

son C., Ahehadeh Z., Stamer A., Wainberg A., 2012 – Organic aquaculture: the future of expanding niche markets. [In:] R.P. Subasigne, I.R. Arthur, D.M. Bartley, S.S. De Silva, M. Halwarth, N. Hishumanda, C.V. Mohan & P. Sergeles (eds) Farming the Waters for People and Food. Proceedings of the Global Conference on Aquaculture 2010, Phuket, Thailand, 22-25 September, Rome and NACA, Bangkok. **10.** Rozporządzenie Komisji (WE) nr 710 z dnia 5 sierpnia 2009 r. zmieniające rozporządzenie (WE) 889/2008 ustanawiające szczegółowe zasady wdrażania rozporządzenia Rady (WE) 834/2007 w odniesieniu do ustanowienia szczegółowych zasad dotyczących ekologicznej produkcji zwierzęcej w sektorze akwakultury i ekologicznej produkcji wodorostów morskich (Dz.U. UE L 204/15 z 6.08.2009). **11.** Rozporządzenie Komisji (WE) nr 889/2008 z dnia 5 września 2008 r. ustanawiające szczegółowe zasady wdrażania rozporządzenia Rady (WE)

nr 834/2007 w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych w odniesieniu do produkcji ekologicznej, znakowania i kontroli (Dz.U. UE L 250/1 z 18.09. 2008). **12. Scialabla N., Hattam C.,** 2002 – Organic aquaculture, environment and food security. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome. **13. Steffens W., Wirth M.,** 2005 – Freshwater fish – an important source of n-3 polyunsaturated fatty acids: a review. Arch. Pol. Fish. 13, fasc. 1, 5-16. **14. Wojda R.,** 2009 – Karp. Chów i hodowla. Poradnik Hodowcy. Wyd. IRS Olsztyn. **15.** www.fao.org/3/i9540en/i9540EN.pdf. **16.** www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/en/ **17.** www.ifoam.bio **18. Xie B., Qin J., Uang H., Wang X., Wang Y.H., Li T.Y.,** 2013 – Organic aquaculture in China; A review from a global perspective. Aquaculture 414-415, 243-253. **19. Zubiaurre C.,** 2013 – The current status and future perspectives of European organic aquaculture. Aquaculture Europe 38 (2), 14-21.

## Possibilities influencing the meat quality parameters of carp raised in accordance with the requirements of organic aquaculture in the European Union

### Summary

This article presents general information on organic aquaculture and its development. In Poland, pond carp production seems to be in some sense predestined to conversion into organic farming, as conventional standards in carp farming are very similar to regulations for organic aquaculture in EU countries. However, carp farmers show little willingness to make this transition, due to their lack of knowledge about organic aquaculture. The paper discusses the influence of feeds (typical organic cereals, commercial organic formulated feed, and organic pelleted grain feeds produced on-farm) on the growth, production results and economic efficiency of food carp. In terms of fish growth, total production, and meat quality, commercial organic feedstuffs were the most effective. However, the price of commercial organic feed, 10-15 times higher than that of ordinary organic cereals, eliminates this fodder from use in practice. Among typical cereals, triticale, barley and maize seem to be the most effective for fish growth. The effectiveness of feeding could be increased by on-farm pelleting, as organic carp fed with pelleted cereals had better individual growth and lower FCR. In terms of flesh quality, carp fed triticale and barley had the lowest fat content and a healthy fatty acid profile, in accordance with the demands of modern consumers.

**KEY WORDS:** organic aquaculture, carp, growth, production, flesh quality

# Zastosowanie fitobiotyków w profilaktyce i leczeniu krów z subklinicznym stanem *mastitis* w warunkach produkcji ekologicznej

Beata Kuczyńska, Kamila Puppel,  
Beata Madras-Majewska, Monika Łukasiewicz,  
Aleksandra Bochenek

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Zwierzętach

W certyfikowanych gospodarstwach ekologicznych specjalizujących się w produkcji mleka zabiegi dotyczące zdrowia krów powinny być ukierunkowane przede wszystkim na profi-

laktykę, w której zabronione jest stosowanie chemicznie syntetyzowanych leków weterynaryjnych. Jedynie w razie konieczności (ratowania życia lub ulżenia w cierpieniu) zezwala się na użycie antybiotyków pod kontrolą lekarza weterynarii, a wtedy należy pamiętać, że okres karencji wydłuża się dwukrotnie w stosunku do obowiązującego, a jeśli nie jest on określony – do minimum 48 godzin. Z wyjątkiem szczepień, zwalczania pasożytów i wszelkich obowiązkowych programów zwalczania chorób, jeżeli zwierzęta są poddane dwom lub większej liczbie zabiegów za pomocą chemicznie wytwarzanych leków alopacyjnych lub antybiotyków w czasie jednego roku, muszą być objęte okresem przestawiania (czyli konwersji, która trwa minimum 6 miesięcy). Europejskie ustawodawstwo dotyczące chowu ekologicznego zwierząt gospodarskich podaje, że chemicznie syntetyzowane leki alopacyjne, np. antybiotyki, mogą być stosowane u zwierząt w gospodarstwach certyfikowanych jedynie wtedy, gdy nie dysponujemy skutecznie działającym środkiem alternatywnym. W przypadku zachorowań zwierząt ekologiczni producenci stosują w pierwszej kolejności leki weterynaryjne pochodzenia naturalnego. Działanie alternatywnych leków dla zwierząt, np. homeopatycznych czy fitobiotyków, jest wciąż słabo udokumentowane naukowo [2].

Zapalenie wymienia (*mastitis*), obok zaburzeń metabolicznych i rozrodczych, zaliczane jest do najpoważniejszych źródeł strat w produkcji mleka. W roli czynników etiologicznych *mastitis* występuje około 150 gatunków drobnoustrojów. Rolę dominującą w wywoływaniu zapaleń mają: *Streptococcus agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* oraz wiele innych mikroorganizmów,

np. *Mycobacterium bovis*, *Aspergillus sp.* [11]. W zależności od czynnika etiologicznego i stopnia zmian leczenie trwa zazwyczaj ok. 2 tygodni. Jednakże w przypadkach obejmujących od 20 do 70% krów w stadzie można się spotkać z formą subkliniczną *mastitis* (brak zmian klinicznych i zmian w mleku; wzrasta tylko liczba komórek somatycznych). Wyleczenie tej formy zapalenia wymienia trwa dość długo, od 3 do 6 miesięcy. Decyzja lekarza prowadzącego o podaniu krowom antybiotyków może powodować zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego, będące następstwem bakteriostatycznego wpływu sulfonamidów na mikroflorę przewodu pokarmowego. Szczególnie sytuacja ta dotyczy przeżuwaczy, u których na skutek bakteriostazy mikroflory przedżołądków może dochodzić także do zaburzeń w syntezie m.in. witaminy B. Długotrwała terapia wysokimi dawkami antybiotyków może powodować zapalenie wątroby, żółtaczkę, zapalenie nerwów, zwyrodnienia rdzenia kręgowego i nerwów obwodowych oraz suche zapalenie rogówki. Radykalne ograniczenie stosowania antybiotyków wydaje się konieczne. Dlatego naukowcy szukają alternatywnych substancji, które mogą zastąpić antybiotyki [12, 13, 14]. W systemach produkcji konwencjonalnej najbardziej obiecujące są nanocząstki metaliczne, ze względu na ich dobre właściwości antibakteryjne wobec opornych szczepów [7].

W gospodarstwach ekologicznych w takich przypadkach alternatywą dla antybiotyków mogą być fitobiotyki. Poprzez szerokie spektrum swojego działania (przeciwbakteryjne, przeciwbiegunkowe, przeciwaparazytaryjne i przeciwgorączkowe) fitobiotyki poprawiają stan zdrowia zwierząt. Szczególną rolę w tej dziedzinie spełniają fitonocydy, wykazujące działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze [3, 4, 5, 6]. Zalicza się do nich m.in. ekstrakt z czosnku czy cebuli, ale także różne zioła, czy pyłek kwiatowy zbierany przez pszczoły, który jest dość zróżnicowanym produktem roślinnym, bogatym w substancje biologicznie aktywne.

Fitobiotyki swoje dobroczynne działanie zawdzięczają głównie związkom fenolowym – flawonoidom [17]. Jednym z najsilniejszych flawonoidów jest kwercetyna. Jest to składnik wielu roślin leczniczych. Działanie lecznicze kwercetyny nie ogranicza się tylko do zmniejszania stanu zapalnego i obrzęku, ale przede wszystkim hamuje ona reakcje alergiczne oraz posiada silne właściwości antyoksydacyjne i przeciwbakteryjne. Największe stężenie kwercetyny znajduje się w zewnętrznych łuskach cebuli oraz w ekstraktach z czosnku [1]. W niektórych sytuacjach czosnek może działać sto razy silniej niż antybiotyki, jest on skuteczniejszy niż erytromycyna i cyprofloksacyna. Ekorolnicy stosując napar z łusek cebulowych, który ma właściwości bakteriobójcze, niszczą także bakterie odporne na działanie antybiotyków. Zapach i właściwości bakteriobójcze cebuli i czosnku wynikają także z zawartości organicznych związków siarki, które są aktywne nawet w bardzo małych stężeniach [16]. Cebula, poza niedoborami witaminy C, może uzupełniać niedobory witamin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP, a także wielu mikroelementów, przede wszystkim cynku i selenu, ważnych czynników w odporności przeciwwirusowej oraz przeciwutleniających i immunostymulujących. Ekstrakty z cebuli i czosnku wykazują również działanie anaboliczne, zmniejszając podatność na stres, a także niwelują negatywny wpływ substancji przeciwodżywczych. Immunostymulacja polega na zmianie reaktywności układu immunologicznego w kierunku nasilenia odporności. Immunostymulacja nie zawsze odbywa się bezpośrednio, a aktywność immunologiczna preparatów roślinnych bądź substancji biologicznie czynnych w nich zawartych może się wyrażać różnymi efektami, m.in. wzmożoną aktywnością fagocytarną makrofagów, zwiększeniem liczby pobudzonych limfocytów B i T, wzrostem aktywności lizozymu czy też indukcją syntezy czynnika o działaniu przeciwwirusowym – interferonu.

Wyniki nielicznych badań potwierdzają cenne właściwości biologiczne pyłku kwiatowego [10]. Za najważniejsze uznano jego właściwości odżywcze, regeneracyjne, odtruwające (detoksykacyjne), adaptogenne, antibakteryjne oraz przeciwapalne. Właściwości antibakteryjne skierowane są zarówno na bakterie patogenne, jak i na grzyby drożdżoidalne. Za działanie

to odpowiedzialne są głównie flawonoidy i fenolokwasy w nim zawarte. Pyłek kwiatowy wykazuje działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze w stosunku do szczepów bakterii *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* i *Str. aureus*. W badaniach na zwierzętach wykazano, że pyłek kwiatowy odznacza się działaniem przeciwzapalnym. Jego siłę działania przyrównuje się do takich leków przeciwzapalnych, jak naproksen czy indometacyna. Ze względu na skład, pyłek pszczeli zwany jest „bombą witaminową”. Odznacza się on także wysoką wartością odżywczą oraz działaniem adaptogennym. Działanie adaptogenne polega na podwyższaniu odporności przeciw szkodliwym czynnikom fizycznym, chemicznym i biologicznym. Zalicza się tutaj zarówno podwyższanie sprawności funkcjonowania organizmu w sytuacjach nadmiernego obciążenia, jak i wzrost odporności organizmu na zakażenia. Do zasadniczych składników pyłku kwiatowego zalicza się: białka i aminokwasy, węglowodany, lipidy i kwasy tłuszczowe, związki fenolowe, enzymy i koenzymy, a także witaminy i biopierwiastki. Egzogenne kwasy tłuszczowe występujące w pyłku kwiatowym mają wpływ na zwiększenie odporności organizmu, zapobiegają m.in. chorobom skóry. Inne związki zawarte we frakcji tłuszczowej, np. prostaglandyny, odpowiedzialne są między innymi za hamowanie procesów zapalnych. Poza tym pyłek kwiatowy przyczynia się do wzrostu odporności organizmu na zakażenia. U zwierząt zaobserwowano, że powoduje wzrost liczby limfocytów, wzmacnia wytwarzanie przeciwciał i przyspiesza leczenie zakażeń bakteryjnych.

W 2017 roku w badaniach własnych, w 4 certyfikowanych gospodarstwach ekologicznych zastosowano w profilaktyce i leczeniu stanów zapalnych gruczołu mlekowego krów fitododatki, w postaci ekstraktu z cebuli, z czosnku, mieszanin ziół oregano, kminku i rozmarynu lub pyłku kwiatowego (wszystkie pochodzący z produkcji ekologicznej). Dzięki tym niekonwencjonalnym dodatkom, w przeprowadzonych 9-tygodniowych eksperymentach nie tylko podwyższono zdrowotność krów, ale również jakość odżywczą i prozdrowotną mleka. Wszystkie wyselekcjonowane krowy w subklinicznym stanie *mastitis* zareagowały pozytywnie obniżeniem LKS poniżej 400 tys./cm<sup>3</sup> zarówno w trakcie podawania dodatków fitobiotycznych, jak i po ich odstawieniu. Wykazano, że w mleku badanych krów nastąpiło prawie 3-krotne obniżenie LKS, z poziomu wyjściowego 645 tys./cm<sup>3</sup> do 433 tys./cm<sup>3</sup> już po 21 dniach stosowania dodatku ekstraktu z cebuli. Wyniki badań potwierdziły, że stan zdrowia gruczołu mlekowego krów z każdym tygodniem stosowania ekstraktu z cebuli poprawiał się i utrzymywał się stabilnie do końca doświadczenia, nawet pomimo zaniechania suplementacji. W przypadku zadawania ekstraktu z czosnku krowy ze zdiagnozowanym subklinicznym stanem *mastitis* zareagowały pozytywnie 2-krotnym obniżeniem LKS, z poziomu 472 tys./cm<sup>3</sup> do 218 tys./cm<sup>3</sup> w trakcie okresu właściwego, tj. od 21. do 35. dnia doświadczenia. Natomiast po jego odstawieniu u trzech krów LKS znów wykazywała tendencję wzrostową. W trakcie zadawania dodatku mieszanki oregano, rozmarynu i kminku krowy w subklinicznym stanie *mastitis* zareagowały pozytywnie obniżeniem LKS średnio z 455 tys./cm<sup>3</sup> do 189 tys./cm<sup>3</sup>, natomiast po jego odstawieniu u jednej krowy zaobserwowano wzrost LKS. W doświadczeniu, w trakcie którego podawano pyłek kwiatowy w ilości 150 g/sztukę/dobę, jak i po jego odstawieniu, krowy w subklinicznym stanie *mastitis* zareagowały pozytywnie obniżeniem LKS poniżej 400 tys./cm<sup>3</sup>. W tym eksperymencie u większości krów poprawa nastąpiła najszybciej – już po 1. tygodniu dodawania do paszy pyłku kwiatowego. Zmiany nie były jednakowe w badanym stadzie. W mleku 2 krów wykazano jednorazowe zwiększenie LKS po 2 tygodniach zadawania pyłku kwiatowego, u jednej bardzo znacznie powyżej stanu wyjściowego (z 800 tys./cm<sup>3</sup> do 1 mln/cm<sup>3</sup>). Pomimo tej obserwacji stwierdzono, że w mleku badanych krów nastąpiło prawie 3-krotne obniżenie LKS, z poziomu wyjściowego średnio 645 tys./cm<sup>3</sup> do 223 tys./cm<sup>3</sup> po 3 tygodniach stosowania dodatku pyłku kwiatowego. Podobnie jak przy zastosowaniu trzech pozostałych fitododatków, stan zdrowia gruczołu mlekowego utrzymywał się stabilnie do końca doświadczenia, pomimo zaniechania suplementacji.

Zapalenia wymion mogą wywoływać liczne drobnoustroje, ale także pierwotniaki, grzyby czy algi. Jednak w zależności od patogenu mogą dawać różny obraz. Dlatego też infekcje wywołane m.in. przez *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Str. uberis* czy *Str. dysgalactiae* – bakterie należące do pierwszej grupy patogenności, wpływają na istotne podwyższenie poziomu komórek somatycznych. Zapalenia gruczołu mlekowego wywołane przez bakterie należące do drugiej grupy patogenności, m.in. *Corynebacterium bovis*, koagulazoujemne gronkowce, zobrazowane są przez niewielkie podwyższenie poziomu LKS w mleku. W badaniach wykazano istotne współzależności między liczbą komórek somatycznych a ogólną liczbą drobnoustrojów w badanych próbkach mleka, uzyskując następujące wartości współczynników korelacji w teście Pearsona: przy zastosowaniu mieszanki z ziół oregano, rozmarynu i kminku na poziomie 0,652; przy stosowaniu ekstraktu cebuli – 0,692; ekstraktu czosnku – 0,763; pyłku kwiatowego – 0,852. We wszystkich próbkach mleka od krów w subklinicznym stanie *mastitis* wykazano ponad 100 tys./cm<sup>3</sup> drobnoustrojów, natomiast po zastosowaniu fitobiotyków zaobserwowano tendencje malejące do kilkudziesięciu tys./cm<sup>3</sup>. Najbardziej zauważalną poprawę jakości mikrobiologicznej surowca stwierdzono po zastosowaniu ekstraktu z czosnku i pyłku kwiatowego. Z ogółu badanych prób mleka wyizolowano i zidentyfikowano 10 różnych drobnoustrojów, przy czym jedynie po zastosowaniu pyłku kwiatowego stwierdzono występowanie tylko dominujących bakterii z gatunku *Enterobacteriaceae*. Najczęstszymi patogenami wywołującymi stan subkliniczny *mastitis* były bakterie katalazoujemne *Streptococcus*, *Enterococcus* lub *Clostridium* – od 75 do 95% zakażeń. Gronkowiec złocisty wyizolowano od 5,2% do 25%, przy czym nigdy nie stanowił dominującej flory jako gatunek pojedynczy, lecz wchodził w skład flory mieszanej. We wszystkich próbkach mleka przed doświadczeniem i w jego trakcie wykazano większy udział zakażeń wywołanych przez bakterie katalazoujemne z rodzajów *Streptococcus*, *Enterococcus* lub *Clostridium*, z tendencją malejącą po zastosowaniu fitobiotyków. W próbkach mleka z gospodarstwa wytypowanego do stosowania mieszanki oregano, rozmarynu i kminku zidentyfikowano duży udział zakażeń *Staph. aureus* (25%), którego nie udało się wyeliminować po zastosowaniu tej mieszanki, ale obniżono ich występowanie w 50%. Wykazano całkowitą zmianę zróżnicowanej flory bakteryjnej mleka na jednorodną dominującą *Enterobacteriaceae* po zastosowaniu pyłku kwiatowego. Dużym problemem okazało się zakażenie wywołane przez *E. coli* i *Klebsiella*, co prawdopodobnie było związane z sezonem letnim, w którym prowadzono doświadczenia oraz wysoką temperaturą na zewnątrz, osiągającą nawet wartość 40°C.

We wcześniejszych badaniach własnych dotyczących korzystnego oddziaływania jeżówki purpurowej na poprawę stanu zdrowotnego krów, w próbkach mleka oprócz *E. coli* (54,5% przypadków) izolowano gatunki drobnoustrojów z rodzajów *Enterobacter* oraz *Klebsiella* (81,9% przypadków) [9]. Bakterie wytwarzające hemolizynę stanowiły 77,2% wszystkich badanych próbek, z tego  $\alpha$ -hemolizę zaobserwowano w 11% przypadków,  $\beta$ -hemolizę w 55%, a oba typy hemolizy w 27% przypadków. Liczne zakażenia w badanym stadzie wywołane były przez bakterie zarówno środowiskowe, jak i patogenne. Przy tak dużym zróżnicowaniu zakażeń bakteryjnych, subkliniczne przypadki zapalenia wymion u badanych krów, ze względu na charakterystyczny ostry przebieg, wysokie temperatury powietrza w sierpniu oraz ataki much, zdiagnozowano jako *colimastitis*.

Malinowski i Gajewski [11] podają, że do zakażeń na drodze galaktogennej dochodzi na początku i pod koniec okresu zasuszenia, natomiast w pierwszych 6 tygodniach laktacji obserwuje się najwięcej przypadków *colimastitis*. Postacie ostre, jak i przewlekłe i podkliniczne *colimastitis*, występują głównie w okresie letnim, kiedy dodatkowo krowy ulegają wpływom stresu termicznego i są narażone na wzmożone ataki insektów. Pozytywna odpowiedź immunosupresyjna organizmu krowy w stosunku do zastosowanego preparatu prawdopodobnie była efektem obecności jednego z bioaktywnych składników, których bogatym źródłem jest jeżówka purpurowa, należących do

izobutyloamidów, alkiloamidów, polienów, poliacylenów, polifenoli i licznych pochodnych kwasu kawowego (kwas chlorogenowy, izochlorogenowy, kwas cychorynowy, echinakozyd, werbakozyd), flawonoidów (luteolina, kwercetyna, apigenina), kwasów cytrynowego, winowego i askorbinowego, a także całej gamy polisacharydów (4-O-metyloglukuro-arabinosylany, ksyloglukany, arabinoramnogalaktany, arabionogalaktany) lub ich synergicznego działania. Najważniejsze działanie immunostymulujące jeżówki wynika z obecności pochodnych kwasu kawowego. Jak wykazano, pochodna kwasu kawowego stymuluje aktywność komórek odpornościowych, wykazuje działanie przeciwwirusowe i jest silnym przeciwutleniaczem, hamuje działanie enzymów hialuronidazy, które wpływają na zakażenie i stan zapalny. Natomiast polisacharydy stymulują aktywność komórek układu immunologicznego, a także wykazują aktywność przeciwzapalną. Ziele jeżówki bogate jest w takie związki, jak: glikozydy, flawonoidy, olejek eteryczny, poliacyleny, alkaloidy pirolizydynowe. Inaczej rzecz się ma z ekstraktem z korzenia *Echinaceae*, który bogaty jest w glikozyd fenolowy, kwas chlorogenowy, kwas izochlorogenowy, dodatkowo zawiera inulinę (ok. 4-6%), cynarynę, glikoproteiny, poliacyleny, alkaloidy pirolizydynowe, związki aminowe i inne [18].

Kolejna obserwacja dotyczyła obecności pleśni i grzybów *Candida albicans* w hodowliach bakteriologicznych z tendencją wzrostową w trakcie trwania eksperymentu, w grupach otrzymujących mieszaninę ziół lub pyłek kwiatowy.

Dodatkowo zdrowotność krów oszacowano na podstawie stosunku tłuszczowo-białkowego (TB), zawartości mocznika i aldehydu dimalonowego (MDA). Wyniki badań wykazały istotny wpływ zastosowanych suplementacji na kształtowanie się poziomu parametrów zdrowotności krów w warunkach produkcji ekologicznej. W przypadku stosunku TB wykazano poprawę jego poziomu. Stosunek tłuszczu do białka w przypadku stada zdrowego i przy prawidłowo skomponowanej dawce pokarmowej powinien się wahać w granicach 1,0-1,5. Zbyt niski stosunek tych składników (<1) może świadczyć o subklinicznej kwasicy żwacza, która występuje w przypadku podawania nadmiernej ilości pasz treściwych lub przy nieprawidłowej strukturze fizycznej dawki. Z kolei stosunek powyżej 1,5 informuje o możliwości występowania w stadzie subklinicznej ketozy. W przypadku suplementacji mieszaną ziołową maksymalne wartości tego parametru wynosiły 1,58; ekstraktem z cebuli i pyłkiem kwiatowym – 1,35, ekstraktem z czosnku – 1,24.

Według ogólnie przyjętych norm prawidłowy poziom mocznika w mleku powinien mieścić się w przedziale 150-300 mg/l mleka. Jednak wielu specjalistów z dziedziny żywienia sugeruje obniżenie górnej granicy do 250-270 mg/l. Dlatego też można stwierdzić, że suplementacja ekstraktem z cebuli, czosnku i pyłkiem kwiatowym wpłynęła na poprawę poziomu tego parametru; wykazane zostało obniżenie koncentracji mocznika z poziomu ponad 300 mg/l (pobranie kontrolne) do średnio 250 mg/l (pobranie po 21 dniach suplementacji). Natomiast najwyższa zawartość mocznika w mleku krów suplementowanych mieszaną ziołową (521 mg/dl) była prawdopodobnie konsekwencją skarmiania wysokobiałkowej zielonki, bez prawidłowego zbilansowania paszami treściwymi. Dlatego też monitorowanie poziomu mocznika w mleku stanowi cenną informację o zbilansowaniu dawki pokarmowej oraz pozwala ocenić przebieg metabolizmu związków azotowych w żwaczu.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały istotny wpływ kolejnego tygodnia suplementacji na kształtowanie się poziomu aldehydu dimalonowego (MDA) w mleku we wszystkich stadach, z wyjątkiem tego, w którym zastosowano mieszanę ziołową. Zauważono tendencję do obniżania ilości MDA w mleku po zastosowaniu fitododatków. MDA uznawany jest za marker stresu oksydacyjnego [8].

Analizując skład chemiczny pobranych próbek mleka, wykazano istotne zmiany w kształtowaniu się poziomu jedynie tłuszczu i suchej masy beztłuszczowej. W przypadku dodatku cebuli i pyłku kwiatowego wykazano podwyższenie poziomu tłuszczu w mleku po 21-dniowym okresie suplementacji z 3,36 do 4,22%. Zaobserwowano obniżenie zawartości białka ogólnego

w mleku po suplementacji ekstraktem czosnkowym z 3,25 do 3,12%. To pociągnęło za sobą również obniżenie zawartości kazeiny z poziomu 2,60 do 2,51%. Podstawową i najczęściej spotykaną przyczyną niskiej zawartości białka w mleku jest niedobór energii w dawce pokarmowej (lub niskie jej pobranie) albo stres cieplny spowodowany wysoką temperaturą powietrza i niską jego wilgotnością – wszystkie te aspekty miały miejsce w trakcie trwania eksperymentu.

Zastosowanie fitododatku w postaci mieszanki ziołowej w kompozycji oregano, rozmaryn i kminek, podobnie jak i dodatek czosnku wywołało dużą zmienność w profilu kwasów tłuszczowych. Istotne zmiany wykazano w odniesieniu do sumy kwasów nasyconych i z grupy omega 3, jak i omega 6. Zmiany te dotyczyły kwasu alfa-linolenowego, EPA i DHA w tłuszczu mlekowym. Najwięcej LNA i EPA wykazano w mleku po 7 dniach suplementacji, natomiast DHA po 14 dniach suplementacji. W eksperymencie z dodatkiem cebuli wykazano istotne zwiększenie sumy kwasów omega 6, a spośród ich przedstawicielek prekursora – kwasu linolowego. Wykazano istotne zmiany w zawartości LA w tłuszczu mlekowym między poszczególnymi pobraniami z tendencją zwiększania z poziomu wyjściowego 1,27 g/100 g tłuszczu do 1,42 g po 21 dniach suplementacji. W trakcie zastosowania fitododatku w postaci cebuli wykazano istotne niekorzystne zwiększenie koncentracji nasyconych kwasów tłuszczowych, z poziomu wyjściowego 59,3 g/100 g tłuszczu mlekowego do 60,9 g po 21 dniach suplementacji. Nасыnienie tłuszczu mlekowego łączyło się z istotnym zwiększeniem głównie kwasu kaprylowego. Tego typu badania prowadzili jedynie Yang i He [19].

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych. Główną część białek serwatkowych w mleku stanowią albuminy, które są reprezentowane przez  $\alpha$ -laktoalbuminę (ALA),  $\beta$ -laktoglobulinę (BLG) oraz bydłęcą albuminę serum, tzw. albuminę surowicy krwi (BSA). BLG w odróżnieniu od kazeiny zawiera wolne grupy sulfhydrylowe – SH (pochodzące od cysteiny), którym przypisuje się charakterystyczny zapach mleka powstający podczas gotowania. Laktoferyna (Lf) i lizozym (Lz) posiadają właściwości antywirusowe, przez co oddziałują na RNA i DNA wirusów, a w wyniku procesu immunomodulacji charakteryzują się działaniem przeciwbiegunkowym – stymulują wzrost bakterii ze szczepu *Lactobacillus* – przez co poprawiają wchłanianie m.in. żelaza. Najwyższym poziomem Lz, Lf, ALA i BLG charakteryzowało się mleko po pierwszym i drugim tygodniu stosowania dodatków fitobiotycznych w żywieniu krów. Wyniki badań potwierdziły istotny wpływ poziomu LKS na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji białkowej. Najniższy poziom LKS związany był z najwyższym poziomem BLG. Natomiast odmienna zależność wykazana została w przypadku kształtowania się poziomu Lf, ALA i Lz – najwyższy poziom LKS związany był z ich najwyższym poziomem. Najwyższy poziom laktoferyny wykazano w mleku pozyskanym od krów, którym zadawano ekstrakt z czosnku – 0,857 mg/l, następnie cebulę – 0,703 mg/l, pyłek kwiatowy – 0,681 mg/l, a najmniej mieszankę oregano, rozmaryn i kminek – 0,278 mg/l.

Potencjał antyoksydacyjny mleka uzyskanego od krów żywionych fitododatkami uległ znacznemu podwyższeniu. Wykazano prawie 3-krotny wzrost poziomu TAS, co świadczy o zwiększeniu poziomu ochrony antyoksydacyjnej. Należy zaznaczyć, że wzrost zawartości  $\alpha$ -tokoferolu oraz  $\alpha$ -retinolu w tłuszczu mlekowym po zastosowaniu fitododatków może być również tłumaczony lepszym wykorzystaniem składników diety. Uzyskanie większego potencjału antyoksydacyjnego mleka po zastosowaniu fitododatków jest bardzo korzystne z punktu widzenia konsumenta i jakości technologicznej mleka [15].

Badania wykazały wzrost koncentracji witaminy E o średnio 50% po 21-dniowym okresie suplementacji względem pobrania kontrolnego. Należy podkreślić, że witamina E jest głównym antyoksydantem pochodzącym z frakcji tłuszczowej, chroniącym komórki przed reaktywnymi formami tlenu, a więc przed wolnymi rodnikami. Nie wykazano różnic statystycznych w koncentracji witamin lipofilnych mleka, ani całkowitego potencjału

antyoksydacyjnego w mleku krów ze zdiagnozowanym stanem subklinicznym *mastitis* żywionych dodatkiem mieszanki oregano, rozmarynu i kminku w celu profilaktycznym.

Podsumowując, zastosowane dodatki w postaci ekstraktu z cebuli, ekstraktu z czosnku, mieszanki ziołowej (oregano, rozmaryn i kminek) oraz pyłku kwiatowego do dawki pokarmowej krów ze zdiagnozowanym subklinicznym zapaleniem gruczołu mlekowego, wpłynęły na obniżenie liczby komórek somatycznych i ogólnej liczby bakterii w mleku oraz na podwyższenie koncentracji bioaktywnych składników odpowiedzialnych za immunostymulację, głównie w odniesieniu do laktoferyny i składników antyoksydacyjnych. Zaproponowane ilości certyfikowanych fitododatków: 5 g/sztukę/dobę ekstraktu z cebuli lub czosnku, po 6 g suszu z ziół oregano, rozmarynu i kminku oraz 150 g/sztukę/dobę pyłku kwiatowego okazały się niezawodne w profilaktyce *mastitis* w stanie podklinicznym.

Porównanie tych 4 wyselekcjonowanych dodatków charakteryzujących się różnym spektrum działania w przeprowadzonych doświadczeniach żywieniowych potwierdziło słuszność ich wyboru, nie dało natomiast jednoznacznej odpowiedzi, co do wybrania dawki suplementacyjnej wpływającej najkorzystniej na jakość cytologiczną i mikrobiologiczną mleka. W odniesieniu do jakości cytologicznej, ekstrakt z czosnku spowodował obniżenie liczby komórek somatycznych w mleku o 46%, a mieszanka ziół o 41,5%. Natomiast w odniesieniu do jakości mikrobiologicznej, zarówno cebula, jak i pyłek kwiatowy oddziaływały najkorzystniej, obniżając ogólną liczbę bakterii o 51%. Z ogółu badanych prób mleka pozyskanego od krów z subklinicznym stanem zapalenia gruczołu mlekowego wyizolowano i zidentyfikowano 10 różnych drobnoustrojów, a po zastosowaniu pyłku kwiatowego stwierdzono występowanie tylko jednego z nich.

Należy pokreślić, że przy zastosowaniu dodatku ekstraktu z cebuli i pyłku kwiatowego wykazano, że stan zdrowia gruczołu mlekowego u wszystkich badanych krów utrzymywał się stabilnie do końca doświadczenia, pomimo zaniechania suplementacji również po 4 tygodniach. Uzyskane wyniki stanowią doskonale uzupełnienie istniejącego stanu wiedzy i potwierdziły skuteczność zastosowanych dodatków paszowych w walce z subklinicznym stanem *mastitis* w gospodarstwach ekologicznych specjalizujących się w produkcji mleka oraz poprawy stanu zdrowotnego krów. Dodatkowo, podwyższenie koncentracji w dawce pokarmowej składników o właściwościach antyoksydacyjnych przy wykorzystaniu fitododatków jest naturalnym sposobem stymulacji układu immunologicznego krów, umożliwiającym ograniczenie stosowania chemioterapeutyków. Wysoka koncentracja bioaktywnych składników z naturalnych suplementacji w istotny sposób może wpływać na pobudzenie ochrony antyoksydacyjnej w stosunku do reaktywnych form tlenu, które w przypadku zachwiania homeostazy organizmu powodują obniżenie aktywności biologicznie aktywnych makromolekuł, m.in. immunoglobulin czy enzymów.

*Badania zrealizowano w ramach zadania „Badania nad nowatorskimi metodami ograniczenia występowania chorób i paszy zwierząt gospodarskich w warunkach produkcji ekologicznej” finansowanego z dotacji MRiRW zgodnie z umową nr HOR.re.027.6.2017.*

**Literatura:** 1. Caribu H.P., Suwarno A., Susanto A., Jayanegara A., 2016 – Effect of garlic extract and organic mineral supplementation on feed intake digestibility and milk yield of lactating dairy cows. *Asian J. Anim. Sci.* 10, 213-218. 2. Cheng G., Hao A., Xie S., Wang X. Dai M., Huang L., Yuan Z., 2014 – Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Front Microbiology* (doi:10.3389/fmicb.2014.00217). 3. Grela E.R., Klebaniuk R., Kwiecień M., Pietrzak K., 2013 – Fitobiotyki w produkcji zwierzęcej. *Przeg. Hod.* 3, 21-24. 4. Grzesiak B., Kołodziej B., Głowacka A., Krukowski H., 2018 – The effect of some natural essential oils against bovine mastitis caused by *Prototheca zopfii* isolates *in vitro*. *Mycopathologia* 83 (3), 541-550. 5. Gull I., Saeed M., Shaukat H., Aslam S.M., Samra Z.S., Athar A. M. 2012 – Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. *Ann.*

Clin. Microbiology and Antimicrobials (doi:10.1186/1476-0711-11-8). **6. Hashemzadeh-Cigari F., Khorvash M., Ghorbani G.R., Kadivar M., Riasi A., Zebeli Q.**, 2014 – Effects of supplementation with a phyto-biotics-rich herbal mixture on performance, udder health, and metabolic status of Holstein cows with various levels of milk somatic cell counts. J. Dairy Sci. 97, 7487-7497. **7. Kalińska A., Gołębiewski M., Wójcik A.**, 2017 – Mastitis pathogens in dairy cattle – a review. World Scientific News 89, 22-31. **8. Kapusta A., Kuczyńska B., Puppel K.**, 2018 – Relationship between the degree of antioxidant protection and the level of malondialdehyde in high-performance Polish Holstein-Friesian cows in peak lactation. PLOS ONE 13 (3) (doi 10.1371/journal.pone.0193512). **9. Kuczyńska B., Serafin W., Puppel K.**, 2016 – Próba zastosowania ekstraktu z *Echinacea purpurea* w zwalczaniu bakterii patogennych wywołujących mastitis u krów. Rozdział w monografii „Mikrobiologia oraz metody analityczne w nauce”. Wyd. Tygiel, Lublin, 166-176. **10. Komosińska-Vashev K., Olczyk P., Kaźmierczak J., Mencner Ł., Olczyk K.**, 2015 – Bee Pollen: chemical composition and therapeutic application. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine (doi: 10.1155/2015/297425). **11. Malinowski E., Gajewski Z.**, 2009 – Charakterystyka zapaleń gruczołu mlekowego u krów wywołanych przez odżywnościowe patogeny człowieka. Ży-cie Wet. 84 (4), 290-294. **12. Montironi I.D., Cariddi L.N., Reinoso E.B.**, 2016 – Evaluation of the antimicrobial efficacy of *Menthastachys verticillata* essential oil and limonene against *Streptococcus uberis* strains isolated from bovine mastitis. Revista Argentina Microbiol. 48 (3), 210-216. **13. Mussarat S., Amber R., Tariq A., Adnan M., Abdelsalam N.M., Ullah R., Bibi R.**, 2014 – Ethnopharmacological Assessment of Medicinal Plants Used against Livestock Infections by the People Living around Indus River. Biomed Research Internat. (doi. org/10.1155/2014/616858). **14. Pasca C., Mărghitas L., Dezmirean D., Bobis O., Bonta V., Chirilă F., Matei I., Fit N.**, 2017 – Medicinal Plants Based Products Tested on Pathogens Isolated from Mastitis Milk. Molecules (doi:10.3390/molecules22091473). **15. Puppel K., Sakowski T., Kuczyńska B., Grodkowski G., Gołębiewski M., Barszczewski J., Wróbel B., Budziński A., Kapusta A., Balcerak M.**, 2017 – Degrees of antioxidant protection: a 2-year study of the bioactive properties of organic milk in Poland. J. Food Sci. 82 (2), 523-528. **16. Rossi G., Schiavon S., Lomolino G., Cipolat-Gotet C., Simonetto A., Bittante G., Tagliapietra F.**, 2018 – Garlic (*Allium sativum* L.) fed to dairy cows does not modify the cheese-making properties of milk but affects the color, texture, and flavor of ripened cheese. J. Dairy Sci. 101 (3), 2005-2015. **17. Sosin-Bzducha E., Strzetelski J.**, 2012 – Propolis źródłem flawonoidów korzystnych dla zdrowia i produkcyjności bydła. Wiad. Zootech. 2, 23-28. **18. Teleb D.F., El-Saied U.M., Sallam A.A., El-Baz A.M., Hussein A.M.**, 2009 – Effect of using *Echinacea* extract as immune-stimulating additive on milk yield traits, immunity and udder health of Zaraibi Goats. Egyptian J. Sheep & Goat Sci. 4 (2), 33-53. **19. Yang W.Z., He M.L.**, 2016 – Effects of Feeding Garlic and Juniper Berry Essential Oils on Milk Fatty Acid Composition of Dairy Cows. Nutrition and Metabolic Insights 9, 19-24.

## The use of phyto-biotics in the prevention and treatment of sub-clinical mastitis in cows in organic production conditions

### Summary

The study described strategies for preventing sub-clinical mastitis in cows in organic production conditions. Plant-based additives obtained from organic production, i.e. onion extract, garlic, mixtures of oregano, cumin and rosemary, and bee pollen, were used for prevention and treatment of mastitis in cows in organic production conditions. The results contribute to existing knowledge on the subject and have confirmed the effectiveness of these feed supplements in sub-clinical mastitis and in improving the health condition of cows on organic dairy farms. In addition, the use of phyto-biotics to increase the concentration of nutrients with antioxidant properties in the feed ration is a natural way to stimulate the immune system of cows, making it possible to limit the use of chemotherapeutic agents. The high concentration of bioactive components resulting from natural supplementation can significantly stimulate antioxidant protection against reactive oxygen species, which in the case of disturbed homeostasis cause a decrease in the activity of biologically active macromolecules, such as immunoglobulins or enzymes. Further research is necessary to investigate this subject.

**KEY WORDS:** alternative antibiotics, sub-clinical mastitis prevention, organic farm

## Polifenole jako modulatory przemian w przewodzie pokarmowym zwierząt

Dawid Kuźnicki, Paulina Szulc,  
Małgorzata Szumacher-Strabel, Adam Cieślak

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Katedra Żywnienia Zwierząt

Zainteresowanie polifenolami, jako modulatorami przemian zachodzących w przewodzie pokarmowym zwierząt monoga-

strycznych, jak i przeżuwających, wzrosło znacząco w ostatnich latach [8, 9, 23]. Odkryto tysiące związków zaliczanych do grupy polifenoli, co skłoniło do dokonania ich podziału na grupy. Na przykład pod względem budowy struktury węglowej można wyróżnić kwasy fenolowe i flawonoidy [17]. Do kwasów fenolowych zalicza się związki posiadające pierścień fenolowy oraz grupę karboksylową. Liczba atomów węgla w łańcuchu bocznym determinuje dalszy podział kwasów fenolowych na kwasy benzoesowe, fenylooctowe i cynamonowe (rys. 1).

Prekursorami kwasów fenolowych są aminokwasy tyrozyna i fenyloalanina. W roślinach fenolokwasy występują głównie w postaci estrów lub glikozydów. Najbardziej rozpowszechnione w roślinach są pochodne kwasu cynamonowego, natomiast najbardziej rozpowszechnioną pochodną kwasu cynamonowego jest kwas kawowy [16].

Drugą klasą polifenoli są flawonoidy, które można podzielić na podklasy: flawony, flawanony, flawonole, flawanole, izoflawony i antocyjany [17]. Na rysunku 2. przedstawiono ogólny