană, asupra parametrilor productivi și calitativi ai oului.

Experimentul s-a desfășurat în hala de găini ouătoare aparținând Biobazei Facultății de Zootehnie a USAMV „Ion Ionescu de la Brad” Iași.

Cercetarea s-a realizat pe un număr de 48 găini ouătoare din hibridul comercial cu penaj maro Tetra-SL LL împărțit în patru loturi, respectiv un lot control (LC) și trei loturi experimentale (LT-2%, LT-4%, LS-2%) formate din câte 12 găini fiecare. Schema experimentală este prezentată în tabelul 8.1.

Păsările au fost ținute în baterii structurate pe trei nivele, de tip BP3, oferind condiții pentru urmărirea consumului de nutreț și a producției de ouă. Au fost folosite păsări în vârstă de 60 de săptămâni.

Tab. 8.1. Planul de organizare al cercetărilor

Tab. 8.1. Research organization design

Lotul	Hrană administrată	Subprodus vinicol	Obiective urmărite în experiment
Control LC	Nutreț combinat specific hibridului „Tetra-SL LL”	-	Evaluarea parametrilor bioproductivi: • Evoluția greutateii corporale • Producția de ouă și intensitatea de ouat • Consumul de nutreț și conversia hranei • Starea de sănătate a păsărilor
Experimental LT-2%		Tescovină 2%	Evaluarea calității ouălor proaspete la debutul și după 30 de zile de experiment • Incidența ouălor cu anomalii morfologice • Greutatea medie a ouălor și a componentelor acestora
Experimental LT-4%		Tescovină 4%	• Greutatea specifică • Grosimea coji de ou • Indicele Haugh • Prospețimea oului (Ia, Ig) • Culoarea gălbenușului
Experimental LS-2%		Semințe 2 %	Evaluarea unor indicatori biochimici de calitate la ouăle proaspete • Acizii grași și colesterolul total • Activitatea antioxidantă Evaluarea activității antioxidante din serul găinilor Evaluarea gradului de degradare al prospețimii acestora pe perioada stocării (28 zile): • Greutatea ouălor • Greutatea specifică • Indicele Haugh • Indicele albușului • Indicele gălbenușului

8.1.3 Condiții asigurate în vederea desfășurării cercetărilor

Pentru a se asigura condiții de igienă, înainte de introducerea în adăpost a efectivului de găini ouătoare, s-au efectuat operațiuni specifice de curățenie și dezinfecție a halei (văruirea pereților), a echipamentelor de lucru, a căilor de acces cu diferite soluții dezinfectante (clor, cloramină, și viroshield pe bază de glutaraldehidă).

De asemenea, a fost dezinfectată și conducta de apă cu o soluție decontaminantă de 2% Cid 2000 (100 litri de apă și 2 litri produs), produs care are în compoziția sa: peroxid de hidrogen, acid peracetic și acid acetic. Acest produs are un puternic efect de oxidare prin împiedicarea depunerii calcarului, reduce numărul de microorganisme din conducta de apă, îndepărtând astfel materiile organice din sistemele de adăpare. După dezinfecție, conductele au fost bine spălate cu apă curată. Adăparea s-a făcut cu adăpători automate de tip niplu, câte 3/cușcă. Perioada de decontaminare a durat aproximativ două săptămâni iar în ultimele zile hala a fost lăsată într-o perioadă de vid sanitar.

Păsările au fost ținute în baterii structurate pe trei nivele, de tip BP3, oferind condiții pentru urmărirea consumului de nutreț și a producției de ouă.

Cerințele referitoare la condițiile de temperatură și umiditate din adăpost s-au făcut după ghidul tehnologic specific hibridului Tetra-SL LL.

Pe toată perioada experimentului, temperatura din hală s-a menținut relativ constantă (19-20°C), conform instrucțiunilor din manualul de management al hibridului studiat. Temperatura din hală a fost înregistrată cu ajutorul termometrelor obișnuite, iar umiditatea relativă a variat între 60-70%.

Lumina a fost reglată la o intensitate de 20-25 de lucși, specific hibridului iar programul de iluminat a inclus și perioade de întuneric (16 ore lumină/8 ore întuneric).

Eliminarea dejecțiilor s-a făcut automat cu ajutorul unui plug racilor reversibil, comandat electric situat în fosa de sub baterie.

La populare, găinile în vârstă de 60 săptămâni au fost repartizate în patru loturi, respectiv un lot control (LC) și trei loturi experimentale (LT-2%, LT-4%, LS-2%). Fiecare lot de găini a fost repartizat în 4 cuști (3 găini/cușcă). S-a urmărit să se asigure condiții identice de întreținere pentru găinile din lotul control și din loturile experimentale.

Pe parcursul desfășurării experimentului s-au înregistrat datele privind evoluția greutateii corporale, consumul de hrană iar zilnic s-a înregistrat producția de ouă pe fiecare lot, în parte. Administrarea nutrețului și colectarea ouălor s-au efectuat zilnic, manual.

La sfârșitul experimentului, datele înregistrate au fost prelucrate pentru evidențierea rezultatelor zootehnice obținute.

8.2 EVALUAREA PERFORMANȚELOR PRODUCTIVE

8.2.1 Greutatea corporală a păsărilor

Greutatea vie reprezintă unul dintre indicatorii de bază pentru a aprecia efectul productiv al utilizării factorilor experimentali în hrana găinilor ouătoare.

Evoluția greutății corporale a găinilor este prezentată în tabelul 8.2 și în figura 8.1. La debutul perioadei experimentale, greutatea vie a găinilor s-a încadrat în intervalul de $1974 \pm 61,18$ g la LS-2% - $2061 \pm 64,04$ g la LT-4%, păsările din lotul control înregistrând o greutate de $2007 \pm 57,32$ g. La sfârșitul experimentului, greutatea medie a păsărilor a fost superioară la loturile de experiență față de cea măsurată la debutul cercetărilor, respectiv cu 5,23% (2112 g) la LC; cu 2,95% (2113 g) la LT-2%; cu 2,11% (2097 g) la LS-2% și cu 1,75% (2097g) la LT-4%. Diferențele existente între loturi au fost nesemnificative.

Tab. 8.2. Greutatea corporală a păsărilor din loturile studiate, la debutul și la finalul experimentului

Tab. 8.2. Fowl body weight from the studied groups, at the start and at the end of the experiment

Parametrul analizat	Lotul							
	LC		LT-2%		LT-4%		LS-2%	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V%	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V%	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V%	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V%
Greutatea inițială a păsărilor (g/cap)	$2007 \pm 57,32$	9,89	$2052 \pm 75,35$	12,72	$2061 \pm 64,04$	10,76	$1974 \pm 61,18$	10,73
Greutatea finală a păsărilor (g/cap)	$2112 \pm 62,80$	10,30	$2113 \pm 93,70$	15,36	$2097 \pm 82,21$	13,58	$2016 \pm 51,06$	8,77

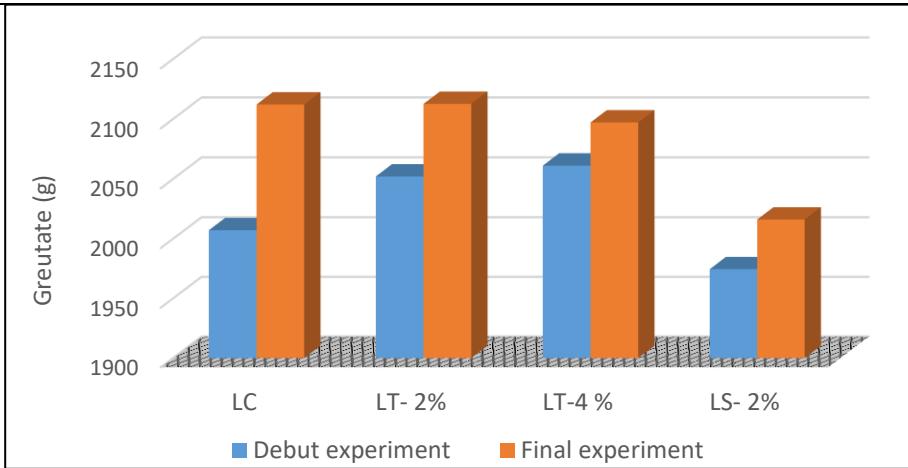


Fig. 8.1. Greutatea corporală a păsărilor din loturile studiate, la debutul și la finalul experimentului

Fig. 8.1. Fowl body weight from the studied groups, at the beginning and at the end of the experiment

8.2.2 Producția de ouă și intensitatea de ouat

Producția totală de ouă pe întreaga perioadă experimentală a înregistrat scăderi semnificative la loturile cu tescovină LT-2% ($p < 0,001$) LT-4% ($p < 0,01$) în comparație cu lotul LC. Astfel, pe parcursul perioadei experimentale, lotul LT-2% a realizat o producție mai scăzută cu 10,49% (384 ouă) iar lotul LT-4% cu 6,76% (400 ouă) comparativ cu lotul de control (419 ouă). În ceea ce privește lotul care a primit în hrană 2% semințe, acesta a realizat o producție mai bună de ouă cu 2,80% (441 ouă) față de lotul LC.

În reprezentarea grafică de tip Boxplot (fig. 8.2) este evidențiată distribuția valorilor în quartile, media și punctele aberante ale producției zilnice de ouă obținute la loturile de experiență. Din datele prezentate în diagramă reiese că loturile care au primit în hrană 2 și 4% tescovină au realizat producții medii zilnice mai mici de ouă (9,1 respectiv 9,5 buc) iar lotul LS-2% a realizat o producție medie ușor superioară (10,5 buc) față de LC (10,2 buc).

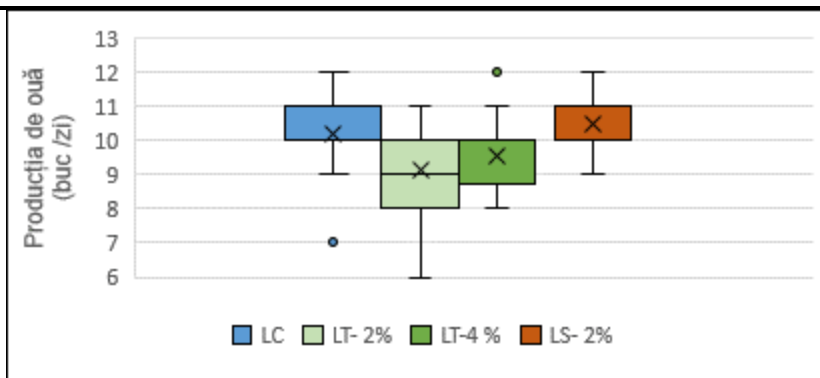


Fig. 8.2. Producția zilnică de ouă a loturilor studiate pe toată perioada experimentală (42 zile)

Fig. 8.2. The daily egg production of the studied groups, throughout the experiment (42 days)

Producțiile de ouă înregistrate la loturile experimentale sunt evidențiate și de intensitatea de ouat, care are valori mai mici la loturile cu tescovină respectiv 76,19% la LT-2% și 79,37% la LT-4% față de valoarea realizată de lotul de control (85,12%) pe întreaga perioada experimentală. Intensitatea de ouat a fost îmbunătățită la lotul care a primit în alimentație 2% semințe, atingând o valoare de 87,50% pentru întreaga perioadă (fig. 8.3).

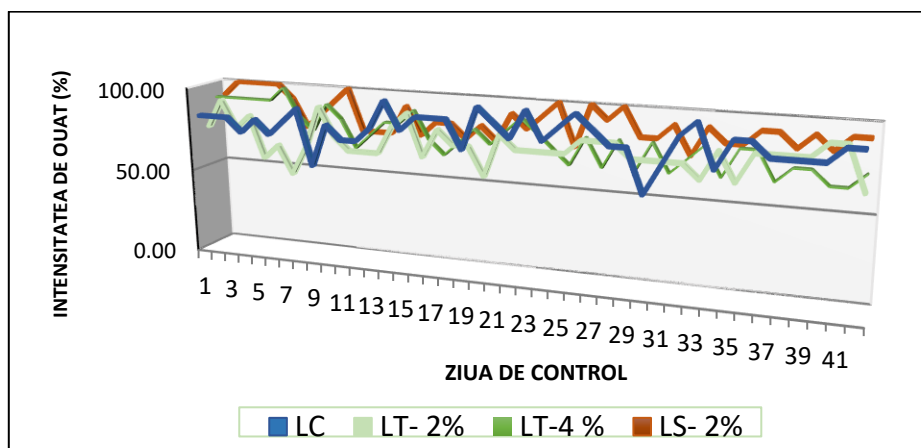


Fig. 8.3. Reprezentarea grafică a curbei ponteii (%) pe durata celor 6 săptămâni ale experienței

Fig. 8.3. The graphic representation of the oviposition (%) throughout the 6 experimental weeks

Având în vedere faptul că producția numerică de ouă este dependentă de vârsta găinilor s-a efectuat un test de corelație (Pearson) pentru a determina dacă această dependență este prezentă în cadrul experimentului efectuat.

Astfel, după cum se poate observa în reprezentarea grafică de mai jos (fig. 8.4), lotul care a primit o cantitate de 4% tescovină în hrană a prezentat o corelație mare de tip negativ ($r = -0.579$), producția de ouă scade direct proporțional odată cu înaintarea în vârstă. În ceea ce privește celelalte loturi de experiență acestea prezintă o dependență neglijabilă între vârstă și producția de ouă.

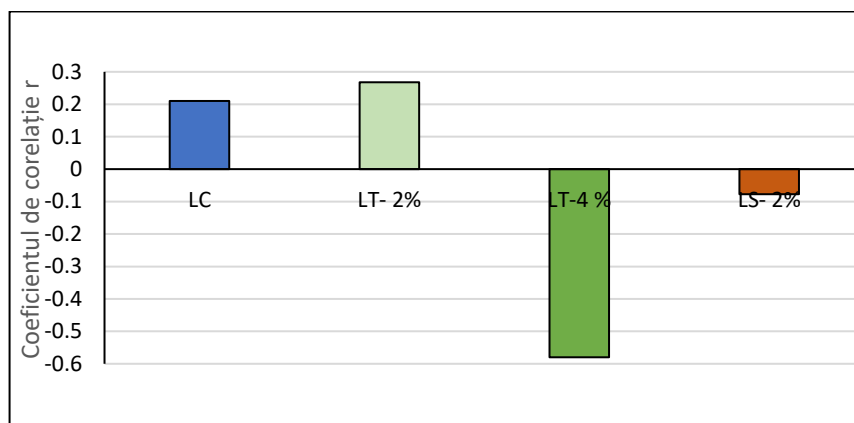


Fig. 8.4. Gradul de corelație (Pearson) între producția de ouă și vârstă

Fig. 8.4. The degree of correlation (Pearson) between egg production and age

Din cele prezentate, se poate afirma că introducerea tescovinei în proporție de 2 și 4% în alimentația găinilor ouătoare, a avut un efect nefavorabil asupra producției de ouă și intensității de ouat. În schimb, proporția de 2% semințe utilizată în hrană a ameliorat performanțele găinilor ouătoare.

Efectele semințelor (0,5%, 1%, 1,5%) și extractelor de semințe de struguri (675, 1350 mg/kg) asupra performanțelor bioproductive la găinile ouătoare au fost studiate de *Kaya și colab., (2014)*. Suplimentarea acestor subproduse în hrana găinilor ouătoare a determinat creșterea semnificativă a producției de ouă ($p < 0,01$).

În studiul realizat de *Kara și colab., (2016)* și *Kara și Kocaoglu-Guclu (2012)*, suplimentarea hranei cu tescovină în proporție de 2%, 4% și 6% nu a avut nici un efect negativ asupra producției de ouă la găinile ouătoare.

8.2.3 Consumul de hrană și conversia hranei

Consumul mediu zilnic de hrană, calculat pentru întreaga perioadă de creștere a găinilor este prezentat în tabelul 8.3.

Tab. 8.3. Evoluția consumului de nutreț și a producției de ouă la loturile studiate

Tab. 8.3. Feed intake and egg production evolution of the studied groups

Specificare	LC	LT-2%	LT-4%	LS-2%
Efectiv mediu (cap)	12	12	12	12
Cantitatea totală de nutreț consumat (g/lot)	57,304	59,803	59,618	58,830
Consumul mediu de nutreț (g/cap/zi)	113,70	118,66	118,29	116,73
Producția totală de ouă (buc./lot)	429	384	400	441
Consumul specific de nutreț (g/ou)	135,20	159,36	151,31	134,61

Din datele prezentate se constată că loturile experimentele au înregistrat consumuri medii de hrană superioare față de lotul de control. Astfel, găinile din loturile care au primit în alimentație diferite proporții de tescovină au înregistrat consumuri medii de hrană foarte apropiate, cu 4,36% (118,66 g/cap/zi) la lotul LT-2% și cu 4,04% (118,29 g/cap/zi) la lotul la LT-4% față de lotul LC (113,70 g/cap/zi). De asemenea, și în cazul lotului care a primit în hrană, o proporție de 2% semințe, acesta a înregistrat un consum mediu mai mare cu 2,66% (116,73 g/cap/zi).

Deși loturile LT-2% și LT-4% au înregistrat un consum mai ridicat de hrană, acest lucru nu a condus la îmbunătățirea performanțelor bioproductive, producția de ouă obținută pe întreaga perioadă experimentală, fiind mai scăzută, comparativ cu lotul de control.

În schimb la lotul LS-2%, care de asemenea a înregistrat un consum mediu de hrană mai ridicat față de lotul de control, s-a observat o ameliorare a producției de ouă cu 2,80% pe întreaga perioadă experimentală.

Deși media lotului LC prezintă valoarea cea mai scăzută se poate observa o variație considerabilă (între 1234-1450 g) a consumului mediu de hrană pe întreaga perioadă, comparativ cu celelalte loturi experimentale, la care se poate observa un interval de variație mai mic (*fig. 8.5*).

Având în vedere discrepanța intervalului de variație a valorilor, în special în cazul lotului LC, s-a efectuat un test de corelație pentru a evalua gradul de dependență dintre consumul mediu zilnic de hrană și vârsta indivizilor (*fig. 8.6*).

După cum se poate observa în figura 8.6, lotul LC a prezentat un grad de dependență foarte ridicat (corelație pozitivă), prin urmare consumul de hrană a crescut direct proporțional cu vârsta, justificându-se astfel variația ridicată a consumului de hrană pe întreaga perioadă experimentală.

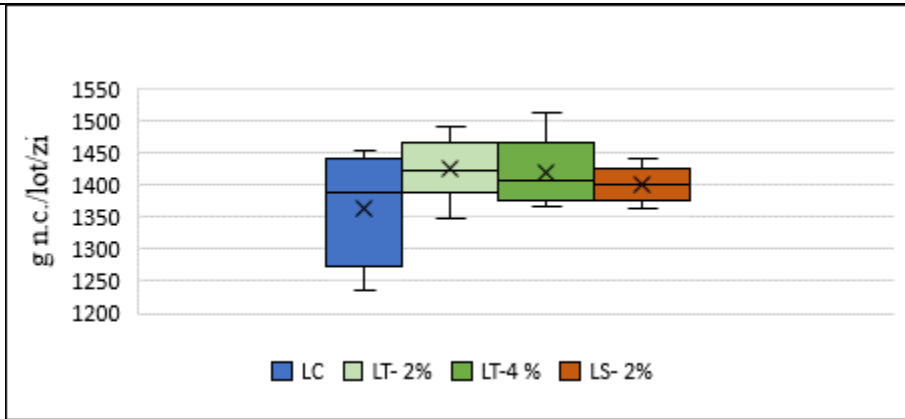


Fig. 8.5. Consumul mediu zilnic de hrană la loturile studiate

Fig. 8.5. The average daily feed intake of the studied groups

Administrarea tescovinei în proporție de 2 și 4% în hrană induce o scădere a dependenței hrană - vârstă, loturile înregistrând un coeficient de corelație mediu, și anume la LT-2% valoarea obținută a fost $r = 0,520$ iar la lotul LT-4% valoarea înregistrată a fost $r = 0,602$.

Administrarea semințelor în cantitate de 2% în hrană elimină dependența de vârstă (corelație mică, $r = 0,136$), consumul de hrană fiind aproximativ constant pe întreaga perioadă experimentală.

Prin urmare, se poate concluziona că administrarea de subproduse vinicole în hrana găinilor ouătoare are un efect de diminuare a dependenței hrană-vârstă.

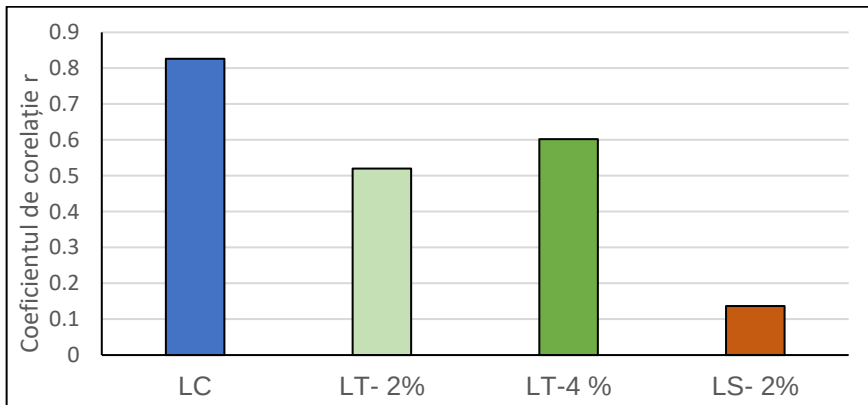


Fig. 8.6. Gradul de corelație (Pearson) între consumul de hrană și vârstă

Fig. 8.6. The degree of correlation between feed intake and age

În ceea ce privește indicele de conversie al hranei (apreciat prin cantitatea de nutreț consumat (g), pentru producerea unui ou), se constată că loturile cu tescovină în hrană au înregistrat pe întreaga perioadă de experiment, cele mai ridicate valori și anume cu 17,87 % (159,36 g n.c./ou) la lotul LT-2% și cu 11,91% (151,41 g n.c./ou) la LT-4% comparativ cu lotul LC care a realizat un IC de 135,20 g n.c./ou. În ceea ce privește lotul LS-2%, acesta a înregistrat pe întreaga perioadă experimentală un IC ușor mai redus, față de lotul LC, cu 0,43% (134,61 g n.c./ou) (fig.8.7 și fig. 8.8).

După cum se poate observa în fig. 8.8, cele două loturi care au primit în hrană tescovină a prezentat pe întreaga perioadă experimentală, intervale de variație mai mari ale valorilor, comparativ cu lotul LC și LS-2% (fig. 8.8).

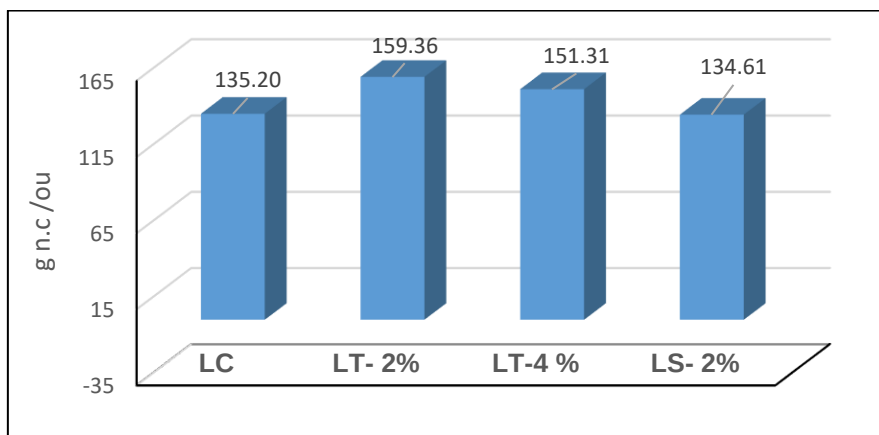


Fig. 8.7. Indicele de conversie al hranei (zilnic) la loturile studiate

Fig. 8.7. Feed conversion ratio (daily) of the studied groups

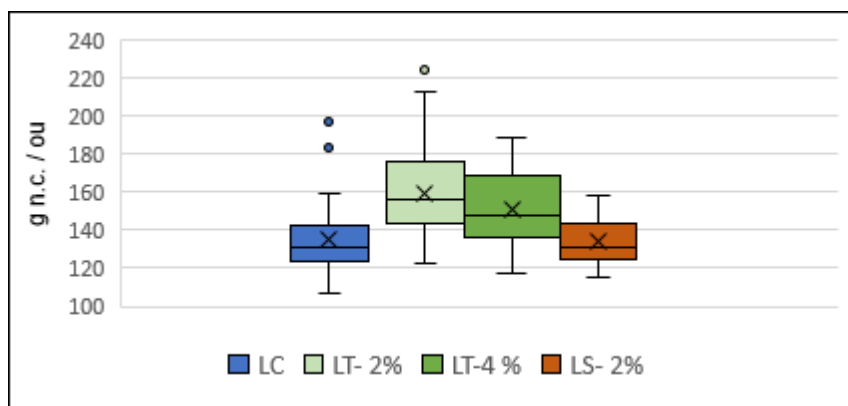


Fig. 8.8. Indicele de conversie al hranei (zilnic) la loturile studiate

Fig. 8.8. Feed conversion ratio (daily) of the studied groups

Reducerea IC în cazul administrării cu semințe 2% în nutrețul combinat, se datorează faptului că producția de ouă a fost influențată favorabil, respectiv numărul de ouă produse pe găină.

Indicele de conversie al hranei calculat pentru perioada de vârstă a găinilor (60-66 săptămâni) variază în același sens ca și cel din perioada totală de ouat și care a fost discutat anterior.

Özgan și colab., (2009) au demonstrat că utilizarea uleiului de semințe de struguri în hrana găinilor ouătoare nu influențează negativ performanțele productive (greutatea corporală, consumul de hrană, masa oului și eficiența hranei).

Kaya și colab., (2014) au arătat de asemenea că utilizarea semințelor și extractelor de semințelor de struguri în hrana găinilor ouătoare nu au avut nici un efect negativ asupra performanțelor productive, cu excepția greutateii ouălor. Prezența compușilor polifenolici în hrană pot avea unele efecte metabolice negative care pot fi asociate cu eficiența scăzută a nutrienților în special a proteinelor, a inhibării enzimelor digestive și creșterii proteinelor endogene (Brenes și colab., 2010).

În studiile realizate de Kara și colab., (2016) și Kara și Kocaoglu-Guclu, (2012), utilizarea tescovinei în proporție de 2%, 4% și 6% nu a avut nici un efect negativ asupra consumului de hrană, indicelui de conversie al hranei la găinile ouătoare pe perioada năpârlirii (Kara și Kocaoglu-Guclu, 2012).

8.2.4 Starea de sănătate a păsărilor

Starea de sănătate, morbiditate și mortalitatea au fost apreciate prin observații zilnice, asupra efectivului de păsări aflat în experiență.

În toate cele 4 loturi nu au fost înregistrate cazuri de pierderi în efectiv prin mortalitate. Starea de sănătate a fost apreciată ca fiind bună. În timpul perioadei experimentale nu au fost consemnate cazuri de îmbolnăviri. Din acest punct de vedere, considerăm că factorii experimentați în alimentația găinilor ouătoare nu au determinat modificări care să indice instalarea unor stări patologice.

8.3 EVALUAREA CALITĂȚII OUĂLOR PROASPETE

8.3.1 Incidența ouălor cu anomalii morfologice

Ouăle anormale apar odată cu înaintarea în vârstă, însă și datorită stării de sănătate a găinilor sau a hranei asigurate acestora.

Din datele centralizate referitoare la anomalii morfologice ale ouălor, în care sunt incluse recoltările din întreaga perioadă de control (60-66 săptămâni) și care sunt prezentate în tabelul 8.4, se poate constata că cele mai întâlnite anomalii sunt ouăle fără coajă, cele cu coajă rău formată, ouă prea mici și ouă prea mari, incidența acestora a fost mai frecventă la începutul experimentului când păsările s-au adaptat mai greu la condițiile de mediu și la hrană, putând astfel influența absorbția calciului în organism (stresul prea mare), ulterior manifestându-se și la sfârșitul perioadei experimentale, ca urmare a diminuării resurselor de calciu printr-o mai slabă utilizare a acestuia, odată cu îmbătrânirea găinilor. Cele mai multe anomalii ale ouălor au fost înregistrate la lotul LT-2%, evidențiindu-se ouă prea mici, fără gălbenuș (1,56%), urmate de cele fără coajă (0,78%).

Pe întreaga perioadă experimentală au fost înregistrate, și unele pierderi ale ouălor, în special în primele două săptămâni de experiment, cele mai multe dintre acestea au fost crăpate în cuști iar alte pierderi prin manipularea acestora în timpul recoltării. Cele mai multe pierderi au fost înregistrate la lotul LT-2% cu 2,60% (10 buc.) și la lotul control cu 1,86 % (8 buc.)

Tab. 8.4. Anomalii morfologice și pierderi din totalul ouălor recoltate pe întreaga perioadă experimentală

Tab. 8.4. Morphologic anomalies and losses from all the eggs harvested throughout the entire experimental period

Specificare	LC		LT-2%		LT-4%		LS-2%	
	buc	%	buc	%	buc	%	buc	%
Total ouă recoltate:	429	100	384	100	400	100	441	100
Anomalii morfologice*:								
Ouă fără coajă	-		3	0,78	1	0,25	3	0,68
Ouă cu coajă subțire (cu coajă rău formată)	-		-	-	1	0,25	1	0,23
Ouă prea mici (fără gălbenuș)	-		6	1,56	-		-	
Ouă prea mari (cu două gălbenușuri)	2	0,47	-	-	-		-	
Pierderi (sparte, crăpate)	8	1,86	10	2,60	3	0,75	4	0,91

*Raportarea procentuală a nr de ouă cu anomalii si pierderi s-a făcut la nr total de ouă recoltate

8.3.2 Indicatorii fizici de calitate a ouălor proaspete

8.3.2.1. Greutatea ouălor și a componentelor sale

Greutatea medie a ouălor, înregistrată la începutul experimentului (fig. 8.9), a fost diferită la cele patru loturi luate în studiu, și anume: la lotul LC media a fost de $65,54 \pm 1,47$ g, la lotul LT-2% de $63,13 \pm 1,26$ g, la lotul LT-4% de $67,30 \pm 1,30$ iar la lotul LS-2% de $64,26 \pm 1,39$ g. Din reprezentarea grafică de tip Boxplot (fig. 8.9) se constată intervale de variație ale valorilor mai mari la lotul LC, urmate de LT-4%, LS-2% și mai reduse la lotul LT-2%. Între cele 4 loturi nu au existat diferențe statistice semnificative.

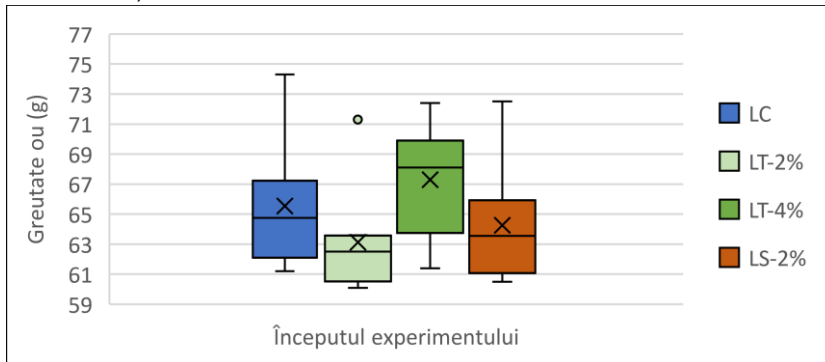


Fig. 8.9. Greutatea medie a ouălor la începutul experimentului la loturile studiate
 Fig. 8.9. The average egg weight at the beginning of the experiment at the studied groups

Greutatea medie a ouălor, obținută după 30 de zile de experiment (fig. 8.10) a fost apropiată de cea înregistrată la începutul experimentului, la toate cele patru loturi de experiență, și anume: la lotul LC media a fost de $66,06 \pm 1,82$ g, la lotul LT-2% de $63,93 \pm 0,77$ g, la lotul LT-4% de $66,53 \pm 1,99$ iar la lotul LS-2% de $64,91 \pm 1,61$ g. În diagrama Boxplot (fig. 8.10) se constată intervale de variație asemănătoare cu cele obținute la începutul experimentului la loturile studiate.

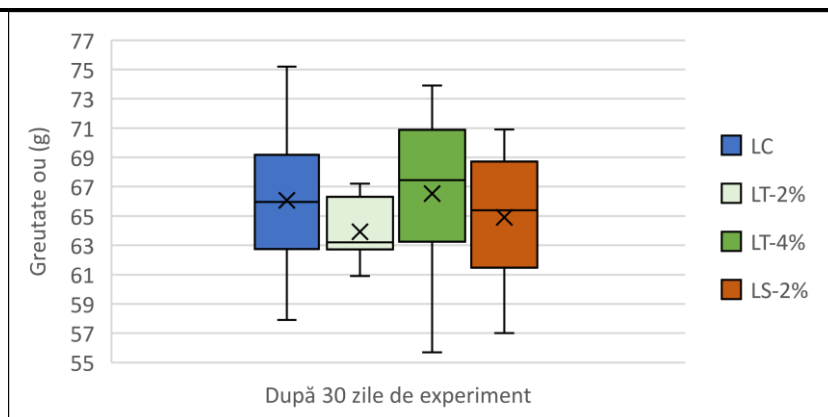


Fig. 8.10. Greutatea medie a ouălor după 30 de zile la loturile studiate

Fig. 8.10. The average egg weight after 30 days of the experiment at the studied groups

Din analiza datelor prezentate se constată că nu sunt diferențe statistic semnificative (tabel. 8.5) între greutatea ouălor proaspete de la începutul experimentului și după 30 de zile de administrare a subproduselor vinicole în hrana găinilor ouătoare.

În ceea ce privește greutatea gălbenușului, la începutul experimentului, aceasta a înregistrat valori medii cuprinse între 15,25 (lotul LT-2%) și 17,21 g (LT-4%), valoarea lotului LS-2% fiind intermediară (16,17 g). Deși LT-4% care a înregistrat o greutate medie superioară cu 8,58% lotului de control (15,85 g), în reprezentarea grafică (fig.8.11) se evidențiază un interval de variație a valorilor foarte mare, cuprins între 14,28-20,70 g comparativ cu celelalte loturi de experiență. Diferențele obținute între loturi nu au avut semnificație statistică (tabel. 8.6).

Greutatea medie a gălbenușului, obținută după 30 de zile de experiment (fig. 8.12) a fost ușor superioară la loturile luate în studiu, cu excepția lotului LT-4% care a înregistrat o valoare ușor mai redusă cu 3,97% (16,53 g) față de cea obținută la începutul experimentului. În reprezentarea grafică (fig. 8.12) se observă intervale de variație mai mari, în special la loturile cu tescovină 2 și 4% în hrană. Nu au fost evidențiate diferențe semnificative între loturi (tabel. 8.6).

Tab. 8.5. Estimatele statistice pentru rezultatele referitoare la greutatea medie a ouălor (g) și semnificația diferențelor dintre loturi

Tab. 8.5. Statistical estimates for the results on the average egg weight (g) and the significance of the differences between the groups

Specificare	Lotul de experiență			
	LC	LT-2%	LT-4%	LS-2%
	Începutul experimentului			
Media	65,54	63,13	67,30	64,26
% față de LC	100	96,32	102,69	98,05
Varianța	17,33	12,76	13,42	15,39
Deviația standard	4,16	3,57	3,66	3,92
Eroarea standard	1,47	1,26	1,30	1,39
Coeficientul de variație (%)	6,35	5,66	5,44	6,10
După 30 de zile de experiment				
Media	66,06	63,93	66,53	64,91
% față de LC	100	96,76	100,70	98,26
Varianța	26,47	4,70	31,59	20,71
Deviația standard	5,15	2,17	5,62	4,55
Eroarea standard	1,82	0,77	1,99	1,61
Coeficientul de variație (%)	7,79	3,39	8,45	7,01
Testul Anova	NS	NS	NS	NS

NS pentru $P > 0,05$

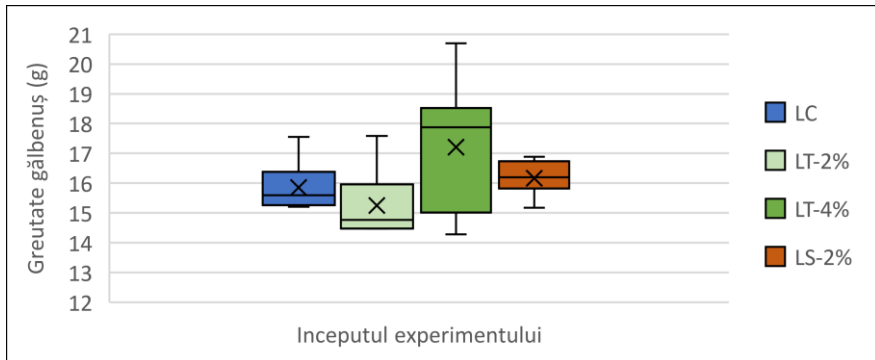


Fig. 8.11. Greutatea medie a gălbenușului la începutul experimentului la loturile studiate

Fig. 8.11. The yolk average weight at the beginning of the experiment at the studied groups

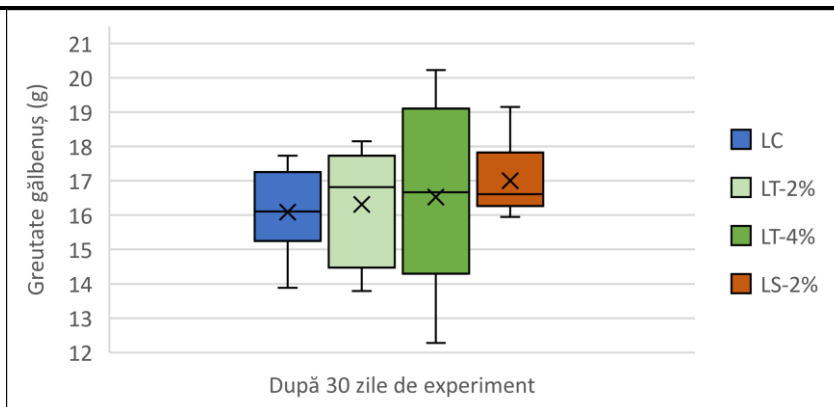


Fig. 8.12. Greutatea medie a gălbenușului după 30 de zile la loturile studiate
 Fig. 8.12. The yolk average weight after 30 days of the experiment at the studied groups

În ceea ce privește greutatea albușului, la începutul experimentului (fig. 8.13), aceasta a înregistrat valori ușor inferioare la loturile experimentale, cu 2,38% (41,10 g) la LS-2% și cu 3,21% (40,75 g) la LT-2% comparativ cu lotul LC (42,10 g). În schimb, lotul LT-4% a înregistrat o valoare mai bună cu 0,40%.

După 30 de zile, greutatea albușului a avut valori ușor mai mari la loturile studiate față de cele obținute la debutul experimentului, cu excepția lotului LS-2%, care a prezentat o valoare ușor mai redusă, cu 0,93%. După 30 de zile de administrare a subproduselor vinicole în hrana găinilor, s-a observat o greutate mai redusă a albușului la loturile experimentale comparativ cu lotul de control. Intervalele de variație ale valorilor, la loturile studiate au fost aproximativ egale pentru fiecare perioadă experimentală (fig. 8,13; 8,14). Din analiza datelor prezentate cu privire la greutatea albușului se constată că nu sunt diferențe statistice semnificative (tabel. 8.6).

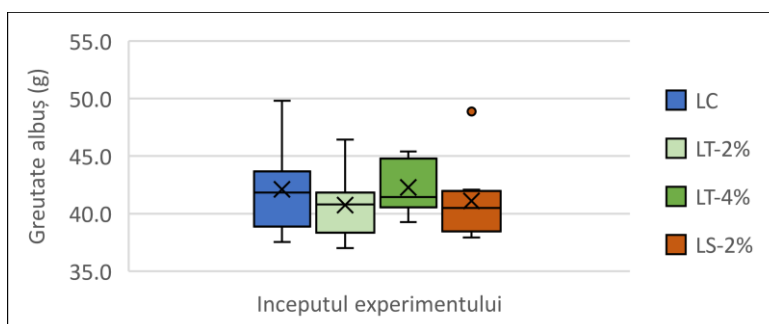


Fig. 8.13. Greutatea medie a albușului la începutul experimentului la loturile studiate
 Fig. 8.13. The albumen average weight at the beginning of the experiment at the studied groups

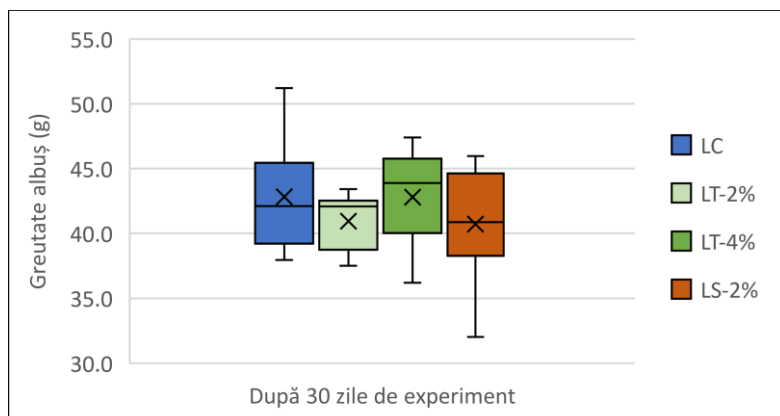


Fig. 8.14. Greutatea medie a albușului după 30 de zile la loturile studiate
Fig. 8.14. The albumen average weight after 30 days of the experiment at the studied groups

Greutatea medie a cojii minerale la debutul experimentului (fig. 8.15), a înregistrat valori mai reduse la loturile LS-2% cu 7,81% și LT-2% cu 6,03% (7,13 g) față de LC (7,58 g). Valoarea obținută la lotul LT-4% a fost superioară lotului LC cu 3,08% (7,82 g) însă intervalul de variație a valorilor a fost mai mare, cuprins între 6,76-9,01 g (fig. 8.15).

După 30 de zile (fig. 8.16), greutatea cojii minerale a înregistrat valori mai reduse (cu 5,92-7,93%) la loturile studiate, comparativ cu cele obținute la debutul experimentului, cu excepția lotului LS-2% care a înregistrat o valoare medie mai bună (7,18 g). Valorile greutateii cojii obținute la loturile experimentale în această perioadă au fost ușor superioare cu 0,88% la LT-4% și cu 0,70% la LS-2%. Lotul LT-2% a înregistrat o valoare mai redusă cu 6,51% (6,66 g) față de lotul de control. Diferențele obținute între loturi nu au prezentat o semnificație statistică (tabel. 8.6).

Din datele prezentate cu privire la greutatea cojii minerale la ouăle proapete, reiese că utilizarea tescovinei în proporție de 2 și 4% și semințelor (2%) în hrana găinilor nu a influențat negativ calitatea acestora, după 30 de zile de experiment valorile obținute au fost apropiate lotului de control (fig. 8.16, tabel. 8.6).

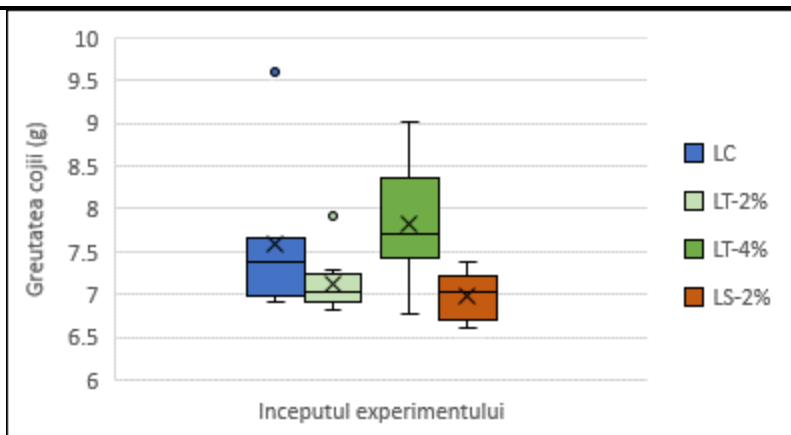


Fig. 8.15. Greutatea medie a cojii la începutul experimentului la loturile studiate
 Fig. 8.15. The shell average weight at the beginning of the experiment at the studied groups

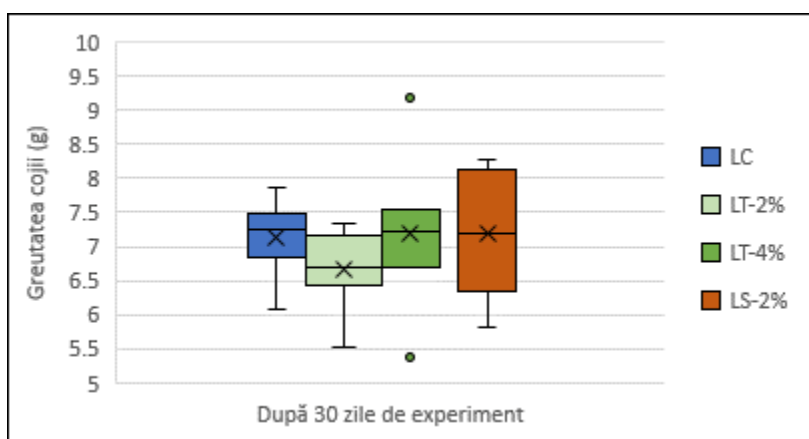


Fig. 8.16. Greutatea medie a cojii după 30 de zile la loturile studiate
 Fig. 8.16. The shell average weight after 30 days of the experiment at the studied groups

Datele privind greutatea ouălor și a părților componente ale acestora au condus la calcularea rezultatelor prezentate în figurile 8.17 și 8.18, care fac referire la structura ouălor.

Astfel în alcătuirea oului, la debutul experimentului, gălbenușul a participat în proporție de $24,23 \pm 0,45\%$ la lotul LC; $24,16 \pm 0,49\%$ la lotul LT-2%; $25,54 \pm 0,91\%$ la lotul LT-4%; respectiv de $25,21 \pm 0,40\%$ la lotul LS-2%. Pentru procentul de albuș, s-au înregistrat valori cuprinse între $62,85 \pm 0,81\%$ (lotul LT-4%) - $64,53 \pm 0,56\%$ (lotul LT-2%) iar pentru procentul de coajă valori cuprinse între $10,90 \pm$ la lotul LS-2% - $11,61$ la loturile LC și LT-4% (fig. 8.17).

După 30 de zile, proporția de participare a componentelor (% gălbenuș, % albuș și % coajă) în alcătuirea oului (fig.8.18), a fost în strânsă relație cu cea obținută la părțile componente (valorile brute), pentru toate loturile de experiență. Din analiza datelor prezentate cu privire la structura oului se constată că nu sunt diferențe statistice semnificative ($p>0,05$).

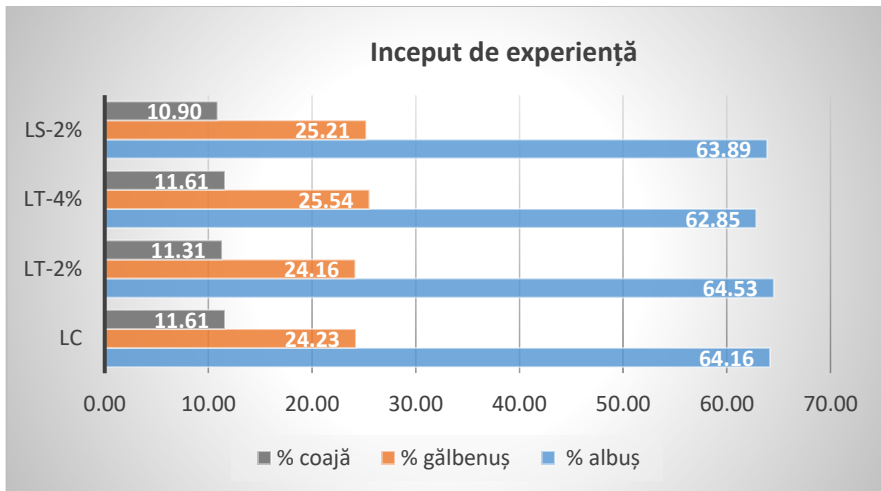


Fig. 8.17. Structura ouălor (%) la debutul experimentului la loturile studiate
 Fig. 8.17. Eggs structure (%) at the beginning of the experiment at the studied groups

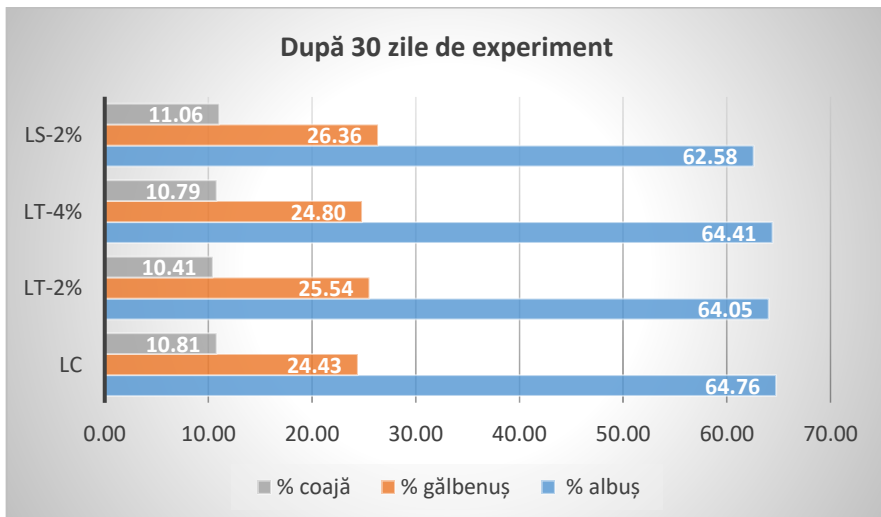


Fig. 8.18. Structura ouălor după 30 de zile la loturile studiate
 Fig. 8.18. Eggs structure (%) after 30 days of the experiment at the studied groups

Tab. 8.6. Estimatele statistice pentru rezultatele referitoare la greutatea componentelor ouălor (g) și semnificația diferențelor dintre loturi

Tab. 8.6. Statistical estimates for the results on the weight of egg components (g) and the significance of the differences between the groups

Caracterul studiat	Specificare	Lotul de experiență			
		LC	LT-2%	LT-4%	LS-2%
		Debutul experimentului			
Greutatea gălbenușului (g)	Media	15,85	15,25	17,21	16,17
	% față de LC	100	96,18	108,58	102,00
	Varianța	0,67	1,24	4,75	0,33
	Deviația standard	0,82	1,11	2,18	0,57
	Eroarea standard	0,29	0,39	0,77	0,20
	Coeficientul de variație (%)	5,17	7,31	12,67	3,54
	Testul Anova	NS	NS	NS	NS
Greutatea albușului (g)	Media	42,10	40,75	42,27	41,10
	% față de LC	100	96,79	100,40	97,62
	Varianța	14,50	8,18	5,29	12,17
	Deviația standard	3,81	2,86	2,30	3,49
	Eroarea standard	1,35	1,01	0,81	1,23
	Coeficientul de variație (%)	9,05	7,02	5,44	8,49
	Testul Anova	NS	NS	NS	NS
Greutatea cojii (g)	Media	7,58	7,13	7,82	6,99
	% față de LC	100	93,97	103,08	92,19
	Varianța	0,76	0,12	0,48	0,09
	Deviația standard	0,87	0,35	0,69	0,30
	Eroarea standard	0,31	0,12	0,25	0,11
	Coeficientul de variație (%)	11,47	4,87	8,89	4,31
	Testul Anova	NS	NS	NS	NS

Tab. 8.7. Estimatele statistice pentru rezultatele referitoare la greutatea componentelor ouălor (g) și semnificația diferențelor dintre loturi

Tab. 8.7. Statistical estimates for the results on the weight of egg components (g) and the significance of the differences between the groups

Caracterul studiat	Specificare	Lotul de experiență			
		LC	LT-2%	LT-4%	LS-2%
		După 30 de zile de experiment			
Greutatea gălbenușului (g)	Media	16,09	16,32	16,53	17,01
	% față de LC	100	101,41	102,73	105,70
	Varianța	1,60	2,76	7,38	1,17
	Deviația standard	1,26	1,66	2,72	1,08
	Eroarea standard	0,45	0,59	0,96	0,38
	Coeficientul de variație (%)	7,86	10,19	16,44	6,37
	Testul Anova	NS	NS	NS	NS
Greutatea albușului (g)	Media	42,84	40,95	42,80	40,72
	% față de LC	100	95,59	99,91	95,06
	Varianța	19,80	4,88	13,85	20,58
	Deviația standard	4,45	2,21	3,72	4,54
	Eroarea standard	1,57	0,78	1,32	1,60
	Coeficientul de variație (%)	10,39	5,39	8,70	11,14
	Testul Anova	NS	NS	NS	NS
Greutatea cojii (g)	Media	7,13	6,66	7,20	7,18
	% față de LC	100	93,38	100,88	100,70
	Varianța	0,29	0,33	1,14	0,80
	Deviația standard	0,54	0,57	1,07	0,90
	Eroarea standard	0,19	0,20	0,38	0,32
	Coeficientul de variație (%)	7,51	8,56	14,81	12,49
	Testul Anova	NS	NS	NS	NS

8.3.2.2 Greutatea specifică

Acest parametru a fost folosit la scară largă în cercetările de profil ca un indicator indirect al calității ouălor. Valorile înregistrate la debutul și după 30 de zile de administrare a subproduselor vinicole în hrana găinilor, au fost foarte apropiate la toate cele 4 loturi studiate (fig. 8.19). Astfel, valorile înregistrate la ouăle proaspete, au fost cuprinse între 1,083 (lotul LC) – 1,086 (lotul LS-2%).

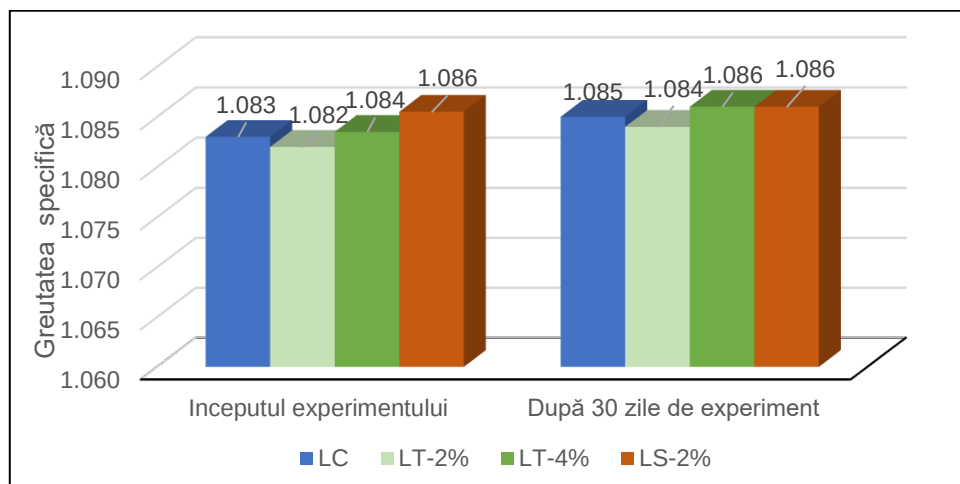


Fig. 8.19. Greutatea specifică a ouălor la debutul și după 30 de zile de experiment la loturile studiate

Fig. 8.19. The egg specific gravity at the start and after 30 days at the experiment at the studied groups

8.3.2.3 Grosimea cojii minerale

Coaja minerală reprezintă elementul de protecție al componentelor interne ale ouălor.

Greutatea medie a grosimii cojii minerale a înregistrat la debutul experimentului (fig. 8.20) valori superioare la loturile experimentale, cu 3% până la 3,87% comparativ cu lotul de control, care a obținut o valoare medie mai redusă ($0,369 \text{ mm} \pm 0,01$). În figura 8.21 se constată în prima perioadă, intervale mari de variație ale valorilor la toate cele 4 loturi luate în studiu.

După 30 de zile de experiment, s-a constatat o reducere a acestui indicator la loturile care au primit în hrană diferite proporții de tescovină și semințe, cu 2,67% (la lotul LT-4%) până la 5,52 % (la lotul LT-2%), față de lotul de control ($0,383 \pm 0,007 \text{ mm}$). În reprezentarea grafică (fig. 8.22) se observă variații mari ale valorilor, la loturile experimentale față de lotul de control.

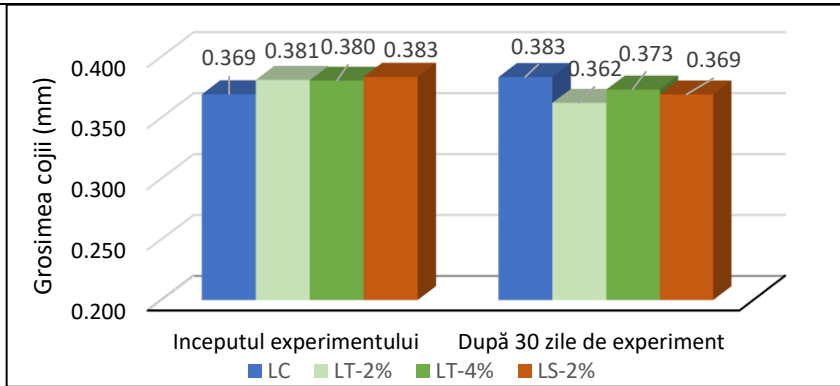


Fig. 8.20 Grosimea medie a cojii minerale la loturile studiate

Fig. 8.20. The average thickness of the mineral shell at the studied groups

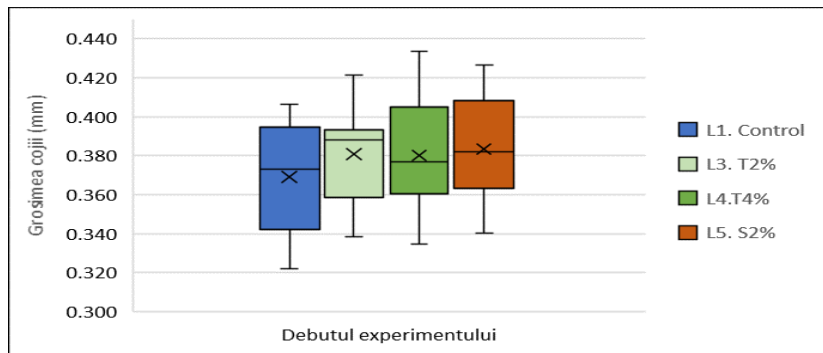


Fig. 8.21. Grosimea cojii minerale, la debutul experimentului la loturile studiate

Fig. 8.21. The thickness of the mineral shells of the studied groups, at the start of the experiment

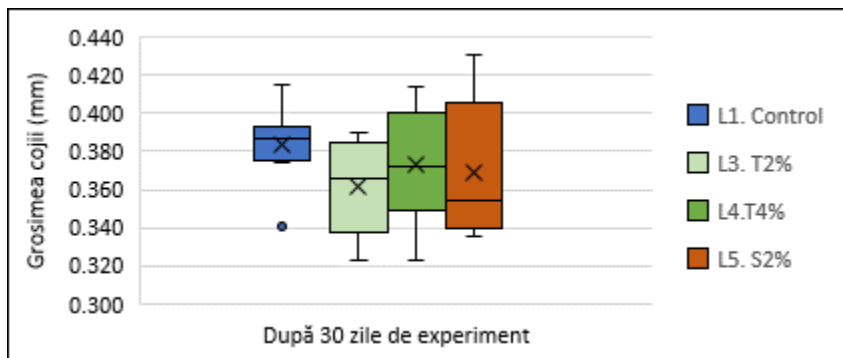


Fig. 8.22. Grosimea cojii minerale, după 30 de zile de experiment la loturile studiate

Fig. 8.22. The thickness of the mineral shells at the studied groups, after 30 days of the experiment

Din analiza datelor prezentate cu privire la grosimea cojii oului se constată că nu sunt diferențe statistic semnificative ($p > 0,05$).

Valorile obținute s-au încadrat în intervalul specificat de referințele de specialitate (Scholtyssek, 1993).

8.3.2.4 Indicele Haugh

Calitatea albușului poate fi exprimată în unități Haugh, acest parametru oferă informații despre prospețimea albușului (Williams, 1992).

La debutul experimentului, valoarea indicelui Haugh înregistrată la cele 4 loturi de experiență a fost diferită (fig. 8.23), și anume: la lotul LC valoarea medie a fost de $79,30 \pm 1,11$ UH; la lotul LT-2% de $77,94 \pm 1,08$ UH; la LT-4% de $84,61 \pm 1,75$ UH iar la lotul LS-2% de $80,10 \pm 1,18$ UH, ușor apropiată lotului LC.

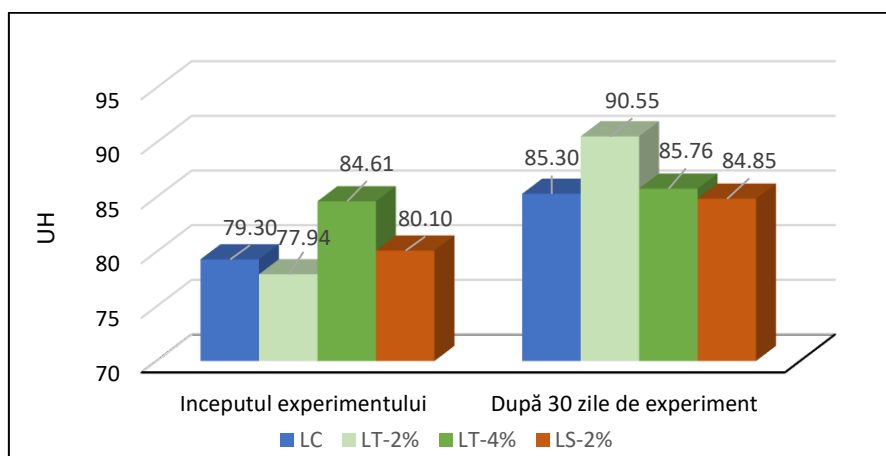


Fig. 8.23. Valoarea medie a indicelui Haugh la loturile studiate

Fig. 8.23. The average value of the Haugh unit at the studied groups

Din analiza datelor prezentate, lotul LT-4%, a înregistrat o valoare a indicelui Haugh, semnificativ mai mare ($p < 0,05$) față de cea obținută la lotul LC. În reprezentarea grafică (fig. 8.24), se poate observa un interval de variație, mai mare la lotul LT-4% comparativ cu celelalte loturi de experiență.

După o lună de experiment, valorile înregistrate pentru indicele Haugh, au fost mai bune, la toate loturile studiate comparativ cu cele obținute la începutul perioadei experimentale (fig. 8.23). Astfel, cele mai bune valori au fost înregistrate de lotul LT-2% cu 16,18% ($p < 0,001$), de lotul LC cu 7,57% ($p < 0,01$) și de lotul LS-2% cu 5,93% ($p < 0,05$). De această dată, lotul LT-4% a înregistrat o valoare medie, nu foarte mare (cu 1,36%) față de cea obținută la începutul experimentului. În diagrama de tip Boxplot (fig. 8.25), la lotul LT-4%, se poate observa o dispersie mai mare a valorilor, pentru acest indicator, față de valoarea

medie obținută, această discrepanță a valorilor a fost evidențiată și la debutul experimentului, la lotul LT-4%.

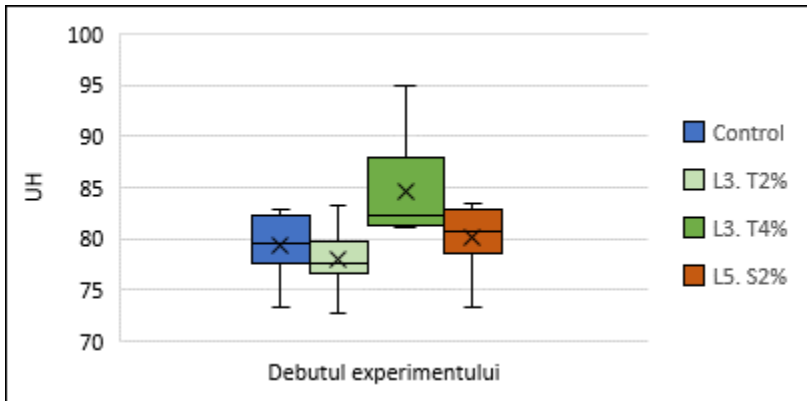


Fig. 8.24 Indicele Haugh la debutul experimentului la loturile studiate
Fig. 8.24. Haugh unit at the studied groups, at the start of the experiment

Deși valoarea indicelui Haugh, a fost mai bună la ouăle recoltate după 30 de zile de experiment, loturile care au primit în hrană diferite proporții de tescovină și semințe, nu au prezentat diferențe statistice semnificative față de lotul de control.

Din datele prezentate cu privire la indicele Haugh, reiese că utilizarea tescovinei în proporție de 2 și 4 % și a semințelor în proporție de 2% în hrană, nu a influențat negativ calitatea acestui parametru, la ouăle proaspete.

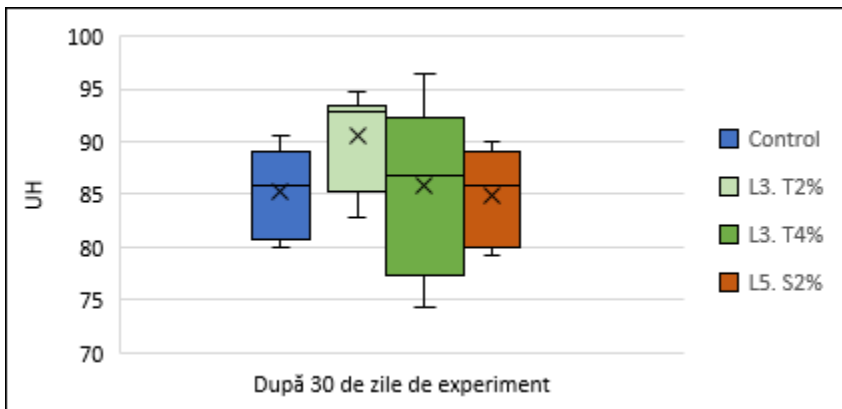


Fig. 8.25. Indicele Haugh, după 30 de zile de experiment la loturile studiate
Fig. 8.25. Haugh unit at the studied groups, after 30 days of the experiment

Valorile determinate pentru acest indice se încadrează în limitele prezentate în literatura de specialitate (74,5-89,5 UH) (Vacaru-Opriș și colab., 2002).

8.3.2.5 Indicele albuşului

Aprecierea dimensională a albuşului unui ou ne oferă informații despre prospețimea oului respectiv, aceasta pe considerentul că la ouăle proaspete albuşul este mai consistent și are o înălțime de minim 5 mm, în timp ce, pe măsura învechirii, el se lichefiază, iar straturile dense și fluide devin tot mai puțin delimitate astfel că înălțimea albuşului se reduce (Coutts și colab., 2007).

Pe măsura înaintării în vârstă a găinilor respectiv a creșterii greutateii ouălor și deci a măririi ponderii gălbenuşului în structura ouălor, se reduce valoarea pentru indicele albuşului.

Rezultatele înregistrate pentru indicele albuşului sunt în relație și cu cele obținute la indicele Haugh. Astfel, valorile medii ale indicelui albuşului înregistrate la debutul experimentului, au variat la toate cele 4 loturi de experiență (fig. 8.26), și anume: la lotul LC valoarea medie a fost de $9,433 \pm 0,67$; la lotul LT-2% de $8,662 \pm 0,73$; la LT-4% de $10,539 \pm 0,54$ iar la lotul LS-2% de $9,074 \pm 0,33$.

Deși, valoarea indicelui albuşului, a fost mai mare cu 11,73% la ouăle din lotul cu tescovină 4% în hrană, nu s-au evidențiat diferențe statistic semnificative față de lotul LC. În reprezentarea grafică (fig. 8.27), se constată un interval de variație a valorilor mai mare la lotul LC, comparativ cu loturile experimentale.

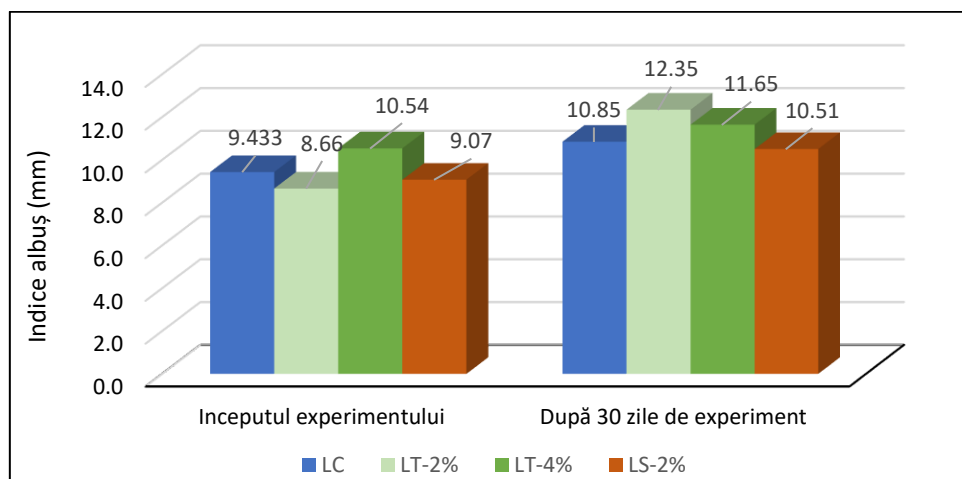


Fig. 8.26. Valoarea medie a indicelui albuşului la loturile studiate

Fig. 8.26. The average value of the albumen index at the studied groups

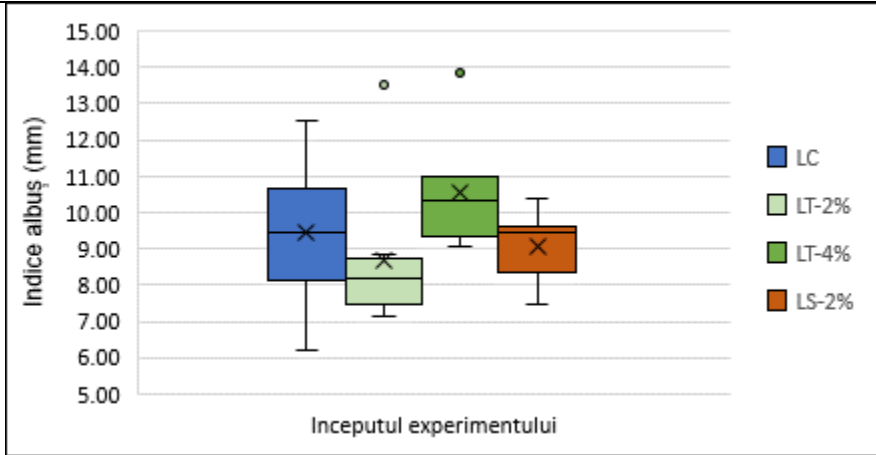


Fig. 8.27. Indicele albușului la loturile studiate (începutul experimentului)
 Fig.8.27. Albumen index at the studied groups (beginning of the experiment)

După 30 de zile de experiment, valorile medii înregistrate pentru indicele albușului, au fost mai bune, la toate loturile de experiență comparativ cu cele obținute la începutul perioadei experimentale (fig. 8.26). Astfel, cele mai bune valori au fost înregistrate de lotul LT-2% cu 42,56% ($p < 0,01$) și de lotul LS-2% cu 15,79% ($p < 0,05$). În cazul loturilor LC și LT-4%, nu au fost evidențiate diferențe semnificative, pentru acest indicator, între cele 2 perioade de experiment, valorile înregistrate au crescut cu 15,02% la LC și doar cu 10,53% la LT-4%. În reprezentarea grafică (fig. 8.28) se observă o dispersie mai mare a valorilor a acestui indicator pentru lotul LC și LT-4% și ușor mai mică pentru lotul LT-2% și LS-2%.

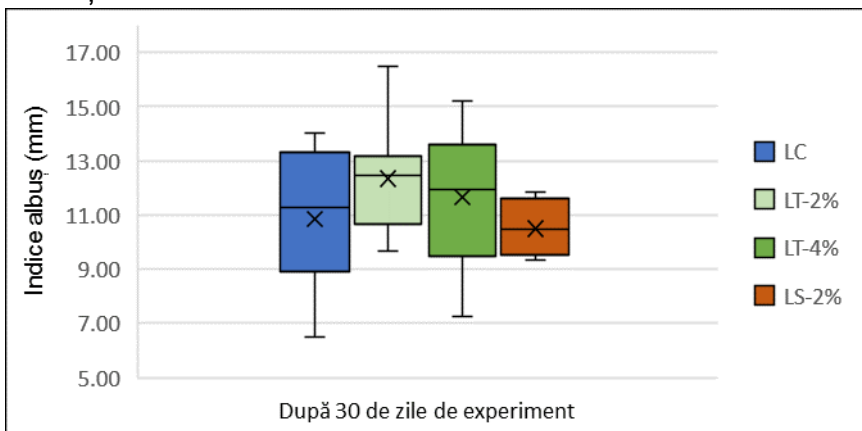


Fig. 8.28. Indicele albușului la loturile studiate (după 30 de zile de experiment)
 Fig. 8.28. Albumen index at the studied groups (after 30 days of the experiment)

Deși, în această perioadă, valoarea medie a indicelui albușului înregistrată la ouăle din lotul LT-2, a fost superioară cu 13,81% față de lotul LC, nu au fost evidențiate diferențe statistic semnificative ($p > 0,05$), acest lucru datorându-se variației mai mari ale valorilor, înregistrate la ouăle din aceste loturi.

Din datele prezentate cu privire la indicele albușului, reiese că introducerea tescovinei în proporție de 2 și 4 % și a semințelor în proporție de 2% în hrana găinilor, nu a modificat sensibil acest indicator, la ouăle proaspete.

Valorile înregistrate pentru indicele albușului în urma determinărilor făcute la ouăle din loturile din experiență, se încadrează în limitele înscrise în literatura de specialitate (*Muramatsu și colab., 1990*).

În studiul realizat de *Kaya și colab., (2014)*, adăugarea de semințe și extracte de seminte de struguri în cantități diferite a determinat creșterea indicelui albușului și unității Haugh la ouăle proaspete. În studiul efectuat de *Kara și colab., (2012, 2016)*, utilizarea tescovinei (2, 4 și 6%) în hrana găinilor ouătoare nu a afectat indicele albușului, unitatea Haugh, indicele gălbenușului, greutatea specifică, culoarea gălbenușului, proporția de coajă și grosimea cojii la ouăle proaspete. Acest lucru este susținut și de cercetările efectuate de *Silici și colab., (2011)* care au adăugat în hrana prepelițelor diferite cantități tescovină (0,5%, 1% și 1,5%), acestea nu au influențat negativ unitatea Haugh, grosimea cojii și culoarea gălbenușului.

8.3.2.6 Indicele gălbenușului

Acest indicator permite aprecierea vechimii ouălor prin prisma stării membranei viteline care asigură integritatea și forma gălbenușului. La ouăle proaspete membrana vitelină este rezistentă și elastică, menținând gălbenușul în poziție centrală, la cele vechi membrana este slăbită cu aspect ridat, determinând aplatizarea gălbenușului. Pe măsura creșterii greutatei ouălor, crește și ponderea gălbenușului în structura ouălor și odată cu aceasta crește valoarea indicelui gălbenușului.

La fel ca și în cazul indicelui albușului și valoarea indicelui gălbenușului a variat în funcție de dimensiunile diametrului și înălțimii gălbenușului ouălor studiate. Astfel, dacă apreciem valoarea indicelui gălbenușului, la ouăle de la începutul experienței, se constată că loturile experimentale, au înregistrat valori medii foarte apropiate și anume de $40,345 \pm 0,79$ la LT-2% și $40,213 \pm 0,68$ la LT-4%, aceste valori fiind mai mari lotului de control cu 2,88-3,22%. Lotul LS-2% a înregistrat în schimb, o valoare medie mai redusă cu 1,5% față de LC (*fig.8.29*).

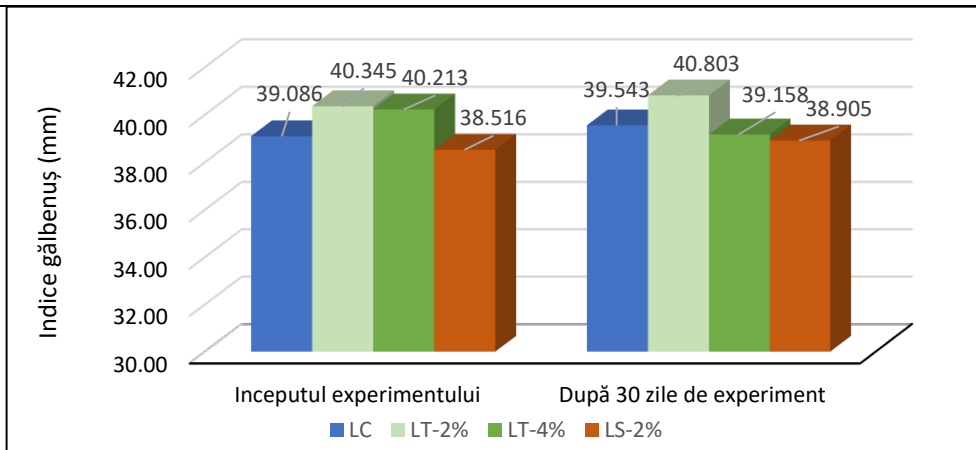


Fig. 8.29. Valoarea medie a indicelui gălbenușului la loturile studiate.

Fig. 8.29. The average value of the yolk index at the studied groups

În reprezentarea grafică (fig. 8.30) se constată variații mai mari ale valorilor pentru lotul LC și LS-2%. Nu au fost evidențiate diferențe statistice semnificative, valorile obținute la loturile experimentale, fiind apropiate de lotul de control.

După o lună de experiment, valorile medii înregistrate pentru indicele gălbenușului, au fost ușor superioare (1,01-1,17%) față de cele înregistrate la debutul experimentului, cu excepția lotului LT-4% care a înregistrat o valoare mai redusă cu 2,62% (fig. 8.29). În această perioadă, cea mai bună valoare a fost înregistrată de lotul LT-2% cu 3,19% față de LC. În diagrama de mai jos (fig. 8.31), se constată un interval de variație mai mare a valorilor pentru LS-2% și LT-4%.

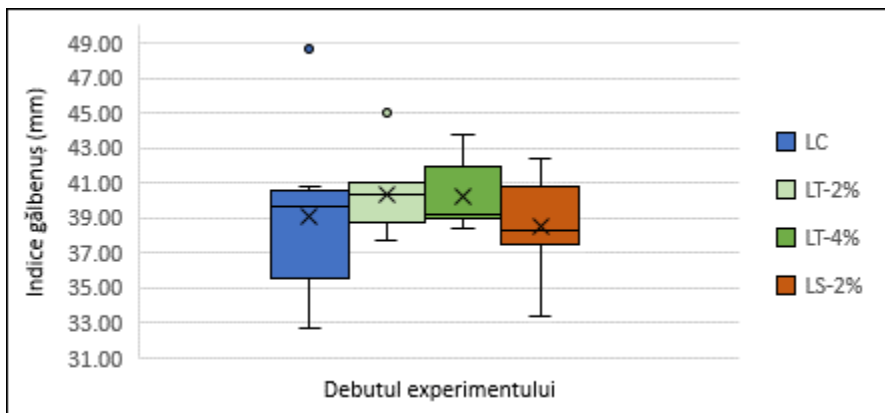


Fig. 8.30. Indicele gălbenușului la loturile studiate (începutul experimentului)

Fig. 8.30. Yolk index at the studied groups (beginning of the experiment)

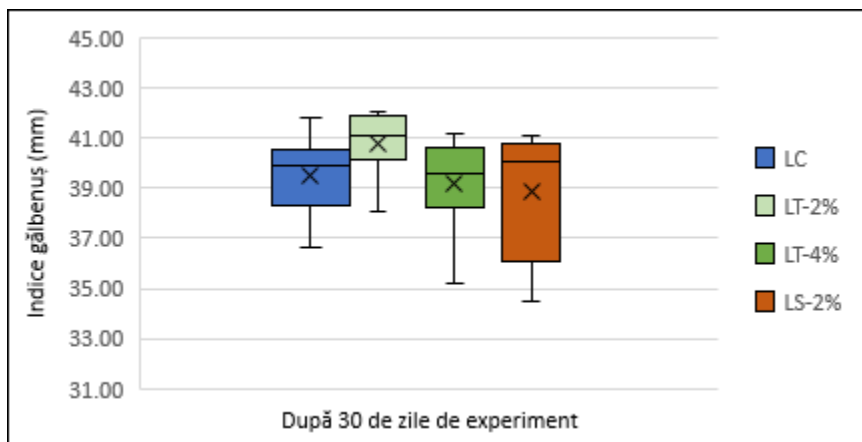


Fig. 8.31. Indicele gălbenușului la loturile studiate (după 30 de zile de experiment)

Fig. 8.31. Yolk index at the studied groups (after 30 days of the experiment)

Valorile înregistrate pentru indicele gălbenușului în urma determinărilor făcute la ouăle din loturile din experiență, se încadrează în limitele înscrise în literatura de specialitate (0,442-0,361 mm) pentru ouăle proaspete (French și Tullet, 1990).

8.3.2.7 Culoarea gălbenușului

Culoarea gălbenușului este un indicator de mare importanță pentru consumatori în ceea ce privește calitatea internă a ouălor de găină, și care se află în relație directă cu preferințele consumatorilor.

La ouăle recoltate în prima perioadă și după 30 de zile de experiment, intensitatea culorii gălbenușului a variat de la nuanța 6 (galben deschis) până la nuanța 10 (oranj deschis).

Distribuția frecvențelor în funcție de numărul de note de culori pentru cele cinci eșantioane de culoare pe scara La Roche, sunt prezentate în figurile 8.32 și 8.33. Din datele prezentate în figura 8.32, la începutul experimentului, se constată că mai predominante au fost eșantioanele 8 (galben foarte intens) și 9 (oranj foarte deschis), la toate cele patru loturi de experiență. Astfel, frecvența relativă a eșantionului 8 (galben intens) a fost mai mare la ouăle din lotul LT-4% de 62%, și la lotul LC de 50%. Ouăle din loturile LT-2% și LS-2% au prezentat un procent de 37,5% (3 ouă din totalul de 8).

Frecvența relativă a eșantionului 9 (oranj foarte deschis) a fost mai bine marcată la ouăle din lotul LC, LT-2%, LS-2%, acestea înregistrând un procent

de 37,5%, urmate de ouăle din lotul LT-4% care a prezentat un procent, a acestei nuanțe, de doar 25%.

Pe lângă cele 2 eșantioane de culori, predominante la ouăle din loturile de experiență, la lotul LS-2% s-a marcat și ouă din eșantionul 10 de culoare, procentul acestuia a fost de 25% la acest lot.

La începutul acestei perioade s-au evidențiat și ouă încadrate pe eșantionul 7, frecvența acestuia a fost de 12,5% la loturile LC, LT-4%, LS-2% și de 25% la LT-2%.

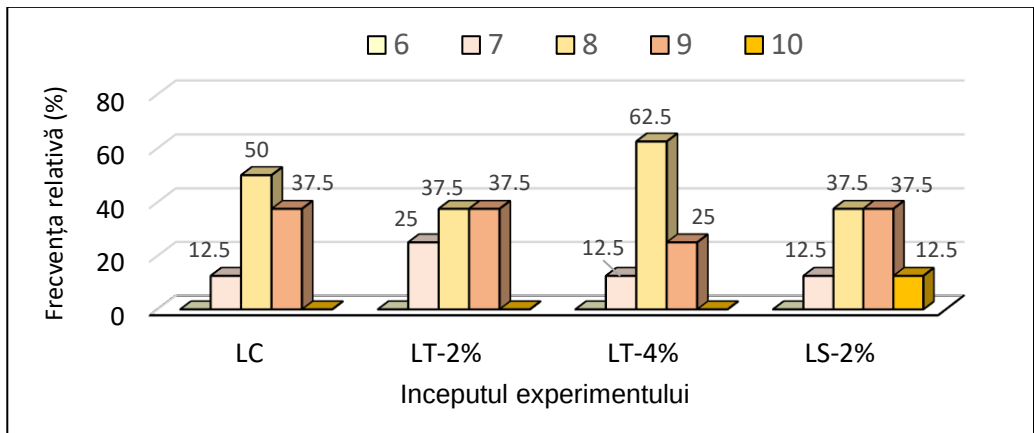


Fig. 8.32. Frecvența relativă a intensității culorii la loturile studiate (începutul experimentului)

Fig. 8.32. The relative frequency of the color intensity at the studied groups (beginning of the experiment)

După 30 de zile de experiment, se constată o frecvență relativă a intensității culorii gălbenușului (fig. 8.33) mai mare pentru eșantionul 9 pe scara de culori La Roche (gălbenușul oranj foarte deschis). Astfel, ouăle din lotul LC au prezentat procentul cel mai mare de 75%, urmate de ouăle din loturile LT-4% și LS-2% care au avut un procent de 50%. Lotul LT-2% a prezentat un procent de doar 25%, a acestei nuanțe de culoare a gălbenușului. În reprezentarea grafică 8.33, se constată în schimb o frecvență mai bună a eșantionului 10 de culoare, în special la ouăle din LT-2%, înregistrând un procent de 37,5%, urmate de lotul LC și LS-2% fiecare prezentând un procent 12,5%. La lotul LS-2% se evidențiază și ouă încadrate pe eșantionul 8 de culoare, prezentând un procent de 37,5% ouă. Un procent mai mic de 25% al acestei nuanțe se înregistrează și la ouăle din lotul LT-2%. În această perioadă au fost evidențiate ouă din eșantionul 6 de culoare, la loturile cu tescovină în hrană, înregistrând un procent

de 12,5% și ouă încadrate pe eșantionul 7 (galben intens), având același procent de 25% la lotul LC.

Din datele prezentate cu privire intensitatea culorii gălbenușului, reiese că introducerea tescovinei în proporție de 2 și 4 % și a semințelor în proporție de 2% în hrana găinilor, nu a influențat negativ acest parametru calitativ intern al ouălor.

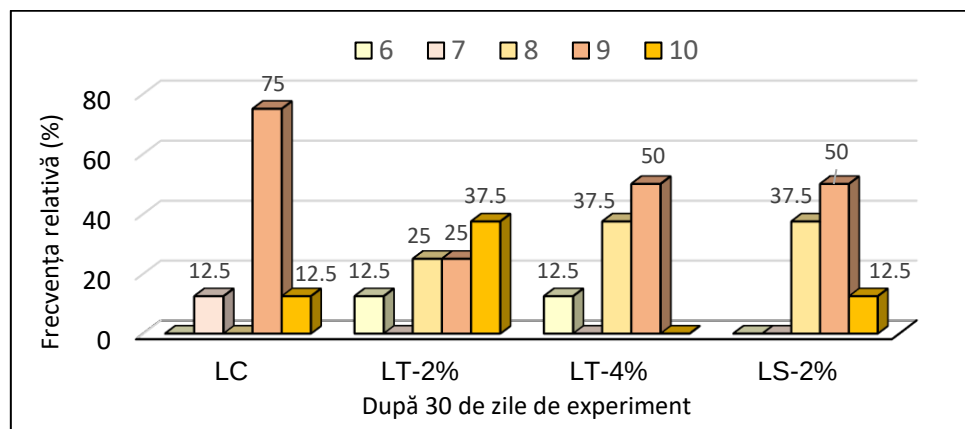


Fig. 8.33. Frecvență relativă a intensității culorii la loturile studiate (după 30 de zile de experiment)

Fig. 8.33. The relative frequency of the color intensity at the studied groups (after 30 days of the experiment)

8.3.3 Indicatorii biochimici de calitate

8.3.3.1 Acizii grași și colesterolul

Lipidele din gălbenușul de ou sunt sintetizate în ficatul păsărilor pe calea enzimatică Δ^9 - Δ^6 desaturaza, iar activitatea acestor enzime poate fi influențată de substanțele antioxidante introduse în hrană (Ozkan și colab., 2005). Hayat și colab., (2009) au raportat că substanțele antioxidante precum vitamina E și toluen hidroxil butilatul modifică conținutul în acizi grași saturați, mononesaturați și polinesaturați (PUFA)- omega 3 și omega 6. De asemenea, profilul lipidic din gălbenușul ouălor poate fi influențat de factorii genetici, mărimea ouălor, compoziția hranei și tipul de grăsime adăugat în hrană (Cherian, 2008). Majoritatea lipidelor din ouă sunt prezente sub formă de lipoproteine în gălbenuș (4 g din greutatea medie), lipidele fiind legate de proteinele viteline. Principalii acizi grași din gălbenușul de ou sunt acidul oleic (38%), acidul palmitic (23%) și acidul linoleic (16%) (Faitarone și colab., 2016). Botsoglou și colab., (1998) au constatat că ouăle conțin în jur de 33,84% acizi grași saturați,

45,26 acizi grași monosaturați, 17,63% și 2,3% acizi grași polinesaturați din seriile omega-6 și respectiv omega-3.

Rezultatele privind compoziția acizilor grași în gălbenușul ouălor sunt prezentate în tabelul 8.8. Analiza esterilor metilici ai acizilor grași din lipidele gălbenușului a evidențiat o modificare a acestora în urma utilizării în hrană a factorilor experimentali.

Tab. 8.8. Efectul tescovinei și semințelor asupra profilului în acizi grași (% din acizii grași) și conținutului în colesterol (g/100 g) din gălbenușul de ou

Tab. 8.8. The grape pomace and seeds' effect on fatty acids profile (% of fatty acids) and on the amount of cholesterol (g/100 g) in the egg yolk

Acizi grași (%)	LC	LT- 2%	LT-4 %	LS- 2%
Miristic C14:0	0,30±0,03	0,27± 0,02 ^{NS}	0,30± 0,02 ^{NS}	0,27± 0,01 ^{NS}
Pentadecanoic C15:0	0,05±0,002	0,08±0,01 ^{NS}	0,07±0,01 ^{NS}	0,09±0,02 ^{NS}
Pentadecenoic C15:1	0,09± 0,02	0,09 ± 0,02 ^{NS}	0,10±0,01 ^{NS}	0,15±0,02*
Palmitic C16:0	23,13 ± 0,45	23,89± 0,58 ^{NS}	22,87±0,23 ^{NS}	24,14±0,70*
Palmitoleic C16:1	3,15 ± 0,24	2,82± 0,13 ^{NS}	3,08±0,14 ^{NS}	2,59±0,24 ^{NS}
Heptadecanoic C17:0	0,14 ± 0,03	0,15± 0,02 ^{NS}	0,16±0,01 ^{NS}	0,17±0,04 ^{NS}
Heptadecenoic C17:1	0,11 ± 0,01	0,08±0,004*	0,10±0,02 ^{NS}	0,12±0,04 ^{NS}
Stearic C18:0	9,15 ± 0,97	10,75 ± 0,14*	8,67±0,59 ^{NS}	11,24±0,08*
Oleic C18:1	36,49 ± 1,19	32,51±1,69*	35,20± 1,32 ^{NS}	31,59±0,95**
Linoleic C18:2n6	20,47± 0,76	21,30±0,71 ^{NS}	22,97±1,73 ^{NS}	21,05±1,13 ^{NS}
Linolenic γ C18:3n6	0,11± 0,02	0,13 ± 0,02 ^{NS}	0,10±0,10 ^{NS}	0,10± 0,01 ^{NS}
Linolenic α C18:3n3	0,81± 0,12	0,76 ± 0,02 ^{NS}	0,92 ± 0,10 ^{NS}	0,78 ± 0,16 ^{NS}
Eicosadienoic C20 (2n6)	0,15 ± 0,004	0,19 ± 0,07 ^{NS}	0,16 ± 0,01 ^{NS}	0,18 ± 0,07 ^{NS}
Eicosatrienoic C20 (3n6)	0,21± 0,03	0,21 ± 0,09 ^{NS}	0,25± 0,02 ^{NS}	0,28 ± 0,02*
Erucic C22 (1n9)	0,07± 0,01	0,09 ± 0,02 ^{NS}	0,07±0,01 ^{NS}	0,08 ± 0,01 ^{NS}
Eicosatrienoic C20 (3n3)	0,13 ± 0,02	0,21± 0,02*	0,15±0,01 ^{NS}	0,20 ± 0,02*
Arachidonic C20 (4n6)	3,01± 0,49	3,71 ± 0,18 ^{NS}	2,72±0,23 ^{NS}	3,89 ± 0,11*
Nervonic C24 (1n9)	0,25 ± 0,05	0,27 ± 0,03 ^{NS}	0,20± 0,00 ^{NS}	0,31±0,06 ^{NS}
Docosatetraenoic C22 (4n6)	0,49 ± 0,08	0,55 ± 0,04 ^{NS}	0,45± 0,02 ^{NS}	0,69±0,12 ^{NS}
Docosapentaenoic C22 (5n3)	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01 ^{NS}	0,16±0,01 ^{NS}	0,19±0,05 ^{NS}
Docosahexaenoic C22 (6n3)	1,49 ± 0,21	1,79 ± 0,12 ^{NS}	1,31± 0,06 ^{NS}	1,85±0,04**
Alți acizi grași	0,02 ± 0,04	0,00± 0,00	0,00± 0,00	0,03±0,06
Acizi grași saturați	32,78 ±1,36	35,14 ± 0,72 ^{NS}	32,07 ±0,77 ^{NS}	35,90 ± 0,73*
Acizi grași mononesaturați	40,17 ±1,28	35,85 ±1,77*	38,75 ±1,42 ^{NS}	34,85 ± 1,12**
Acizi grași polinesaturați	27,03 ±0,28	29,01 ±1,10*	29,18 ±1,67 ^{NS}	29,22 ± 1,17*
Acizi grași nesaturați	67,20 ±1,33	64,86 ± 0,72	67,93 ±0,77 ^{NS}	64,06 ± 0,71*
PUFA/MUFA	0,67 ± 0,02	0,81 ± 0,07*	0,76 ± 0,07*	0,84 ± 0,06**
UFA/SFA	2,05 ± 0,13	1,85 ± 0,06 ^{NS}	2,12± 0,07 ^{NS}	1,78 ± 0,06*

Ω3	2,59 ± 0,11	2,91 ± 0,14*	2,54 ± 0,08 ^{NS}	3,03 ± 0,17*
Ω6	24,44 ± 0,33	24,95 ± 2,83 ^{NS}	26,64 ± 1,61 ^{NS}	26,19 ± 1,17 ^{NS}
Ω6/Ω3	9,43 ± 0,50	8,96 ± 0,12 ^{NS}	10,50 ± 0,41*	8,68 ± 0,62 ^{NS}
Colesterol (g/100g)	1,48 ± 0,20	1,70 ± 0,28 ^{NS}	1,44 ± 0,32 ^{NS}	1,65 ± 0,21 ^{NS}

Semnificația diferențelor între lotul LC și loturile experimentale: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; ^{NS}- $p > 0,05$, (Medie ± deviația standard).

Astfel, conținutul în acizi grași saturați (AGS) din gălbenușul de ou a crescut semnificativ ($p < 0,05$) la lotul LS- 2% (35,90%) comparativ cu lotul de control (32,78%), prin creșterea semnificativă a acidului stearic și acidului palmitic ($p < 0,05$). În cazul lotului LT-2%, s-a evidențiat o creștere nesemnificativă ($p > 0,05$) a conținutului în AGS, a acidului palmitic ($p > 0,05$) și acidului stearic ($p < 0,05$).

Rezultatele noastre privind conținutul în acid stearic în gălbenușul de ou ar putea fi comparate cu studiile realizate de *Celebi și Macit (2008)* și *Jiang și colab., (1991)*, care au constatat o creștere a acidului stearic în urma utilizării semințelor de floarea soarelui, bogate în acid linoleic, în hrana păsărilor.

În ceea ce privește conținutul în acizi grași mononesaturați (MUFA), acesta a scăzut distinct semnificativ ($p < 0,01$) la lotul LS- 2% (34,85%) și semnificativ la lotul LT- 2% (35,85) comparativ cu LC (40,17%). Cei mai afectați acizi grași MUFA a fost acidul oleic ($p < 0,01$), la lotul care a primit în hrană semințe 2% și la lotul cu tescovină 2% în hrană ($p < 0,05$). S-a evidențiat de asemenea un conținut mai scăzut în acidul heptadecenoic la lotul LT-2% (0,08%) față de LC (0,11%). Conținutul în acid palmitic a crescut semnificativ ($p < 0,05$) la lotul LS-2% (24,14%) și nesemnificativ ($p > 0,05$) la lotul LT- 2% (23,89%).

La loturile LS-2% și LT-2% s-a evidențiat o creștere semnificativă a conținutului în acizi grași polinesaturați (PUFA). În schimb, conținutul în acizii grași nesaturați (UFA), a fost mai scăzut la loturile LS-2% și LT-2% și mai ridicat la lotul LT- 4%, fără diferențe statistic semnificative ($p > 0,05$) față de lotul LC.

În urma suplimentării hranei cu tescovină și semințe de struguri, acidul linoleic nu a prezentat creșteri semnificative față de lotul de control. Valoarea medie cea mai ridicată a acidului linoleic a fost înregistrată de lotul care a primit o cantitate mai mare de tescovină în hrană, și anume la LT- 4% (22,97%), aceasta fiind mai ridicată cu 12,21% față de cea a lotului LC (20,47%). Acidul linoleic este precursorul primar al acizilor grași polinesaturați omega- 6 (Ω6 - PUFA) Acesta este convertit în acid arachidonic ($C_{20:4n-6}$) în țesuturile animale și s-a dovedit că are efecte antiinflamatorii prin scăderea secreției de interleukine 6 și 1β (IL) precum și a factorului de necroză tumorală alfa (*Zhao și colab., 2005*).

Conținutul în acid linolenic ($C_{18:3n3}$) a fost ușor mai ridicat la lotul LT- 4% (0,92%) comparativ cu lotul LC (0,81%). La celelalte două loturi, conținutul în acid linolenic din gălbenușul de ou nu s-a îmbunătățit, valorile medii ale acestui acid fiind ușor mai scăzute dar nesemnificativ ($p > 0,05$) față de LC.

La loturile LS-2% și LT-2% s-a constatat o îmbunătățire a conținutului în acid arachidonic și docosahexaenoic. În cazul lotului LS- 2% au fost înregistrate valori semnificative mai ridicate a acidului docosahexaenoic ($p < 0,01$) și acidului arachidonic ($p < 0,05$). La lotul LT-2% nu au fost evidențiate diferențe semnificative față de LC însă valorile înregistrate pentru cei doi acizi grași au fost mai ridicate.

Dyeberg și colab., (1975) au raportat că un nivel optim al acidului docosahexaenoic (care aparține grupei omega-3) joacă un rol important în organism prin reglarea presiunii sângelui și concentrației de colesterol în sânge. Pe lângă aceste roluri, acidul docosahexaenoic mai are numeroase beneficii potențiale în reducerea bolilor cardiovasculare, rezoluția inflamației și importanța acestuia în funcția cognitivă și inhibarea evoluției bolilor neurodegenerative la persoanele în vârstă (*Whelan și colab., 2009*).

Rezultatele noastre pot fi comparate cu cele obținute de *Yang și colab., (2003)* care au arătat că prin suplimentarea cu subproduse rezultate din ceaiul verde (bogate în polifenoli) în doze de 4 și 6% în hrana găinilor ouătoare a crescut nivelul acizilor docosahexaenoici în gălbenușul de ou.

Modificările compoziției acizilor grași din gălbenușul de ou a influențat raportul acizilor grași nesaturați/saturați, acesta fiind semnificativ mai scăzut ($p < 0,05$) la lotul LS- 2% (1,78) și nesemnificativ la lotul LT- 2% (1,85). Lotul LT-4% a înregistrat o valoare a raportului ușor mai ridicată (2,12), față de cea a lotului LC (2,05).

În ceea ce privește conținutul în acizi grași polinesaturați omega-6 și omega-3 ($\Omega 3$ și $\Omega 6$ —PUFA) din gălbenușul de ou, loturile LS- 2% și LT- 2% au înregistrat un conținut semnificativ mai ridicat ($p < 0,05$) în acizi $\Omega 3$ -PUFA. În schimb, lotul LT- 4% și LS- 2% au înregistrat un conținut mai ridicat în acizi $\Omega 6$ -PUFA, nesemnificativ statistic. Astfel, la final, raportul $\Omega 6/\Omega 3$ a fost mai scăzut la LS- 2% (8,68) și LT- 2% (8,96), fără diferențe statistic semnificative. În cazul lotului LT- 4%, care a prezentat un conținut mai ridicat în acizi $\Omega 6$ -PUFA și mai scăzut în acizi $\Omega 3$ -PUFA a înregistrat un raport $\Omega 6/\Omega 3$ PUFA semnificativ mai ridicat ($p < 0,05$) față de LC. În literatură, este recomandat ca raportul $\Omega 6/\Omega 3$ PUFA în ou să fie mai mic de 4 (*Wood și colab. 2008*). În studiul de față valorile raportului $\Omega 6/\Omega 3$ PUFA au fost mai mari față de cele recomandate în literatura de specialitate.

Concentrația mai scăzută a acidului linoleic ($C_{20:4n-6}$) în gălbenușul de ou la loturile LS- 2% și LT- 2% ar putea fi justificată prin faptul că polifenolii sau tocoferolii conținuți în tescovină și semințe au avut o influență pozitivă asupra sintezei acizilor grași cu lanț lung omega -3, prin desaturarea acidului linoleic (n-6 PUFA), conducând astfel la creșterea concentrației acizilor docosahexaenoic ($C_{22:6n-3}$) și eicosatrienoic ($C_{20:3n-3}$) în gălbenușul de ou. Acest lucru este explicat și în studiul *Cachaldora și colab., 2006*, care a introdus în hrana găinilor surse de antioxidanți (tocoferoli). Acest fenomen poate fi de asemenea datorat unei utilizări mai bune a enzimei Δ -6 desaturaza în formarea acizilor grași Ω 3 pe calea Ω 6-PUFA (*Cachaldora și colab., 2006*). Această enzimă acționează în ambele căi, ceea ce duce la o competiție în formarea acizilor grași n- 3 și n- 6, prin scăderea enzimei în biosinteza acestora (*Mazalli și colab., 2004*). Astfel, nivelul ridicat de acid linolenic limitează sinteza acidului arachidonic din acidul linoleic, acidul linolenic se află în competiție cu acidul linoleic datorită utilizării aceleași enzime Δ -6 desaturaza. Acest lucru ar putea explica, concentrația mai scăzută a acizilor grași cu lanț lung (Ω 3 și Ω 6-PUFA) în gălbenușul ouălor la lotul LT- 4%, datorită conținutului ușor mai ridicat al acidului linoleic și linolenic, comparativ cu celelalte loturi.

Din cele prezentate mai sus rezultă că proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor (LS- 2%) a îmbunătățit raportul Ω 6/ Ω 3 în gălbenușul de ou prin creșterea semnificativă a conținutului în acizi grași n-6 [acidul eicosatrienoic- ($C_{20:3n-6}$); acidul arachidonic ($C_{20:4n-6}$)] și respectiv în acizi grași n-3 [acidul eicosatrienoic ($C_{20:3n-3}$) și acidul docosahexaenoic ($C_{22:6n-3}$)]. De asemenea, o îmbunătățire a raportului Ω 6/ Ω 3 a fost evidențiată și la lotul care a primit în hrană o proporție de 2% tescovină, însă nu a existat o creștere semnificativă a acizilor grași n-3 și n-6 în gălbenușul de ou, cu excepția acidului eicosatrienoic ($C_{20:3n-3}$).

Celebi și Macit, (2008) au raportat un conținut în Ω 3 și Ω 6-PUFA mai ridicat în gălbenușul de ou atunci când în hrana păsărilor au fost introduse surse de lipide bogate în Ω 3 și respectiv Ω 6-PUFA. Acidul linoleic conjugat în gălbenușul de ou a crescut în urma utilizării în alimentație a surselor bogate în acid linoleic conjugat. (*Raes și colab., 2002*). Tescovina și semințele sunt surse importante de acizi grași polinesaturați (59,73% respectiv 65,59%). Dintre cele două grupe de acizi grași polinesaturați (omega-3, omega-6), cantitatea cea mai mare o are acidul linoleic din familia n-6 (59,73% - 69,14%).

În literatură, una dintre cele mai frecvente metode folosite pentru a modifica profilul lipidic din ouă a constatat în utilizarea diferitelor surse de uleiuri folosite ca surse de energie în hrana găinilor ouătoare (15, 17, 23). Surse bogate în acizi Ω 6 PUFA, cum ar fi uleiul de floarea soarelui, uleiul de porumb, uleiul de susan

și uleiul de bumbac, precum și surse bogate în Ω 3–PUFA cum este uleiul din făină de pește folosite în hrana găinilor în cantitate de 4%, au îmbunătățit conținutul în acid linoleic, acid docosahexaenoic și acid arachidonic în gălbenușul de ou (*Guçlu și colab., 2008*). După cum reiese în studiul menționat anterior, compoziția acizilor grași din gălbenușul de ou se reflectă și în compoziția acizilor grași din hrană.

Rezultatele noastre au evidențiat un conținut mai ridicat în acid docosahexaenoic și acid arachidonic în gălbenușul de ou în special la găinile care au primit în hrană o proporție de 2% semințe, precum și cele care au primit tescovină 2% în hrană. În schimb, conținutul în acid linoleic nu s-a modificat foarte mult la aceste loturi. Doar în cazul lotului care a primit o cantitate mai mare de tescovină (4%) în hrană s-a putut observa un conținut ușor mai ridicat în acid linoleic, în gălbenușul de ou, dar nesemnificativ față de lotul LC.

În ceea ce privește conținutul în colesterol din gălbenușul de ou, acesta a fost mai ridicat la loturile LT-2% (1,70 g/100g) și LS-2% (1,60 g/100g), dar fără diferențe semnificative față de LC ($p > 0,05$). La lotul LT-4% conținutul în colesterol a fost ușor afectat, valoarea medie a acestuia fiind mai scăzută (1,44 g/100g) față de cea înregistrată de lotul LC (1,48 g/100g).

Deși colesterolul este esențial pentru dezvoltarea embrionului, mulți cercetători au încercat să reducă conținutul acestuia în gălbenușul ouălor datorită riscului pe care l-ar putea avea în bolile cardiovasculare la om (*Viveros și colab., 2008*). *Nabber și Biggert (1989)* au evidențiat o reducere a colesterolului în urma utilizării acizilor PUFA în hrana găinilor, aceștia putând afecta activitățile enzimelor asociate cu lipogeneza; *Gonzales-Munoz și colab. (2009)* au observat că nivelul de colesterol a fost mai ridicat la găinile hrănite cu surse de acizi grași saturați decât la cele hrănite cu surse de acizi grași nesaturați.

În cercetarea noastră, nivelul ridicat în acid linoleic din tescovină (59,73%) și semințe (69,14%) nu a influențat conținutul colesterolului în gălbenușul ouălor. *Azeke și Ekpo, (2009)* au demonstrat că polifenolii naturali, catechinele și flavonolii pot determina scăderea colesterolului din ou prin captarea speciilor reactive de oxigen și chelatarea ionilor metalici. Acest lucru nu s-a putut observa și în cercetările proprii.

Modificarea conținutului în colesterol și în acizi grași necesită o bună cunoaștere a factorilor care influențează depunerea colesterolului și acizilor grași în gălbenușul de ou. *Muramatsu și colab., (1986)* au constatat că reducerea conținutului în colesterol în țesuturi poate să aibă un impact negativ în formarea micelilor care mediază absorbția acizilor biliari.

Concentrația colesterolului și acizilor grași din gălbenușul de ou depind de modificările în compoziția hranei, de agenții farmacologici precum și de cei genetici, vârstă și nivelul de producție al păsărilor.

Datorită faptului că tescovina și semințele conțin substanțe antioxidante cum ar fi polifenoli, tocoferoli și cantități ridicate de PUFA acestea ar putea potența efectele asupra compoziției acizilor grași n-3 în gălbenușul ouălor, prin creșterea concentrației în acizi docosahexaenoici ($C_{22:6n-3}$) și eicosatrienoici ($C_{20:3n-3}$).

8.3.3.2 Statusul antioxidant total

Rezultatele obținute cu privire la statusul antioxidant total (TAS) dozat în gălbenușul și albușul ouălor sunt prezentate în figura 8.34. După cum se poate observa în fig. 8.34 factorii experimentali utilizați în hrana găinilor nu au modificat TAS-ul din componentele oului, valorile obținute fiind foarte apropiate față de lotul de control.

Valorile TAS-ului înregistrate în gălbenușul ouălor au fost mai ridicate comparativ cu cele obținute în albuș. Astfel, valorile TAS din gălbenuș au oscilat între 3,80 (LS-2%) – 3,88 $\mu\text{mol/g}$ (LT-2%) iar cele din albuș între 1,77 (LS-2%) -1,81 $\mu\text{mol/g}$ (LT-2%). Valori mai ridicate ale TAS-ului au fost înregistrate la lotul LT-2% la ambele componente ale oului (albuș, gălbenuș) iar cele mai mici la lotul LS-2%.

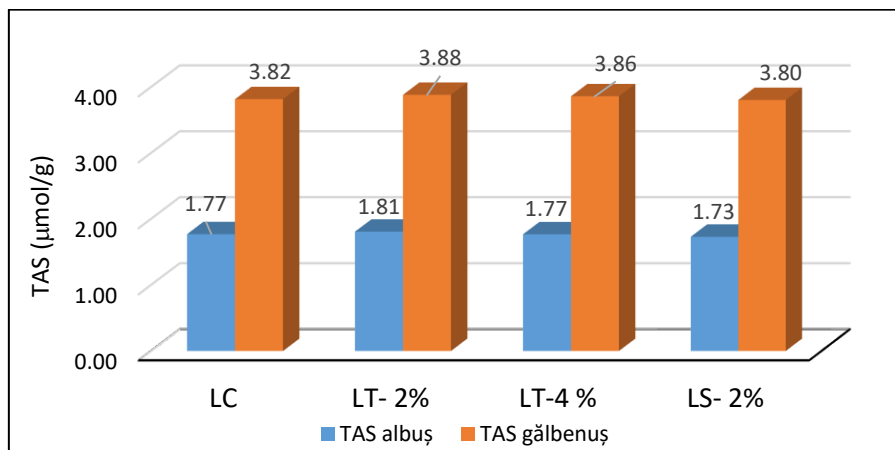


Fig. 8.34. Statusul antioxidant total măsurat în componentele oului

Fig. 8.34. The measured total antioxidant status in egg components

În prezent, efectele antioxidante ale tescovinei, semințelor și extractelor de semințe a făcut obiectul principal de cercetare (Jayaprakasha și colab., 2003; Shi și colab., 2003; Özkan și colab., 2004). Numeroase studii au accentuat

faptul că aceste subproduse au un potențial ridicat de a conserva pe o perioadă mai mare de timp produsele de origine animală, prin reducerea peroxidării lipidelor (Brenes și colab., 2008, 2010).

În studiul nostru, statusul antioxidant total determinat la ouăle proaspete (albuș, gălbenuș) nu a fost modificat de factorii experimentali. Valorile obținute la loturile experimentale au fost asemănătoare cu lotul de control.

Studii privind îmbunătățirea stabilității oxidative a ouălor și a cărnii prin intermediul antioxidantilor din hrană evidențiază o relație invers proporțională între nivelul de antioxidanți alimentari și conținutul de malondialdehidă (marker de stres oxidativ) în gălbenușul de ou, carne, serul sanguin, acest compus organic fiind un indicator de peroxidare în produsele de pasăre (Şahin și colab., 2010).

Cercetări realizate de Kara și colab., (2016), au evidențiat o reducere a malondialdehidei la ouăle depozitate la frigider (4°C) timp de 1-15 zile, provenite de la găinile care au primit în hrană 4% și 6% tescovină, lucru care ar putea argumenta că polifenolii sau metaboliții acestora au fost absorbiți și distribuiți în produs (ou) dar probabil în cantități neglijabile (Kaya și colab., 2014).

8.4 EVALUAREA ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE DIN SERUL GĂINILOR OUĂTOARE

Rezultatele statusului antioxidant total (TAS) determinat în serul găinilor ouătoare sunt evidențiate în figura de mai jos (fig. 8.35). Nici de această dată, TAS-ul nu a prezentat modificări semnificative la loturile experimentale care au primit în hrană tescovină și semințe. Valori mai ridicate au fost înregistrate la lotul LS-2% (1,51 mmol/L) iar cele mai mici la lotul LT-4% (1,38 mmol/L).

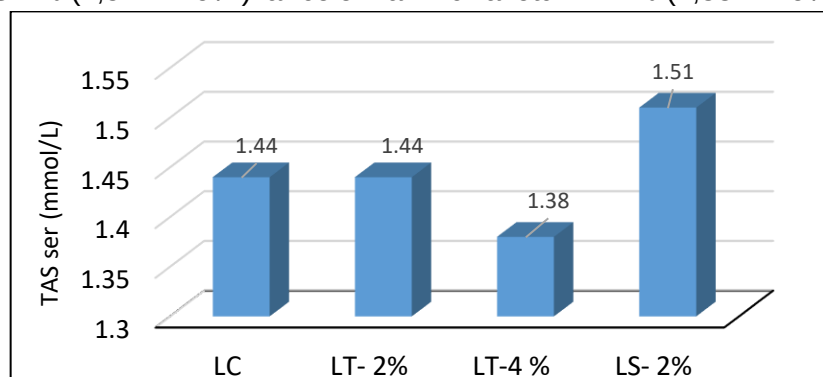


Fig. 8.35. Statusul antioxidant total măsurat în serul găinilor ouătoare

Fig. 8.35. The total antioxidant status measured in the studied layer hens serum

Absența modificării TAS-ului a fost constată și la șobolani care au fost hrăniți cu un regim alimentar conținând 4% ulei de soia și suplimentat cu pielite și semințe de struguri 10%, indiferent de metoda utilizată pentru dozarea TAS-ului (ABTS sau testul FRAP) (*Alia și colab., 2003*). Autorii acestui studiu au explicat acest lucru prin faptul că polifenolii sunt eliminați rapid din plasmă iar nivelul ridicat al TAS-ului ar putea fi observat numai în timpul perioadei postprandiale (după masa de prânz).

Gliadine și colab., (2007) precizează că polifenolii sunt prezenți în plasmă, dar contribuția lor la statusul antioxidant total este probabil neglijabilă în comparație cu moleculele antioxidante endogene (enzime antioxidante, acidul ascorbic, tocoferolul, acidul uric, bilirubina, glutationul). Această afirmație este justificată prin faptul că concentrația de MDA (malondialdehidă- marker de stres oxidativ) din plasma șobolanilor a scăzut atunci când aceștia au fost hrăniți cu extracte de plante bogate în polifenoli. Acest lucru sugerează că polifenolii sau metaboliții acestora din extracte sunt absorbiți în plasmă iar aceștia nu reduc substanțial capacitatea antioxidantă (*Manach și colab., 2004*).

Caracteristicile antioxidante ale tescovinei, semințelor și extractelor de struguri pot fi puse pe seama compușilor polifenolici care neutralizează radicalii liberi pentru a forma combinații complexe cu ionii metalici și pentru a preveni sau reduce formarea oxigenului singlet ($^1\text{O}_2$) (*Yilmaz și Toledo 2006*).

8.5 EVALUAREA GRADULUI DE DEGRADARE AL PROSPEȚIMII OULUI PE PERIOADA STOCĂRII

Majoritatea modificărilor care apar în timpul stocării pot influența unii indicatori fizici interni de calitate a ouălor, cum ar fi: unitatea Haugh, înălțimea albușului, indicele albușului (gradul de lichefiere) și gălbenușului, greutatea specifică și dimensiunea camerei cu aer (*Akyurek și Okur, 2009*). Aceste modificări sunt datorate pierderilor de apă și eliminării CO_2 din albuș care au loc prin evaporare, prin porii cojii oului, ca rezultat a unei durate mai lungi de stocare a ouălor (*Samli și colab., 2005*).

8.5.1 Greutatea ouălor

Pe timpul păstrării, ouăle pierd în greutate ca urmare a evaporării conținutului în apă, pierdere care este dependentă de temperatură, viteza de circulație a aerului și umiditatea relativă. Pe perioade mai lungi, ouăle pierd în jur de 0,7-

1,0% lună din greutatea lor inițială (*Usturoi și colab., 2007*). Greutatea oului crește odată cu vârsta găinilor (*Akyurek și Okur, 2009*).

În cercetările proprii, la ambele serii de ouă (recoltate în prima și a doua lună de experiment) depozitate la 4°C, (umiditate de 85-88%) timp de 28 de zile, s-a putut observa o pierdere în greutate nesemnificativă ($p > 0.05$), la toate loturile experimentale, pe întreaga perioadă de stocare (tabel. 8.9 și 8.10). Astfel, la prima serie, greutatea medie a ouălor proaspete (ziua 0) a fost diferită la toate loturile de experiență, după cum se poate observa în tabelul 8.9 cele mai mari greutatea au fost înregistrate de lotul LT-4% ($67,30 \pm 1,30$ g) și LC ($65,54 \pm 1,47$ g) iar cele mai mici de LS-2% de $64,26 \pm 1,39$ și LT-2% ($63,13 \pm 1,26$ g), fără a exista diferențe statistice semnificative. Spre sfârșitul stocării, la 28 de zile, cele mai mari reduceri au fost înregistrate de lotul LS-2% cu 1,71% și LT-4% cu 1,68% iar cele mai mici de LC cu 1,51% și LT-2% cu 1,60%. Pe perioada stocării, loturile experimentale nu au prezentat diferențe statistic semnificative față de lotul LC.

Și în cazul celei de-a doua serii, greutatea medie a ouălor proaspete (ziua 0) a fost apropiată de cea înregistrată la prima serie, la toate cele 4 loturi luate în studiu (tabel 8.10). Astfel, loturile LT-4% și LC au prezentat valori medii ale greutatea ouălor mai mari față de cele obținute de LS-2% și LT-2% (tabel 8.10). La această serie, se constată în schimb, că ouăle de la lotul LS-2% au înregistrat o valoare medie a greutatea de $64,91 \pm 1,61$ g, mai ridicată față de cea obținută la LT-2% ($63,93 \pm 0,77$ g).

Pe perioada stocării, pierderile în greutate au fost mai mari față de cele obținute la prima serie, la toate loturile de experiență (tabel 8.10). După 28 de zile de stocare, se constată că cele mai mari pierderi au fost înregistrate de lotul LT-2% cu 2,63% iar cele mai mici de loturile LT-4% cu 2,47%, LC cu 2,44% și LS-2% cu 2,42%. Pe parcursul depozitării, loturile experimentale nu au prezentat diferențe statistic semnificative față de lotul de control.

Valorile obținute în cercetările proprii pot fi comparate și cu cele din literatura de specialitate. În studiul efectuat de Usturoi și colab., (2007), ouăle care au fost depozitate timp de 21 de zile, la 4°C au prezentat o pierdere în greutate de numai 1,39%. Această pierdere poate fi comparată cu cele obținute în cercetările proprii, la prima serie de ouă, pierderile fiind cuprinse între 1,51% (LC) - 1,71 (LS-2%). În cazul celei de-a doua serii de ouă, la 21 de zile de stocare pierderile în greutate fiind mai mari, acestea variind între 1,76% (LT-4%)-1,83% (LT-2%).

Tab. 8.9. Evoluția greutății ouălor din prima serie pe perioada depozitării (Seria I)

Tab. 8.9. The evolution of the first series egg weight during the storage (Series I)

Perioada de stocare (zile)	Lotul	Estimatori statistici		Diferențe, raportate la oul proaspăt (%)
		$\bar{X} \pm s_{\bar{x}} \text{ (g)}$	V%	
1	LC	65,54 ± 1,47	6,35	0
	LT-2%	63,13 ± 1,26	5,66	
	LT-4%	67,30 ± 1,30	5,44	
	LS-2%	64,26 ± 1,39	6,10	
7	LC	65,29± 1,41	6,10	-0,38
	LT-2%	62,83± 0,78	3,53	-0,48
	LT-4%	66,94± 1,92	8,13	-0,53
	LS-2%	63,90± 1,26	5,59	-0,56
14	LC	65,04 ± 1,42	6,18	-0,76
	LT-2%	62,60 ± 0,74	3,33	-0,84
	LT-4%	66,70± 1,18	5,00	-0,89
	LS-2%	63,66± 1,69	7,52	-0,93
21	LC	64,74 ± 1,36	5,93	-1,22
	LT-2%	62,28± 1,19	5,42	-1,35
	LT-4%	66,36± 1,59	6,79	-1,40
	LS-2%	63,31± 0,99	4,42	-1,48
28	LC	64,55± 1,37	6,01	-1,51
	LT-2%	62,12± 1,17	5,35	-1,60
	LT-4%	66,17± 2,29	9,78	-1,68
	LS-2%	63,16± 1,47	6,57	-1,71

Tab. 8.10. Evoluția greutății ouălor din a doua serie pe perioada depozitării

Tab. 8.10. The evolution of the second series egg weight during the storage

Perioada de stocare (zile)	Lotul	Estimatori statistici		Diferențe, raportate la oul proaspăt (%)
		$\bar{X} \pm s_{\bar{x}} \text{ (g)}$	V%	
1	LC	66,06 ± 1,82	7,79	0
	LT-2%	63,93 ± 0,77	3,39	
	LT-4%	66,53 ± 1,99	8,45	
	LS-2%	64,91 ± 1,61	7,01	
7	LC	65,65±1,29	5,57	-0.62
	LT-2%	63,58±1,00	4,44	-0.55
	LT-4%	66,08± 1,49	6,36	-0.68
	LS-2%	64,56± 0,95	4,15	-0.54
14	LC	65,29± 1,53	6,64	-1.17
	LT-2%	63,07± 0,73	3,25	-1.35
	LT-4%	65,69± 2,20	9,47	-1.26
	LS-2%	64,06± 1,62	7,14	-1.32
21	LC	64,85±1,44	6,30	-1.83
	LT-2%	62,72± 1,24	5,58	-1.89

28	LT-4%	65,36 ± 1,30	5,61	-1.76
	LS-2%	63,75 ± 1,49	6,62	-1.79
	LC	64,45 ± 1,55	6,81	-2.44
	LT-2%	62,25 ± 0,94	4,27	-2.63
	LT-4%	64,89 ± 2,48	10,82	-2.47
	LS-2%	63,30 ± 1,22	5,45	-2.42

În cercetările realizate de *Kara și colab.*, (2016) în urma suplimentării în hrana găinilor ouătoare cu cantități de 4 și 6% tescovină, s-a constatat că ouăle proaspete provenite de la lotul care a primit în hrană 4% tescovină au înregistrat o greutatea medie semnificativ mai ridicată ($p < 0,001$) comparativ cu lotul de control. Și în cazul studiului nostru, la lotul cu tescovină 4% în hrană s-au observat la ambele serii, valori medii ale greutateii ouălor mai mari, dar nesemnificative statistic față de celelalte loturi de experiență. Creșterea greutateii oului, în urma suplimentării hranei cu tescovină 4% ar putea fi pusă pe seama efectului stimulator al tescovinei asupra bacteriilor probiotice la nivel intestinal (*Viveros și colab.*, 2011).

8.5.2 Greutatea specifică a ouălor

Greutatea specifică a ouălor proaspete este aproximativ de 1,078-1,097, putând să scadă până la 1,040-1,059 la ouăle mai vechi de 30 de zile, păstrate la 4°C (*Usturoi și colab.*, 2007). Și în cazul studiului de față, la ambele serii de ouă (recoltate în prima și a doua lună de experiment) s-a evidențiat o diminuare progresivă a acestui indicator pe întreaga perioadă de depozitare.

Astfel, la prima serie, greutatea specifică a ouălor proaspete (ziua 0) a fost aproximativ egală la toate loturile de experiență, valorile medii înregistrate au oscilat între 1,082 (lotul LT-2%) - 1,086 (LS-2%), urmând apoi ca la sfârșitul perioadei de depozitare să scadă progresiv la toate loturile (fig. 8.36). La sfârșitul celor 28 de zile de depozitare, cele mai mari reduceri au fost înregistrate de loturile experimentale, și anume: lotul LS-2% cu 1,98%, lotul LT-4% cu 1,94% și LT-2% cu 1,85%. Lotul control a înregistrat o reducere mai mică al acestui indicator cu 1,75%. Începând cu ziua a 14-a de depozitare și până la sfârșitul experienței, au fost evidențiate scăderi foarte semnificative ($p < 0,001$) al acestui indicator, la ouăle din fiecare lot experimental. La această serie de ouă, loturile experimentale nu au prezentat diferențe statistic semnificative față de lotul de control, pe timpul depozitării.

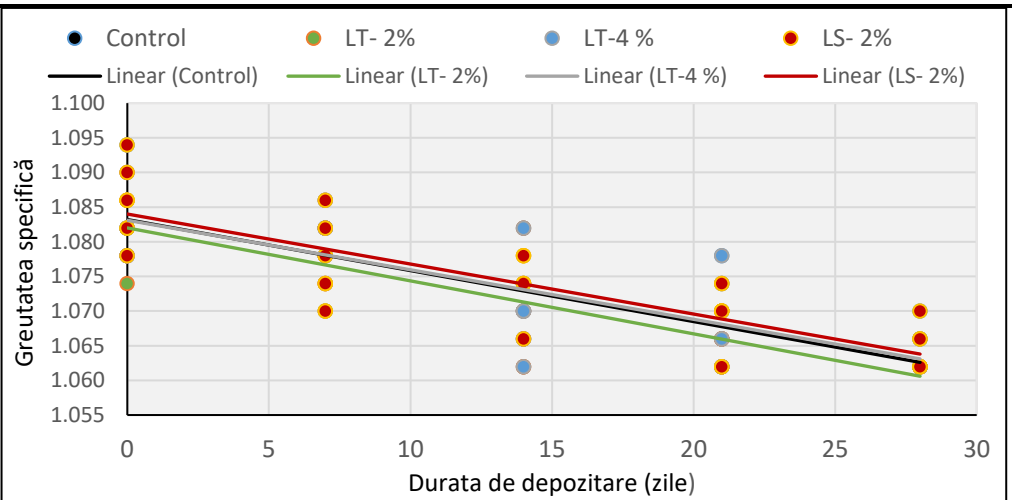


Fig. 8.36. Evoluția greutății specifice a ouălor din a prima serie pe perioada depozitării

Fig. 8.36. The evolution of the specific egg weight of the first series during the storage

Și în cazul celei de-a doua serii, greutatea specifică a ouălor proaspete a fost foarte apropiată la toate loturile de experiență, valorile medii înregistrate au fost cuprinse între 1,084 (LT-2%) - 1,086 (LT-4%, LS-2%), urmând ca pe perioada stocării să scadă progresiv la toate loturile. Începând cu prima săptămână de depozitare (7 zile), au fost evidențiate reduceri foarte semnificative ($p < 0,001$) la lotul LT-4% și distinct semnificative ($p < 0,01$) la lotul LC iar la celelalte două loturi (LT-2% și LS-2%) au fost evidențiate scăderi foarte semnificative ($p < 0,001$), începând cu cea de-a doua săptămână de depozitare.

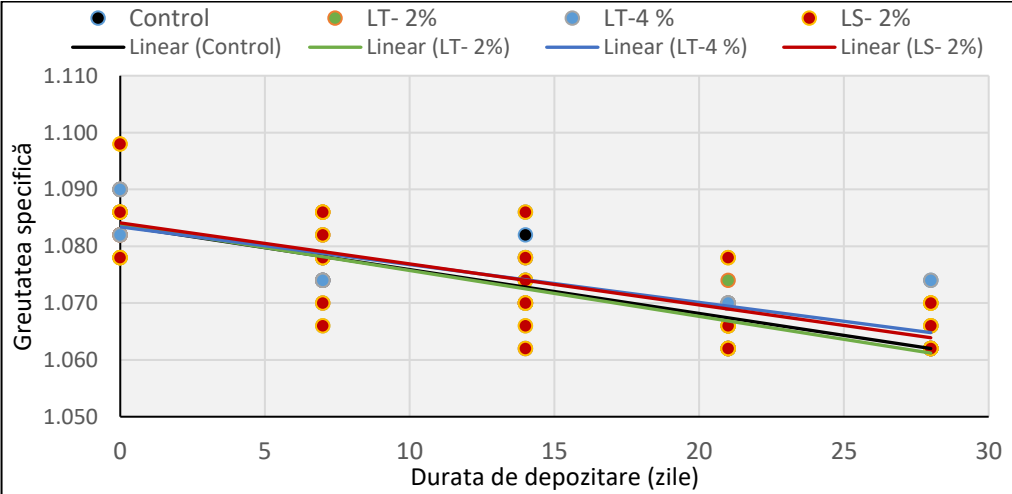


Fig. 8.37. Evoluția greutății specifice a ouălor din a doua serie pe perioada depozitării

Fig. 8.37. The evolution of the specific egg weight of the second series during the storage

La sfârșitul perioadei de depozitare, acest indicator a scăzut progresiv, cu diferențe foarte semnificative ($p < 0,001$) la ouăle din toate loturile de experiență. Cele mai mari reduceri au fost înregistrate de lotul control și LT-2% cu 1,94%, iar cele mai mici de lotul LT-4% cu 1,80% și lotul LS-2% cu 1,84%. Loturile experimentale nu au prezentat diferențe statistic semnificative față de lotul de control, pe parcursul depozitării.

8.5.3 Indicele Haugh

Unitatea Haugh (UH) este un indicator standard de determinare a calității albușului, utilizat frecvent în numeroase studii pentru aprecierea calității oului intern (*Eisen și colab., 1962*). O valoare ridicată a UH (74,5 - 89,5) corespunde unei calități foarte bune a oului dacă și celelalte caracteristici ale acestuia sunt bune (*Adamiec și colab., 2002*). Calitatea albușului este influențată de factorii genetici (*Johnson și Merritt, 1955*), factorii de mediu precum temperatura și perioada de stocare (*Samlli și colab., 2005*).

Valoarea unității Haugh și înălțimii albușului ouălor proaspete scad odată cu vârsta găinilor (*Fletcher și colab., 1981, 1983*). În efectivele de păsări sănătoase, vârsta păsărilor este cel mai important factor care poate afecta calitatea albușului la ouăle proaspete. Calitatea inițială a albușului scade rapid odată cu avansarea în vârstă a efectivului. Năpârlirea este benefică pentru refacerea calității albușului la găinile în vârstă.

Potrivit studiilor efectuate de *Campos și Baião (1975)* și *Santos (2005)* citați de *De Menezes și colab., (2012)* temperatura, timpul și condițiile de stocare influențează negativ calitatea ouălor, prin reducerea semnificativă a indicelui Haugh, care se datorează pierderilor continue de CO₂. *Barbosa și colab., (2004)* citat de *Menezes și colab., (2012)* au evaluat efectul temperaturii (ambientale și refrigerare) și perioadei de stocare (0, 7, 14, 21, 28 și 35) asupra calității oului și au constatat o reducere a unității Haugh și greutatea oului odată cu perioada de depozitare. Porozitatea cojii poate fi de asemenea un factor de degradare al calității interne a oului. Vârsta și perioada de producție a găinilor afectează structura cojii și în consecință și rata de difuzie prin porii cojii oului (*Akyurek și Okur, 2009*).

În cercetările proprii, ouăle din a doua serie, au prezentat o scădere semnificativă a indicelui Haugh, pe întreaga perioadă de depozitare, față de ouăle din prima serie (fig. 8.38).

Astfel, în prima serie, ouăle proaspete au înregistrat valori ale unității Haugh cuprinse între $77,94 \pm 1,08$ (LT-2%) – $84,61 \pm 1,75$ (LT-4%) urmând ca la sfârșitul

celor 28 de zile de depozitare să se reducă cu 9,47% la LT-4%, cu 5,23 la LS-2%, cu 4,41 la lotul LC și cu 3,69 la LT-2%. Lotul LT-4% a înregistrat la ouăle proaspete (ziua 0) o valoare a indicelui Haugh semnificativ mai ridicată ($p < 0,01$) față de lotul LC, urmând ca pe parcursul stocării, la 14 și 28 de zile, să scadă progresiv, cu diferențe distinct semnificative ($p < 0,01$) față de ouăle proaspete.

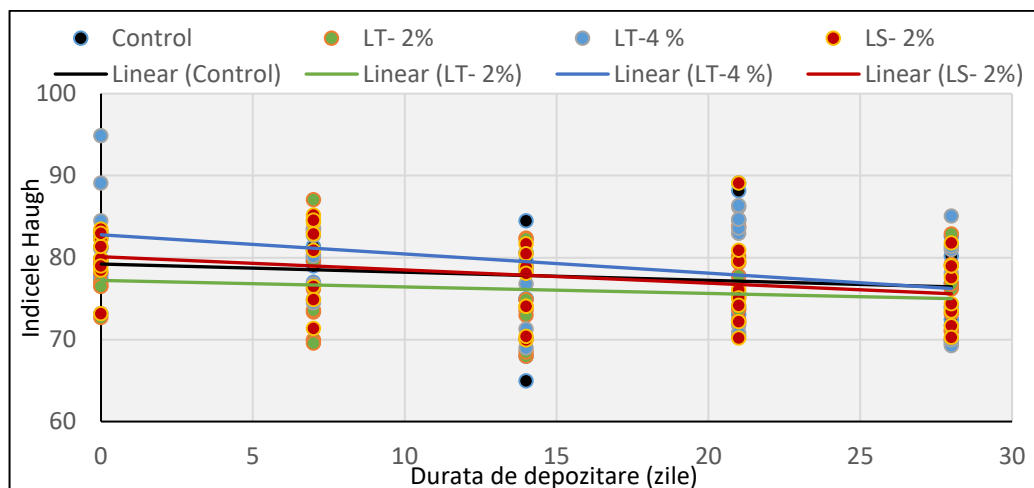


Fig. 8.38. Evoluția indicelui Haugh la ouăle din prima serie pe perioada depozitării

Fig. 8.38. The evolution of the Haugh unit of the egg first series during the storage

La 28 de zile, valoarea medie a indicelui Haugh obținută la ouăle din LT-4% a fost de $76,60 \pm 2,02$ UH. Și în cazul lotului LS-2% s-a evidențiat o reducere semnificativă ($p < 0,05$) al acestui indicator, la sfârșitul celor 28 de zile de stocare, valoarea obținută a fost de $75,91 \pm 1,43$ UH. La celelalte loturi experimentale nu au fost evidențiate scăderi semnificative pe perioada stocării și nici nu au existat diferențe față de lotul LC.

În cazul celei de-a doua serii, valorile obținute pentru indicele Haugh, la ouăle proaspete au fost mai ridicate comparativ cu cele obținute la prima serie (fig. 8.39). Cea mai mare valoare a fost înregistrată de lotul LT-2%, și anume $90,55 \pm 1,65$ UH, fiind semnificativ mai mare ($p < 0,05$) față de LC. Lotul LT-4% a obținut o valoare al indicelui Haugh ușor mai ridicată cu 0,54% ($85,76$ UH), iar LS-2% o valoare ușor mai scăzută, cu 0,53% ($84,85 \pm 1,56$ UH) față de valoarea obținută la lotul LC ($85,30 \pm 1,50$ UH).

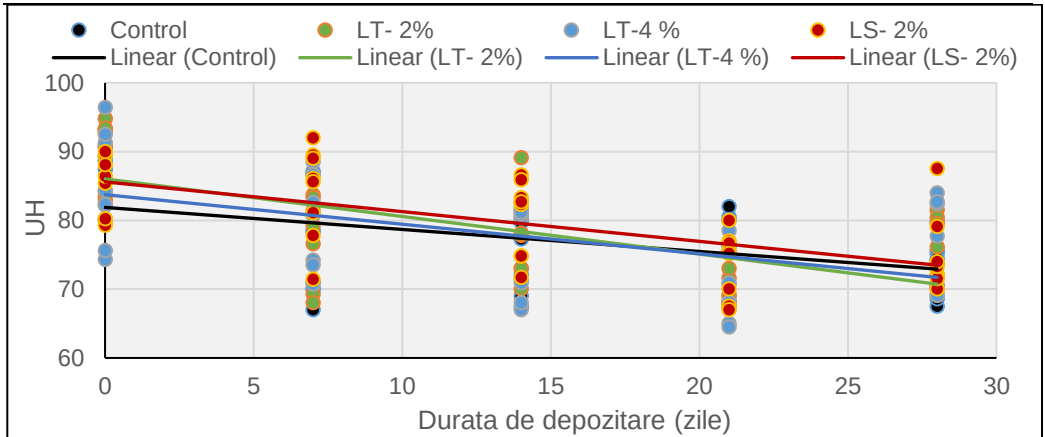


Fig. 8.39. Evoluția indicelui Haugh la ouăle din a doua serie pe perioada depozitării

Fig. 8.39. The evolution of the Haugh unit of the egg second series during the storage

Pe perioada stocării, valorile indicelui Haugh au fost mai reduse față de cele obținute la prima serie, la toate loturile de experiență. Astfel, comparativ cu ouăle proaspete, chiar din prima săptămână de depozitare a ouălor, s-au evidențiat scăderi foarte semnificative ($p < 0,001$) la lotul LT-2% și semnificative ($p < 0,05$) la lotul LC. Lotul LT-4% a prezentat o scădere semnificativă ($p < 0,05$) începând cu cea de-a doua săptămână iar lotul LS-2% o reducere foarte semnificativă ($p < 0,001$) începând cu cea de-a treia săptămână de stocare. Pe întreaga perioadă de depozitare, la ouăle din lotul LS-2% s-a observat o scădere mai redusă al indicelui Haugh, cu valori mai bune, comparativ cu celelalte loturi de experiență.

La 21 de zile de depozitare s-au evidențiat scăderi distinct semnificative ($p < 0,01$) al acestui indicator, la loturile cu tescovină (LT-2% și LT-4%), față de lotul de control. La sfârșitul celor 28 de zile, cele mai mici reduceri au fost înregistrate de lotul LT-4% cu 11,46%, și de LS-2% cu 11,68%, iar cele mai mari de LC cu 13,95% și LT-2% cu 16,94%, fără a se evidenția diferențe statistic semnificative.

Morais și colab., (1997) citat de Menezes și colab., (2012) au observat o reducere ale valorilor indicelui Haugh, la ouăle depozitate la 21 de zile. Potrivit lui Cherian și colab., (1996) atunci când ouăle sunt stocate perioade mai lungi de timp, greutatea ouălor poate de asemenea să scadă datorită pierderilor de apă și centralizării gălbenușului.

Există un număr limitat de studii cu privire la impactul tescovinei și semințelor de struguri asupra găinilor ouătoare. În cercetările realizate de Kara și colab., (2016), cantitatea de 4 și 6% tescovină introdusă în hrana găinilor ouătoare, nu

a afectat indicele Haugh și nici ceilalți parametrii calitativi ai ouălor proaspete. Ozgan, (2008) a constatat o creștere a înălțimii albușului și indicele albușului atunci când în hrana găinilor ouătoare s-a utilizat 2% tescovină. Acest studiu este în concordanță cu cercetările noastre, cele mai mari valori ale greutateii ouălor proaspete au fost înregistrate de loturile care au primit în hrană tescovină, respectiv la lotul LT-2% (90,55 UH) și LT-4% (85,76 UH).

În studiul realizat de Samli și colab., (2005), pe găinile ouătoare în vârstă de 50 de săptămâni, s-a evidențiat o deteriorare semnificativă a calității ouălor odată cu creșterea temperaturii și perioadei de stocare. Astfel, ouăle stocate timp de 10 zile, la temperatura de 5°C, au înregistrat o scădere considerabilă a indicelui Haugh, de la 91,40 UH la 76,30 UH (Samli și colab., 2005).

8.5.4 Indicele albușului

Rezultatele înregistrate pentru indicele albușului sunt în relație și cu cele obținute la indicele Haugh, însă au fost evidențiate reduceri mai mari ale acestui indicator, pe perioada depozitării, la ambele serii de ouă (fig. 8.40, 8.41).

Astfel, în prima serie, ouăle proaspete au înregistrat valori ale indicelui albușului cuprinse între $8,66 \pm 0,67\%$ (LT-2%) – $10,54 \pm 0,54\%$ (LT-4%) urmând ca la sfârșitul celor 28 de zile de depozitare să se reducă cu 17,78% la LT-4%, cu 16,16% la lotul LC, cu 6,46% la LS-2% și cu 4,74% la LT-2%. Lotul LT-4% a înregistrat la ouăle proaspete o valoare a indicelui albușului mai ridicată cu 11,73% față de lotul LC, urmând ca pe parcursul stocării, aceasta să scadă progresiv, cu diferențe distinct semnificative ($p < 0,01$) la 14 zile și semnificative ($p < 0,05$) la 28 de zile, față de ouăle proaspete. În cazul celorlalte loturi, nu s-au evidențiat reduceri semnificative ($p > 0,05$) ale acestui indicator pe perioada stocării și nici nu au existat diferențe față de lotul LC.

În cazul celei de-a doua serii, valorile obținute pentru indicele albușului, la ouăle proaspete, au fost mai ridicate comparativ cu cele obținute la prima serie (fig.8.41). Cea mai mare valoare medie a fost înregistrată de lotul LT-2%, și anume $12,35 \pm 0,75\%$, fiind nesemnificativ mai ridicată, cu 13,81% față de LC. Lotul LT-4% a obținut o valoare al indicelui albușului ușor mai ridicată cu 7,37% iar LS-2% o valoare ușor mai scăzută, cu 3,16%, față de lotul LC.

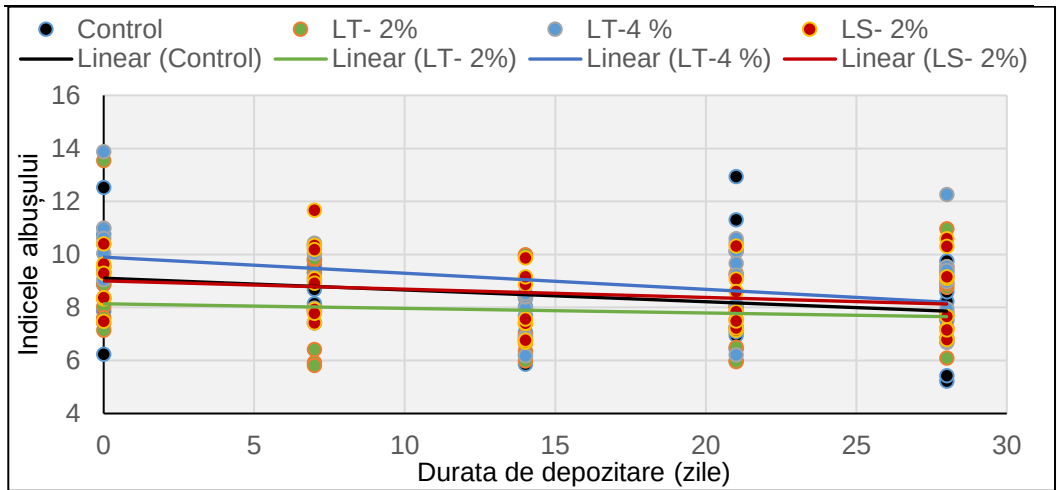


Fig. 8.40. Evoluția indicelui albușului la ouăle din prima serie pe perioada depozitării
 Fig. 8.40. The evolution of the albumen index of the egg first series during the storage

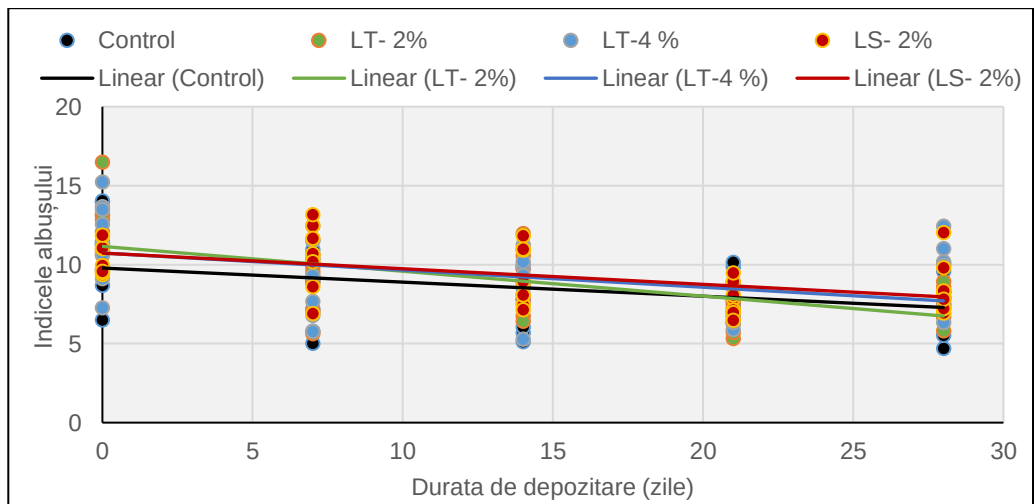


Fig. 8.31. Evoluția indicelui albușului la ouăle din a doua serie pe perioada depozitării
 Fig. 8.41. The evolution of the albumen index of the egg second series during the storage

Pe perioada stocării, valorile indicelui albușului au fost mai scăzute față de cele obținute la prima serie, la toate loturile de experiență. Astfel, față de ouăle proaspete, chiar din prima săptămână de depozitare (7 zile), s-au evidențiat scăderi distinct semnificative ($p < 0,01$) la lotul LT-2% și semnificative ($p < 0,05$) la lotul LC. Lotul LT-4% a prezentat o scădere semnificativă ($p < 0,05$) începând cu cea de-a doua săptămână iar lotul LS-2% o reducere foarte semnificativă ($p < 0,001$) începând cu cea de-a treia săptămână de stocare. Ca și în cazul

indicelui Haugh, pe întreaga perioadă de depozitare, ouăle din lotul LS-2% au prezentat o scădere mai redusă a indicelui albușului, cu valori mai bune, comparativ cu celelalte loturi de experiență.

La 21 de zile de depozitare s-a evidențiat o scădere distinct semnificativă ($p < 0,01$) al indicelui albușului, la ouăle din lotul LT-2%, comparativ cu lotul de control. La sfârșitul celor 28 de zile, cele mai mici reduceri au fost înregistrate de lotul LT-4% cu 23,45% și de LS-2% cu 19,69%, iar cele mai mari de LT-2% cu 35,74% și LC cu 31,22%, fără a se evidenția diferențe statistice semnificative.

8.5.5 Indicele gălbenușului

Odată cu învechirea ouălor, membrana vitelină își pierde din elasticitate, determinând aplatizarea gălbenușului, iar rezistența acesteia începe să scadă continuu. Valorile obținute pentru acest parametru sunt în relație și cu cele obținute la indicele albușului, la ambele serii de ouă. Cele mai mari reduceri ale indicelui gălbenușului, au fost evidențiate la ouăle din a doua serie, pe întreaga perioadă de depozitare (fig.8.42).

La prima serie, valorile indicelui gălbenușului înregistrate la ouăle proaspete au fost cuprinse între $38,52 \pm 0,97\%$ (LS-2%) - $40,35 \pm 0,79\%$ (LT-2%) urmând apoi ca la sfârșitul perioadei de depozitare să scadă cu 6,50% la LT-4%; cu 5,55% la LT-2%; cu 5,59% la LC și doar cu 1,62% la LS-2%. După prima săptămână de stocare (7 zile), ouăle din lotul LS-2% au înregistrat o valoare medie a indicelui gălbenușului semnificativ mai ridicată ($p < 0,05$) față de LC.

Pe parcursul stocării, valorile indicelui gălbenușului au scăzut distinct semnificativ ($p < 0,01$) la ouăle din lotul LT-4%, chiar din prima săptămână, și semnificativ ($p < 0,05$) la ouăle din lotul LT-2%, începând din a doua săptămână de depozitare. În cazul celorlalte două loturi, nu s-au evidențiat reduceri semnificative ($p > 0,05$) al acestui indicator, pe perioada stocării și nici nu au existat diferențe față de lotul LC.

În cazul celei de-a doua serii, valorile obținute pentru indicele gălbenușului, la ouăle proaspete, au fost mai ridicate comparativ cu cele obținute la prima serie (fig. 8.43). Cea mai mare valoare a fost înregistrată de lotul LT-2%, și anume de $40,80 \pm 0,48\%$, fiind mai ridicată, cu 3,19% față de LC. Celelalte loturi au obținut valori ale indicelui gălbenușului ușor mai scăzute cu 1,61% la LS-2% și doar cu 0,97% la LT-4%, față de lotul LC.

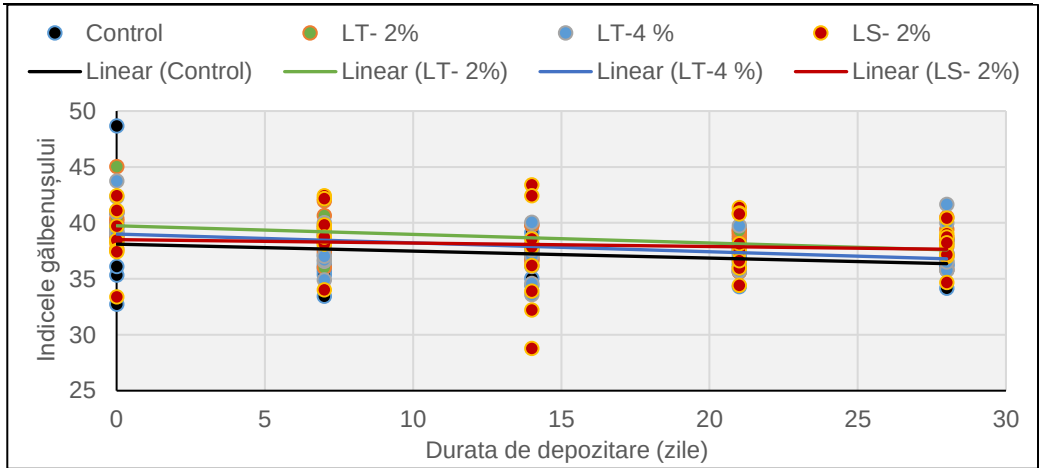


Fig. 8.42. Evoluția indicelui gălbenușului la ouăle din prima serie pe perioada depozitării

Fig. 8.42. The evolution of the yolk index of the egg first series during the storage

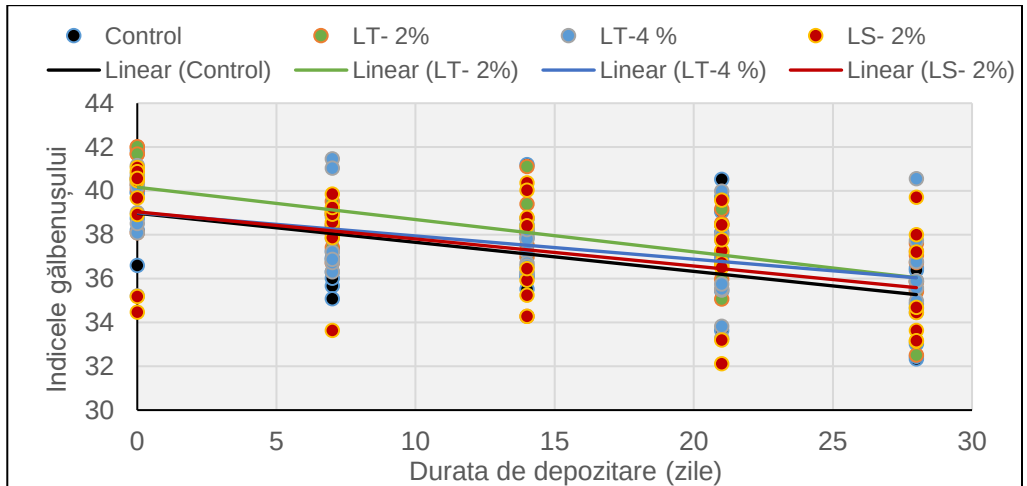


Fig. 8.43. Evoluția indicelui gălbenușului la ouăle din a doua serie pe perioada depozitării

Fig. 8.43. The evolution of the yolk index of the egg second series during the storage

Pe perioada stocării, valorile indicelui gălbenușului au fost mai reduse față de cele obținute la prima serie. Astfel, comparativ cu ouăle proaspete (prima zi comparată cu fiecare săptămână de stocare), chiar din prima săptămână de depozitare, s-au evidențiat scăderi foarte semnificative la lotul LT-2% ($p < 0,001$) și distinct semnificative ($p < 0,01$) la lotul LC. La lotul LT-4% s-au evidențiat reduceri semnificative ($p < 0,05$) din a doua săptămână, iar la lotul LS-2% în ultima săptămână de stocare (28 de zile). În cazul lotului LT-2%, indicele

gălbenuşului a înregistrat în a doua săptămână de stocare, o valoare distinct semnificativă mai ridicată ($p < 0,01$) faţă de lotul de control.

Ca şi în cazul indicelui albuşului şi indicelui Haugh, pe întreaga perioadă de depozitare, ouăle din lotul LS-2% au prezentat o scădere mai redusă a indicelui gălbenuşului, comparativ cu celelalte loturi de experienţă.

La sfârşitul celor 28 de zile, cele mai mici reduceri au fost înregistrate de lotul LT-4% cu 6,82% şi de LS-2% cu 8,75%, iar cele mai mari de LC cu 12,86% şi de LT-2% cu 11,69% fără a se evidenţia diferenţe statistic semnificative.

Rezultate obţinute în cercetările proprii pot fi comparate cu cele obţinute de *Samli şi colab., (2005)*. În studiul realizat de *Samli şi colab., (2005)*, la găinile ouătoare în vârstă de 50 de săptămâni, ouăle care au fost stocate pe o perioadă de 10 zile, la temperatura de 5°C au prezentat o deteriorare considerabilă a indicelui gălbenuşului, acesta scăzând de la 44,10 la 40,77% (o scădere de 7,55%).

8.6 CONCLUZII PARȚIALE

Din datele prezentate în cercetările proprii referitoare la efectul unor subproduse vinicole asupra performanțelor bioproductive realizate la găinile ouătoare, au rezultat următoarele:

- greutatea corporală şi starea de sănătate a găinilor nu au fost afectate de factorii experimentali utilizaţi în hrană. La sfârşitul experimentului, greutăţile corporale înregistrate au fost mai reduse la loturile experimentale (cu 1,75-2,95%), comparativ cu lotul de control, fără diferenţe statistic semnificative.

- producţia totală de ouă (buc) şi intensitatea de ouat (%) au scăzut semnificativ la loturile cu tescovină în hrană, cu diferenţe foarte semnificative ($p < 0,001$) la LT-2% şi distinct semnificativ ($p < 0,01$) la LT-4%.

- pe parcursul perioadei experimentale, loturile LT-2% şi LT-4% au realizat producţii totale de ouă mai scăzute cu 10,49% (384 ouă) şi respectiv cu 6,76% (400 ouă), înregistrând valori ale intensităţii de ouat de 76,19% (LT-2%) şi respectiv 79,37% (LT-4%) mai reduse comparativ cu lotul LC.

- lotul care a primit în hrană 2% seminţe (LS-2%), a realizat o producţie mai bună de ouă cu 2,80% (441 ouă vs 419) şi o valoare a intensităţii de ouat de 87,50%, mai mare faţă de LC (85,12%).

- consumul de hrană a fost mai ridicat la loturile cu tescovină şi anume: cu 4,36% (118,66 g/cap/zi) la lotul LT-2%, şi cu 4,04% (118,29 g/cap/zi) la lotul la LT-4%. Lotul LS-2% a înregistrat un consum mai ridicat cu 2,66% (116,73g/cap/zi).

- la finalul experimentului, indicele de conversie al hranei, a înregistrat valori mai ridicate la loturile cu tescovină cu 17,87% (159,36 g n.c./ou) la lotul LT-2% și cu 11,91% (151,41 g n.c./ou) la LT-4% comparativ cu lotul LC (135,20 g n.c./ou). Lotul LS-2%, a înregistrat pe întreaga perioadă experimentală o valoare a IC ușor mai redusă, față de lotul LC, cu 0,43% (134,61 g n.c./ou).

Din cele prezentate mai sus, reiese că proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor ouătoare a îmbunătățit producția de ouă, intensitatea de ouat și eficiența hranei. Utilizarea tescovinei în proporție de 2 și 4% în hrana găinilor ouătoare a avut un impact negativ asupra performanțelor productive; scăderea producției de ouă și creșterea consumului de hrană, a determinat scăderea eficienței hranei.

Din datele prezentate cu privire la efectul unor subproduse vinicole asupra calității ouălor proaspete, au reieșit următoarele:

- cele mai multe anomalii ale ouălor s-au înregistrat la lotul LT-2%, evidențiindu-se ouă prea mici, fără gălbenuș (1,56%), urmate de cele fără coajă (0,78%).

- după 30 de zile de experiment, greutatea medie a ouălor (g) a fost mai redusă la lotul LT-2% cu 3,24% (63,93 g) și la lotul LS-2% cu 1,74% (64,91 g) și mai mare lotul LT-4% cu 0,70% (66,53 g) față de cea obținută la lotul LC (66,06 g), fără diferențe statistic semnificative.

- greutatea medie a gălbenușului (g) obținută după 30 de zile de experiment a fost mai mare la lotul LS-2% cu 5,70% (17,01 g), urmată de lotul LT-4% cu 2,73% (16,53 g) și LT-2% cu 1,41% (16,32 g). Lotul LT-4% care a înregistrat o valoare ușor mai redusă cu 3,97% față de cea obținută la începutul experimentului.

- greutatea medie a albușului (g) după prima luna de experiment, a fost mai redusă la LS-2% cu 4,94% (40,72 g) și la lotul LT-2% cu 4,41% (40,95 g) comparativ cu lotul de control (42,84 g). Lotul LS-2% a înregistrat o valoare ușor mai redusă cu 0,93% față de cea obținută la începutul experimentului.

- greutatea medie a cojii minerale (g) a scăzut la loturile experimentale, cu 5,92-7,93%, după o lună de experiment, cu excepția lotului LS-2% care a înregistrat o valoare medie mai bună. Lotul LT-2% a înregistrat o valoare mai redusă a cojii minerale cu 6,51% (6,66 g) față de cea a lotului LC.

- în structura oului, proporția de gălbenuș a scăzut la loturile experimentale cu 0,54% (LT-4%)- 3,36% (LS-2%), proporția de albuș a crescut cu 1,51 (LT-4%) – 7,90% (LS-2%). În schimb, greutatea cojii la loturile experimentale a înregistrat valori mai mici față de LC, cu excepția LS-2% care a prezentat o valoare mai ridicată cu 2,31%.

- greutatea specifică nu s-a modificat foarte mult după prima lună de experiment, valorile înregistrate la loturile experimentale au fost foarte apropiate de lotului de control.

- grosimea cojii a scăzut după 30 de zile de experiment la loturile experimentale, factorii experimentali nu au îmbunătățit calitatea cojii minerale. Valoarea cea mai mică a grosimii cojii a fost înregistrată de LT-2% cu 5,52%

- după 30 de zile de experiment, valorile indicelui Haugh, indicelui albușului și indicelui gălbenușului au fost mai bune cu diferențe statistic semnificative la toate loturile studiate comparativ cu cele obținute la debutul experimentului. Cele mai bune valori ale acestor parametri au fost înregistrate de LT-2% și LS-2%. Lotul LT-4% a înregistrat valori nu foarte mari ale indicelui Haugh și indicelui albușului și o valoare mai redusă a indicelui gălbenușului (cu 2,66%) față de cea înregistrată la începutul experimentului. Loturile experimentale nu au prezentat diferențe statistic semnificative față de LC pentru acești indicatori interni.

- factorii experimentali nu au influențat negativ culoarea gălbenușului, după prima lună. Ouăle din lotul LT-4% și LS-2% au prezentat o frecvență relativă pentru eșantionul 9 cu un procent de 50%, lotul LT-2% de doar 25% pentru acest eșantion de culoare. În schimb, la ouăle din lotul LT-2% s-a constatat o frecvență mai bună a eșantionului 10 de culoare (37,5%). La loturile cu tescovină au fost evidențiate de asemenea ouă din eșantionul 6 de culoare după 30 de zile de experiment, cu un procent de 12,5%.

- din datele prezentate mai sus cu privire la efectul tescovinei și semințelor de struguri asupra calității ouălor proaspete, a reieșit că după 30 de zile de experiment factorii experimentali nu au influențat semnificativ ($p > 0,05$) greutatea și componentele oului, greutatea specifică, grosimea cojii și culoarea gălbenușului.

- după 30 de zile, s-a constatat o îmbunătățire semnificativă a indicelui Haugh, indicelui albușului și indicelui gălbenușului la ouăle din lotul LT-2% și LS-2%. Calitatea cojii nu a fost ameliorată de factorii experimentali, greutatea și grosimea cojii au scăzut în special la lotul LT-2%. Lotul LS-2% a înregistrat în schimb, o valoare a greutateii cojii mai bune față de cea obținută la debutul experimentului

Din datele prezentate cu privire la efectul unor subproduse vinicole asupra indicatorilor biochimici la ouăle proaspete, au reieșit următoarele:

- factorii experimentali utilizați în hrana găinilor ouătoare au influențat pozitiv compoziția acizilor grași în gălbenușul oului proaspăt. Proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor (LS- 2%) a îmbunătățit raportul $\Omega 6/\Omega 3$ în gălbenușul de ou (8,68 vs 9,43) prin creșterea semnificativă a conținutului în acizi grași n-

6 [acidul eicosatrienoic- (C20:3n-6); acidul arachidonic (C20:4n-6)] și respectiv în acizi grași n-3 [acidul eicosatrienoic (C20:3n-3) și acidul docosahexaenoic (C22:6n-3)]. De asemenea, o îmbunătățire a raportului $\Omega 6/\Omega 3$ a fost evidențiată și la lotul care a primit în hrană o proporție de 2% tescovină (8,96 vs. 9,43), însă nu a existat o creștere semnificativă a acizilor grași n-3 și n-6 în gălbenușul de ou, cu excepția acidului eicosatrienoic (C20:3n-3). Conținutul în acid linoleic din gălbenuș nu s-a modificat foarte mult la loturile experimentale; o valoare mai ridicată a fost înregistrată la lotul care a primit în hrană o cantitate de 4% tescovină în hrană (22,97% vs. 20,47%).

- conținutul în colesterol din gălbenușul de ou nu a fost modificat de factorii experimentali. Valorile obținute fiind apropiate lotului de control.

- factorii experimentali nu au modificat semnificativ TAS din componentele oului și din serul găinilor ouătoare, valorile înregistrate fiind foarte apropiate lotului de control. . O valoare mai ridicată fost înregistrată la lotul LS- 2% (1,51 mmol/L vs. 1,44 mmol/L).

Din datele prezentate cu privire la evaluarea gradului de degradare al prospețimii oului pe perioada stocării au fost concluzionate următoarele:

- tescovina și semințele de struguri utilizate în proporție de 2 și 4% în hrana găinilor ouătoare au influențat unii indicatorii fizici interni pe perioada stocării ouălor (28 zile). Scăderile cele mai semnificative ale acestor indicatori au fost observate la ouăle din a doua serie, după o lună de experiment.

- pe perioada stocării ouălor, cei mai afectați indicatori au fost indicele albușului, indicele Haugh, indicele gălbenuș și greutatea specifică. Pierderile în greutate au fost nesemnificative ($p > 0,05$) pe perioada stocării, la 28 de zile lotul LT-2% a înregistrat cea mai mare scădere în greutate, cu 2,63%.

- pe întreaga perioadă de stocare, ouăle de la lotul LS-2% au înregistrat cele mai bune valori, cu scăderi mai reduse ale greutății specifice (1,84%) indicelui gălbenușului (8,75%), indicelui Haugh (11,65%) și indicelui albușului (9,69%). Scăderi semnificative ale indicelui albușului și Haugh au fost evidențiate din a treia săptămână de stocare ($p < 0,001$) iar cele ale indicelui gălbenușului din a patra săptămână ($p < 0,05$).

- ouăle de la lotul LT-2% au înregistrat cele mai mari reduceri ale greutății specifice (1,94%), indicelui albușului (35,74%), indicelui Haugh (16,74%) și indicele gălbenușului (11,69%) pe perioada stocării. Scăderi semnificative ale indicelui albușului, indicelui Haugh și indicelui gălbenușului au fost evidențiate chiar din prima săptămână de stocare ($p < 0,001$).

- la 21 de zile de depozitare, ouăle de la loturile LT-2% și LT-4% au prezentat scăderi distinct semnificative ale indicelui Haugh ($p < 0,01$) comparativ cu lotul

de control. În aceeași perioadă de stocare, lotul LT-2% a înregistrat o reducere semnificativ mai mare ($p < 0,01$) a indicelui albușului față de lotul de control. Ouăle din lotul LS-2% nu au înregistrat diferențe semnificative ale indicatorilor față de lotul LC, pe întreaga perioadă de stocare.

Din datele prezentate mai sus, am concluzionat că proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor ouătoare a îmbunătățit indicatorii fizici interni pe perioada stocării ouălor. Acest lucru a condus la o stabilitate mai bună a caracteristicilor interne ale oului pe perioada depozitării (28 zile). În schimb, proporția de 2 și 4% tescovină utilizată în hrană nu a îmbunătățit indicatorii fizici de calitate pe perioada stocării; cantitatea de 2% tescovină a afectat semnificativ unii parametri fizici interni ai ouălor.

CONCLUZII GENERALE

GENERAL CONCLUSIONS

Pe baza rezultatelor obținute în cercetările proprii cu privire la procedeul de conservare și la caracterizarea conținutului chimic al unor subproduse din vinificație și posibilitățile de utilizare a acestora în alimentația unor categorii de păsări și evidențierea influenței asupra performanțelor și calității producției obținute, s-au desprins următoarele concluzii generale:

1. Concluzii generale referitoare la procedeul de conservare și caracterizarea conținutului chimic:

- odată cu creșterea temperaturii de uscare (20°C, 38°C și respectiv 50 °C) conținutul în polifenoli totali, taninuri și antociani din tescovină se degradează în mod semnificativ ($p < 0,001$); temperatura optimă de uscare a tescovinei pentru păstrarea compușilor cu proprietăți biologice active în vederea utilizării în hrana animalelor este de 20 °C (uscare naturală).

- din datele obținute cu privire la compoziția chimică a celor patru tipuri de tescovină integrală și fracțiunile acestora analizate în funcție de varietatea de struguri și anul de obținere (2013, 2014) a reieșit că tescovina din soiul de struguri roșii Fetească neagră din 2013-2014 a prezentat un conținut mai ridicat în substanțe cu rol nutrițional (PB%, GB%, SEN%, PT%, Ta%).

- un conținut mai ridicat în polifenoli totali (4,00% din SU) s-a înregistrat în tescovina din soiul Fetească neagră din anul 2014, comparativ cu celelalte tipuri de tescovină analizate care au prezentat valori cuprinse doar între 1,90% (amestec) – 2,20% din SU (Fetească neagră 2013).

- ținând cont de conținutul chimic al fracțiunilor tescovinei analizate, se constată că pielețele se caracterizează printr-un conținut mai ridicat în proteină brută (12,13-19,31%), cenușă brută (7,40-11,90%) și substanțe extractive neazotate (49,64-54,67%) comparativ cu semințele. Semințele se deosebesc de pielețe printr-un conținut mai ridicat în grăsime brută (12,15-14,82%),

celuloză brută (38,19-45,57%), polifenoli totali (2,72-5,23%) și taninuri (2,26-4,47%).

- este de remarcat faptul că tescovina integrală prezintă valori mai scăzute în polifenoli totali, cuprinse între 1,90-4,00% față de cele obținute la semințe, între 2,72-5,23%.

- acizii grași din semințele din soiul de struguri Fetească neagră (2014) se caracterizează printr-un conținut mai ridicat în acizi grași polinesaturați (69,59%), comparativ cu cel din tescovina integrală (61,08%). Semințele au prezentat o valoare mai ridicată în acidul gras linoleic, de 69,14% comparativ cu tescovina integrală (59,73%).

- datorită conținutului mai ridicat în componente chimice în special în polifenoli al tescovinei din soiul de struguri roșii Fetească neagră (2014), s-a considerat oportună utilizarea acestora în alimentația păsărilor.

2. Concluzii generale referitoare la performanțele bioproductive realizate de puii broiler în urma introducerii în hrana acestora a unor subproduse vinicole:

- din datele prezentate cu privire la efectul tescovinei, semințelor și extractului de polifenoli am concluzionat că proporția de 0,5% semințe (LS-0,5%) utilizată în hrana puilor broiler a îmbunătățit performanțele bioproductive pe toată perioada creșterii. La 40 de zile, greutatea corporală medie înregistrată a fost semnificativ mai mare ($p < 0,01$) iar indicele de conversie al hranei a prezentat o valoare mai bună cu 3,97% față de lotul de control.

- în schimb, proporția mai mare de semințe utilizată în hrană (1%) a afectat performanțele de creștere, putând avea un efect tardiv asupra creșterii puilor. Pe întreaga perioadă de creștere puii au înregistrat greutate corporale medii și consumuri de hrană mai reduse, comparativ cu lotul de control.

- utilizarea tescovinei în proporție de 1 și 2% în hrana puilor broiler a avut o ușoară influență pozitivă asupra creșterii; greutate medii corporale fiind ușor mai ridicate cu 1,20 (la LT-1%) -2,74% (la LT-2%) față de LC. O valoare mai bună a indicelui de conversie al hranei a fost înregistrată de lotul LT-1% cu 2,66% față de LC.

- includerea extractului de polifenoli în apa de băut a puilor din lotul 1,5% LEP a afectat performanțele de creștere încă din prima perioadă de experiment, sporurile mai scăzute s-ar putea datora nivelului ridicat de polifenoli din extractul de tescovină având un posibil efect tardiv asupra creșterii puilor.

- activitatea antioxidantă și indicii hematologici ai seriei roșii investigați nu au evidențiat modificări semnificative la puii din loturile experimentale care au primit în hrană subproduse vinicole. Leucocitele din sângele periferic s-au modificat la toate loturile experimentale, comparativ cu lotul de control, efectele

fiind de reglare a răspunsului imun (creșterea limfocitelor – $p > 0,05$ la LT-1%, sau reducerea heterofilelor – $p < 0,05$ la LT-2%) sau de reactivitate hiperimună (creșterea eozinofilelor și bazofilelor în sânge, ca și a plasmocitelor IgA în *lamina propria* a vilozităților intestinale – $p < 0,001$) la loturile cu LT-2%, LS-1% și LEP.

- creșterea înălțimii vilozităților duodenale a fost foarte semnificativă la lotul LT-2% ($p < 0,001$), și semnificativă ($p < 0,05$) la puii din loturile LT-1%, LS-1% și LEP față de lotul LC. Creșterea raportului înălțime vilozități/adâncime cripte a fost asociată cu îmbunătățirea performanțelor de creștere la loturile LT-2% și LS-0,5%.

- examenul histologic nu a scos în evidență modificări morfologice importante la nivelul organelor interne la loturile experimentale, acestea au prezentat în general, un aspect normal.

- în funcție de cantitatea și forma de administrare a subproduselor vinicole în hrana păsărilor, rezultatele noastre dovedesc implicarea polifenolilor în modularea răspunsului imun local și sistemic, dozele mici generând transmigrarea, diferențierea și proliferarea controlată a celulelor sistemului imun, iar dozele mari inducând fenomene hiperimune și o accentuată dezvoltare a vilozităților intestinale.

- din cele prezentate mai sus, rezultă că subprodusele vinicole ar putea fi folosite ca stimulatori de creștere în hrana puilor broiler putând să favorizeze buna funcționare a intestinului, măbind suprafața de absorbție a nutrienților, și inducând, dependent de doză, efecte imunomodulatoare locale și sistemice.

3. Concluzii generale referitoare la parametrii productivi și calitativi ai oului realizate de găinile ouătoare în urma introducerii în hrana acestora a unor subproduse vinicole:

- din datele prezentate cu privire la efectul tescovinei și semințelor de struguri asupra performanțelor productive reiese că proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor ouătoare a îmbunătățit producția de ouă (cu 2,80%), intensitatea de ouat (87,50% vs. 85,12%) și eficiența hranei (IC mai redus cu 0,43%).

- utilizarea tescovinei în proporție de 2 și 4% în hrana găinilor ouătoare a avut un impact negativ, cu diferențe semnificative asupra performanțelor productive; scăderea producției de ouă (cu 10,49% la LT-2% și cu 6,76% la LT-4%) și creșterea consumului de hrană (cu 4,36% la LT-2% și cu 4,04% la LT-4%) a determinat scăderea eficienței hranei (IC cu 17,87% la LT-2% și cu 11,91% la LT-4%).

- din datele prezentate cu privire la efectul tescovinei și semințelor de struguri asupra calității ouălor proaspete, a reieșit că după 30 de zile de experiment

factorii experimentali nu au influențat semnificativ ($p > 0,05$) greutatea și componentele oului, greutatea specifică, grosimea cojii și culoarea gălbenușului. După 30 de zile, s-a constatat o îmbunătățire semnificativă a indicelui Haugh, indicelui albușului și indicelui gălbenușului la ouăle din lotul LT-2% și LS-2%. Calitatea cojii nu a fost ameliorată de factorii experimentali, greutatea și grosimea cojii au scăzut în special la lotul LT-2%. Lotul LS-2% a înregistrat în schimb, o valoare a greutateii cojii mai bune față de cea obținută la debutul experimentului (cu 2,71%).

- din datele prezentate cu privire la efectul tescovinei și semințelor de struguri asupra indicatorilor biochimici la ouăle proaspete, a rezultat că factorii experimentali utilizați în hrana găinilor ouătoare au influențat pozitiv compoziția acizilor grași din gălbenușul oului proaspăt. Proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor (LS- 2%) a îmbunătățit raportul $\Omega 6/\Omega 3$ în gălbenușul de ou (8,68 vs 9,43) prin creșterea semnificativă a conținutului în acizi grași n-6 [acidul eicosatrienoic- (C20:3n-6); acidul arachidonic (C20:4n-6)] și respectiv în acizi grași n-3 [acidul eicosatrienoic (C20:3n-3) și acidul docosahexaenoic (C22:6n-3)]. De asemenea, o îmbunătățire a raportului $\Omega 6/\Omega 3$ a fost evidențiată și la lotul care a primit în hrană o proporție de 2% tescovină (8,96 vs.9,43), însă nu a existat o creștere semnificativă a acizilor grași n-3 și n-6 în gălbenușul de ou, cu excepția acidului eicosatrienoic (C20:3n-3). Conținutul în acid linoleic din gălbenuș nu s-a modificat foarte mult la loturile experimentale; o valoare mai ridicată a fost înregistrată la lotul care a primit în hrană o cantitate de 4% tescovină în hrană (22,97% vs. 20,47%).

- conținutul în colesterol din gălbenușul de ou nu a fost modificat de factorii experimentali. Valorile obținute fiind apropiate lotului de control.

- factorii experimentali nu au modificat statusul antioxidant total din componentele oului și din serul găinilor ouătoare, valorile înregistrate fiind foarte apropiate de lotul LC. O valoare mai ridicată a TAS-ului din ser a fost înregistrată la lotul LS- 2% (1,51 mmol/L vs. 1,44 mmol/L).

Din datele prezentate cu privire la evaluarea gradului de degradare al prospețimii oului pe perioada stocării am concluzionat că proporția de 2% semințe utilizată în hrana găinilor ouătoare a îmbunătățit indicatorii fizici interni ai oului pe întreaga perioadă de stocare, cu scăderi mai reduse ale greutateii specifice (1,84%) indicelui gălbenușului (8,75%), indicelui Haugh (11,65%) și indicelui albușului (9,69%). Scăderi semnificative ale indicelui albușului și Haugh au fost evidențiate din a treia săptămână de stocare ($p < 0,001$) iar cele ale indicelui gălbenușului din a patra săptămână ($p < 0,05$) la lotul LS-2%. Acest lucru a condus la o stabilitate mai bună a caracteristicilor interne ale oului pe

perioada depozitării (28 zile). Ouăle din lotul LS-2% nu au înregistrat diferențe semnificative ale indicatorilor față de lotul LC, pe întreaga perioadă de stocare.

În schimb, proporția de 2 și 4% tescovină utilizată în hrană nu a îmbunătățit indicatorii fizici de calitate pe perioada stocării; cantitatea de 2% tescovină a afectat semnificativ parametrii fizici interni ai ouălor, înregistrând reduceri mai mari ale greutatei specifice (1,94%), indicelui albușului (35,74%), indicelui Haugh (16,74%) și indicele gălbenușului (11,69%) pe întreaga perioadă de stocare. Scăderi semnificative ($p < 0,001$) ale acestor parametri (Ia, Ig, UH) au fost evidențiate chiar din prima săptămână de stocare în cazul lotului LT-1%. La 21 de zile de depozitare, ouăle din loturile LT-2% și LT-4% au prezentat scăderi distinct semnificative ale indicelui Haugh ($p < 0,01$) comparativ cu lotul de control. În aceeași perioadă de stocare, lotul LT-2% a înregistrat de asemenea, o reducere semnificativ mai mare ($p < 0,01$) a indicelui albușului față de lotul de control.

RECOMANDĂRI

RECOMMENDATIONS

Pe baza cercetărilor efectuate și a datelor obținute și prezentate în teza de doctorat, am făcut câteva recomandări, ca perspective viitoare de cercetare a subproduselor vinicole în vederea unei mai bune utilizări în exploatațiile zootehnice pentru îmbunătățirea producțiilor de carne și ouă.

Temperatura optimă de uscare a tescovinei pentru păstrarea compușilor cu proprietăți biologice active în vederea utilizării în hrana animalelor este de 20 °C (uscare naturală).

Este foarte important să se țină cont de modul de uscare și păstrare a acestor subproduse vinicole, înainte de a fi introduse în alimentația animalelor. Uscarea și păstrarea tescovinei să se facă în condiții corespunzătoare, în spații curate și bine aerisite.

Este indicată, separarea semințelor de struguri înainte de uscarea tescovinei, pentru a preveni procesul de degradare determinat de atacul microorganismelor (mușegaiurilor), prezența zaharurilor din pielete poate crește riscul de alterare a acestui subprodus.

De analizat compoziția chimică a tescovinei din mai multe varietăți sau soiuri de struguri, pentru a evalua conținutul polifenolic, în vederea valorificării în hrana animalelor.

În prima perioadă de creștere a puilor broiler se recomandă utilizarea subproduselor vinicole în cantități mai mici (sub 1%). Pentru a preveni pierderile de producție, la puii broiler indicat ar fi să se introducă aceste subproduse sau extracte (concentrate în polifenoli) în alimentație, începând cu a patra săptămână de creștere; în prima fază de creștere puii trebuie să se adapteze la condițiile de mediu, și să își dezvolte corespunzător tubul digestiv și sistemul imunitar, fără a forța organismul acestora să se adapteze și la aceste noi surse de hrană (tescovină, semințe).

Dozarea statusului antioxidant total în carne, organe, dejecții, conținutul intestinal în urma suplimentării hranei cu subproduse vinicole pentru a stabili locul de acțiune al compușilor polifenolici sau metaboliților acestora.

Dozarea markerului de stres malondialdehidă în ser/plasmă sau în produse animaliere (ouă, carne) pentru a evidenția prezența polifenolilor sau metaboliților acestora; dacă aceștia se distribuie în produsele animaliere pentru a păstra mai mult timp prospețimea acestora, prin prevenirea peroxidării lipidelor.

Testarea subproduselor vinicole la găini ouătoare mai tinere, în primul ciclu de ouat sau în perioade diferite de ouat, pentru a urmări influența subproduselor asupra parametrilor productivi și calitativi ai oului, și în special asupra calității cojii minerale.

BIBLIOGRAFIE

BIBLIOGRAPHY

1. **Abel H. și Icking H., 1984** – Zum Futterwert von getrockneten Traubentrestern für Wiederkäuer (*Feeding value of dried grape pomace for ruminants*). Landw. Forsch, 37, p. 44-52.
2. **Adamiec J., Dolezal M., Mokova și Davidek J., 2002** – *Changes in egg volatiles during storage*. Czech J. Food Sci., vol. 20 nr. 2, p.79-82.
3. **Aguilera J.F., 1986** - *Improvement of olive cake and grape by-products for animal nutrition. In Degradation of lignocellulosics in ruminants and in industrial processes*. Proceedings of a workshop held in Lelysad, Netherlands, 17-20, March 1986, p. 45-54.
4. **Akyurek, H. și Okur A.A., 2009** - *Effect of storage time, temperature and hen age on egg quality in free-range layer hens*. J. Anim. Vet. Adv. vol. 8, 1953-1958.
5. **Alia M., Horcajo C., Bravo, L., Goya, L., 2003** - *Effect of grape antioxidant dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats*. Nutr. Res.vol. 23, p. 1251–1267.
6. **Alipour D. și Rouzbehan Y., 2006** – In press. *Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on in vitro gas production and microbial biomass yield*. Animal feed Science and Technology, vol. 137, p. 138-149.
7. **Alonso A., Guilleán D., Barroso D., Puertas B., García A., 2002** - *Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 50, p.5832–5836.
8. **Alzahal O., Kebreab E., France J., Froetschel M. și B. McBride W., 2008** - *Ruminal temperature may aid in the detection of subacute ruminal acidosis*. J. Dairy Sci. vol. 91, p. 202–207.
9. **Ameho C.K., Chen C.Y, Smith D., Sánchez-Moreno C., Milbury P.E., Blumberg J.B., 2008** - *Antioxidant activity and metabolite profile of quercetin in vitamin-E -depleted rats*. J. Nutr. Biochem., vol. 19, p. 467–474.
10. **Andrieu J., Beranger C; Demarquilly Dulphy J.P, Geay Y., Hoden A., Jarrige, R., Journet, M., Lienard G., Petit M., Remond B., Thivend P., Legendre J., 1976** - *Alimentation des ruminants en période de pénurie fourragère*. Bulletin Technique du C.R.Z.V. de Theix, INRA, vol. 22, p. 65:89

11. **Araya M.**, Olivares M., Pizarro F., Llanos A., Figueroa G. și Uauy R., **2004** - *Community based randomized double-Blind study of gastrointestinal effects and copper Exposure in drinking water*. J.Environ Health Perspect, vol. 112, nr. 10, p. 1068-1073.
12. **Aslanian A.**, Asadi Dizaji A., Farhoomand P., Aghdam Shahryar H., Maheri Sis N. și Rouhnavaz S., **2011** – *Characterization of the nutritive value and protein system in white and red grape (Vitis vinifera) pomace*. Medwell Journals, vol. 6, nr. 7, 298-303.
13. **Augustin K.**, Blank R., Boesch-Saadatmandi C., Frank J., Wolffram S., Rimbach G., **2008** - *Dietary green tea polyphenols do not affect vitamin E status, antioxidant capacity and meat quality of growing pigs*. J Anim Physiol Anim Nutr., vol. 92, p. 705–711.
14. **Avarvarei Teona, 1999** - *Nutriția animalelor domestice*, Edit. "Ion Ionescu de la Brad", Iași.
15. **Azeke M. A. și Ekpo K.E., 2009** - *Egg yolk cholesterol lowering effects of garlic and tea*. Journal of Medicinal Plants Research, vol. 3, p. 1113–1117.
16. **Azis N.H.**, Farag S.E., Mousa L.A.A. și Abo-Zaid M.A., **1998**- *Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds*. Microbios vol. 93 p. 43 – 54.
17. **Bahrami Y.**, Foroozandeh A.D., Zamani F., Modarresi M., Eghbal-Saeid S., Chekani-Azar S., **2010** - *Effect of diet with varying levels of dried grape pomace on dry matter digestibility and growth performance of male lambs*. Journal of Animal and Plant Sciences, vol. 6, nr.1, p. 605- 610.
18. **Baia Gh.**, Palamaru E., Roșu E., **1962** – *Alimentația animalelor domestice*, Editura Agro-Silvica.
19. **Bampi M.**, Bicudo M.O.P., Fontoura P.S.G. Rimani R.F., **2010** – *Composição centesimal do fruto, extrato concentrado e da farinha da uva-do-japão*. Ciência Rural, vol. 40, nr.11, 2361-2367.
20. **Barbosa N.A.A.**, Freitas E.R., Sakomura, N.K., **2004** - *Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento na qualidade interna de ovos de poedeiras comerciais*. Brazilian Journal Poultry Science, supl. 6, p. 60-65.
21. **Barrefors P.**, Granelli K, Appelqvist L-A și Bjorck L. **1995** - *Chemical characterization of raw milk samples with and without oxidative off-flavor*. Journal of Dairy Science vol. 78, p. 2691-2699.
22. **Barry T.N.**, Manley R.T. și Duncan, **1986** – *The role of condensed tannin in the nutritional value of lotus pedunculatus for sheep*. 4. *Site of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentrations*. Br. J. Nutr., vol. 55, p. 123-137.
23. **Basalan M.**, Gungor T., Owens F.N., Yalcinkaya I., **2011**- *Nutrient content and in vitro digestibility of Turkish grape pomaces*. Anim. Feed Sci. Technol. vol. 169, p. 194–198.
24. **Baumgartel T.**, Kluth H., Epperlein K. și Rodehutschord M., **2007** – *A note on digestibility and energy value for sheep of different grape pomace*. Small Rumin. Res., 302-306.

25. **Baurhoo N.**, Baurhoo, A., Mustafa F. și Zhao X., **2011** - *Comparison of corn-based and Canadian pearl millet-based diets on performance, digestibility, villus morphology, and digestive microbial populations in broiler chickens*. *Poultry Science*, vol. 90, p. 579–586.
26. **Baydar N.G. și Akkurt, 2001** - *Oil Content and Oil Quality Properties of Some Grape Seeds*, *Turk J Agric For* vol. 25, p. 163-168.
27. **Baydar N.G.**, Ozkan, G. și Cetin E.S. **2007**- *Characterization of grape seed and pomace oil extracts*. *Grasas Y Aceites*, vol. 58, p. 29-33.
28. **Ben-Neriah Y., Schmidt-Supprian M., 2007** - *Epithelial NF- κ B maintains host gut microflora homeostasis*. *Nat Immunol*, vol. 8, p. 479–481.
29. **Beveridge T.H.J.**, Girard B., Kopp T. și Drover J.C.G. **2005** - *Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, p. 1799–1804.
30. **Biasi F.**, Astegiano M., Maina M., Leonarduzzi G, Poli G., **2011** - *Polyphenol supplementation as a complementary medicinal approach to treating inflammatory bowel disease*. *Curr Med Chem*, 18, p. 4851–4865.
31. **Bişboacă Simona Elena, 2012** - *Procedeu de obținere a polifenolilor din tescovina de struguri*, Brevet de invenție, RO125704 B1, p. 1-5.
32. **Bodas Prietoa N.**, García-González R., Andrésa S., Giráldeza F.J. și López S.- **2012** - *Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites*. *Animal Feed Science and Technology*, 176, p. 78– 93.
33. **Botsoglou N.A.**, Yannakopoulos A.L., Fletouris D.J., Tserveni- Goussi A.S., Psomas I.E., **1998** - *Yolk fatty acid composition and cholesterol content in response to level and form of dietary flaxseed*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 46(11), p. 4652-4656.
34. **Bounous, D.I. și Stedman, N.L., 2000** - *Normal avian hematology: chicken and turkey*. In: Feldman, B.F., Zinkl, J.G. & Jain, N.C., *Schalm's Veterinary Hematology*, 5th Ed. Lippincott, Philadelphia, Lea & Febiger 364, p. 1148-1150.
35. **Brannan, R.G. și Mah E., 2007** - *Grape seed extract inhibits lipid oxidation in muscle from different species during refrigerated and frozen storage and oxidation catalyzed by peroxynitrite and iron/ascorbate in a pyrogallol red model system*. *Meat Sci.* 77, p. 540–546.
36. **Bravo L. și Saura-Calixto F. 1998**- *Characterization of dietary fibre and the in vitro indigestible fraction of grape pomace*. *Am. J. Enol. Viticult.*, 49, p. 135-141.
37. **Brenes A**, Viveros A, Goñi I, Centeno C, Saura-Calixto F, Arija I., **2010** - *Effect of grape seed extract on growth performance, protein and polyphenol digestibilities, and antioxidant activity in chickens*. *Span J Agric Res.*, 8, p. 326–333.
38. **Brenes A.**, Viveros A., Goni I., Centeno C., Sayago-Ayerdi S.,G., Arija I., Saura-Calixto F., **2008** - *Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens*. *Poultry Science* 87, p. 307–316.
39. **Brenes A.**, Viveros A., Chamoro S., Arija I., **2016** - *Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review*. *Animal Feed Science and Technology*. 211, p.1-17.

40. **Butler L. G., 1992** - *Antinutritional effects of condensed and hydrolyzable tannins*. In R. W. Hemingway & P. E. Laks (Eds.), *Plant polyphenols* New York: Plenum Press, p. 693–698.
41. **Butler L.G. și Rogler J.C., 1992** - *Biochemical mechanisms of the antinutritional effects of tannins*. In *Phenolic compounds in food and their effects on health* (ed. CT Ho, CY Lee and MT Huang), p. 298–304. ACS Symposium series No. 506, Washington, DC, USA.
42. **Cachaldora P., Garcia-Rebollar P., Alvarez C., De Blas J.C., Mendez J., 2006** - *Effect of type and level of fish oil supplementation on yolk fat composition and n-3 fatty acids retention efficiency in laying hens*. *Brit. Poultry Sci.* 47, p. 43-49.
43. **Caillet S., Salmieri S. și Lacroix M., 2006** - *Evaluation of free radical scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method*. *Food Chem.* 95:1–8.
44. **Calabrese E.J., 2008** - *Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists*. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 27(7), p. 1451-1474.
45. **Campbell T.W., 1988** - *Avian Hematology and Cytology*. Iowa State University Press, USA.
46. **Campbell T.W., 1995** - *Avian Hematology and Cytology*. Second Edition. Iowa State University Press, p. 7-11.
47. **Campos E.J. și Baião N.C., 1975** - *Efeitos da temperatura, período e posição durante o armazenamento sobre a qualidade interna de ovos de consumo*. In: *Congresso Brasileiro de Avicultura*, 4, Porto Alegre. Anais., Porto Alegre, p.179-182.
48. **Cantos E., Tudela J.A., Gil M.I., Espin J.C. 2002** - *Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in brownig development of fresh cut potatoes*. *J. Agric. and Food Chem*, 50, p. 3015-3023.
49. **CAO X. și ITO Y., 2003** - *Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography*. *J. Chrom. A* 1021, p. 117-124.
50. **Carré B. și Rozo E., 1990** - *La prediction de la valeur énergétique des matières premières destinées à l'aviculture*. *INRA Prod. Anim.* vol. 3 (3), p. 163-169.
51. **Carré B., 1990**. *Predicting the dietary energy value of poultry feeds. Feedstuff evaluation*. Wiseman J. and Cole D.J.A. editors p. 283-300. Butterworhs. London.
52. **Carré B., Brillouet J.M., 1989** - *Determination of water-insoluble cell-walls in feeds: interlaboratory study*. *J. Ass.Off. Anal. Chem.* 72, p. 463- 467.
53. **Carré, B., 1991**. - *The chemical and biological bases of a calculation system developped for predicting dietary energy values: a poultry model*. In *"In vitro digestion for pigs and poultry"*. M.F. Fuller and CAB int. ed., Wallingford, UK, p. 67-85.
54. **Carreras I., Guerrero L., Guardia M.D., Esteve-Garcia E., Garcia J. A., Regueiro J. A. și Sarraga C., 2004**- *Vitamin E levels, thiobarbituric acid test and sensory evaluation of breast muscles from broilers fed α -tocopheryl acetate and β -carotenesupplemented diets*. *J. Anim. Sci. Food Agric.* 84, p. 313–317.

-
55. **Carron N.M.**, Goni I., Larrauri J.A., Alejandra G.A., Fulgencio S.C., **1999** - *Reduction in serum total and LDL cholesterol concentrations by a dietary fiber and polyphenol rich grape product in hypercholesterolemic rats*. Nutr. Res. 19, p. 1371-1381.
56. **Cavani C.**, Maiani A., Manfredini M., Zarri M.C., **1988** - *The use of dehulled grape seed meal in the fattening of rabbits*. Ann. Zootech. 37, p. 1-12.
57. **Celebi S. și Macit M.**, **2008** - *The effects of sources of supplemental fat on performance, egg quality, and fatty acid composition of egg yolk in laying hens*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88, p. 2382-2387.
58. **Cetin A.**, Kaynar L., Kocyigit I., Hacıoglu S.K., Saraymen R., Ozturk A., Sari I., Sagdic O., **2008** - *Role of grape seed extract on methotrexate induced oxidative stress in rat liver*. Am. J. Chin. Med., 36, p. 861-872.
59. **Chamorro S.**, Viveros A., Centeno C., Romero C., Arijia I., Brenes A., **2013** - *Effects of dietary grape seed extract on growth performance, amino acid digestibility and plasma lipids and mineral content in broiler chicks*. Animal 7, p. 555-561.
60. **Chamorro S.**, Viveros A., Rebolé A., Rica A., Arijia B.D., Brenes A.A., **2015** - *Influence of dietary enzyme addition on polyphenol utilization and meat lipid oxidation of chicks fed grape pomace*. Food Res. Int. 73, p. 197-203.
61. **Chamorro S.**, Viveros A., Centeno C., Romero C., Arijia I. și Brenes A., **2012** - *Effects of dietary grape seed extract on growth performance, amino acid digestibility and plasma lipids and mineral content in broiler chicks*. Animal, 7:4, p. 555-561.
62. **Chedea V.S.**, C. Braicu, F. Chirilă, C. Ober, C. Socaciu, **2011** - *Antibacterial action of an aqueous grape seed polyphenolic extract*. Afr. J. Biotech. 10, p. 6276-6280.
63. **Chelaru Ana**, **2002** - *Hematologia la mamifere și păsări*. Edit. PIM, Iași.
64. **Cherian G.**, **2008** - *Egg quality and yolk polyunsaturated fatty acid status in relation to broiler breeder hen age and dietary n-3 oils*. Poultry Science, 87(6), p. 1131-1137.
65. **Cherian, G.**, Wolfe E.H., Sim, J.S., **1996** - *Feeding dietary oil with tocopherols: effect of internal qualities of eggs during storage*. Journal of Food Science, 61, p.15-18.
66. **Chiselița O.**, **2010** - *Caracterele fiziologo-biochimice ale unor drojdii vinicole și procedee de obținere a bioproduselor valoroase*, Teză de doctorat, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Chișinău
67. **Chiselița O.**, Usatfi A., Chirița E., Topală L., Chiselița N., Molodoi E., **2008** - *Componenta biochimică a drojdiilor din sedimente vinicole*. În: Buletinul AȘM, Științele vieții, vol. 1, p.132-137.
68. **Cho S.B.**, Cho J.H., Hwang O.H., Yang S.H., Park K.H., Choi D.Y., Yoo Y.H., Kim I.H., **2012** - *Effects of fermented diets including grape and apple pomace on amino acid digestibility, nitrogen balance and volatile fatty acid (VFA) emission in pigs*. J. Anim. Vet. Adv. 11, p. 3444-3451.
69. **Choi G.S.**, Chung H.K., Choi M.K., Kang M.H., **2010** - *Effects of grape pomace on the antioxidant defense system in diet-induced hypercholesterolemic rabbits*. Nutr. Res. Pract. 4, p. 114-120.
70. **Cotea C.**, **2005** - *Histologie specială*, Ed. Tehnopress, Iași, p. 498.

71. **Cotea C., Cotea I., 2006**– *Atlas of Histology*, Ed. Tehnopress, Iași.
72. **Cottrill B.**, Smith C., Berry P., Weightman R., Wiseman J., White G. și Temple M. L., **2007** - *Opportunities and implications of using the co-products from biofuel production as feeds for livestock*. ADAS-University of Nottingham, UK p.1-90.
73. **Cottyn B.G.**, Boucque Ch.V., Aertis J.V. și Buysse F.X., **1981** – *NaOH-treated grape seed oil meal incomplete diets for intensive bull beef production*. Agric. Environ., 6, p. 283-294.
74. **Coutts J.A.**, Graham C.W., Fernandez S., Rosales E., Weber G. și Hernandez J-M., **2007** – *Optimum egg quality. A practical approach*. 5M Publishing, Sheffield, United Kingdom, p. 63.
75. **Criste Rodica D.**, Panaite Tatiana D. și Ropotă Mariana., **2007** - *The egg - Functional food. Comparative Study on various nutritional solutions to enrich the egg polyunsaturated fatty acids. II Yolk fatty acids profile resulting from the dietary use of the safflower oil and flax seeds*. Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii, Timișoara, vol. 40 (1), p. 431-439.
76. **Cristie, W.W. 1973** - *Lipid analysis: Isolation, Separation, Identification and Structure Analysis of Lipids*, Pergamon Press, Oxford.
77. **Cuevas, A.**, Saavedra, N. Salazar, L.A., Abdalla D.S.P., **2013** - *Modulation of Immune Function by Polyphenols: Possible Contribution of Epigenetic Factors*. Nutrients Journal, 5, p. 2314-2332.
78. **Cummings J.H. și Macfarlane, G.T., 1997** -*Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism*. Clinical Nutrition, 16, p. 3–11.
79. **De Marco M.**, Salcedo W.L., Pastorelli G., Rossi R., Corino C., Bergagna S., Mellia E., Gennero M.S., Biasibetti, E., Capucchio, M.T., Nurisso, S., Tarantola, M., Forneris, G., Schiavone A., **2015** - *Effects of Verbascoside Supplemented Diets on Growth Performance, Blood Traits, Meat Quality, Lipid Oxidation and Histological Features in Broiler Chickens*. Italian Journal of Animal Science, 14, p. 172-178.
80. **De Menezes P.C.**, de Lima E.R., de Medeiros J.P., de Oliveira W.N.K., Evencio-Neto J., **2012** - *Egg quality of laying hens in different conditions of storage, ages and housing densities*. Brazilian Journal of Animal Science, 41, p. 2064-2069.
81. **De Pina C.G. și Hogg T.A, 1999** - *Microbial and chemical changes during the spontaneous ensilage of grape pomace*. J. Appl. Microbiol. 86, p. 777–784.
82. **De Winne A. și Dirinck. P., 1996** - *Studies on vitamin E and meat quality. 2.- Effect of feeding high vitamin levels on chicken meat quality*. J. Agric. Food Chem. 44, p. 1691–1696
83. **Demirun Y.**, Skoric D., Karlovic D., **1996** - *Genetic Variability of Tocopherol Composition in Sunflower Seeds as a Basis of Breeding for Improved Oil Quality*. Plant Breeding 115, p. 33-36
84. **Deng Q.**, Penner M. H. și Zhao Y. **2011** - *Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins*. Food Research International, 44, p. 2712-2720. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.026>.

-
85. **Déprez S.**, Brezielon C., Rabot S., Philippe C., Mila I., Lapierre C. și A. Scalbert. **2000** - *Polymeric anthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular weight phenolic acids*. J. Nutr. 130, p. 2733–2738.
86. **Dopico-Garcia M.S.**, Figue A., Guerra, L., Afonso, J.M., Pereira O., Valentao P., Andrade P.B.; Seabra, R.M., **2008** - *Principal components of phenolics to characterize red Vinho Verde grapes: anthocyanins or non-coloured compounds?* Talanta 75, p. 1190–1202.
87. **Dorobanțu P.I. și Beceanu D.**, **2008** – *Studii privind uleiul extras din semințe de struguri, aparținând unor soiuri diferite de Vitis Vinifera*. Scientific Papers Journal Agronomy Series, vol. 52, (3), p. 30-35, U.A.S.V.M. Iași.
88. **Dorri D.**, Tabeidian S.A., Toghyani M., Jahanian R., Behnamnejad F., **2012** - *Effect of Different Levels of Grape Pomace on Blood Serum Biochemical Parameters Broiler Chicks at 29 and 49 days of age*. The 1th International and The 4th National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture. p. 1-4.
89. **Douglas J.W. și Wardrop J.K.**, **2010** - *Hematology of chickens and turkeys*. Schalm's Veterinary Hematology. Sixth edition. Blackwell Publishing Ltd., Ames, Iowa, USA p. 958–967.
90. **Dumont R. și Tisserand J.L.**, **1978** – *Valeur alimentaire d'un marc de raisin deshydraté*. Ann. Zootech., 27, p. 631:637.
91. **Dumont R.**, Messaoudi L. și Tisserand J.L., **1985** – *Feeding value of dried or ensiled grape marc*. Report of the European Communities, Feeding value of by-products and their use beef cattle, p. 5.
92. **Dyeberg J.**, Bang H.O., Hjorne N, **1975** - *Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos*. Am. J. Clin. Nutr., 28, p.958.
93. **Eisen E.J.**, Bohren B.B. și H. E. McKean, **1962** - *The Haugh unit as a measure of egg albumen quality*. Poult. Sci. 41, p. 1461–1468.
94. **EL-Alfy A.T.**, Amany A.E.A., Fatani A.J., **2005** - *Protective Effect of red grape seeds proanthocyanidins against Induction of diabetes by alloxan in rats*. Pharm Res, 52, p. 264-270.
95. **Elieff S.E.**, Obradovic D., Klingner K.E., Iland P.G. și Jones G.P., **2001** - *Proceedings of the 11th Australian Wine Industry Technical Conference*, p. 261.
96. **Enberg R.M.**, Lauridsen C., S. K. Jensen S.K. și Jakobsen K., **1996** - *Inclusion of oxidised vegetable oil in broiler diets. Influence on nutrient balance and on the antioxidative status of broilers*. Poult. Sci., 75, p. 1003–1011.
97. **Ewald J.A.**, Desotelle J.A., Wilding G., Jarrard D.F., **2010** - *Therapy-induced senescence in cancer*. J. Natl. Cancer Inst., vol. 102, nr. 20, p. 1536–1546.
98. **Faitarone A.B.G.**, Roça R.O., Garcia, E.A., Andrade E.N., Vercese F., Pelícia K., **2016** - *Yolk color and lipid oxidation of the eggs of commercial white layers fed diets supplemented with vegetable oils*. Revista Brasileira de Ciencia Avicola, 18(1), p. 9-16.
99. **Février R.**, Gasnier A., și Leroy A.M., **1944**- *Valeur alimentaire du marc de raisin desséché*. Compte rendu Acad. Agric., 100.
100. **Fiesel A.**, Gessner D.K., Erika Most E., Eder K., **2014** - *Effects of dietary polyphenol-rich plant products from grape or hop on pro-inflammatory gene expression*

in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. BMC Vet. Res. 10, p. 196–206.

101. **Fletcher D.L.**, Britton W.M., Pesti G.M., Rahn A.P., **1983** - *The relationship of layer flock age and egg weight on egg component yields and solids content*. Poultry Science, Vol. 62:1800-1805.

102. **Fletcher, D.L.**, Britton W.M., Rahn A.P., Savage S.I., **1981** - *The influence of layer flock age and egg component yields and solids content*. Poultry Science, Vol. 60, p. 983-987.

103. **Folch J.**, Lees M., și Sloane-Stanley G.H., **1957**.- *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues*. The Journal of Biological Chemistry., vol. 226, p. 497–507.

104. **Frank J.**, Lundh T., Parker R.S., Swanson J.E., Vessby B., Kamal-Eldin A., **2003** - *Dietary (+)-catechin and BHT markedly increase alpha-tocopherol concentrations in rats by a tocopherol-omega-hydroxylase-independent mechanism*. J Nutr, 133, p. 3195–3199.

105. **French N.A., Tulett S.G.**, **1990** – *Variation in the egg of poultry species*. Poultry Sci., vol. 28, nr.1, p. 59-77.

106. **Fuleki T.** și Ricardo-da-Silva J.M., **1997** – *Catechin and procyanidin composition of seeds from Grape Cultivars Grown in Ontario*. J. Agric. Food Chem., 45(4), p. 1156–1160.

107. **Gañan M.**, Martinez-Rodriguez A.J. și Carrascosa A.V., **2009** - *Antimicrobial activity of phenolic compounds of wines against Campylobacter jejuni*. Food Control, 20, p. 739–742.

108. **Gauthier T. și Hawley M.**, **2015** - *Statistical Methods. Introduction to Environmental Forensics*, Editat de Murphy B. and Morrison D., p. 99-147.

109. **Gessner D.K.**, Fiesel A., Most E., Dinges J., Wen G., Ringseis R., Eder K., **2013** - *Supplementation of a grape seed and grape marc meal extract decreases activities of the oxidative stress-responsive transcription factors NF- κ B and Nrf2 in the duodenal mucosa of pigs*. Acta Veterinaria Scandinavica, vol. 55(1) p.18.

110. **Gessner D.K.**, Fiesel A., Most E., Dinges J., Wen G., Ringseis R., Eder K., **2013** - *Supplementation of grape seed and grape marc meal extracts decreases activities of the oxidative stress-responsive transcription factors NF- κ B and Nrf2 in the duodenal mucosa of pigs*. Acta Vet. Scand. 55, p. 18–27.

111. **Gessner D.K.**, Ringseis R., Siebers M., Keller J., Kloster J., Wen G., Eder K., **2012** - *Inhibition of the pro-inflammatory NF- κ B pathway by a grape seed and grape marc meal extract in intestinal epithelial cells*. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., vol. 96, p. 1074–1083.

112. **Gliadine C.**, Morand C., Rock E., Baucharta D., Durand D., **2007** - *Plant extracts rich in polyphenols (PERP) are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed n – 3 PUFA supplemented diets*. Animal Feed Science and Technology, vol. 136, p. 281 – 296.

-
113. **Goel G. și Makkar M.P.S., 2012** – *Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins*. Trop. Anim. Health Prod. 4, p. 729-739.
114. **Gomez-Plaza, E., Minano A. și Lopez-Roca J.M. 2006** - *Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts from grape pomace obtained from different vinification methods*. Food Chemistry, vol. 97, p. 87-94
115. **Goni I. și Serrano J., 2005.** - *The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum*. J.Sci. Food Agric. 85, p. 1877–1881.
116. **Goni I., Brenes A., Centeno C., Viveros A., Saura-Calixto F., Rebole A., Arijia I. și Esteve R., 2007** - *Effect of dietary grape pomace and vitamin E on growth performance, nutrient digestibility and susceptibility to meat lipid oxidation in chickens*. Poultry Science 86, p. 508–516.
117. **Gonzalez E. și Tejeda J.F., 2007** - *Effects of dietary incorporation of different antioxidant extracts and free-range rearing on fatty acid composition and lipid oxidation of Iberian pig meat*. Animal 1, p. 1060–1067.
118. **González-Muñoz M.J., Bastida S., Jiménez O., de Lorenzo C., Vergara G. și Sánchez-Muniz F.J., 2009** - *The effect of dietary fat on the fatty acid composition and cholesterol content of the eggs from Hy-line and Warren hens*. Grasas Y Aceites, 60, p. 350–359.
119. **Gonzalez-Parama A.M., Esteban-Ruano S., Santos-Buelga C., Pascual-Teresa S. și Rivas-Gonzalo J.C., 2004** - *Flavanol content and antioxidant activity in winery products*. J. Agric. Food Chem., vol. 52, nr. 2, p. 234-238.
120. **Güçlü B.K., Uyanik F., Iscan, K.M., 2008** - *Effects of dietary oil sources on egg quality, fatty acid composition of eggs and blood lipids in laying quail*. South African Journal of Animal Science, vol. 38, p. 91–100.
121. **Guemour D., Bannelier C., Dellal A. și Gidenne T., 2010** – *Nutritive value of sun-dried grape pomace incorporated at a low level in complete feed for the rabbit bred under Magrebian conditions*. World Rabbit Science, 18, p. 17-25.
122. **Hăbeanu M., Lefter N.A., Ropota M., Chedea V.S., Gheorghe A., Toma S.M., Ciurescu G., Dragomir C., 2015** - *Dried grape pomace influenced fatty acids composition of Longissimus dorsi muscle and plasma polyphenols spectrum in finishing pigs*, Indian Journal of Animal Sciences, vol. 85 (7), p. 110–113.
123. **Habibu B., Yaqub L.S., Ahmed I.A., Kawu M.U., Buhari H.U., Tauheed M, Isa H.I., 2013** - *Erythrocyte osmotic fragility and haematologic parameters of three breeds of 9-week-old broiler chickens*. Int J Poult. Sci. 12 (5), p. 277-279.
124. **Haile Y. și Chanie M., 2014** - *Comparative aspects of the clinical hematology of birds: a review*. British Journal Poultry Science; 3, p. 88-95.
125. **Hammouda și Larwence, 1981** In Messaoudi, L., 1982.
126. **Han X., Shen T. și Lou H., 2007** - *Dietary Polyphenols and Their Biological Significance*. Int. J. Mol. Sci., 8, p. 950-988.
127. **Harborne J.B., 1998** - *Phytochemical methods*, Chapman and Hall, Thomson Science, London, UK.

128. **Hayat Z.**, Cherian G., Pasha T.N., Khattak F.M. și Jabbar M.A., **2009** - *Effect of feeding flax and two types of antioxidants on egg production, egg quality, and lipid composition of eggs*. Journal of Applied Poultry Research, vol. 18: p. 541–551.
129. **Hayden M.R. și Tyagi S.C.**, **2004** - *Uric acid: A new look at an old marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome and type II diabetes mellitus. The urate redox shuttle*. Nutrition and Metabolism, p. 1-10.
130. **Hayflick L.**, **1968** - *Human cells and aging*,” Scientific American, vol. 218, no. 3, p. 32–37.
131. **Helena Bovšková**, Kamila Míková și Zdenka Panovská, **2014**- *Evaluation of Egg Yolk Colour*, J. Food Sci. vol.32, p. 213-217.
132. **Helena H.**, Mueller- Havry I., Reed J.D., Krueger și Murphy M., **2000** – *Characterisation of tannins and in vitro protein digestibility of several Lotus corniculatus varieties*. Anim. Feed Sci. Tech., 87, p. 41-56.
133. **Hernandez-Jimenez A.**; Gomez-Plaza E.; Martinez-Cutillas A.; Kennedy J.A., **2009** - *Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes*. J. Agric. Food Chem., 57, p. 10798–10803.
134. **Hess H.D.**, Tiemann T.T., Noto F., Carulla, J.E., Kreuzer, M., **2006** - *Strategic use of tannins as means to limit methane emission from ruminant livestock*. Int. Congr. Ser. 1293, p. 164–167.
135. **Huang, X.D.**, Liang, J.B., Tan, H.Y., Yahya, R., și Ho, Y.W., **2011** - *Effects of Leucaena condensed tannins of differing molecular weights on in vitro CH4 production*. Anim. Feed Sci. Technol. 166–167, p. 373–376.
136. **Hughes R. J.**, Brooker J.D. și Smyl C., **2005** - *Growth rate of broiler chickens given condensed tannins extracted from grape seed*. Aust. Poult. Sci. Symp. 17, p. 65–68.
137. **INRA**, **1988** – *Tables de l'alimentation des bovins, ovins et caprins*, p.162.
138. **Iqbal Z.**, Ali R., Sultan J.I., Ali A., Kamran Z., Khan S.A., Ahsan U., **2014** - *Impact of replacing grape polyphenol with vitamin E on growth performance, relative organs weight, and antioxidant status of broilers*. J. Anim. Plant Sci. 24, p. 1579–1583.
139. **Jacobs D.M.**, Fuhrmann, J.C., Van Dorsten, F.A.; Rein, D., Peters S.; Van Velzen, E.J., Hollebrands, B., Draijer, R., Van Duynhoven J., Garczarek U., **2012** - *Impact of short-term intake of red wine and grape polyphenol extract on the human metabolome*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 60, p. 3078–3085.
140. **Jansman A.J.M.**, Frohlich A.A. și Marquardt R.R., **1994** - *Production of proline-rich proteins by the parotid glands of rats is enhanced by feeding diets containing tannins from faba beans (vicia faba L)*. Journal of Nutrition 124, p. 249–258.
141. **Jansman A.J.M.**, Huisman J. și A.F.B van der Poel, **1989** - in *Recent Advances in Research of Antinutritional Factors in Legume Seeds*. Huisman J., A.F.B. van der Poel și Liener I.E., ed Pudoc, Wageningen, The Netherlands, p. 176–180.
142. **Jayaprakasha G K** Signh R P și Sakariah K.K., **2001** - *Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro*. Food Chemistry, vol. 73, p. 285-290.

143. **Jiang Z.**, Ahn D.U., Sim J.S., **1991** - *Effects of feeding flax and two types of sunflower seeds on fatty acid compositions of yolk lipid classes*. Poultry Science, vol. 70, p. 2467–2475.
144. **Jianmei Yu și Mohamed Ahmedna, 2013** - *Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications*. International Journal of Food Science and Technology, vol. 48, p. 221-237.
145. **Jing P. și Giusti M.M., 2011** - "*Contribution of Berry Anthocyanins to Their Chemopreventive Properties*" In *Berries and Cancer Prevention*. Edited by G.D. Stoner, N.P. Seeram. New York: Springer Science+Business Media.
146. **Johnson A. S. și Merritt E.S., 1955** - *Heritability of albumen height and specific gravity of eggs from white Leghorns and Barred Rocks and the correlations of these traits with egg production*. Poult. Sci. 34, p. 578-587.
147. **Juin H.**, Decousser A., Chicoteau P., **2007** - *Incorporation de differents extraits de raisin dans l'alimentation du poulet de chair: effet sur les performances de croissance et la stabilite membranaire des globules rouges*. In: Septièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 28 et 29 mars 2007, p. 212–214.
148. **Jung S.**, Hun B.H., Nam K., Ahn D.U., Lee J.H., Jo C., **2011**. *Effect of dietary supplementation of gallic acid and linoleic acid mixture or their synthetic salt on egg quality*. Food Chemistry. vol. 129, p. 822-829.
149. **Kalaiselvan I.**, Samuthirapandi M., Govindaraju A., Sheeja Malar D., Kasi P.D., **2015** - *Olive oil and its phenolic compounds (hydroxytyrosol and tyrosol) ameliorated TCDD-induced hep- totoxicity in rats via inhibition of oxidative stress and apoptosis*, Pharmaceutical Biology, vol. 8, p. 1–9.
150. **Kalscheur, K.F., 2006** - *Feeding distillers grains to dairy cattle: Impact on milk fat, protein, and yield*. Distillers Grains Quarterly, 1(3):20-21 and Part 2. 1(2):24-27.
151. **Kamel S.**, Dawson H. și Kakuda Y., **1985**- *Characteristics and composition of melon and grape seed oils and cakes*".Journal of the American Oil Chemists' Society, **62** (5), p. 881–883.
152. **Kammerer D.**, Claus A., Carle R. și Schieber A., **2004** - *Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (Vitis vinifera L.) by HPLC-DAD-MS/MS*. Journal of Agricultural Food and Chemistry, vol. 52, p. 4360–4367.
153. **Kanner J., 1994** - *Oxidative processes in meat products: Quality implications*. Meat Sci. 36, p.169–189.
154. **Kara K. și Kocaoglu-Guclu B., 2012** - *The effects of different molting methods and supplementation of grape pomace to the diet of molted hens on postmolt performance, egg quality and peroxidation of egg lipids*. J. Fac. Vet. Med. Univ. Erciyes. vol. 9, p. 183–196.
155. **Kara K.**, Güçlü K.B., Baytok E., Şentürk M., **2016** - *Effects of grape pomace supplementation to laying hen diet on performance, egg quality, egg lipid peroxidation and some biochemical parameters*. Journal of applied animal research, vol. 44, (1): p. 303–310.
156. **Kaulmann A. și Bohn T., 2016** - *Bioactivity of Polyphenols: Preventive and Adjuvant Strategies toward Reducing Inflammatory Bowel Diseases—Promises*,

Perspectives, and Pitfalls. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, vol. 2016, p. 1-29, doi: 10.1155/2016/9346470.

157. **Kaya A.**, Yıldırım B.A., Kaya H., Gül M. și Çelebi Ş., **2014** - *The effects of diets supplemented with crushed and extracted grape seed on performance, egg quality parameters, yolk peroxidation and serum traits in laying hens*. Europ. Poult. Sci., vol. 78, p. 1-10.

158. **Kaya H.**, Gül M., Çelebi Ş., Kaya A., Apaydin Yıldırım B., Macit M., **2014** - *The effects of black tea factory waste supplementation into laying hen diets on performance, egg quality, yolk peroxidation, and blood parameters*. Kafkas. Univ. Vet. Fak. Derg. vol. 20, p. 375-382.

159. **Kemperman, R.A.**, Gross, G., Mondot, S., Possemiers, S., Marzorati, M., Van De Wiele, T., DORE, J., Vaughan, E.E. **2014** - *Impact of polyphenols from black tea and red wine/grape juice on a gut model microbiome*. Food Research International, vol. 53, p. 659–669.

160. **Kennedy J.** Troup G. Pilbrow, J.R., Hutton, D., Hewitt D., Hunter, C., Ristic, R., Iland, P. Jones, G., **2000** - *Development of seed polyphenols in berries from Vitis vinifera L. cv. Shiraz*. Australian Journal of Grape and Wine Research vol. 6, p. 244–254.

161. **Khan H. Y.**, Zubair H., Ullah M.F., Ahmad A., Hadi S.M, **2012** - *A pro-oxidant mechanism for the anticancer and chemopreventive properties of plant polyphenols*. Current Drug Targets, vol. 13, nr. 14, p. 1738–1749.

162. **Khan N. și Mukhtar H.**, **2015** - *Dietary agents for prevention and treatment of lung cancer*, Cancer Letters, vol. 359, nr. 2, p. 155–164.

163. **Khanal, R.C.**, Howarda L.R., Prior R.L. **2009** - *Procyanidin content of grape seed and pomace and total anthocyanin content of grape pomace as affected by extrusion processing*. Journal of Food Science, vol 74, nr. 6, 174-182.

164. **Khanal, R.C.**, Howarda L.R., Prior R.L. **2010** - *Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins*. Food Research Int., vol. 43, p. 1464-1469.

165. **Kibon A și Orskov E.R.**, **1993** – *The use of degradation characteristics of browse plants to predict intake and digestibility by goats*. Anim. Prod., 57 p. 241-247.

166. **Kim E.Y.**, Pai T.K., Han O., **2011** - *Effect of bioactive dietary polyphenols on zinc transport across the intestinal Caco-2 cell monolayers*. Journal of Agricultural and Food Chemistry vol. 59, p. 3606–3612.

167. **King R.A.**, Mano M.M. și Head R.J., **1998** - *Assessment of isoflavonoid concentrations in Australian bovine milk samples*. J. Dairy Res., vol. 65, p. 479-489.

168. **Kubatka P.**, Kapinova A., Kello M., **2015** - *Fruit peel polyphenols demonstrate substantial anti-tumour effects in the model of breast cancer*, European Journal of Nutrition, vol. 55, nr. 3, p. 955-965.

169. **Kudair S.**, Jeboory AL A., Eman H.Y., Taae Al. și Rajiha A., Naimi AL., **2012** - *Evaluate the effect of different doses for grape seed extract in mice*. The Iraqi J. Vet. Med., vol. 36 (1), p. 85-98.

-
170. **Lara-Flores M.**, Olvera-Novoa M.A., Guzmán-Méndez B.E., López-Madrid W., **2003** - *Use of the bacteria Streptococcus faecium and Lactobacillus acidophilus, and the yeast Saccharomyces cerevisiae as growth promoters in Nile tilapia (Oreochromis niloticus)*. Aquaculture, vol. 216, 193-201.
171. **Larrauri J.A.**, Ruperez P. și Saura Calixto, **1996** - *Antioxidant Activity of Wine Pomace* Am. J. Enol. Vitic., vol. 47, p. 369-372.
172. **Larwence A. și Yahiaoui A.**, **1983** – *Valeur alimentaire des marcs de raisin. I- Influence des 8 sources azotées de complémentation sur l'utilisation digestive par le mouton de marc de raisin épuisé et ensilé*. Ann. Zootech., vol. 32, p. 357-370.
173. **Larwence A.**, **1983** – *Recherches sur les facteurs limitants de la faible valeur nutritive des marcs de raisin pour le ruminant: procédés d'amélioration*. Thèse de Doctorat et Sciences, Université de Dijon, p. 248.
174. **Larwence A.**, Hammouda F. și Gaouas Y., **1985** - *Valeur alimentaire des marcs de raisin. IV- Effet de différents niveaux de concentré de complémentation sur la digestibilité chez le mouton de rations de marc traitées ou non à la soude*. Ann. Zootech., vol. 34, p. 389-400.
175. **Lau D.W. și King, A.J.**, **2003** - *Pre- and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances*. Journal of Agricultural and Food Chemistry vol. 51, p. 1602–1607.
176. **Lecas M., și Brillouet J.**, **1994** - *Cell wall composition of grape berry skins*. Phytochemistry, vol. 35, p. 1242-1243.
177. **Lee C.G.**, Koo J.H., Kim S.G., **2015** - *Phytochemical regulation of Fyn and AMPK signaling circuitry*, Archives of Pharmacal Research,.
178. **Lee J.M. și Johnson J.A.**, **2004** - *An important role of Nrf2–ARE pathway in the cellular defense mechanism*. J Biochem Mol. Biol., vol. 37, p. 139–143.
179. **Liu H.**, Vaddella V., Zhou D., **2011**- *Effects of chestnut tannins and coconut oil on growth performance, methane emission, ruminal fermentation, and microbial populations in sheep*. J. Dairy Sci., vol. 94, p. 6069–6077.
180. **Liu L.L.**, He J.H., Xie H.B., Yang Y.S., Li J.C., Zou Y., **2014** - *Resveratrol induces antioxidant and heat shock protein mRNA expression in response to heat stress in black-boned chickens*. Poult. Sci. vol. 93, p. 54–62.
181. **Liu Z.P.**, W.X. Li, B. Yu J. Huang J. Sun J.S. Huo, C.X. Liu. **2005** - *Effects of trans resveratrol from Polygonum cuspidatum on bone loss using the ovariectomized rat model*. J. Med. Food vol. 8, vol. 14–19.
182. **Llobera A. și Canellas J.**, **2007** - *Dietary fiber content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (Vitis vinifera): Pomace and stem*. Food Chemistry, 101, 659–666.
183. **Lorenzo J.M.**, Sineiro, J., Amado, I.R., Franco, D., **2014** - *Influence of natural extracts on the shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties*. Meat Sci. 96, 526–534.
184. **Lovasova E. și Sesztakova E.**, **2009** – *Total antioxidant status – A possible marker of environmental influences of animal organisms*. Slovak J. Animal. Sci., 42-45.

185. **Luehring M.**, Blank R., Wolfram S., **2011** - *Vitamin E-sparing and vitamin E-independent antioxidative effects of the flavonol quercetin in growing pigs*. Anim Feed Sci Technol.,169:199–207.
186. **Ma Q.**, Kim, E. Y., Lindsay E.A., Han O., **2011** - Bioactive dietary polyphenols inhibit heme iron absorption in a dose dependent manner in human intestinal Caco-2 cells. Journal of Food Science 76: H143–H150.
187. **Magnier L.**, **1991** –*Utilisation des sous-produits de la vigne dans l'alimentation animale*. In Tisserand J.L. (ed.), Alibés X. (ed.) Fourrages et sous-produits méditerranéens. Zaragoza: CIHEAM, pag. 89-99.
188. **Magomedov M.S. și Alikhanov M.P.** **1996** -*Silage from grape residues in diets for sheep*. Zootekhniya 3: 12–13.
189. **Makkar H.P.S.**, **2003** – *Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds*. A Rev. Small Rumin. Res., 49: 241-256.
190. **Makris D.P.**, Boskou G., Andrikopoulos N.K.; Kefalas P., **2008** - *Characterisation of certain major polyphenolic antioxidants in grape (Vitis vinifera) stems by liquid chromatography-massspectrometry*. Eur. Food Res. Technol., 226, 1075–1079.
191. **Manach C.**, Scalbert A., Morand C., Remezy C., Jimenez L., **2004** - *Polyphenols: food sources and bioavailability*. Am. J. Clin. Nutr. 79, 727–747.
192. **Martel F.**, Monteiro R., Calhau C., **2010** - *Effect of polyphenols on the intestinal and placental transport of some bioactive compounds*. Nutrition Research Reviews 23, 47–64.
193. **Matin S.A.**, Nisbet și Dean R.G., **1989** – *Influence of commercial yeast supplement on the ruminal fermentation*. Nutr. Rep. Int., 40: 395 – 401.
194. **Mazalli M.R.**, Faria D.E., Salvador D., Ito D.T., **2004** - *A comparison of the feeding value of different sources of fat for laying hens: 2. lipid, cholesterol, and vitamin E profiles of egg yolk*. J. Appl. Poultry Res. 13: 280-290.
195. **Mazza G.**, **1995** - *Anthocyanins in grapes and grape products*. Critical reviews in Food Science and Nutrition, 35, 341-371.
196. **McDougald L.R.**, Hofacre C., Mathis G., Fuller L, Hargrove J.L., Greenspan P. și Hartle D.K., **2008** - *Enhancement of resistance to coccidiosis and necrotic enteritis in broiler chickens by dietary muscadine pomace*. Avian Diseases, 52: 646–51.
197. **Mielnik M.B.**, Olsen E., Vogt, G., Adeline D., Skrede G., **2006** - *Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat*. LWT – Food Sci.Technol. 39, 191–198.
198. **Miles R.D.**, Butcher G.D., Henry P.R. & Little R.C., **2006** - *Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters and quantitative morphology* Journal of Poultry Science, 85: 476-485.
199. **Miller N.J.**, Rice-Evans C., Davies M. J., Gopinathan V., Milner A., **1993** – *A novel method for measuring anthiooxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates*. Clin. Sci., vol. 84, p. 407-412.

200. **Moate P.J, 2012** - Reducing methane emissions from cows, Department of Primary Industries, Ellinbank, Victoria, dpi.vic.gov.au/agriculture/innovation-and-research/reducing-methane-emissions-from-cows.

201. **Moate P.J, 2012** – *Grape by-product cuts dairy emissions by 20 per cent*. Department of Primary Industries, Ellinbank, Victoria: dpi.vic.gov.au/agriculture/about-agriculture/newsletters-and-updates/ag-in-focus/ag-in-focus-summer-2012/grape-by-product-cuts-dairy-emissions-by-20-per-cent.

202. **Mogoanță, L.,** Popescu C.F., Georgescu V.C., Comanescu V., Pirici, D., **2007** - *Ghid de Tehnici de Histologie, Citologie și Imunohistochimie*. Ediția a doua. (Editura Medicala Universitară), Craiova; ISBN 978-973-106-073-6.

203. **Montagne L.,** Pluske J.R., Hampson, D.J., **2003** - *A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals*. Animal Feed Science and Technology, vol. 108, p. 95-117.

204. **Morais C.F.A.,** Campos E.J., Silva T.J.P., **1997** - *Qualidade interna de ovos comercializados em diferentes supermercados na cidade de Uberlândia*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, vol. 49, p. 365-373.

205. **Morita T.,** Kasaoka S., Hase K. și Kiriya S., **1999** - *Oligo-L Methionine and resistant protein promote cecal butyrate production in rats fed resistant starch and fructooligosaccharide*. Journal of Nutrition, vol. 129, p. 1333–1339.

206. **Morrison W.R. și** Smith L.M, **1964** - Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. Journal of Lipid Research, vol. 5, p. 600-608

207. **Moss A.R.,** Jouany J.P., Newbold C.J., **2000**- *Methane production by ruminants: its contribution to global warming*. Ann. Zootechnol. vol. 49, p. 231–235.

208. **Motta Ferreira, W.,** Fraga M.J. și Carabano, **1996** – *Inclusion of grape pomace, in substitution for alfalfa hay, in diets for growing rabbits*. J. Anim. Sci., vol. 63: 167-174.

209. **Muramatsu K.,** Maymi F., Yokihiko H., **1986** - *Effect of green tea catchiness on plasma cholesterol level in cholesterol fed rats*. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 32, p.613-622.

210. **Muramatsu T.,** Hiramoto K., Koshi N., **1990** – *Causes of egg shell fragility*. Avicultura, vol. 53, nr 12, p. 25-28.

211. **Naber E.C. și** Biggert, M.D. **1989** - *Patterns of lipogenesis in laying hens fed a high-fat diet containing safflower oil*. Journal of Nutrition, vol. 119, p. 690–695.

212. **Nair S. și** Pullammanappallil P., **2003** – *Value added products from vineyard wastes – A Review*. In: ORBIT 2003 Organic Recovery and Biological Treatment Proceedings of the Fourth International Conference of ORBIT Association on Biological Processing of Organics: Advances for a Sustainable Society p. P108-P118.

213. **Nerantzis E.T., și** Tataridis P., **2006** – *Integrated Enology- Utilization of winery by-products into high added value products*, e-Journal of Science & Technology (e-JST), vol. 1 nr. 3, p. 79-89.

214. **Nicodemus N.,** García J., Carabano R., De Blas J.C., **2007** - *Effect of substitution of a soybean hull and grape seed meal mixture for traditional fiber sources*

on digestion and performance of growing rabbits and lactating does. J. Anim. Sci. vol. 85, p. 181–187.

215. **Niezen J.H**, Waghorn G.C. și Charleston W.A.G. **1998** - *Establishment and fecundity of Ostertagia circumcincta and Trichostrongylus colubriformis in lambs fed lotus (Lotus pedunculatus) or perennial ryegrass (Lolium perenne)*. Veterinary Parasitology vol. 78, p. 13–21.

216. **Niture S.K**, Kaspar J.W., Shen J., Jaiswal A.K. **2010** - *Nrf2 signaling and cell survival*. Toxicol Appl Pharmacol, vol. 244, p. 37–42.

217. **Nowaczewski S. și Kontecka H.**, **2012** - *Haematological indices, size of erythrocytes and haemoglobin saturation in broiler chickens kept in commercial conditions*. Animal Science Papers and Reports. vol. 30, p. 181-190.

218. **Nyachotti CM**, Atkinson JL, Leeson S. **1997** - *Sorghum tannins a review*. World's Poultry Science Journal; vol. 53, p. 5–21.

219. **O'Grady M.N.**, Carpenter R., Lynch P.B., O'Brien N.M., Kerry J.P., **2008** - *Addition of grape seed extract and bearberry to porcine diets: influence on quality attributes of raw and cooked pork*. Meat Sci. vol. 78, p. 438–446.

220. **Ogunwole O.A.**, Omojola A.B., Sajo A.P., Majekodunmi B.C. **2014** - *Performance, Hematology and Serum Biochemical Indices of Broiler Chickens Fed Toasted Sesame Seed (Sesamum indicum, Linn) Meal Based-Diets*. American Journal of Experimental Agriculture; vol. 4 (11), p. 1458-1470.

221. **Ohnishi M.**, Hirose S., Kawaguchi M., Ito S. și Fujino Y., **1990** - *Chemical Composition of Lipids, Especially Triacylglycerol, in Grape Seeds*, Agric. Biol. Chem. vol. 54(4), p. 1035-1042.

222. **Ohtani, H.**, **2007** - *Focus on TILs: Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human colorectal cancer*. Cancer Immunity, vol.7, p. 4.

223. **Ortiz L.T.**, Centeno, C., Trevino, J., **1993** - *Tannin in faba bean seeds: effects on the digestion of protein and amino acids in growing chicks*. Animal Feed Science and Technology vol. 41, p. 271–278.

224. **Ozduven M.**, Coskuntuna și Koc, **2005** – *Determination of fermentation and feed value characteristics of grape pomace silage*. Trakya Univ. J. Sci., vol. 6,p 45-50.

225. **Ozen B.O.**, Eren M., Pala A., Ozmen I., Soyer A., **2011** - *Effect of plant extracts on lipid oxidation during frozen storage of minced fish muscle*. Int. J. Food Sci. Technol. vol. 46, 724- 731.

226. **Özkan G.**, Sagdic O., Baydar N.G și Kurumahmutoglu Z., **2004** - *Antibacterial activities and total phenolic contents of grape pomace extracts*. J. Sci. Food Agric., vol. 84, p.1807–1811.

227. **Ozkan Y.**, Yilmaz O., Ozturk A.I., Ersan Y., **2005** - *Effects of triple antioxidant combination (vitamin E, vitamin C and alpha-lipoic acid) with insulin on lipid and cholesterol levels and fatty acid composition of brain tissue in experimental diabetic and non-diabetic rats*. Cell Biology International, vol. 29, p. 754–760.

228. **Panaite Tatiana**, Criste Rodica Diana, Stoica I. Mihociu Tamara, Ghidulus Mihaela, Rachieru Denisa, **2006** - *The EGG – functional food. Comparative study on*

various nutritional solutions to enrich the egg polyunsaturated fatty acids, *Lucrări științifice Zootehnice și Biotehnologii*, vol 39 (1), p. 1-9, Timișoara.

229. **Papadopoulou C.**, Soulti K., Roussis I.G., **2005** - *Potential antimicrobial activity of red and white wine phenolic extracts against strains of Taphylococcus aureus, Escherichia coli and Candida albicans*. *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 43, p.41–46.

230. **Pascariu Mariana Silvia**, Pop I.M., Aida Albu, **2014** – *Degradation degree of polyphenols depending on the drying temperature of the grape pomace*, *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj Napoca Animal Science and Biotechnologies*, vol.71, nr.2, p. 213-217.

231. **Pascariu Mariana Silvia și Pop I.M.**, **2015** - *The chemical composition assessment of the Fetească neagră grape pomace and its fractions obtained from wine industry in different years*. *Analele Științifice ale Universității Alexandru Ioan Cuza din Iași, Secțiunea II A: Genetica și Biologie Moleculară*, vol. 16, nr. 4, p. 167-171.

232. **Pascariu Mariana Silvia**, Pop I. M., Albu Aida., **2015** - *The chemical composition assessment of the „Fetească neagră” and „Aligoté” grape pomace fractions*. *Scientific Papers Journal, Animal Science Series*, vol. 65, nr. 21, p. 165-168.

233. **Pascariu Mariana Silvia**, Pop I.M., Simeanu D., Pavel G., Solcan C., **2016** - *Effects of wine by-products on growth performance and complete blood count and total antioxidant status in broilers*. *Revista Brasileira de Ciência Avícola (Braz J Poultry Sci)*.I.F 0.55. (în curs de publicare).

234. **Pastrama-Bonilla E.**; Akoh, C.C.; Sellappan S.; Krewer G., **2003** - *Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes*, *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, 5497–4503.

235. **Patra A.K. și Saxena, J.**, **2009** - *Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations*. *Anton. van Leeuwen*. vol. 96, p. 363–375.

236. **Patra Amlan K. și Saxena J.**, **2010** - *A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen*, *Phytochemistry* vol. 71, p. 1198–1222

237. **Patras A.**, Brunton N.P., O'Donnell C. și Tiwari B.K., **2010** - *Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation*. *Food Science and Technology*. vol. 21, p. 3-11.

238. **Paul S.K.**, Halder G., Mondal M.K., Samanta G., **2007** - *Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken*. *Poultry Science*, 44: 389-395.

239. **Pazos M.**, Gallardo J.M., Torres J.L., Medina I., **2005** - *Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle*. *Food Chem.*, vol. 92, p. 547–557.

240. **Pellikaan W.F.**, Stringano E., Leenaars J., Bongers D.J.G.M., van Laar-van Schuppen S., Plant J., Mueller-Harvey I., **2011**. - *Evaluating effects of tannins on extent and rate of in vitro gas and CH₄ production using an automated pressure evaluation system (APES)*. *Anim. Feed Sci. Technol.* vol. 166–167, p. 377–390.

241. **Percival S.S.**, **2009** - *Grape consumption supports immunity in animals and humans*. *The Journal of Nutrition*, vol. 139, p. 1801S-5S.

242. **Petit H.V. și Gagnon N., 2009** - *Milk concentrations of the mammalian lignans enterolactone and enterodiol, milk production, and whole tract digestibility of dairy cows fed diets containing different concentrations of flaxseed meal.* Anim. Feed Sci. Technol., vol. 152, p. 103-111.
243. **Piccioni M., 1965** - *Dictionnaire des aliments pour les animaux.* Ed. Agricole, p. 352-354.
244. **Pié S, Lallès JP, Blazy F, Laffitte J, Sève B, Oswald IP: 2004** - *Weaning is associated with an upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets.* J Nutr, vol. 134, p. 641–647.
245. **Pierson FW., 2000** - *Laboratory techniques for avian hematology.* In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC , Eds Schalm's Veterinary Hematology , 5th ed. Philadelphia, Lippincott W & Wilkins, p. 1145 – 1146.
246. **Pinelo M, Arnous A, and Meyer A.S., 2006** - *Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release.* Trends Food Sci Technol. vol. 17, p. 579-590.
247. **Pinelo M., Rubilar M., Jerez M., Sineiro J., Nunez J.M., 2005** - *Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace.* Journal of Agricultural and Food Chemistry vol. 53, p. 2111–2117.
248. **Pirmohammadi A., Golgasemgarebagh și Mohsenpur Azari A., 2007** - *Effects of ensiling and drying of white grape pomace on chemical composition, degradability and digestibility for ruminants.* J. Anim. Vet. Adv. vol. 6, p. 1079–1082.
249. **Pluske J.R., Hampson D.J., Williams I.H., 1997** - *Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review.* Livest Prod Sci., vol. 51, p. 215–236.
250. **Pop I.M., Halga P. și Avarvarei T., 2006** – *Nutriția și alimentația animalelor*, vol. 1-2-3. Edit. TipoMoldova, Iași.
251. **Pop I.M., Pascariu Mariana Sivia, Simeanu D., Radu Rusu Cristina, Albu Aida. 2014-** *Determination of the chemical composition of the grape pomace of different varieties.* Lucrări Științifice, Seria Zootehnie, vol. 62 (19), Print ISSN 1454-7368, E-ISSN 2067-2330 39 (lucrare publicată).
252. **Pop I.M., Pascariu Mariana Silvia, Simeanu D., 2015** - *The grape pomace influence on the broiler chickens growing rate.* Scientific Papers Journal, Animal Science Series, vol. 64, nr. 20, p. 34-39 (lucrare publicată).
253. **Rababah T.M., Ereifej K.I., Al-Mahasneh M.A., Al-Rababah, M.A., 2006** - *Effect of plant extract on physicochemical properties of chicken breast meat cooked using conventional electric oven or microwave.* Poult. Sci., vol. 85, p. 148–154.
254. **Raes K., Huyghebaert G., De Smet S., Nolle L., Arnouts S., Demeyer D., 2002** - *The deposition of conjugated linoleic acids in eggs of laying hens fed diets varying in fat level and fatty acid profile.* Journal of Nutrition, vol. 132, p. 182–189.
255. **Rahman I., Biswas S.K., Kirkham P.A., 2006** - *Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols.* Biochem Pharmacol., vol. 72, p. 1439–1452.

256. **Rao P.U., 1994** - *Nutrient composition of some less-familiar oil seeds*. Food Chemistry, vol. 50, p. 378–382.
257. **Reyne Y. și Garambois X., 1977** - *Valeur alimentaire chez le moutons de l'ensilage de marc de raisin épuisé*. Ann. Zootech., vol. 26. p. 471-479.
258. **RNED, 1988** – *Marc de raisin entier épuisé, pépin sec de raisin, pulpe de raisin: les sous-produits en alimentation animale*, F 26, 27, 28. ITEB, Paris.
259. **Rodrigo R., Castillo R., Carrasco R., Huerta P., și Moreno M., 2005** - *Diminution of tissue lipid peroxidation in rats is related to the in vitro antioxidant capacity of wine*. Life Sci., vol. 76, p. 889–900.
260. **Rodriguez-Vaquero M.J., Alberto M.R., Manca-de-Nadra M.C., 2007**- *Influence of phenolic compounds from wines on the growth of Listeria monocytogenes*. Food Control., vol. 18, p. 587–593.
261. **Rogler G., Brand K., Vogl D., Page S., Hofmeister R., Andus T., Knuechel R., Baeuerle P.A, Schölmerich J, Gross V., 1998** - *Nuclear factor kappaB is activated in macrophages and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa*. Gastroenterology, vol. 115, p. 357 – 369.
262. **Rojas M.C. și Brewer M.S., 2008** - *Effect of natural antioxidants on oxidative stability of frozen, vacuum-packaged beef and pork*. J. Food Qual. 31, 173–188.
263. **Romier B., Schneider Y.J., Larondelle Y., During A., 2009** - *Dietary polyphenols can modulate the intestinal inflammatory response*. Nutr Rev, vol. 67, p. 363–378.
264. **Romier-Crouzet B., Van De Walle J., During A, Joly A., Rousseau C., Henry O., Larondelle Y., Schneider Y.J., 2009** - *Inhibition of inflammatory mediators by polyphenolic plant extracts in human intestinal Caco-2 cells*. Food Chem Toxicol, vol. 47, p. 1221–1230.
265. **Rondeau P., Gambier, F., Jolibert F. și Brosse N., 2013** - *Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard*. Industrial Crops and Products, vol. 43, p. 251-254.
266. **Ropotă Mariana, Rachieru Elena D., Panaite Tatiana, Criste Rodica D., 2008** - *Adaptation of the quality control of the polyunsaturated fatty acids and vitamin E enriched feeds to the European Standards*. Lucrări Științifice Zootehnie și Biotehnologii, vol. 41(1). Timișoara, p. 541-547.
267. **Rubiolo J.A., G. Mithieux, F.V. Vega, 2008** - *Resveratrol protects primary rat hepatocytes against oxidative stress damage: Activation of the Nrf2 transcription factor and augmented activities of antioxidant enzymes*. Eur J. Pharmacol, vol. 591, p 66–72.
268. **Şahin K., Akdemir F., Orhan C., Tuzcu M., Hayirli A., Şahin N., 2010** - *Effects of dietary resveratrol supplementation on egg production and antioxidant status*. Poult. Sci., 89: 1190-1198.
269. **Şahin N., Akdemir F, Orhan C, Kucuk O, Hayirli A, Sahin K., 2008** - *Lycopene-enriched quail egg as functional food for humans*. Food Res Int., 41:295–300.
270. **Samli H.E., Agma A., Senkoğlu N., 2005** - *Effects of Storage Time and Temperature on Egg Quality in Old Laying Hens*. J. Appl. Poult. Res. 14:548–553.

271. **Sánchez-Alonso I. și Borderías A.J., 2008** - *Technological effect of red grape antioxidant dietary fibre added to minced fish muscle*. Int. J. Food Sci. Technol., vol. 43, p. 1009–1018.
272. **Sandu Gheorghe, 1995** - *Metodele experimentale în zootehnie*. - Editura Coral Saniret București.
273. **Santos M.S.V., 2005** - *Avaliação do desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais, submetidas às dietas suplementadas com diferentes óleos vegetais*. Fortaleza,. 174f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
274. **Șara A. și Odagiu Antonia, 2005** – *Controlul calității nutrețurilor*, Edit. Academic Pres, Cluj-Napoca.
275. **Saura-Calixto F., Garcia-Alonso A., Goni I. și Bravo L. 2000** - *In vitro determination of the indigestible fraction in foods: An alternative to dietary fiber analysis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 48, p. 3342–3347.
276. **Saura-Calixto F., Goni, I., Manas E. și Abia R. 1991** - *Klason lignin, condensed tannins and resistant protein as dietary fibre constituents: determination in grape pomaces*. Food Chemistry, vol. 39, p. 299–309.
277. **Sayago-Ayerdi S.G., Brenes A, Viveros A, Goni I., 2009** - *Antioxidative effect of dietary grape pomace concentrate on lipid oxidation of chilled and long-term frozen stored chicken patties*. Meat Sci., vol. 83, p. 528–533.
278. **Scalbert A. și Williamson G., 2000** - *Dietary intake and bioavailability of polyphenols* Journal of Nutrition, vol. 130, p. 2073–2085.
279. **Schieber A., Muller D., Rohrig G. și Carle R., 2002** - *Influence of grape cultivar and processing method on the quality of cold-pressed grape seed oils*. Mitteilungen Klosterneuburg, vol. 52(1–2), p. 29–33.
280. **Schofield P., Mbugua și Pell A.N., 2001** – *Analysis of condensed tannins: A Rev. Anim. Feed Sci. Tech.*, vol. 90, p. 21-40.
281. **Scholtyssek, S., 1993** - *Methods to measure egg quality*. 5-th European Symposium on the Quality of Eggs and Eggs Products, Tours, France.
282. **Schroeder H.W.JR. & Cavacini, L., 2010** - *Structure and function of immunoglobulins*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, vol. 125, p. S41–S52.
283. **Selma M.V., Espin J.C., Tomás-Barberán, F.A., 2009** - *Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 57, p. 6485–6501.
284. **Shahidi F. și Naczki M., 1995** - *Food phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications*, Technomic Publishing Company Inc., Lancaster PA., p. 231-245.
285. **Shahidi F. și Naczki M., 2004** - *Phenolics in food and nutraceuticals*. Boca Raton, FL: CRC Press.
286. **Shanmuganayagam D., Warner, T.F., Krueger C.G., Reed J.D., Folts J.D., 2007** - *Concord grape juice attenuates platelet aggregation, serum cholesterol and development of atheroma in hypercholesterolemic rabbits*. Atherosclerosis, vol. 190, p. 135–142.

287. **Shi J.**, Yu J, Pohorly JE, Kakuda Y. 2003. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *J Med Food.*, vol. 6, p. 291–299.
288. **Sica A**, Dorman L, Viggiano V, Cipitelli M, Ghosh P, Rice N, Young HA: **1997** -Interaction of NF-kappaB and NFAT with the interferon-gamma promoter. *J Biol Chem.*, (272), p. 30412–30420.
289. **Sieo C.C.**, Abdullah N. Tan W.S. și HO Y.W. **2005** - Influence of beta-glucanase-producing *Lactobacillus* strains on intestinal characteristics and feed passage rate of broiler chickens. *Poultry Science*, vol. 84, p. 734-741.
290. **Singleton V.L. și Rossi J.A.**, **1965**-.Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 16, p. 144–158.
291. **Sivaroooban T.**, Hettiarachchy, N.S., Johnson M.G. – **2008** - Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Res. Int.*, vol. 41, p. 781–785.
292. **Smet K.**, Raes K., Huyghebaert G., Haak L., Arnouts S., De Smet S., **2008** - Lipid and protein oxidation of broiler meat as influenced by dietary natural antioxidant supplementation. *Poult Sci.* vol. 87, p. 1682–1688.
293. **Solcan Carmen**, **2011**- *Histologie*, Ed. Performantica, Iași, p. 304, ISBN 978-973- 730-820-7.
294. **Soussa E.C.**, Thomaz A.U.A., Carioca J.O.B., Morais S.M., Lima A., Martins C.G., Alexandrino C.D., Ferreira P.A.T., Rodrigues A.L.M., Rodrigues S.P., Silvia J.N. Rodrigues L.L., **2014** - Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.) Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. *Food Science Technology*, vol. 34 (1), p. 135-142.
295. **Spanghero M.**, Salem A.Z.M., Robinson P.H., **2009** - Chemical composition, including secondary metabolites, and rumen fermentability of seeds and pulp of Californian (USA) and Italian grape pomaces. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 152, p. 243-235.
296. **Strack D. și Wray V.**, **1989** - *Anthocyanins*. In: *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 1 – Plant phenolics. (edited by P. Dey & J. Harborne). London: Academic Press., p. 325–356.
297. **Sui Y.**, Yang, J.Q., Ye Li H. și Wang H. **2014** - *Infrared, Convective, and Sequential Infrared and Convective Drying of Wine Grape Pomace*. *Drying Technology: An International Journal*, vol. 32, nr. 6, p. 686-694.
298. **Tang S.Z.**, Kerry J.P., Sheeham D., Buckley D.J. și Morrissey P.A., **2001** - Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of long-term frozen stored chicken meat. *Meat Sci.* 57:331–336.
299. **Tarcău D.**, Vîntu V., Samuil C. și Man-Cucu S, **2013** - *Polyphenolic composition of a permanent pasture under influence of organic fertilization*, Scientific Papers-Animal Science Series, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Iasi, vol. 59, p. 98-102.
300. **Țârdea C.**, Sârbu G., Țârdea A., **2000** – *Tratat de vinificație*, Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.

301. **Tavendale M.H.**, Meagher, L.P., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G.T., Sivakumaran, S., **2005** - *Methane production from in vitro rumen incubations with Lotus pedunculatus and Medicago sativa, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis*. Anim. Feed Sci. Technol. 123–124, 403–419.
302. **Thtmothe J.**, Bonsi, I.A., Padilla-Zakour O.I., **2007** - *Chemical characterization of red wine grape (Vitis vinifera and Vitis Interspecific Hybrids) and pomace phenolic extracts and their biological activity against Streptococcus mutans*. J. Agric. Food Chem., vol. 55, p. 10200–10207.
303. **Titgemeyer E.C.**, Bourquin L.D., Fahey G.C. și Garleb K.A., **1991** - *Fermentability of various fiber sources by human fecal bacteria in vitro*. American Journal of Clinical Nutrition, vol. 53, p. 1418–1424.
304. **Tortuero, F.**, Rioperez J., Cosin C., Barrera J., Rodriguez M.L., **1994** - *Effects of dietary fiber sources on volatile fatty acid production, intestinal microflora and mineral balance in rabbits*. Anim. Feed Sci. Technol. vol. 48, p. 1–14.
305. **Turan A. și Öztürk E.**, **2010** - *Can grape seed and extract use a natural antioxidant in broiler diets?* XIII the European Poultry Conference, Tours, France, August 23-27, 2010.
306. **Usturoi M.G.**, Vacaru-Opriș I., Radu-Rusu M.R., Usturoi A., **2007** - *Study on some factors influencing consumption eggs quality*. Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii, vol. 40 (2), Timișoara.
307. **Vacaru-Opriș I.**, Apostol L., Apostol T., Movileanu G., Usturoi G., **2005** – *Sisteme și tehnologii de creștere a puilor de carne*. Editura Ceres, București.
308. **Vacaru-Opriș Ioan și colab.**, **2002** – *Tratat de avicultură*, vol. II, Editura Ceres, București.
309. **Vahid F.**, Zand H., Nosrat–Mirshekarlou E., Najafi R., Hekmatdoost A., **2015** - *The role dietary of bioactive compounds on the regulation of histone acetylases and deacetylases: a review*. Gene, vol. 562, nr. 1, p. 8–15.
310. **Valiente C.**, Arrigoni E., Esteban R.M., and Amado R. **1995** - *Grape pomace as a potential food fiber*. Journal of Food Science, vol. 60, p. 818-820.
311. **Verhelst R.**, Schroyen M., Buys N., Niewold T., **2014** - *Dietary polyphenols reduce diarrhea in enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) infected post-weaning piglets*. Livest. Sci. vol. 160, p. 138–140.
312. **Vermerris W. și Nicholson R.**, **2006** - *Phenolic compound biochemistry*, USA: Springer. Nueva York, EEUU. p. 151-153.
313. **Viveros A.**, Centeno C., Arija I., Brenes A., **2007** - *Cholesterol-lowering effects of dietary lupin (Lupinus albus var multolupa) in chicken diets*. Poultry Science, vol. 86, p. 2631–2638.
314. **Viveros A.**, Chamorro S., Pizarro M., Arija I., Centeno C. și Brenes A., **2011** - *Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks*. Poultry Science vol. 90, p. 566–578.

-
315. **Vossen E.**, Ntawubizi M., Raes K., Smet K., Huyghebaert G., Arnouts S., De Smet S., **2011** - *Effect of dietary antioxidant supplementation on the oxidative status of plasma in broilers*. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. vol. 95, p. 198–205.
316. **Waghorn G.**, **2008** - *Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—progress and challenges*. Anim. Feed Sci. Technol., vol. 147, p. 116–139.
317. **Wakenell P.S.**, **2010** - *Hematology of chickens and turkeys*. In: Douglas JW & Wardrop JK, editors, Schalm's Veterinary Hematology. Sixth edition. Blackwell Publishing Ltd., Ames, Iowa, USA; p. 958–967.
318. **Wang D.**, Williams B.A., Ferruzzi M.G., D'Arcy B.R., **2012** - *Different concentrations of grape seed extract affect in vitro starch fermentation by porcine small and large intestinal inocula*. J. Sci. Food Agric., vol. 93, p. 276–283.
319. **Wang M.L.**, Suo X., Gu, J.H., Zhang W.W., Fang Q., Wang X., **2008** - *Influence of grape seed proanthocyanidin extract in broiler chickens: effect on chicken coccidiosis and antioxidant status*. Poult. Sci., vol. 87, p. 2273–2280.
320. **Wang Y.H.**, Ge B., Yang X.L., Zhai J., Yang L.N., Wang X.X., Liu X., Shi J.C., Wu Y.J., **2011** - *Proanthocyanidins from grape seeds modulates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathways in rats with TNBS-induced recurrent ulcerative colitis*. Int Immunopharmacol, vol. 11, p. 1620–1627.
321. **Weiss, E.A.**, **1983** - *Oilseed Crops*. Tropical Agriculture Series. Longman Inc. Leonard Hill Books, New York, p. 603.
322. **Wen J.**, McCarthy S.N., Higgins F.M., Morrissey P.A, Buckley D.J. și Sheehy P.J.A., **1997** - *Effect of dietary α -tocopheryl acetate on the uptake and distribution of α -tocopherol in turkey tissues and lipid stability*. Ir. J. Agric. Food Res. vol. 36, p. 65–74.
323. **Whelan J.**, Jahns L., Kavanagh K., **2009** - *Docosahexaenoic acid: measurements in food and dietary exposure*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. vol. 81, p. 133-136.
324. **Wiegand H.**, Boesch-Saadatmandi C., Wein S., Wolfram S., Frank J., Rimbach G., **2010** - *Dietary flavonoids do not affect vitamin E status in growing rats*. J Anim. Physiol. Anim. Nutr., vol. 94, p. 307–318.
325. **Wieland W.H.**, Orzaez D., Lammers A., Parmentier H., Verstegen M. și Schots A., **2004** - *A functional polymeric immunoglobulin receptor in chicken (Gallus gallus) indicates ancient role of secretory IgA in mucosal immunity*. Biochemical Journal, vol. 380, p. 669–676.
326. **Williams K.C.**, **1992** – *Some factors affecting albumen quality with particular reference to Haugh unit score*, World's Poultry Science Journal, nr. 48, p. 5-16.
327. **Wood J.D.**, Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Sheard P.R., Richardson R.I., Hughes S.I., Whittington F.M., **2008** - *Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review*. Meat Sci. vol. 78, 343358.
328. **Xia En Qin**, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo și Hua-Bin Li, **2010** - *Biological Activities of Polyphenols from Grapes*, International. Journal Molecular Sciences, vol. 11, p. 622-646.

329. **Yamaguchi F.**, Yoshimura Y., Nakazawa H. și Ariga T., **1999** - *Free radical scavenging activity of grape seed extract and antioxidants by electron spin resonance spectrometry in an H₂O₂/NaOH/DMSO system*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 47, p. 2544-2548.
330. **Yan L. și Kim I.H.**, **2011** - *Effect of dietary grape pomace fermented by Saccharomyces boulardii on the growth performance, nutrient digestibility and meat quality in finishing pigs*. Asian-Australas. J. Anim. Sci., vol. 24, p. 1763–1770.
331. **Yang, C.J.**, Jung Y.C., Uganbayar D., **2003** - *Effect of feeding diets containing green tea by-products on laying performance and egg quality in hens*. Kor. J. Poult. Sci., vol. 30(3), p. 183-189.
332. **Yilmaz Y. și Toledo R.T.**, **2006** - *Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols*. J Food Compos Anal., vol. 19, p. 41–48.
333. **Yilmaz, Y. și Toledo R.T.**, **2004** - *Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid*. J. Agric. Food Chem., vol. 52, p. 255-260.
334. **Young, J.F.**, L.O. Dragsted, B. Daneshvar, S.T. Lauridsen, M. Hanson, B. Sandström. **2000** - *The effect of grape-skin extract on oxidative status*. Br. J. Nutr. vol. 84, p. 505–513.
335. **Zalikarenab L.R.**, Pirmohammadi și Teimuriyansari A., **2007**- *Chemical composition and Digestibility of dried white and red grape pomace for ruminants*. J. Anim. Vet. Adv., vol. 6(9), p. 1107-1111.
336. **Zamfirescu R. Ș și Zamfirescu O.**, **2008** - *Elemente de statistică aplicate în ecologie*. Ed. Alexandru I. Cuza Iași.
337. **Zhang H.J.**, Jiang, X.R., Mantovani G., Valdez A.E., Comi M., Alborali G., Savoini G., Dell'Orto V., Bontempo V., **2014** - *Modulation of plasma antioxidant activity in weaned pigs by plant polyphenols*. Ital. J. Anim. Sci., p. 13, 424–430.
338. **Zhao G.**, Etherton T.D., Martin K.R., Vanden Heuvel, J.P., Gillies P.J., West S.G., **2005** - *Anti-inflammatory effects of polyunsaturated fatty acids in THP-1 cells*. Biochemical and Biophysical Research Communications, vol. 336, p. 909–917.
339. **Zhu Q.Y.**, Huang Y., Tsang D., Chen Z.Y., **1999** - *Regeneration of alpha-tocopherol in human low-density lipoprotein by green tea catechin*. J Agric Food Chem, vol. 47, p. 2020–2025.
340. *** COBB, **2012** - *Cobb 500, Broiler Performance and Nutrition Supplement*, cobb-vantres.com.
341. *** COBB, **2012** - *Cobb, Broiler Management Guide*, cobb-vantres.com.
342. *** Commission Regulation (EC) No. 152/2009 Laying Down the Methods of Sampling and Analysis for the Official Control of Feed. Official Journal of the European Union L 54. 2009.
343. *** SR EN ISO 5983-1:2006/AC:2009 - *Nutrețuri. Determinarea conținutului de azot și calculul conținutului de proteină brută. Partea 1: Metoda Kjeldahl*.
344. *** SR EN ISO 6498:2012 *Nutrețuri. Linii directoare pentru pregătirea probelor*.

345. *** SR EN ISO 6865:**2002** - *Nutrețuri. Determinarea conținutului de fibră brută. Metoda cu filtrare intermediară.*

346. ***SR ISO 2171:**2010** - *Cereale, leguminoase și produse derivate. Determinarea conținutului de cenușă prin calcinare.*

347. *** SR ISO 6492:**2001** - *Nutrețuri. Determinarea conținutului de grăsime.*

348. *** SR ISO 6496:**2001** - *Nutrețuri. Determinarea conținutului de umiditate și de alte substanțe volatile.*

349. *** STAS 21/3-73 *Șroturi pentru nutreț. Pregătirea probei de laborator în vederea analizei.*

350. ***ISO 1928:**2009** Solid mineral fuels -- Determination of gross calorific value by the bomb calorimetric method and calculation of net calorific value.