MD 1859 Y 2025.07.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenţia de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 1859 (13) Y

(51) Int.Cl: ***A23K 10/16*** (2016.01)
A23K 10/38 (2016.01)
A23K 50/50 (2016.01)
A61K 35/748 (2015.01)
A61K 36/064 (2006.01)
A61D 7/00 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENŢIE DE SCURTĂ DURATĂ

În termen de 6 luni de la data publicării menţiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenţie de scurtă durată, orice persoană poate face opoziţie la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: s 2024 0103
(22) Data depozit: 2024.10.11

(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
2025.07.31, BOPI nr. 7/2025

(71) Solicitant: INSTITUŢIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD

(72) Inventatori: CHISELIŢA Oleg, MD; MACARI Vasile, MD; CHISELIŢA Natalia, MD; ROTARU Ana, MD; MAŢENCU Dmitrii, MD; EFREMOVA Nadejda, MD

(73) Titular: INSTITUŢIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI, MD

(54) Procedeu de hrănire a tineretului cunicul

(57) Rezumat:

Invenţia se referă la zootehnie, în special la un procedeu de hrănire a tineretului cunicul.

Procedeul de hrănire a tineretului cunicul, conform invenţiei, prevede administrarea în raţia zilnică de nutreţ a iepurilor, la vârsta de 40 de zile, a unui preparat microbian ce conţine un preparat peptidoglicanic şi un extract de polizaharide sulfatate, obţinute din biomasa de spirulină, un preparat β-glucanic şi extract aminoacidoproteic, obţinute din biomasa de levuri din deşeurile de la producerea berii, preparat β-glucanic şi extract aminoacidoproteic, obţinute din biomasa de levuri din deşeurile de la producerea vinului roşu, în cantitate de 0,3 kg sau 0,9 kg la 100 kg de nutreţ, timp de 43 de zile.

Revendicări: 1

MD 1859 Y 2025.07.31

Descriere:

Invenţia se referă la zootehnie, în special la un procedeu de hrănire a tineretului cunicul.

Insuficienţa furajelor calitative în zootehnie, inclusiv a celor ce conţin substanţe biologic active, este însoţită de scăderea productivităţii, înrăutăţirea stării de sănătate a animalelor, diminuarea calităţii şi valorii nutritive a produselor animaliere, ce necesită elaborarea diferitor suplimente furajere biologic active şi în baza lor a metodelor alternative de stimulare şi sporire a potenţialului productiv al animalelor. Problema calităţii furajelor şi insuficienţei substanţelor biologic active în ele poate fi soluţionată prin utilizarea diferitor produse de origine microbiană în raţia furajeră, care au un efect semnificativ asupra creşterii şi dezvoltării animalelor. Actualmente sunt cunoscute diverse metode de stimulare a productivităţii tineretului cunicul, bazate pe utilizarea în raţia furajeră a enzimelor, diferitor produse vegetale şi acvatice, care însă sunt mai costisitoare comparativ cu produsele de origine microbiană sau nu sunt disponibile în anumite zone geografice.

Este cunoscut procedeul de hrănire a tineretului cunicul cu scopul de sporire a productivităţii acestuia prin utilizarea biomasei uscate de drojdii *Saccharomyces cerevisiae*, care se administrează iepurilor în raţia furajeră zilnică în concentraţie de 0,5%, după înţărcare, de la vârsta de 6 săptămâni (42 de zile), timp de 8 săptămâni (56 de zile), ce asigură o greutate corporală maximă la vârsta de 14 săptămâni (98 de zile) de 2198,00 ±57,45 g [1].

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că pentru suplinirea raţiei furajere a iepurilor se utilizează numai biomasa uscată de levuri *Saccharomyces cerevisiae,* celulele cărora sunt acoperite cu un perete celular rigid, care diminuează disponibilitatea substanţelor biologic active cu proprietăţi nutritive, antioxidante, enzimatice din biomasă pentru animale şi nu asigură o majorare semnificativă a masei corporale a animalelor, comparativ cu lotul martor. Un alt dezavantaj constă în durata mare (98 de zile) de creştere până la sacrificare şi valoarea scăzută a greutăţii corporale maxime la vârsta de 14 săptămâni de numai 2198,00 g.

Problema pe care o rezolvă invenţia constă în sporirea greutăţii corporale, a sporului mediu pe zi/perioadă şi stimularea hematopoiezei tineretului cunicul.

Problema se rezolvă prin procedeul de hrănire a tineretului cunicul, care prevede includerea în raţia zilnică de nutreţ a iepurilor, începând cu prima zi de la înţărcare, la vârsta de 40 de zile, a unui preparat microbian ce conţine preparat peptidoglicanic minim 55%, extract aminoacidoproteic din levuri de bere minim 10%, preparat β-glucanic din levuri de bere minim 10%, extract aminoacidoproteic din levuri de vin minim 3%, preparat β-glucanic din levuri de vin minim 10% şi extract de polizaharide sulfatate minim 4%, în cantitate de 0,3 kg sau 0,9 kg la 100 kg de nutreţ, timp de 43 de zile, totodată preparatul peptidoglicanic se obţine din biomasa de spirulină după separarea extractelor alcoolice de pigmenţi şi de lipide şi a extractului apos proteoglicanic şi uscarea biomasei; extractul aminoacidoproteic din levuri de bere şi preparatul β-glucanic din levuri de bere se obţin din deşeuri de levuri de la producerea berii prin autoliza biomasei în soluţie tampon, separarea supernatantului, care reprezintă extractul aminoacidoproteic, sedimentul se tratează cu soluţie alcalină, se separă supernatantul, sedimentul se tratează cu soluţie de acid acetic, se spală repetat şi se usucă; extractul aminoacidoproteic din levuri de vin şi preparatul β-glucanic din levuri de vin se obţin din deşeuri de levuri de la producerea vinului roşu prin autoliza biomasei în soluţie tampon, separarea supernatantului, care reprezintă extractul aminoacidoproteic, sedimentul se tratează cu soluţie hidroetanolică, se separă supernatantul, sedimentul se tratează cu soluţie alcalină, se separă supernatantul, sedimentul se tratează cu soluţie de acid acetic, se spală repetat şi se usucă; extractul de polizaharide sulfatate se obţine din biomasa de spirulină prin extragere cu apă, separarea supernatantului, tratarea lui repetată cu soluţie de bromură de cetiltrimetilamoniu, spălarea precipitatului cu soluţie saturată de acetat de sodiu în alcool, tratarea repetată cu alcool şi uscarea.

Invenţia are următoarele avantaje: sporirea cu 114,4-154,13 g (4,0-5,4%) până la 2949,15±10,84 şi 2988,88±18,84 g a greutăţii corporale a iepuraşilor din loturile experimentale LE1 şi LE2 faţă de martor, la vârsta de 83 de zile şi cu 751-791 g (34,2-36,0%) faţă de soluţia apropiată la vârsta de 98 de zile (tab. 1); creşterea cu 2,7-3,6 g (5,8-7,8%) faţă de valoarea martorului a sporului mediu zilnic (tab. 1); suplinirea raţiei furajere cu preparat microbian are efect antistresant asupra iepurilor evidenţiat prin diminuarea numărului de leucocite şi limfocite în sânge şi creşterea neutrofilelor segmentate (tab. 2); preparatul microbian influenţează benefic hematopoieza iepurilor tineri, fapt confirmat prin diminuarea valorilor MCV - volumul eritrocitar mediu, şi creşterea valorilor MCHC - concentraţia eritrocitară medie de hemoglobină (indicatori cheie ai hemogramei).

Rezultatul tehnic este condiţionat de utilizarea preparatului microbian biologic activ în componenţa raţiei zilnice a iepurilor.

Exemple de realizare a invenţiei

Exemplu de obţibere a preparatului microbian complex

Preparatul microbian biologic activ este un complex microbian natural ce conţine compuşi biologic activi, derivaţi din biomasa cianobacreriei *Spirulina (Arthrospira) platensis* CNMN-CB-02 şi biomasa de levuri *Saccharomyces* de vin şi bere şi reprezintă o combinaţie din şase extracte biologic active, două din levuri de bere (extract aminoacidoproteic şi preparat β-glucanic), două din levuri de la producerea vinului roşu Merlot (extract aminoacidoproteic şi preparat β-glucanic) şi două cianobacteriene (preparat peptidoglicanic şi extract de polizaharide sulfatate). Biomasa de levuri de vin şi bere este disponibilă în cantităţi semnificative în formă de deşeuri la fabricile de vinificaţie şi de bere din Republica Moldova în perioada producerii. În acest caz a fost utilizată biomasa de levuri de vin *Saccharomyces* din deşeurile de la producerea vinului roşu Merlot la Cricova S.A. şi deşeuri de levuri de bere de la S.C. RIVEX S.R.L., s. Grătieşti. S-a utilizat biomasa de cianobacterii *Arthrospira (Spirulina) platensis* CNM-CB-02, obţinută la cultivare pe mediul nutritiv Zarrouk, pH 8-8,5, timp de 10 zile, cu iluminare permanentă.

Extractul aminoacidoproteic şi preparatul β-glucanic din biomasa de levuri de bere se obţin în cadrul aceluiaşi flux tehnologic conform următorului procedeu: biomasa de levuri congelată se decongelează, se supune autolizei cu soluţie tampon fosfat de sodiu pH 7,8 (raport 1:1) la temperatura de +45°C, timp de 8 ore; separarea supernatantului (extractului aminoacidoproteic) de sediment (biomasa restantă) prin centrifugare timp de 10-15 minute la 3500 rot/min; standardizarea extractului aminoacidoproteic până la concentraţia de 60 mg/mL substanţă uscată; sterilizarea extractului aminoacidoproteic prin tindalizare (3 serii de incălziri la temperatura de +50±5°C şi răciri succesive la temperatura camerei); sedimentul (biomasa restantă) se supune extracţiei cu soluţie 1N de NaOH (raport 1:5) timp de 2 ore la temperatura de +80°C; separarea supernatantului de sediment (biomasa restantă) prin centrifugare timp de 10-15 min la 3500 rot/min; sedimentul (biomasa restantă) se trateaza cu soluţie 0,5 N de acid acetic (raport 1:5), la temperatura de +75°C timp de 1 oră, pentru eliminarea glicogenului şi a lipidelor remanente; sedimentul (preparatul β-glucanic) se spală repetat cu apă distilată (2-3 ori după necesitate) pentru ajustarea pH-ului la 7-7,5, se usucă la temperatura de +50±5°C, până la umiditatea remanentă de 7-8%, se macină până la pulbere şi se cântăreşte.

Extractul aminoacidoproteic şi preparatul β-glucanic din biomasa de levuri de vin roşu Merlot se obţin în cadrul aceluiaşi flux tehnologic conform următorului procedeu: biomasa de levuri de vin congelată se decongelează, se supune autolizei cu soluţie tampon fosfat de sodiu cu pH 7,8 (raport 1:1) la temperatura de +45°C, timp de 8 ore; separarea supernatantului (extractului aminoacidoproteic) de sediment (biomasa restantă) prin centrifugare timp de 10-15 minute la 3500 rot/min, standardizarea extractului aminoacidoproteic până la concentraţia de 30 mg/mL substanţă uscată; sterilizarea extractului aminoacidoproteic prin tindalizare (3 serii de încălziri la temperatura de +50±5°C şi răciri succesive la temperatura camerei); sedimentul (biomasa restantă) se supune extracţiei cu soluţie hidroetanolică de 50% (raport 1:3), cu agitare permanentă, timp de 30 de minute la temperatura camerei, pentru eliminarea antocianilor; separarea supernatantului de sediment (biomasa restantă) prin centrifugare timp de 10-15 min la 3500 rot/min; sedimentul (biomasa restantă) se supune extracţiei cu soluţie 1N de NaOH (raport 1:5) timp de 2 ore la temperatura de +80°C; separarea supernatantului de sediment (biomasa restantă) prin centrifugare timp de 10-15 min la 3500 rot/min; sedimentul (biomasa restantă) se trateaza cu soluţie 0,5 N de acid acetic (raport 1:5), la temperatura de +75°C timp de 1 oră, pentru eliminarea glicogenului şi a lipidelor remanente; sedimentul (preparatul β-glucanic) se spală repetat cu apă distilată (2-3 ori după necesitate) pentru ajustarea pH-ului la 7-7,5, se usucă la temperatura de +50±5°C, până la umiditatea remanentă de 7-8%, se macină până la pulbere şi se cântăreşte.

Preparatul peptidoglicanic se obţine din biomasa cianobacteriană după depigmentare cu alcool etilic de 96%, raport biomasă:extractant 1:10 v/v, la temperatura de +45°C, timp de 30 min, cu agitare periodică; delipidizare prin extracţie cu alcool etilic de 96%, raport biomasă:extractant 1:2 v/v, la temperatura de +60°C timp de 1 oră, cu agitare periodică; eliminarea extractului proteoglicanic prin amestecare cu apă distilată, raport biomasă:apă 1:3 sau 1:4 v/v, cu extracţie în autoclavă la temperatura de +115°C (0,5 atm) timp de 30 min; sedimentul (preparatul peptidoglicanic) se usucă în etuvă la temperatura de +50±5°C până la masa constantă cu umiditatea de 7-8%, se macină până la pulbere şi se cântăreşte.

Extractul de polizaharide sulfatate se obţine prin precipitarea repetată cu soluţie de 1% de bromură de cetiltrimetilamoniu a polizaharidelor sulfatate din extractul de proteoglicani, obţinut din biomasa cianobacteriană, prin extragere cu apă distilată în raport de 1:45 (m/v) la temperatura de 90°C, timp de 2 ore. Precipitatele obţinute se reunesc, amestecul se spală cu soluţie saturată de acetat de sodiu în alcool de 95%, apoi repetat cu alcool de 96%, se usucă (sau liofilizează) şi se cântăreşte.

Preparatul microbian se obţine prin amestecarea minuţioasă a 1000 g de preparat peptidoglicanic (pulbere) cu 200 g de preparat β-glucanic din levuri de bere (pulbere), 200 g de preparat β-glucanic din levuri de vin (pulbere), 70 g de extract de polizaharide sulfatate (pulbere). În amestecul obţinut se îmbibă în câteva reprize 3 L de extract aminoacidoproteic din levuri de bere (59,67±0,24 mg/mL substanţă uscată)

şi 2 L de extract aminoacidoproteic din levuri de vin (30,0±0 mg/mL substanţă uscată). După fiecare repriză amestecul se usucă la temperatura de +50±5°C pentru eliminarea umidităţii excesive. După repriza finală amestecul (preparatul microbian) se usucă la temperatura de +50±5°C până la masa constantă, timp de 24-48 de ore. În final se obţin 1,7 kg de preparat microbian de culoare verde cu 97,08±0,23% substanţă uscată şi umiditatea de 2,92±0,23%, ce conţine nu mai puţin de 55% (550 mg/g) preparat peptidoglicanic, 10% (100 mg/g) preparat β-glucanic din levuri de bere, 10% (100 mg/g) preparat β-glucanic din levuri de vin, 10% (100 mg/g) extract aminoacidoproteic din levuri de bere, 4% (40 mg/g) extract de polizaharide sulfatate şi 3% (30 mg/g) extract aminoacidoproteic din levuri de vin. Preparatul microbian posedă activitate antioxidantă totală de 39,8±0,15% inhibiţie şi a enzimelor antioxidante catalaza (CAT) de 813,85±42,66 mmol/min·mg proteină şi SOD de 92,71±2,86 U/mg proteină. Datorită compoziţiei sale biologic active complexe şi naturale (peptidoglicani, β-glucani, polizaharide sulfatate, proteine, inclusiv aminoacizi esenţiali şi imunoactivi, pigmenţi, inclusiv antociani şi carotenoizi, macro- şi microelemente) cu proprietăţi antioxidante, imunostimulatoare şi nutritive, preparatul are efect antistres, de stimulare a hematopoiezei la iepurii din loturile experimentale, confirmate de indicii hematologici ai sângelui şi majorarea masei corporale (productivităţii).

Exemplul 1

Se prepară nutreţurile granulate destinate furajării iepurilor. Lotul martor (LM) este furajat cu nutreţ de bază (obişnuit la fermă), iar în nutreţul destinat furajării lotului experimental 1 (LE1) se include suplimentar preparatul microbian biologic activ, în proporţie de 3 g la 1,0 kg de nutreţ (0,3%). Nutreţurile se administrează zilnic iepurilor din loturile corespunzătoare, de la vârsta de 40 de zile timp de 43 de zile. În rezultat la vârsta de 83 de zile masa corporală a iepurilor din lotul martor a fost de 2834,75±28,26 g, iar a celor din lotul experimental 1 (LE1) de 2949,15±10,84 g, cu 114,4 g (4,0%) mai mult. Sporul mediu zilnic la iepurii din lotul martor a fost de 45,94 g, iar la cei din lotul experimental de 48,60 g, ce este cu 5,8% mai mult.

Exemplul 2

Se prepară nutreţurile granulate destinate furajării iepurilor. Lotul martor este furajat cu nutreţ de bază (obişnuit la fermă), iar în nutreţul destinat furajării lotului experimental 2 (LE2) se include suplimentar preparatul microbian biologic activ, în proporţie de 9 g la 1,0 kg de nutreţ (0,9%). Nutreţurile se administrează zilnic iepurilor din loturile corespunzătoare, de la vârsta de 40 de zile timp de 43 de zile. În rezultat la vârsta de 83 de zile masa corporală a iepurilor din lotul martor a fost de 2834,75±28,26 g, iar a celor din lotul experimental 2 (LE2) de 2988,88±18,84 g, cu 154,1 g (5,4%) mai mult. Sporul mediu zilnic la iepurii din lotul martor a fost de 45,94 g, iar la cei din lotul experimental de 49,51 g, ce este cu 7,8% mai mult.

Rezultatele obţinute indică că administrarea preparatului microbian biologic activ în raţia furajeră zilnică a iepurilor, în proporţie de 3 g sau 9 g la 1,0 kg de nutreţ (0,3% sau 0,9%), pe durata a 43 de zile, sporeşte masa corporală a iepurilor, are efect antistres şi de stimulare a hematopoiezei, confirmate de indicii hematologici ai sângelui.

Tabelul 1

Dinamica indicilor masei corporale la tineretul cunicul

Indici	Soluţia apropiată	Loturile de animale		
		LM	LE 1	LE 2
Nr. animale, cap.	13	14	14	14
Masa corporală - debut, 40 de zile, g	801,23 ±29,17	859,20±4,66	859,22±3,93	859,96±3,23
Masa corporală – 50 de zile, g	-	1243,94±11,13	1294,18±6,36	1279,96±16,48
Masa corporală – 60 de zile, g	-	1553,82±14,39	1675,21±15,51	1687,66±9,77
Masa corporală – 70 de zile, g	1556,92 ±51,95	1937,75±7,62	2067,49±14,78	2080,60±8,47
Masa corporală – 83 de zile, g	-	2834,75±28,26	2949,15±10,84**	2988,88±18,84***
Masa corporală – 98 de zile, g	2198,00 ±57,45	-	-	-
Spor total/perioadă·cap – 43 de zile, g	-	1975,55	2089,93	2128,92

Spor total/perioadă cap – 56 de zile, g	1396,77±57,59	-	-	-
Spor mediu zilnic 43 de zile, g	-	45,94	48,60	49,51
Viabilitatea, %	100	100	100,0	100,0
Mortalitatea, %	-	-	-	-

Notă: **-p<0,01; ***-p<0,001

Tabelul 2

Dinamica leucocitelor şi a componentelor de bază ale formulei leucocitare la tineretul cunicul sub influenţa preparatului microbian la finele studiului

Semnificaţie	Debut	Loturile de animale		
		LM	LE 1	LE 2
Leucocite, 10^9/L	8,89±0,89	12,94±2,19	11,27±2,00	10,21±2,33
Limfocite, %	54,80±0,57	63,40±8,00	60,20±10,92	54,20±0,84
Neutrofile nesegmentate, %	3,60±0,91	3,20±0,67	2,60±0,70	3,80±0,89
Neutrofile segmentate, %	33,00±4,87	29,00±2,83	33,20±3,40	36,60±4,38
Eozinofile, %	0,60±0,27	1,00±0,00	0,80±0,22	0,80±0,22
Monocite, %	8,00±1,77	3,40±1,40	3,20±1,14	4,60±1,74

Cercetările pentru realizarea invenţiei au fost efectuate în cadrul proiectelor 20.80009.5107.16 Preparate microbiene biologic active noi pentru majorarea potenţialului reproductiv şi productiv al animalelor de interes zootehnic, finanţat de ANCD şi 020101 Innovative biotechnological solutions for agriculture, medicine and environment, InBioS, finanţat de MEC.

(56) Referinţe bibliografice citate în descriere:

1. Amany A. Khayyal, E.O.A. Bakr, Y.L. Phillip, A.M. Hussein, A.A. Khir. Effect of diets containing dried taro (Colocasia esculanta) waste and dried yeast (Saccharomyces cerevisiae) on performance of growing rabbits. J. Anim. and Poultry Prod., Mansoura Univ., 2017, v. 8(6), p. 109- 117, URL: <https://jappmu.journals.ekb.eg/article_45794_f6548cb7e03f42c8d5d74d6c33f5fbdc.pdf>

(57) Revendicări:

Procedeu de hrănire a tineretului cunicul, care prevede includerea în raţia zilnică de nutreţ a iepurilor, începând cu prima zi de la înţărcare, la vârsta de 40 de zile, a unui preparat microbian ce conţine preparat peptidoglicanic minim 55%, extract aminoacidoproteic din levuri de bere minim 10%, preparat β-glucanic din levuri de bere minim 10%, extract aminoacidoproteic din levuri de vin minim 3%, preparat β-glucanic din levuri de vin minim 10% şi extract de polizaharide sulfatate minim 4%, în cantitate de 0,3 kg sau 0,9 kg la 100 kg de nutreţ, timp de 43 de zile, totodată preparatul peptidoglicanic se obţine din biomasa de spirulină după separarea extractelor alcoolice de pigmenţi şi de lipide şi a extractului apos proteoglicanic şi uscarea biomasei; extractul aminoacidoproteic din levuri de bere şi preparatul β-glucanic din levuri de bere se obţin din deşeuri de levuri de la producerea berii prin autoliza biomasei în soluţie tampon, separarea supernatantului, care reprezintă extractul aminoacidoproteic, sedimentul se tratează cu soluţie alcalină, se separă supernatantul, sedimentul se tratează cu soluţie de acid acetic, se spală repetat şi se usucă; extractul aminoacidoproteic din levuri de vin şi preparatul β-glucanic din levuri de vin se obţin din deşeuri de levuri de la producerea vinului roşu prin autoliza biomasei în soluţie tampon, separarea supernatantului, care reprezintă extractul aminoacidoproteic, sedimentul se tratează cu soluţie hidroetanolică, se separă supernatantul, sedimentul se tratează cu soluţie alcalină, se separă supernatantul, sedimentul se tratează cu soluţie de acid acetic, se spală repetat şi se usucă; extractul de polizaharide sulfatate se obţine din biomasa de spirulină prin extragere cu apă, separarea supernatantului, tratarea lui repetată cu soluţie de bromură de cetiltrimetilamoniu, spălarea precipitatului cu soluţie saturată de acetat de sodiu în alcool, tratarea repetată cu alcool şi uscarea.