Warszawa, 27 listopada, 2017

**Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi**

**Departament Hodowli i Ochrony Roślin**

**00-930 Warszawa**

**ul. Wspólna 30**

Wyjaśnienia odnośnie raportu końcowego do projektu „***Badania nad nowatorskimi metodami ograniczania występowania chorób i pasożytów  zwierząt gospodarskich w warunkach produkcji ekologicznej*”**

W odpowiedzi na pismo z dnia 22.11.2017 r., ID: 286163

wnoszę co następuje:

1. Zmiana dodatku ekstraktu jeżówki na mieszankę ziołową oregano, rozmaryn kminek była podyktowana niemożnością zakupu wymaganej ilości certyfikowanego suplementu w okresie prowadzenia badań, a zaproponowana mieszanka ziół posiada również właściwości bakteriostatyczne i dodatkowo mlekopędne.

2. Zmiana podawania dodatków zwierzętom metoda do pyska zastąpiona metodą do żłobu wynikała z niemożności technicznego podawania do pyska krowy takich ilości dodatków jak opisano w metodyce - dodatkowo z praktycznego punktu widzenia po powrocie krów z pastwiska mieszanie dodatków z paszą treściwą w żłobie było łatwiejsze do dozowania i kontrolowania.

3. Zmiana pobierania prób z doju rannego na wieczorny była uzasadniona logistyką: odległość od laboratorium gospodarstw i przywożenie prób do laboratorium wieczorem umożliwiało wykonanie analiz w najkrótszym czasie od momentu pobrania prób.

Ponadto raport uzupełniono o wyniki wszystkich zaplanowanych oznaczeń: podstawowego składu i jakości dawek pokarmowych dla krów, ogólnego składu chemicznego mleka, parametrów przydatności technologicznej mleka oraz zawartości kwasów tłuszczowych.

kierownik projektu

dr hab. Beata Kuczyńska, prof. SGGW

**Raport końcowy**

Na podstawie § 8 ust. 6 rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. *w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa* (Dz. U. 2015 poz. 1170), udzielona została dotacja na zadanie „***Badania nad nowatorskimi metodami ograniczania występowania chorób i pasożytów  zwierząt gospodarskich w warunkach produkcji ekologicznej*”**.

Projekt zrealizowano na Wydziale Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie przez zespól badawczy: **dr hab. Beatę Kuczyńską, prof. SGGW kierownik projektu**, oraz głównych wykonawców dr hab. Beatę Madras-Majewską, prof. SGGW oraz dr inż. Kamilę Puppel.

Głównym celem projektu było zbadanie możliwości wykorzystania dodatków fitogennych pozyskanych z produkcji ekologicznej w postaci:

* **ekstraktu z cebuli;**
* **ekstraktu z czosnku;**
* **mieszanki: oregano, rozmarynu, kminku;**
* **pyłku kwiatowego;**

jako niekonwencjonalnej metody leczenia subklinicznego zapalenia gruczołu mlekowego  krów w ekologicznym systemie produkcji.

Wymierny efekt projektu to wybór dodatku, który umożliwiłby właściwą profilaktykę, ewentualnie ograniczenie stosowania chemioterapeutyków oraz antybiotyków w ekologicznym systemie produkcji w gospodarstwach specjalizujących się w produkcji mleka. Z wyjątkiem szczepień, zwalczania pasożytów i wszelkich obowiązkowych programów zwalczania chorób, jeżeli krowy poddane są 2 lub większej liczbie zabiegów za pomocą leków syntetycznych w okresie jednego roku, muszą być objęte okresem konwersji. Uzyskane wyniki badań prezentujemy w poniższym raporcie, dodatkowo planowane jest w najbliższej przyszłości napisanie publikacji naukowych. Nadmieniamy, że wyniki zostały przedstawione również dla doradców rolnych podczas seminarium zorganizowanym przez Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie w dniach 28-29 września 2017 (wygłoszono prezentację pt. "Fitobiotyki w profilaktyce i leczeniu *mastitis* w warunkach produkcji ekologicznej") i na bezpośrednich spotkaniach z rolnikami, jak również pierwszy raz zamieszczone na stronie internetowej w dniu 15 listopada 2017: Wydziału Nauk o Zwierzętach: <http://animal.sggw.pl/> oraz Stowarzyszenia Forum Rolnictwa Ekologicznego im. Mieczysława Górnego, którego kierownik projektu dr hab. Beata Kuczyńska, prof. SGGW jest czynnym członkiem. Po raz drugi wersja poprawiona zostanie zamieszczona na tych samych stronach po zatwierdzeniu przez MRiRW.

  Autorki projektu włączyły do realizacji projektu studentów studiów I i II stopnia dwóch kierunków: Zootechnika i Bioinżynieria WNZ SGGW, czego efektem będą minimum 2 prace dyplomowe planowane w roku akademickim 2018/2019.

**1. Przesłanki do przeprowadzenia badań**

Rolnictwo ekologiczne jest alternatywnym do rolnictwa konwencjonalnego systemem gospodarowania i produkcji żywności. Ekorolnictwo produkuje żywność metodami naturalnymi w czystym i bezpiecznym środowisku, z wyłączeniem nawozów sztucznych i syntetycznych środków ochrony roślin, antybiotyków, hormonów, stymulatorów wzrostu i genetycznie modyfikowanych organizmów (Tyburski i Żakowska-Biemans, 2007). Wszelkie zabiegi dotyczące zdrowia krów w gospodarstwach ekologicznych powinny być ukierunkowane przede wszystkim na profilaktykę, która opiera się na następujących zasadach: dobór odpowiednich ras zwierząt, prowadzenie chowu w warunkach zgodnych z wymaganiami gatunku, dostęp do świeżego powietrza, wody, paszy i naturalnego światła, stosowanie wysokiej jakości pasz w połączeniu z dostępem do wybiegów i pastwisk. Natomiast zabronione jest profilaktyczne stosowanie chemicznie syntetyzowanych leków weterynaryjnych (leków alopatycznych) i antybiotyków. W przypadku wystąpienia stanu chorobowego zaleca się wykorzystanie w leczeniu następujących grup środków: ekstraktów roślinnych (z wyjątkiem antybiotyków), esencji, preparatów homeopatycznych i mikroelementów. W razie konieczności (ratowania życia lub ulżenia w cierpieniu) zezwala się w gospodarstwach ekologicznych na użycie leków konwencjonalnych pod kontrolą weterynarza. Zakazane jest stosowanie substancji takich jak chemioterapeutyki (np. kokcydiostatyki) oraz stymulujących wzrost (antybiotyków, hormonów i środków podobnych w działaniu). Jeśli zajdzie konieczność zastosowania leków konwencjonalnych - 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 alopatycznych lub antybiotyków w czasie jednego roku, muszą być objęte okresem przestawiania (czyli konwersji która trwa min. 6 miesięcy).

Zapalenie gruczołu mlekowego krów, czyli ***mastitis*** obok niepłodności i zaburzeń metabolicznych zalicza się do najpoważniejszych źródeł strat w produkcji mleka. Stany zapalne wymienia powodują szereg zmian w mleku, a ich nasilenie zależy od postaci. Obniżeniu ulega zawartość składników podstawowych, tj. laktoza, kazeina, tłuszcz, witaminy, wapń, fosfor, potas, magnez, wzrasta zaś liczba komórek somatycznych. W mleku takim pojawiają się tzw. substancje hamujące, które są przyczyną nie tylko fałszywych wyników w testach na obecność antybiotyków, ale też upośledzają technologiczne procesy w mleczarstwie.

***Mastitis*** jest głównym źródłem występowania w mleku drobnoustrojów patogennych i toksyn szkodliwych zarówno dla zwierząt, jak i dla człowieka. Fitobiotyki, preparaty pochodzenia roślinnego są obecnie jednym z najpopularniejszych zagadnień wśród badaczy i zapewne zainteresowanie nimi będzie nadal wzrastało przede wszystkim ze względu na szerokie spektrum działania, ale także że względu na ich naturalne pochodzenie. Fitobiotyki swoje dobroczynne działanie zawdzięczają głównie związkom fenolowym - flawonoidom. Jednym z najsilniejszych flawonoidów jest kwercetyna. Jest to składnik wielu roślin leczniczych. Działanie lecznicze kwercytyny nie ogranicza się tylko zmniejszania stanu zapalnego i obrzęku, ale przede wszystkim hamuje reakcje alergiczne, zabija wirusy i działa jako antyoksydant. Największe stężenie kwertycyny znajduję się w zewnętrznych łuskach cebuli. Napar z takich łusek cebulowych ma właściwości bakteriobójcze, niszczy także bakterie oporne na działanie antybiotyków. Zapach i właściwości bakteriobójcze cebuli wynikają także z zawartości organicznych związków siarki, które są aktywne nawet w bardzo małych stężeniach. Cebula, poza niedoborami witaminy C, może uzupełniać niedobory witamin A, B1, B2, PP, a także wielu mikroelementów, przede wszystkim cynku, ważnego czynnika w odporności przeciwwirusowej, selenu - czynnika przeciwmiażdżycowego, fosforu - budulca tkanki kostnej, żelaza - składnika hemoglobiny, czerwonego barwnika krwi i podstawowego nośnika tlenu, oraz wapnia. Wykazuje również działanie anaboliczne, zmniejszając podatność na stres, a także niweluje negatywny wpływ substancji przeciw-odżywczych. 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 (Grela i in., 1998b; Kohlmunzer, 1998; Craig 1999; Frankič in., 2009).

Dodatki paszowe pełniące rolę promotorów wzrostu korzystnie wpływają na ekosystem przewodu pokarmowego, głównie poprzez hamowanie wzrostu mikroorganizmów chorobotwórczych. Zioła, poprzez poprawę i zachowanie równowagi mikrobiologicznej w obrębie przewodu pokarmowego, mogą w znaczący sposób zniwelować także zagrożenia związane z toksynami pochodzenia mikrobiologicznego. Spełniają funkcje osłonowe (np. len), działają jako regulatory przemiany materii (np. kozieradka). W konsekwencji przyczyniają się do wzrostu odporności zwierząt narażonych na stres (w momencie odsadzenia, zmiany paszy, transportu) oraz zwiększają absorpcję niezbędnych składników odżywczych, poprawiając w ten sposób wzrost zwierząt (Windisch i in., 2008).

 Ze względu na różnorodność składników aktywnych, fito dodatki różnie wpływają na procesy trawienne. Większość z nich stymuluje wydzielanie śliny. Tito dodatkiwpływają również na zwiększenie syntezy kwasów żółciowych w wątrobie i ich wydzielanie z żółcią, co korzystnie wpływa na trawienie i wchłanianie lipidów. Fito dodatki dodawane do pasz mogą stymulować wytwarzanie wydzielin trawiennych takich jak ślina, enzymy trawienne, żółć i śluz jelitowy lub zwiększać aktywność enzymów (np. lipaza, amylaza, trypsyna). Zwiększona aktywność enzymatyczna oraz wzmożone wydzielanie kwasów żółciowych modyfikują korzystnie przebieg procesów trawiennych w przewodzie pokarmowym, przez co znacznie ograniczone zostaje zakwaszenie żwacza. Ponadto fito dodatki poprzez szerokie spektrum swojego działania (działanie przeciwbiegunkowe, przeciwzapalne i przeciwgorączkowe) poprawiają stan zdrowia zwierząt. Szczególną rolę w tej dziedzinie spełniają fitoncydy, wykazujące działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze. Zalicza się do nich m.in. ekstrakt z czosnku czy cebuli, różne zioła, czy pyłek kwiatowy zbierany przez pszczoły, który jest dość zróżnicowanym produktem roślinnym, bogatym w substancje biologicznie aktywne. Do zasadniczych grup chemicznych pyłku kwiatowego zalicza się: białka i aminokwasy, węglowodany, lipidy i kwasy tłuszczowe, związki fenolowe, enzymy i koenzymy, a także witaminy i biopierwiastki (Iannuzzi 1993; Szapiro i inni 1985). Badania kliniczne wykazały cenne właściwości biologiczne pyłku kwiatowego.

Za najważniejsze uznano właściwości: odżywcze, regeneracyjne, hipolipemiczne, odtruwające (detoksykacyjne), adaptogenne, antybakteryjne, przeciwzapalne, przeciwalergiczne a także przeciwnowotworowe (Wilde i Prabucki 2008). Egzogenne kwasy tłuszczowe mają wpływ na zwiększenie odporności organizmu, zapobiegają chorobom skóry. Związki zawarte we frakcji tłuszczowej odpowiedzialne są między innymi za hamowanie procesów zapalnych (prostaglandyny E). Poza tym pyłek kwiatowy przyczynia się do wzrostu odporności organizmu na zakażenia. U zwierząt zaobserwowano, iż powoduje wzrost liczby limfocytów, wzmaga wytwarzanie przeciwciał i przyśpiesza leczenie zakażeń (Kędzia i Hołderna–Kędzia 1992).

**2. Materiał i metodyka badań**

**2.1. Opis doświadczeń**

Doświadczenia przeprowadzono w gospodarstwach ekologicznych specjalizujących się w produkcji mleka. Doświadczenia przeprowadzone zostały na 28 krowach rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (po 7 w każdej z grup suplementacyjnych). Wyselekcjonowane ze stad podstawowych krowy znajdowały się w zbliżonym przedziale wiekowym (1. i 2. laktacja), charakteryzowały się podobną wydajnością (15,0 ± 2,0 kg /dzień). Eksperymentem były objęte krowy ze zdiagnozowanym subklinicznym stanem *mastitis* (minimum 7 sztuk w każdym gospodarstwie). Była to minimalna liczba zwierząt do przeprowadzenia tego typu doświadczeń uwzględniająca również wymagania Komisji Etyki, wskazujące na redukowanie liczby zwierząt doświadczalnych. Doświadczenie przeprowadzono w sezonie żywienia letniego, w trakcie którego podstawę żywienia krów stanowiły pasze objętościowe - zielonki z niewielkim dodatkiem pasz treściwych. Zielonka pastwiskowa pobierana przez krowy *ad libitum*, natomiast pasza treściwa razem z fito dodatkami przed dojem wieczornym.

Dodatki podawano po wymieszaniu z paszą treściwą codziennie o tej samej porze (w godzinach wieczornych) przez okres 5 tygodni każdej krowie indywidualnie do żłobu. Zadawanie dodatków, jak również ich pobieranie przez krowy było kontrolowane przez właściciela wytypowanego gospodarstwa jak również przez wykonawców projektu.

W ramach realizacji projektu wprowadzono cztery różne fito dodatki w postaci:

* **cebuli [5 g/d/szt.]**
* **czosnku [5 g/d/szt.]**
* **mieszanki ziołowej: oregano, rozmarynu, kminku [6 g/d/szt.: w układzie 1:1:1]**
* **pyłku kwiatowego:[150 g/d/szt].**

 Porównanie 4 wyselekcjonowanych dodatków charakteryzujących się różnym spectrum działania w przeprowadzonych doświadczeniach żywieniowych, umożliwiło wybranie dawki suplementacyjnej wpływającej najkorzystniej na jakość cytologiczną i mikrobiologiczną mleka .

Do analiz jakości higienicznej surowca będącej wskaźnikiem zdrowotności gruczołu mlekowego łącznie pobrano w trakcie 9 pobrań 252 próby mleka w sposób aseptyczny wg poniższego harmonogramu: 4 gospodarstwa z których wybrano 7 krów ze zdiagnozowanym subklinicznym stanem *mastitis*.

Doświadczenie żywieniowe podzielone zostało na trzy okresy w odniesieniu do jakości higienicznej (cytologicznej i mkrobiologicznej) surowca:

* **Wstępny** - trwający 2 tygodnie, podczas którego wprowadzana będzie suplementacja.
* W pierwszym dniu okresu wstępnego pobierano próbki mleka od każdej krowy z gospodarstwa w celu wyboru krów z subklinicznym *mastitis* (pobranie 1.), potem po 1 i 2 tygodniach (2 i 3 pobranie) od 7 krów dalej biorących udział w doświadczeniu
* **Właściwy** - trwający 3 tygodnie, podczas którego, każdej krowie indywidualnie bezpośrednio do żłoba podawano suplementy. W pierwszym dniu okresu właściwego, a także na początku każdego tygodnia (w sumie 3 pobrania) pobrano próbki mleka pobranie 4., 5., 6.)
* **Po-suplementacyjny** - trwający 3 tygodnie. Wykonano 3 pobrania po każdym zakończonym tygodniu od zakończenia podawania dodatków, w celu ustalenia długości czasu skutecznego zadawania (pobranie 7,8 i 9)

Próbkę do analiz stanowiło mleko (25 ml) pozyskane z doju wieczornego w danym dniu, umieszczone w sterylnych plastikowych pojemnikach, zgodnie z załączonym wcześniej planem doświadczenia.

Po bezpośrednim dostarczeniu do Laboratorium Oceny Mleka Zakładu Hodowli Bydła SGGW oznaczano LKS I OLD. Jakość mikrobiologiczna mleka to stan ilościowy i jakościowy mikroflory mleka. Prawidłowo żywiona i zdrowa krowa produkuje mleko o bardzo wysokiej, wręcz sterylnej czystości na poziomie do 10 tys OLD/cm3. Mikrobiologiczne posiewy mleka wykonano przy użyciu aparatu WASP do automatycznego posiewu spiralnego na płytkach Petriego, a wynik odczytano (OLD) przy wykorzystaniu licznika Countermat wyposażonego w kamerę wideo oraz specjalistyczną aplikację.

Do analizy mikrobiologicznej mleka wykorzystano:

* agar bakteriologiczny
* pożywkę chromogenną Uri-color do selekcji *E. coli* indol (+), bakterii z grupy KESC, *Enterococcus*, *Proteus vulgaris* oraz *Staph. aureus*
* pożywkę TBX Tryptone Bile X-glucoronide selekcyjno namnażającą do wykrywania *E.coli* beta glukoronidazowo (+)

Następnie w pobranych próbkach mleka oznaczano podstawowy skład chemiczny za pomocą aparatu MilkoScan FT 120 oraz sprawdzono stężenia bioaktywnych substancji o właściwościach immunostymulacyjnych w mleku przy wykorzystaniu RP-HPLC, oraz o właściwościach przeciwutleniających oraz po przeprowadzeniu ekstrakcji tłuszczu metodą Rose-Gottlieba zawartość kwasów tłuszczowych

Doświadczenie żywieniowe odnośnie zastosowania fitobiotyków ***jako narzędzi wspomagających naturalny system obronny organizmu krowy*** obejmowało podzielone dwa okresy: wstępny (trwający 7 dni, podczas którego wprowadzana była stopniowo suplementacja dodatkami) oraz właściwy - trwający 21 dni, podczas którego, każdej krowie podawane były suplementy wymieszane z paszą treściwą. Próbki mleka do analiz laboratoryjnych (250 ml) pobierane były trzykrotnie podczas okresu suplementacyjnego do sterylnych plastikowych pojemników. Próbę kontrolną stanowiło mleko od krów biorących udział w doświadczeniu pobrane przed rozpoczęciem okresu suplementacyjnego. Harmonogram oznaczania substancji biologicznie czynnych w mleku w trakcie eksperymentów żywieniowych z fito dodatkami dt jakości odżywczej i immunomodulacyjnej oraz zawartości kwasów tłuszczowych obejmował pobranie kontrolne i 3 tygodnie, podczas których, każdej krowie indywidualnie bezpośrednio do żłoba podawano fito dodatki zmieszane z 500g paszy treściwej:

* pobranie 1. - początek doświadczenia (pobranie kontrolne)
* pobranie 2. - po 7. dniach żywienia  odpowiednim dodatkiem
* pobranie 3. - po 14 dniach żywienia odpowiednim  dodatkiem pobranie
* 4. - po 21 dniach żywienia odpowiednim dodatkiem

Dodatkowo kontrolowano, czy krowy zjadły wszystko - nie wykazano żadnych nieprawidłowości w żywieniu.

**2.2. Zastosowane metody analityczne**

**W pobranych próbkach mleka oznaczono:**

* ***Podstawowy skład chemiczny* (tłuszcz, białko ogólne, laktoza, sucha masa, sucha masa beztłuszczowa)** przy wykorzystaniu aparatu MilkoScan FT 120 firmy Foss Electric.
* ***Parametry przydatności technologicznej*** (punkt zamarzania mleka, gęstość, kwasowość potencjalną, zawartość kwasu cytrynowego, poziom wolnych kwasów tłuszczowych) przy wykorzystaniu aparatu MilkoScan FT 120 firmy Foss Electric.
* ***Stosunek tłuszczowo-białkowy, poziom mocznika w mleku oraz stężenie aldehydu dimalonowego*** (MDA) za pomocą testu z kwasem 2-tiobarbituranowym (TBA) spektrofotometrycznie.
* **Liczbę komórek somatycznych** - tys./cm3 (LKS) przy użyciu aparatu Somacount 150 firmy Bentley.
* **Jakość mikrobiologiczną** - OLD (posiewy spiralne WASP i odczyt Countermat)
* **TAS (total antioxidant status)** - za pomocą Testu Randox - analiza polega na spektrofotometrycznym pomiarze stopnia zmiany barwy powstałego reaktywnego rodnika ABTS® (2,2'-Azyno-di-[sulfonian 3-etylbenztiazoliny]) w czasie dokładnie ustalonym wg aplikacji firmy Randox.
* **Witaminy rozpuszczalne w tłuszczu i β-karoten** oznaczono przy wykorzystaniu HPLC w odwróconym układzie faz (RP-HPLC) i aparatu Agilent 1100 wyposażonego w kolumnę ZORBAX Eclipse XDB - C8, o średnicy 4,5 mm x 150 mm. Fazę mobilną stanowiła woda podwójnie demineralizowana z systemu Millipore i MeOH (firmy Merck) w proporcji 5:95, przepływ przez kolumnę wynosił 1,0 ml/min. przy detekcji UV wynoszącej 280 nm wg. metodyki Puppel i wsp. (2016).
* **Białka serwatkowe:** Lz, Lf, α-LA, β-LG oznaczono przy wykorzystaniu RP-HPLC i kolumny Luna C18 wg. metodyki Puppel i wsp. (2016). Fazę mobilną A stanowiła mieszanina acetonitrylu z kwasem 0,1 % TFA (oba odczynniki firmy Merck), fazę B - mieszanina acetonitrylu z wodą (5:95) i kwasem 0,1 % TFA. Przepływ przez kolumnę wynosił 1,0 ml/min. przy detekcji UV wynoszącej 220 nm. Analiza ilościowa wykona została za pomocą kalibracji przy użyciu wzorców białek serwatkowych firmy Sigma-Aldrich.
* ***Zawartość kwasów tłuszczowych*** z uwzględnieniem BA, TVA, LA, LNA, EPA, DHA i CLA oznaczono przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej za pomocą chromatografu gazowego Agilent 7890A z podajnikiem automatycznym na 150 próbek, wyposażonym w detektor FID oraz kolumnę Varian Select FAME (wyprodukowaną przez firmę Candela) o długości 100 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm, grubości filmu fazy ciekłej polarnej 0,25µm.

Określono również ***skład chemiczny pasz*:** oznaczono suchą masę, popiół surowy, białko ogólne (Nx6,25), ekstrakt eterowy, ADF, NDF zgodnie z procedurą opisaną przez AOAC (1990) z zastosowaniem aparatury Tecator.

**2.3. Analiza statystyczna wyników**

Uzyskane dane opracowano statystycznie, stosując wieloczynnikową analizę wariancji metodą najmniejszych kwadratów za pomocą pakietu SPSS 24 (2017). W badaniach uwzględniono tylko te interakcje między czynnikami, których wpływ był istotny statystycznie (P ≤0,01 lub P ≤0,05), co ustalono po wstępnych analizach statystycznych.

Do określenia zależności między dawkami pokarmowymi a zawartością poszczególnych składników mleka użyto następującego modelu statystycznego:

**Y*ijk*= μ + A*i*+ B*j* + (A*i* x B*j*) + e*ijk***

gdzie: **Y *ijk***- wartość badanej cechy; **μ** - średnia ogólna; **A*i***– efekt *i*-tej dawki pokarmowej (*i* = 1 - 4)

**B*j***– efekt *j*-tego numeru pobrania (*j* = 1 - 8); **(A*i* x B*j*)** – interakcja *i*-tej dawki pokarmowej i *j*-tego numeru pobrania; **e*ijk*** – błąd standardowy

**3. Wyniki**

**3.1 Żywienie krów objętych badaniami**

W letnich zestawach paszowych w gospodarstwach ekologicznych wyodrębniono cztery dawki pokarmowe. Podstawę żywienia krów stanowiła ruń pastwiskowa oraz pasza treściwa W dawce 1 zastosowano dodatek fitobiotyku w postaci cebuli, w dawce 2. w postaci czosnku, w dawce 3 mieszanki ziołowej z oregano, rozmarynu i kminku, a w dawce 4 w postaci pyłku kwiatowego w ilościach podanych w metodyce. Ocena organoleptyczna badanych pasz wykazała, że były one dobrej i bardzo dobrej jakości. Dawki pokarmowe stosowane w badanych gospodarstwach przedstawiono w tabeli 1. Natomiast skład chemiczny stosowanych pasz oraz ich wartość pokarmową przedstawiono w tabelach 2, 3 i 4

**Tabela 1. Skład dawek pokarmowych stosowanych w doświadczeniu [kg]**

|  |
| --- |
| **Okres żywienia letniego** |
| **Pasza** | **Dawka 1** | **Dawka 2** | **Dawka 3** | **Dawka 4** |
| **Pastwisko**  | 43 | 45 | 40 | 40 |
| **Pasza treściwa** | 1 | 1 | 1 | 2 |
| **Dodatek suplementacyjny** |  cebula | czosnek | Mieszanka ziołowa oregano+rozmaryn+kminek  | Pyłek kwiatowy |

**Tabela 2. Podstawowy skład chemiczny dodatków stosowanych w żywieniu krów doświadczalnych**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Składnik [%]** | **Cebula** | **Czosnek** | **Oregano** | **Kminek** | **Rozmaryn** | **Pyłek kwiatowy** |
| **Białko**  | 1,34 | 7,22 | 14,5 | 19,7 | 4,89 |  22,0 |
| **Tłuszcz** | 0,2 | 0,6 | 2,13 | 15,4 | 13,14 |  5,4 |

**Tabela 3. Wartość pokarmowa pasz stosowanych w żywieniu krów doświadczalnych**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Pasza** | **JPM** | **BTJN [g/kg]** | **BTJE [g/kg]** |
| **Dawka 1 -zielonka** | 0,83 | 98,47 | 89,47 |
| **Dawka 2 -zielonka** | 0,85 | 102,52 | 83,24 |
| **Dawka 3 -zielonka** | 0,88 | 112,36 | 96,25 |
| **Dawka 4 -zielonka** | 0,84 | 84,47 | 81,25 |
| **Dawka 1-pasza treściwa**  | 1,09 | 81,00 | 102,68 |
| **Dawka 2-pasza treściwa**  | 1,06 | 74,95 | 97,85 |
| **Dawka 3-pasza treściwa**  | 1,14 | 83,55 | 109,08 |
| **Dawka 4-pasza treściwa**  | 1,12 | 72,67 | 92,11 |

**Tabela 4. Podstawowy skład chemiczny dawek stosowanych w żywieniu krów doświadczalnych [%]**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Pasza** | **Sucha masa** | **Popiół** | **Białko ogólne** | **Tłuszcz** | **Włókno surowe** | **NDF** | **ADF** |
| **Dawka 1-zielonka** | 100 | 8,00 | 12,10 | 2,23 | 25,57 | 39,06 | 28,79 |
| **Dawka 2 -zielonka** | 100 | 8,62 | 17,41 | 3,99 | 26,71 | 48,72 | 30,16 |
| **Dawka 3 -zielonka** | 100 | 7,51 | 16,04 | 3,72 | 22,79 | 45,04 | 37,32 |
| **Dawka 1-zielonka** | 100 | 8,42 | 14,35 | 2,68 | 26,42 | 42,80 | 32,21 |
| **Dawka 1- pasza treściwa**  | 100 | 3,48 | 16,45 | 3,05 | 7,07 | 28,02 | 29,52 |
| **Dawka 2- pasza treściwa**  | 100 | 2,26 | 13,87 | 2,17 | 6,28 | 38,12 | 24,55 |
| **Dawka 3- pasza treściwa**  | 100 | 2,36 | 11,47 | 2,14 | 8,22 | 35,91 | 27,09 |
| **Dawka 4- pasza treściwa**  | 100 | 1,80 | 17,22 | 2,74 | 5,35 | 35,84 | 23,24 |

**3.2. Oszacowanie wpływu dodatków na kształtowanie się jakości mikrobiologicznej oraz cytologicznej surowca**

***Jakość cytologiczna surowca***

**1. Eksperyment żywieniowy z fito dodatkiem w postaci cebuli**

**Wykres nr 1**

Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli ma jakości cytologiczną mleka u 7 krów z subklinicznym stanem *mastitis* przed (1 pobranie) w trakcie stosowania (pobranie 2, 3,4, 5, 6) i po zakończeniu stosowania (pobranie 7, 8, 9)

Wszystkie krowy w subklinicznym stanie *mastis* zareagowały pozytywnie obniżeniem LKS poniżej 400 tys/cm3 zarówno w trakcie zadawania dodatku ekstraktu z cebuli, jak i po jego odstawieniu.

Wykazano, że w mleku badanych krów nastąpiło prawie 3-krotne obniżenie LKS z poziomu wyjściowego na poziomie 645 tys/cm3 do 433 tys/cm3 już po 21 dniach stosowania dodatku ekstraktu z cebuli. Dane przedstawione na wykresie 1, wskazują, że stan zdrowia gruczołu mlekowego krów z każdym tygodniem stosowania fito dodatku w postaci cebuli poprawiał się i utrzymywał sie stabilnie do końca doświadczenia, nawet pomimo zaniechania suplementacji.

Tabela 5 Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na jakość cytologiczną (LKS) i mikrobiologiczną (OLD) mleka krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| LKS [tys/cm3] | 1. kontrola
 | 645abC | 162 |
| 21 | 433a | 271 |
| 28 | 373b | 216 |
| 35 | 216C | 151 |
| Ogółem | 417 | 249 |
| OLD[tys/cm3] | 1 | 232 | 126 |
| 7 | 232 | 266 |
| 14 | 165 | 122 |
| 21 | 55 | 46 |
| Ogółem | 171 | 169 |

W badaniach wykazano istotną korelację między LKS a OLB (r2 = 0,692 przy p ≤ 0,01).

**2. Eksperyment żywieniowy z fito dodatkiem w postaci czosnku**

**Wykres nr 2**

Wpływ zastosowania **fito dodatku w postaci czosnku** na kształtowanie się jakości cytologicznej mleka u 7 krów z subklinicznym stanem *mastitis* przed (1 pobranie) w trakcie stosowania (pobranie 2, 3, 4, 5, 6) i po zakończeniu stosowania (pobranie 7, 8, 9)

Wszystkie krowy ze zdiagnozowanym subklinicznym stanem *mastis* zareagowały pozytywnie 2-krotnym obniżeniem LKS dz 472 do 218 tys/cm3 w trakcie okresu właściwego tj. zadawania **czosnku (od 21 do 35 dnia doświadczena – 4,5,6 pobranie).** Natomiast po jego odstawieniu u trzech krów LKS znów wykazywała tendencję wzrostową.

Tabela 6 Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na jakość cytologiczną (LKS) i mikrobiologiczną (OLD) mleka krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| LKS [tys/cm3] | 1 | 478ab | 127 |
| 7 | 418 | 223 |
| 14 | 237a | 246 |
| 21 | 218b | 187 |
| Ogółem | 338 | 221 |
| OLD[tys/cm3] | 1 | 174AB | 40 |
| 7 | 133cd | 120 |
| 14 | 52Ac | 54 |
| 21 | 41Bd | 28 |
| Ogółem | 100 | 87 |

W badaniach wykazano istotną korelację między LKS a OLB (r2 = 0,763 przy p ≤ 0,01).

**Eksperyment żywieniowy z fito dodatkiem w postaci Mieszanki ziołowej: z oregano, rozmarynem i kminkiem**

**Wykres nr 3**

Wpływ zastosowania **mieszanki: oregano, rozmarynu, kminku** na jakość cytologiczną mleka u 7 krów z subklinicznym stanem *mastitis* przed (1 pobranie) w trakcie stosowania (pobranie 2, 3, 4, 5, 6) i po zakończeniu stosowania (pobranie 7, 8, 9)

Wszystkie krowy w subklinicznym stanie *mastis* zareagowały pozytywnie obniżeniem LKS średnio z 455 do 189 tys/cm3 w trakcie okresu właściwego tj. zadawania dodatku **mieszanki: oregano, rozmarynu, kminku.**  Natomiast po jego odstawieniu u jednej krowy LKS znów wykazywała tendencję wzrostową.

Tabela 6 Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki oregano, rozmarynu i kminku na jakość cytologiczną (LKS) i mikrobiologiczną (OLD) mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| LKS [tys/cm3] | 1 | 455AB | 125 |
| 7 | 324 | 138 |
| 14 | 188A | 135 |
| 21 | 189B | 123 |
| Ogółem | 289 | 167 |
| OLD[tys/cm3] | 1 | 102ab | 50 |
| 7 | 77 | 67 |
| 14 | 31a | 31 |
| 21 | 43b | 55 |
| Ogółem | 63 | 57 |

W badaniach wykazano istotną korelację między LKS a OLB (r2 = 0,652 przy p ≤ 0,01).

**Eksperyment żywieniowy z fito dodatkiem w postaci Pyłku kwiatowego**

**Wykres nr 4**

Wpływ zastosowania **pyłku kwiatowego** ma jakość cytologiczną mleka u 7 krów z subklinicznym stanem *mastitis* przed (1 pobranie) w trakcie stosowania (pobranie 2, 3, 4, 5, 6) i po zakończeniu stosowania (pobranie 7, 8, 9).

Wszystkie krowy w subklinicznym stanie *mastis* zareagowały pozytywnie obniżeniem LKS poniżej 400 tys/cm3 zarówno w trakcie zadawania dodatku pyłku kwiatowego, jak i po jego odstawieniu. U większości krów poprawa nastapiła 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, niestety u jednej bardzo znaczne powyżej stanu wyjściowego z 800 tys/cm3 do 1 mln/ cm3.

Wyliczono, że w mleku badanych krów nastąpiło prawie 3-krotne obniżenie LKS z poziomu wyjściowego średnia 645 tys/cm3 do 223 tys/cm3 po 3 tygodniach stosowania dodatku pyłku kwiatowego w ilości 150 g/na sztukę na dobę. Podobnie jak przy zastosowaniu trzech pozostałych fito dodatów stan zdrowia gruczołu mlekowego utrzymywał sie stabilnie do końca doświadczenia pomimo zaniechania suplementacji.

Tabela 7 Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na jakość cytologiczną (LKS) i mikrobiologiczną (OLD) mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| LKS [tys/cm3] | 1 | 645A | 162 |
| 7 | 482 | 346 |
| 14 | 492 | 306 |
| 21 | 223A | 149 |
| Ogółem | 430 | 287 |
| OLD[tys/cm3] | 1 | 232a | 126 |
| 7 | 232b | 266 |
| 14 | 179 | 125 |
| 21 | 51ab | 50 |
| Ogółem | 173 | 170 |

W badaniach wykazano istotną korelację między LKS a OLB (r2 = 0,852 przy p ≤ 0,01).

***Szczegółowa jakość mikrobiologiczna surowca***

Zapalenia wymion mogą wywoływać drobnoustroje należące do 137 gatunków, jednakże w zależności od patogenu mogą dawać różny obraz. Dlatego też infekcje wywołane m.in.: *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae*, - bakterie należące do pierwszej grupy patogenności wpływają na istotne podwyższenie poziomu komórek somatycznych. Zapalenie 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 ścisłą korelację między LKS a OLB. W mleku *mastitowym* w fazie subklinicznej we wszystkich próbkach wykazano ponad 100 tys/cm3 drobnoustrojów, po zastosowaniu fitobiotyków zaobserwowano tendencje malejące do kilkudziesięciu tys/cm3, najbardziej zauważalne po zastosowaniu ekstraktu z czosnku. Z ogółu badanych prób mleka wyizolowani i zidentyfikowano 10 różnych drobnoustrojów, przy czym jedynie po zastosowaniu pyłku kwiatowego stwierdzono wystepowanie tylko jednego gatunku *Enterobacteriacea*. Najczęstszymi patogenami wywołującymi stan subkliniczny *mastitis* były bakterie katalazo ujemne *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.

Ciekawe obserwacje dotyczyły zmienności flory bakteryjnej przedstawione w tabeli 1.

**Tabela 8. Procentowa obecność drobnoustrojów zindentyfikowanych w próbkach mleka na początku eksperymentu**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Właściwości fenotypowe bakterii | Eksperyment | %zaobserwowanych przypadków | Obecność drobnoustrojów z rodzaju |
| Stan wyjściowy | Po suplementacji |  |
| Katalazo dodatnie ogółem | CEB\* | 18 | 0 | *Staphylococcus* |
| CZ | 18,1 | 0 |
| ORK | 25 | 12,5 |
| PK | 5,2 | 0 |
| Katalazo ujemne ogółem | CEB | 82 | 18 | *Streptococcus, Enterococcus lub Clostridium* |
| CZ | 82 | 18 |
| ORK | 75 | 25 |
| PK | 95 | 5 |
| Bakterie G(-) betaglukoronidazo (+) | CEB | 54 | 14 | *Escherichia coli, Klebsiella* |
| CZ | 55 | 15 |
| ORK | 51 | 49 |
| PK | 58 | 42 |
| Bakterie z grupy KESC | CEB | 42 | 48 | *Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter* |
| CZ | 38 | 42 |
| ORK | 35 | 45 |
| PK | 0 | 100 (*Enterobacter*) |
| *Candida albicans* | CEB | 0 | 0 |  |
| CZ | 0 | 0 |  |
| ORK | 3 | 4 |  |
| PK | 0 | 10 |  |

*\*CEB- eksperyment z fito dodatkiem w postaci cebuli; CZ- eksperyment z fito dodatkiem w postaci czosnku; ORK- eksperyment z fito dodatkiem w postaci mieszanki ziołowej z oregano, rozmarynu i kminuk; PK- eksperyment z fito dodatkiem w postaci pyłku kwiatowego*

We wszystkich próbkach mleka przed doświadczeniem i w jego trakcie wykazano większy udział zakażeń wywołanych przez bakterie katalazo ujemne 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 (ORK) zidentyfikowano duży udział zakażeń *Staphylocococcus aureus* (25%) i nie udało się po zastosowaniu tej mieszanki wyeliminować tych zakażeń, a jedynie zmniejszyć ich występowanie o połowę. Wykazano całkowitą zmianę zróżnicowanej flory bakteryjnej mleka na jednorodną dominującą *Enterobacteriacea* po zastosowaniu pyłku kwiatowego. Dużym problemem okazało się zakażenie wywołane przez *Escherichia coli* i *Klebsiellla*, co prawdopodobnie było związane z sezonem letnim, w którym prowadzono doświadczenia oraz wysoką temperaturą osiągającą nawet wartość 40° C na zewnątrz.Kolejna obserwacja dotyczyła obecności pleśni i grzybów *Candida albicans* w hodowlach bakteriologicznych z tendencją wzrostową w trakcie trwania eksperymentu w grupach ORK i PK.

**3.2. Zbadanie możliwości wykorzystania zastosowanych fito dodatków jako narzędzi wspomagających naturalny system obronny organizmu krowy oraz jakość technologiczną i prozdrowotną surowca w warunkach produkcji ekologicznej.**

Termin “Reaktywne formy tlenu’’ (ROS; *reactive oxygen species*) obejmuje łącznie wolne rodniki nadtlenkowe, tlenowe oraz nierodnikowe pochodne tlenu - nadtlenek wodoru i kwas podchlorawy powstające w stanach zaburzeń homeostazy organizmu, do których bez wątpienia zaliczamy stan zapalny gruczołu mlekowego - *mastitis*. Do obrony przed ROS organizm krowy wykorzystuje własny układ enzymatyczny oraz endogenne antyoksydanty. Dodatkowy system wzmacniający stanowią przeciwutleniacze dostarczone do organizmu razem z pożywieniem. Do kontroli homeostazy procesów antyoksydacyjno-prooksydacyjnych w organizmie, czy ogólnie stanu zdrowia krów mogą służyć zmiany poziomów takich indykatorów, jakimi są stosunek tłuszczowo-białkowy (TB), mocznik czy aldehyd di malonowy (MDA). Zwiększenie zawartości funkcjonalnych składników w mleku krów możliwe jest do osiągnięcia w wyniku: wprowadzenia do diety krów suplementacji w postaci dodatków pochodzenia zwierzęcego czy roślinnego; prowadzenie tradycyjnego systemu żywienia (pastwisko) albo na drodze fermentacji bakteryjnej. Żywienie należy do czynników, które w największym stopniu (70%) kształtują ilość bioaktywnych składników znajdujących się w organizmie.

Białka mleka krowiego decydują nie tylko o jakości technologicznej mleka, ale wpływają również na jego właściwości odżywcze. Kazeina jest nośnikiem wapnia oraz innych mikroelementów, wykazuje działanie antybakteryjne, antykancerogenne, antyoksydacyjne, przeciwzakrzepowe oraz zapobiega powstawaniu nadciśnienia tętniczego.

Laktoferyna (Lf) jest najważniejszym białkiem serwatkowym mleka krowiego o właściwościach prozdrowotnych. Białko to posiada wiele funkcji, jednak główna jej rola związana jest z naturalnym systemem obronnym organizmu, stanowiąc silny immunomodulator. Od funkcji antyoksydacyjnej Lf uzależnione są jej właściwości neuroprotekcyjne, prowadzące do zapobiegania tworzenia się złogów β-amyloidu w chorobie Alzheimera, natomiast właściwości antykancenogenne Lf są wynikiem aktywowania antyonkogenu p53. Lf posiada również właściwości antywirusowe przez co oddziałuje na RNA i DNA wirusów, a w wyniku procesu immunomodulacji charakteryzuje się ponadto działaniem przeciw biegunkowym - stymuluje wzrost bakterii ze szczepu *Lactobacillus* - przez co poprawia wchłanianie żelaza.

**1. Eksperyment żywieniowy z fito dodatkiem w postaci cebuli**

**Wpływ zastosowanej suplementacji Ekstraktem z cebuli [5 g/d/szt.] na kształtowanie sie poziomu składników frakcji białkowej oraz tłuszczowej w trakcie trwania doświadczenia**

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania (1 – 4) na kształtowanie sie poziomu MDA w analizowanych próbkach mleka (rys. 1). Najniższy poziom tego składnika wykazany został w pobraniu 1.

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji tłuszczowej. Zawartość witaminy A, E oraz TAS była najwyższa w 4 pobraniu, natomiast BK w 2 pobraniu (rys 2).

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych. Najwyższy poziom Lz, Lf, ALA wykazany został w 1. i 2. pobraniu, natomiast BLG w 4 pobraniu (rys 3).

**Wpływ poziomu komórek somatycznych na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji białkowej oraz tłuszczowej w trakcie trwania suplementacji Ekstraktem z Cebuli [5 g/d/szt.]**

Badania wykazały istotny wpływ poziomu LKS na kształtowanie się poziomu MDA w próbkach mleka. Najniższy poziom LKS, związany był z najniższą koncentracja MDA w analizowanych próbach mleka (rys.4).

Badania wykazały istotny wpływ poziomu LKS na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji tłuszczowej. Najniższy poziom LKS, związany był z najwyższym poziomem BK, witaminy A, E i TAS (rys 5).

Badania wykazały 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 (rys 6).

**Wpływ poziomu suplementacji Ekstraktem z Cebuli [5 g/d/szt.] na kształtowanie się podstawowego składu chemicznego, jakości technologicznej oraz poziomu parametrów zdrowotności krów w warunkach produkcji ekologicznej**

Tabela 9. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na parametry zdrowotności krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| StosunekTB | 1 | 1,04A | 0,120 |
| 7 | 1,23 | 0,183 |
| 14 | 1,14b | 0,179 |
| 21 | 1,35Ab | 0,223 |
| Ogółem | 1,24 | 0,457 |
| Mocznik [mg/l] | 1 | 305 | 34 |
| 7 | 283 | 51 |
| 14 | 258 | 54 |
| 21 | 258 | 58 |
| Ogółem | 276 | 51 |
| Aldehyddi-malonowy[nM/ml] | 1 | 45,98ab | 17,160 |
| 7 | 73,03ac | 16,862 |
| 14 | 76,54bD | 34,582 |
| 21 | 42,549cD | 15,776 |
| Ogółem | 59,524 | 26,350 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanej 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 prawidłowo skomponowanej dawce pokarmowej powinien wahać się w okolicach wartości 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 nieprawidłowej strukturze fizycznej dawki. Z kolei stosunek powyżej 1,4 informuje o możliwości występowania w stadzie subklinicznej ketozy.

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 wpłynęła na poprawę poziomu tego parametru, wykazane zostało obniżenie koncentracji mocznika z 305 mg/l(pobranie kontrolne) do 258 mg/l (pobranie po 21 dniach suplemntacji).

Tabela 10. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na ogólny skład chemiczny mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Składnik [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Białko Ogólne | 1 | 3,25 | 0,234 |
| 7 | 3,09 | 0,395 |
| 14 | 3,03 | 0,401 |
| 21 | 3,14 | 0,495 |
| Ogółem | 3,13 | 0,379 |
| Tłuszcz | 1 | 3,36A | 0,295 |
| 7 | 3,77 | 0,408 |
| 14 | 3,41B | 0,287 |
| 21 | 4,22AB | 0,686 |
| Ogółem | 3,69 | 0,549 |
| Laktoza | 1 | 4,30 | 0,189 |
| 7 | 4,43 | 0,196 |
| 14 | 4,43 | 0,188 |
| 21 | 4,45 | 0,183 |
| Ogółem | 4,40 | 0,188 |
| Sucha Masa | 1 | 11,71 | 0,371 |
| 7 | 12,09 | 0,614 |
| 14 | 11,68 | 0,438 |
| 21 | 12,61 | 0,973 |
| Ogółem | 12,02 | 0,716 |
| Sucha Masa Beztłuszczowa | 1 | 8,35a | 0,365 |
| 7 | 8,32 | 0,350 |
| 14 | 8,27b | 0,349 |
| 21 | 8,39ab | 0,394 |
| Ogółem | 8,33 | 0,347 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanego dodatku na kształtowanie się poziomu tłuszczu i suchej masy beztłuszczowej w analizowanych próbkach mleka. W obu przypadkach wykazano podwyższenie poziomu po 21. dniowym okresie suplementacji względem poziomu kontrolnego.

Tabela 11. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na parametry przydatności technologicznej mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| punkt zamarzania [°C] | 1 | 0,517abc | 0,014 |
| 7 | 0,512a | 0,015 |
| 14 | 0,513b | 0,016 |
| 21 | 0,534c | 0,034 |
| Ogółem | 0,519 | 0,022 |
| Kwasowość[°SH] | 1 | 8,129 | 1,251 |
| 7 | 6,267 | 1,175 |
| 14 | 6,230 | 1,295 |
| 21 | 6,633 | 1,576 |
| Ogółem | 6,815 | 1,484 |
| kwas cytrynowy[g/100g] | 1 | 0,116abc | 0,007 |
| 7 | 0,148a | 0,024 |
| 14 | 0,149b | 0,027 |
| 21 | 0,156c | 0,042 |
| Ogółem | 0,142 | 0,031 |
| WKT [mmol/100g] | 1 | 0,129 | 0,130 |
| 7 | 0,126 | 0,081 |
| 14 | 0,077 | 0,018 |
| 21 | 0,144 | 0,096 |
| Ogółem | 0,119 | 0,090 |
| gęstość [cm3/g] | 1 | 1,030 | 0,001 |
| 7 | 1,029 | 0,001 |
| 14 | 1,029 | 0,001 |
| 21 | 1,029 | 0,001 |
| Ogółem | 1,029 | 0,001 |
| Kazeina[g/100g] | 1 | 2,491 | 0,174 |
| 7 | 2,450 | 0,283 |
| 14 | 2,391 | 0,279 |
| 21 | 2,504 | 0,358 |
| Ogółem | 2,459 | 0,269 |

Kwasowość potencjalna zwana również miareczkową wynosi zwykle 6,5-7,5°SH. Kwasowość mleka nadkwaszonego wynosi ok. 12°SH, kwasowość mniejsza od 6°SH świadczy o stanach zapalnych wymienia lub o stosowaniu dodatków neutralizujących, co potwierdziły wyniki badań własnych- do doświadczenie wybrano krowy z zapaleniem wymienia.

Tabela 12. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na zawartość białek serwatkowych w mleku krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Białko serwatkowe | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Lz [ug/L] | 1 | 13,755a | 2,133 |
| 7 | 11,424 | 3,782 |
| 14 | 11,816 | 3,341 |
| 21 | 9,226a | 3,154 |
| Ogółem | 11,555 | 3,400 |
| Lf [g/L] | 1 | 0,897aB | 0,104 |
| 7 | 0,674a | 0,223 |
| 14 | 0,697 | 0,197 |
| 21 | 0,544B | 0,186 |
| Ogółem | 0,703 | 0,215 |
| ALA [g/L] | 1 | 2,536a | 0,393 |
| 7 | 2,106 | 0,697 |
| 14 | 2,178 | 0,616 |
| 21 | 1,701a | 0,581 |
| Ogółem | 2,130 | 0,627 |
| BLG [g/L] | 1 | 2,827 | 0,483 |
| 7 | 2,410 | 0,768 |
| 14 | 2,410 | 1,060 |
| 21 | 2,754 | 1,087 |
| Ogółem | 2,600 | 0,856 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanej dawki pokarmowej na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych. Wykazano obniżenie poziomu po 21. dniach suplementacji względem pobrania kontrolnego w przypadku: LZ, Lf i ALA- co świadczy o zahamowaniu stanu zapalnego. Ponadto, lizozym (Lz) Charakteryzuje się on właściwościami bakteriobójczymi: powoduje lizę czyli uszkodzenie ścian komórkowych bakterii Gram (+) tj. *Pseudomonas fluorescens*, *Cl.* *butyricum*, *Cl. tyrobutyricum*, *Micrococcus*, *Bacillus cereus*, *Str. faecalis* i częściowo bakterii Gram (-).

Tabela 13. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na potencjał antyoksydacyjny mleka krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lipofilne witaminy | dni eksperymentu | LSM | SD |
| BK[mg/L] | 1 | 0,378 | 0,098 |
| 7 | 0,483 | 0,199 |
| 14 | 0,397 | 0,174 |
| 21 | 0,483 | 0,178 |
| Ogółem | 0,435 | 0,165 |
| A[mg/L] | 1 | 0,575A | 0,061 |
| 7 | 0,675B | 0,074 |
| 14 | 0,623C | 0,049 |
| 21 | 0,855ABC | 0,167 |
| Ogółem | 0,682 | 0,143 |
| E[mg/L] | 1 | 0,793A | 0,085 |
| 7 | 0,931B | 0,102 |
| 14 | 0,859C | 0,067 |
| 21 | 1,180ABC | 0,231 |
| Ogółem | 0,941 | 0,198 |
| TAS [mmol/L] | 1 | 0,693A | 0,080 |
| 7 | 1,312B | 0,487 |
| 14 | 1,259C | 0,457 |
| 21 | 2,222ABC | 1,268 |
| Ogółem | 1,371 | 0,877 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanej suplementacji na kształtowanie się poziomu potencjału antyoksydacyjnego mleka. Wykazano prawie 3-krotny wzrost poziomu TAS, co świadczy o zwiększeniu poziomu ochrony antyoksydacyjnej. Należy zaznaczyć, że wzrost zawartości *α*-tokoferolu oraz *α-*retinolu w tłuszczu mlekowym po zastosowaniu dodatku możne być również tłumaczony lepszym wykorzystaniem składników diety. Uzyskanie większego potencjału antyoksydacyjnego mleka po zastosowaniu dodatku jest bardzo korzystne z punktu widzenia konsumenta i jakości technologicznej mleka.

Badania wykazały wzrost koncentracji witaminy E o 49% 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. Witamina E zabezpiecza przed peroksydacją lipidów poprzez wychwytywanie tlenu singletowego, wolnych rodników hydroksylowych i nadlenkowych. Obecność innych antyoksydantów wpływa pozytywnie na jej właściwości antyoksydacyjne, np. tokoferol w obecności wolnego rodnika przekształca się w rodnik tokoferylowy, który następnie jest redukowany i regenerowany przez kwas askorbinowy.

**Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na kształtowanie się zawartości kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej**

Tabela 14. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na koncentrację grup kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Nasycone - SFA | 1 | 54,481abc | 4,300 |
| 7 | 60,723a | 4,793 |
| 14 | 60,870a | 6,661 |
| 21 | 60,923b | 4,809 |
| Ogółem | 59,249c | 5,664 |
| Jednonienasycone - MUFA | 1 | 24,052 | 4,546 |
| 7 | 26,808 | 5,066 |
| 14 | 26,723 | 4,516 |
| 21 | 26,896 | 5,083 |
| Ogółem | 26,119 | 4,696 |
| Wielonienasycone - PUFA | 1 | 2,977 | 0,321 |
| 7 | 3,318 | 0,358 |
| 14 | 3,320 | 0,370 |
| 21 | 3,329 | 0,359 |
| Ogółem | 3,236 | 0,366 |
| PUFA omega 3 | 1 | 0,927 | 0,138 |
| 7 | 1,033 | 0,154 |
| 14 | 1,032 | 0,148 |
| 21 | 1,036 | 0,154 |
| Ogółem | 1,007 | 0,148 |
| PUFA omega 6 | 1 | 1,411abc | 0,111 |
| 7 | 1,573a | 0,124 |
| 14 | 1,572b | 0,112 |
| 21 | 1,578c | 0,125 |
| Ogółem | 1,534 | 0,133 |

Tabela 15. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C8:0 kaprylowy | 1 | 2,431ABC | 0,076 |
| 7 | 2,710A | 0,085 |
| 14 | 2,713B | 0,166 |
| 21 | 2,719C | 0,085 |
| Ogółem | 2,643 | 0,162 |
| C12: laurynowy | 1 | 1,991 | 0,708 |
| 7 | 2,220 | 0,789 |
| 14 | 2,241 | 0,873 |
| 21 | 2,227 | 0,792 |
| Ogółem | 2,170 | 0,755 |
| C14:0 mirystynowy | 1 | 7,966 | 1,924 |
| 7 | 8,879 | 2,144 |
| 14 | 8,930 | 2,405 |
| 21 | 8,908 | 2,151 |
| Ogółem | 8,671 | 2,081 |
| C16:0 palmitynowy | 1 | 25,691 | 2,536 |
| 7 | 28,635 | 2,827 |
| 14 | 28,714 | 3,671 |
| 21 | 28,729 | 2,836 |
| Ogółem | 27,942 | 3,121 |
| C18:0 stearynowy | 1 | 8,735 | 2,215 |
| 7 | 9,735 | 2,469 |
| 14 | 9,709 | 2,317 |
| 21 | 9,767 | 2,477 |
| Ogółem | 9,486 | 2,280 |

Tabela 16. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych jednonienasyconych (MUFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C12:1 laurynooleinowy | 1 | 0,081 | 0,020 |
| 7 | 0,090 | 0,022 |
| 14 | 0,090 | 0,022 |
| 21 | 0,090 | 0,022 |
| Ogółem | 0,088 | 0,020 |
| C14:1 mirystynooleinowy | 1 | 0,866 | 0,261 |
| 7 | 0,966 | 0,290 |
| 14 | 0,977 | 0,348 |
| 21 | 0,969 | 0,291 |
| Ogółem | 0,944 | 0,286 |
| C16:1 palmitynooleinowy | 1 | 1,369 | 0,291 |
| 7 | 1,526 | 0,325 |
| 14 | 1,525 | 0,311 |
| 21 | 1,531 | 0,326 |
| Ogółem | 1,488 | 0,304 |
| C18:1 trans-11 | 1 | 1,790 | 0,419 |
| 7 | 1,996 | 0,467 |
| 14 | 1,983 | 0,415 |
| 21 | 2,002 | 0,468 |
| Ogółem | 1,943 | 0,427 |
| C18:1 cis-9oleinowy | 1 | 18,576 | 4,254 |
| 7 | 20,704 | 4,741 |
| 14 | 20,625 | 4,325 |
| 21 | 20,772 | 4,757 |
| Ogółem | 20,169 | 4,368 |

Tabela 17. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci cebuli na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych wielonienasyconych (PUFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C18:2 n6 Linolowy(LA) | 1 | 1,271abc | 0,113 |
| 7 | 1,417a | 0,126 |
| 14 | 1,416b | 0,112 |
| 21 | 1,421c | 0,126 |
| Ogółem | 1,381 | 0,130 |
| C18:3 n3 Alfa-linolenowy(LNA) | 1 | 0,779 | 0,155 |
| 7 | 0,868 | 0,173 |
| 14 | 0,867 | 0,163 |
| 21 | 0,871 | 0,174 |
| Ogółem | 0,846 | 0,162 |
| C18:2 cis9, trans 10skoniugowany linolowy(CLA) | 1 | 0,639 | 0,145 |
| 7 | 0,712 | 0,162 |
| 14 | 0,715 | 0,176 |
| 21 | 0,715 | 0,162 |
| Ogółem | 0,695 | 0,156 |
| C22:5 n3Eikozapentaenowy(EPA) | 1 | 0,098 | 0,017 |
| 7 | 0,109 | 0,018 |
| 14 | 0,109 | 0,020 |
| 21 | 0,109 | 0,019 |
| Ogółem | 0,106 | 0,018 |
| C22:6 n3Dokozaheksaenowy(DHA) | 1 | 0,014 | 0,003 |
| 7 | 0,015 | 0,003 |
| 14 | 0,015 | 0,003 |
| 21 | 0,015 | 0,003 |
| Ogółem | 0,015 | 0,003 |

W trakcie zastosowania fito dodatku w postaci cebuli wykazano istotne zwiększenie koncentracji nasyconych kwasów tłuszczowych z poziomu wyjściowego 59,3 g/100g tłuszczu mlekowego do 60,9 po 21 dniach suplementacji. Nasycenie tłuszczu mlekowego łączyło się z istotnym zwiększeniem głównie kwasu kaprylowego (tab. 1.8)

W tym eksperymencie wykazano istotne zwiększenie sumy kwasów omega 6, a spośród ich przedstawicieli prekursora - kwasu linolowego. Wykazano istotne zmiany w zawartości LA w tłuszczu mlekowym między poszczególnymi pobraniami z tendencją zwiększania z poziomu wyjściowego 1,27 g/100g tłuszczu do 1,42 po 21 dniach suplementacji (tab. 1.10)

**2. Eksperyment żywieniowy z fito dodatkiem w postaci czosnku**

**Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku [5 g/d/szt.] na kształtowanie sie poziomu składników frakcji białkowej oraz tłuszczowej w trakcie trwania doświadczenia.**

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu MDA w analizowanych próbkach mleka. Najniższy poziom tego składnika wykazany został w pobraniu 1. i 4. (rys. 7).

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych w analizowanych próbkach mleka. Najniższy poziom Lf, Lz i ALA wykazany został w pobraniu 3. i 4, natomiast najwyższy w 1. i 2. (rys 8).

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji tłuszczowej. Najniższy poziom wykazany został w pobraniu 2. i 3., natomiast najwyższy w 4. (rys 9).

**Wpływ zastosowanej suplementacji w postaci Ekstraktu czosnkowego [5 g/d/szt.] na kształtowanie się podstawowego składu chemicznego, jakości technologicznej oraz poziomu parametrów zdrowotności krów w warunkach produkcji ekologicznej**

Tabela 18. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na parametry zdrowotności krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| StosunekTB | 1 | 1,03a | 0,119 |
| 7 | 1,16 | 0,195 |
| 14 | 1,17 | 0,203 |
| 21 | 1,24a | 0,165 |
| Ogółem | 1,15 | 0,181 |
| Mocznik [mg/l] | 1 | 318a | 43 |
| 7 | 297 | 40 |
| 14 | 286 | 62 |
| 21 | 258a | 58 |
| Ogółem | 290 | 53 |
| Aldehyddi-malonowy[nmol/ml] | 1 | 50,27 | 24,929 |
| 7 | 73,03a | 16,862 |
| 14 | 69,82 | 28,417 |
| 21 | 42,55a | 15,776 |
| Ogółem | 58,92 | 24,645 |

Peroksydacja lipidów jest lawinowym procesem utleniania UFA, a w szczególności reszt WNKT wchodzących w skład fosfolipidów. MDA może powstawać w wyniku nieenzymatycznej autooksydacji UFA, bądź na szlaku przemian eikozanoidów. W analizowanych próbkach mleka wykazano obniżenie poziomu mocznika oraz MDA, jak również poprawę stosunku TB. Podsumowując należy stwierdzić, że obniżenie koncentracji MDA w mleku krów jest korzystnym efektem zastosowania dodatku w postaci ekstraktu z czosnku.

Tabela 19. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na ogólny skład chemiczny mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Składnik [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Białko Ogólne | 1 | 3,25 | 0,234 |
| 7 | 3,08 | 0,406 |
| 14 | 3,02 | 0,407 |
| 21 | 3,14 | 0,495 |
| Ogółem | 3,12 | 0,384 |
| Tłuszcz | 1 | 3,34 | 0,320 |
| 7 | 3,56 | 0,588 |
| 14 | 3,54 | 0,759 |
| 21 | 3,92 | 0,873 |
| Ogółem | 3,59 | 0,665 |
| Laktoza | 1 | 4,30 | 0,189 |
| 7 | 4,43 | 0,196 |
| 14 | 4,43 | 0,188 |
| 21 | 4,45 | 0,183 |
| Ogółem | 4,40 | 0,188 |
| Sucha Masa | 1 | 11,78 | 0,422 |
| 7 | 11,96 | 0,848 |
| 14 | 11,88 | 0,982 |
| 21 | 12,40 | 1,213 |
| Ogółem | 12,01 | 0,893 |
| Sucha masa beztłuszczowa | 1 | 8,44 | 0,365 |
| 7 | 8,40 | 0,363 |
| 14 | 8,35 | 0,352 |
| 21 | 8,48 | 0,394 |
| Ogółem | 8,42 | 0,351 |

### Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono obniżenie zawartości białka ogólnego w analizowanych próbkach mleka po 21. dniowym okresie suplemnetacji ekstraktem czosnkowym.. Podstawową i najczęściej spotykaną przyczyną niskiej zawartości białka w mleku jest niedobór energii w dawce pokarmowej (lub niskie jej pobranie). Dodatkowo bardzo duże znaczenie odgrywa stres cieplny spowodowany wysoką temperaturą powietrza i niską jego wilgotnością.

Tabela 20. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na parametry przydatności technologicznej mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| punkt zamarzania [°C] | 1 | 0,511 | 0,013 |
| 7 | 0,507 | 0,009 |
| 14 | 0,510 | 0,015 |
| 21 | 0,525 | 0,032 |
| Ogółem | 0,513 | 0,019 |
| Kwasowość[°SH] | 1 | 8,129ABc | 1,251 |
| 7 | 6,267A | 1,175 |
| 14 | 6,371B | 1,036 |
| 21 | 6,493c | 1,068 |
| Ogółem | 6,815 | 1,323 |
| kwas cytrynowy[g/100g] | 1 | 0,116a | 0,007 |
| 7 | 0,148 | 0,024 |
| 14 | 0,149a | 0,027 |
| 21 | 0,142 | 0,046 |
| Ogółem | 0,139 | 0,031 |
| WKT [mmol/100g] | 1 | 0,129 | 0,130 |
| 7 | 0,126 | 0,081 |
| 14 | 0,077 | 0,018 |
| 21 | 0,144 | 0,096 |
| Ogółem | 0,119 | 0,090 |
| gęstość [cm3/g] | 1 | 1,030 | 0,001 |
| 7 | 1,029 | 0,001 |
| 14 | 1,029 | 0,001 |
| 21 | 1,029 | 0,001 |
| Ogółem | 1,029 | 0,001 |
| Kazeina[g/100g] | 1 | 2,602 | 0,187 |
| 7 | 2,473 | 0,316 |
| 14 | 2,426 | 0,321 |
| 21 | 2,514 | 0,396 |
| Ogółem | 2,504 | 0,303 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanej suplementacji na kształtowanie się poziomu kwasu cytrynowego i kwasowości.

Tabela 21. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na zawartość białek serwatkowych w mleku krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Białko serwatkowe | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Lz [ug/L] | 1 | 19,373 | 10,507 |
| 7 | 21,302 | 15,273 |
| 14 | 15,238 | 9,745 |
| 21 | 13,506 | 11,306 |
| Ogółem | 17,355 | 11,661 |
| Lf [g/L] | 1 | 1,040 | 0,329 |
| 7 | 0,860 | 0,473 |
| 14 | 0,840 | 0,431 |
| 21 | 0,687 | 0,396 |
| Ogółem | 0,857 | 0,408 |
| ALA [g/L] | 1 | 2,536a | 0,393 |
| 7 | 2,106 | 0,697 |
| 14 | 2,178 | 0,616 |
| 21 | 1,701a | 0,581 |
| Ogółem | 2,130 | 0,627 |
| BLG [g/L] | 1 | 2,827 | 0,483 |
| 7 | 2,696 | 0,843 |
| 14 | 3,267 | 0,472 |
| 21 | 3,187 | 0,817 |
| Ogółem | 2,994 | 0,683 |

Analiza statystyczna nie wykazała istotnego wpływu zastosowanych dodatków na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych.

Tabela 22. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na potencjał antyoksydacyjny mleka krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lipofilne witaminy | dni eksperymentu | LSM | SD |
| BK[mg/L] | 1 | 0,348 | 0,108 |
| 7 | 0,483 | 0,199 |
| 14 | 0,362 | 0,175 |
| 21 | 0,483 | 0,178 |
| Ogółem | 0,419 | 0,172 |
| A[mg/L] | 1 | 0,575A | 0,061 |
| 7 | 0,675B | 0,074 |
| 14 | 0,623C | 0,049 |
| 21 | 0,855ABC | 0,167 |
| Ogółem | 0,682 | 0,143 |
| E[mg/L] | 1 | 0,936 | 0,335 |
| 7 | 1,074 | 0,363 |
| 14 | 1,002 | 0,371 |
| 21 | 1,180 | 0,231 |
| Ogółem | 1,048 | 0,324 |
| TAS [mmol/L] | 1 | 0,693A | 0,080 |
| 7 | 1,312b | 0,487 |
| 14 | 1,180C | 0,321 |
| 21 | 2,222AbC | 1,268 |
| Ogółem | 1,352 | 0,867 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanej suplementacji na kształtowanie się poziomu potencjału antyoksydacyjnego mleka. Wykazano prawie 3-krotny wzrost poziomu TAS, co świadczy o zwiększeniu poziomu ochrony antyoksydacyjnej.

**Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na kształtowanie się zawartości kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej**

Tabela 23. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na koncentrację grup kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Nasycone - SFA | 1 | 57,940ABc | 2,816 |
| 7 | 48,973AD | 2,381 |
| 14 | 48,438BE | 2,775 |
| 21 | 54,344cDE | 2,713 |
| Ogółem | 52,424 | 4,735 |
| Jednonienasycone - MUFA | 1 | 30,889ab | 2,648 |
| 7 | 26,109a | 2,238 |
| 14 | 25,918b | 3,470 |
| 21 | 28,936 | 3,624 |
| Ogółem | 27,963 | 3,565 |
| Wielonienasycone - PUFA | 1 | 4,862 | 0,586 |
| 7 | 4,109 | 0,495 |
| 14 | 4,077 | 0,619 |
| 21 | 4,532 | 0,683 |
| Ogółem | 4,395 | 0,654 |
| PUFA omega 3 | 1 | 1,079AB | 0,061 |
| 7 | 0,912AC | 0,052 |
| 14 | 0,903BD | 0,076 |
| 21 | 1,025CD | 0,080 |
| Ogółem | 0,980 | 0,100 |
| PUFA omega 6 | 1 | 1,411AB | 0,111 |
| 7 | 1,573A | 0,124 |
| 14 | 1,572B | 0,112 |
| 21 | 1,578 | 0,125 |
| Ogółem | 1,534 | 0,133 |

Tabela 24. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C8:0 kaprylowy | 1 | 1,782ABc | 0,090 |
| 7 | 1,506AD | 0,076 |
| 14 | 1,490BE | 0,077 |
| 21 | 1,668cDE | 0,073 |
| Ogółem | 1,612 | 0,144 |
| C12: laurynowy | 1 | 2,072ab | 0,318 |
| 7 | 1,751a | 0,269 |
| 14 | 1,730b | 0,251 |
| 21 | 1,892 | 0,278 |
| Ogółem | 1,861 | 0,298 |
| C14:0 mirystynowy | 1 | 9,082ABC | 0,561 |
| 7 | 7,676Ad | 0,474 |
| 14 | 7,596Be | 0,585 |
| 21 | 8,443Cde | 0,647 |
| Ogółem | 8,199 | 0,819 |
| C16:0 palmitynowy | 1 | 25,803aB | 3,200 |
| 7 | 21,810a | 2,705 |
| 14 | 21,536B | 2,368 |
| 21 | 23,963 | 2,631 |
| Ogółem | 23,278 | 3,132 |
| C18:0 stearynowy | 1 | 12,448AB | 0,899 |
| 7 | 10,521AC | 0,760 |
| 14 | 10,420BD | 1,006 |
| 21 | 11,946CD | 0,869 |
| Ogółem | 11,334 | 1,227 |

Tabela 25. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych jednonienasyconych (MUFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C12:1 laurynooleinowy | 1 | 0,132 | 0,028 |
| 7 | 0,111 | 0,024 |
| 14 | 0,111 | 0,027 |
| 21 | 0,125 | 0,032 |
| Ogółem | 0,120 | 0,028 |
| C14:1 mirystynooleinowy | 1 | 1,134 | 0,158 |
| 7 | 0,958 | 0,133 |
| 14 | 0,954 | 0,184 |
| 21 | 1,095 | 0,244 |
| Ogółem | 1,035 | 0,192 |
| C16:1 palmitynooleinowy | 1 | 1,101ab | 0,095 |
| 7 | 0,930a | 0,080 |
| 14 | 0,924b | 0,129 |
| 21 | 1,061 | 0,167 |
| Ogółem | 1,004 | 0,140 |
| C18:1 trans-11 | 1 | 6,411 | 1,939 |
| 7 | 5,419 | 1,639 |
| 14 | 5,352 | 1,563 |
| 21 | 5,573 | 1,445 |
| Ogółem | 5,689 | 1,621 |
| C18:1 cis-9oleinowy | 1 | 20,582 | 3,171 |
| 7 | 17,397 | 2,680 |
| 14 | 17,295 | 3,365 |
| 21 | 19,617 | 3,585 |
| Ogółem | 18,723 | 3,360 |

Tabela 26. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci czosnku na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych wielonienasyconych (PUFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C18:2 n6 Linolowy(LA) | 1 | 1,767AB | 0,154 |
| 7 | 1,494A | 0,131 |
| 14 | 1,482B | 0,185 |
| 21 | 1,660 | 0,219 |
| Ogółem | 1,601 | 0,205 |
| C18:3 n3 Alfa-linolenowy(LNA) | 1 | 0,884AB | 0,083 |
| 7 | 0,747Ad | 0,070 |
| 14 | 0,739Be | 0,080 |
| 21 | 0,840de | 0,083 |
| Ogółem | 0,802 | 0,097 |
| C18:2 cis9, trans 10skoniugowany linolowy(CLA) | 1 | 1,854 | 0,448 |
| 7 | 1,567 | 0,379 |
| 14 | 1,557 | 0,410 |
| 21 | 1,695 | 0,395 |
| Ogółem | 1,668 | 0,404 |
| C22:5 n3Eikozapentaenowy(EPA) | 1 | 0,084 | 0,017 |
| 7 | 0,071 | 0,014 |
| 14 | 0,070 | 0,014 |
| 21 | 0,082 | 0,011 |
| Ogółem | 0,077 | 0,015 |
| C22:6 n3Dokozaheksaenowy(DHA) | 1 | 0,025 | 0,014 |
| 7 | 0,021 | 0,012 |
| 14 | 0,020 | 0,011 |
| 21 | 0,023 | 0,012 |
| Ogółem | 0,022 | 0,011 |

Zastosowanie fito dodatku w postaci czosnku wywołało dużą zmienność w profilu kwasów tłuszczowych. Istotne zmiany wykazano w odniesieniu do sumy kwasów nasyconych i z grupy zarówno omega 3, jak i omega 6.

**3. Eksperyment żywieniowy z fito dodatkiem w postaci Mieszanki ziołowej: z oregano, rozmarynem i kminkiem**

**Wpływ zastosowanej suplementacji w postaci mieszanki ziołowej Oregano, Rozmarynu, Kminku [6 g/d/szt.] na kształtowanie sie poziomu składników frakcji białkowej oraz tłuszczowej w trakcie trwania doświadczenia.**

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu MDA w analizowanych próbkach mleka. Najniższy poziom tego składnika wykazany został w pobraniu 2 (rys.10).

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych w analizowanych próbkach mleka. Najniższy poziom wykazany został w pobraniu 2., natomiast najwyższy w 1. i 4. (rys. 11).

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji tłuszczowej (witamin lipofilnych i TAS). Najniższy poziom wykazany został w pobraniu 2., natomiast najwyższy w 1. (rys. 12).

**Wpływ zastosowanej suplementacji w postaci mieszanki ziołowej Oregano, Rozmarynu, Kminku [6 g/d/szt.] na kształtowanie się podstawowego składu chemicznego, jakości technologicznej oraz poziomu parametrów zdrowotności krów w warunkach produkcji ekologicznej**

Tabela 27. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki oregano, rozmarynu i kminku na parametry zdrowotności krów w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| StosunekTB | 1 | 1,58a | 0,152 |
| 7 | 1,08a | 0,299 |
| 14 | 1,15 | 0,670 |
| 21 | 1,16 | 0,436 |
| Ogółem | 1,24 | 0,457 |
| mocznik [mg/l] | 1 | 474a | 57,7 |
| 7 | 480b | 48,5 |
| 14 | 586ab | 131,8 |
| 21 | 544 | 112,7 |
| Ogółem | 521 | 100,9 |
| Aldehyd di-malonowy[nmol/ml] | 1 | 49,32 | 39,43 |
| 7 | 47,31 | 44,26 |
| 14 | 54,19 | 41,23 |
| 21 | 70,83 | 53,65 |
| Ogółem | 55,41 | 43,44 |

Zastosowanie dodatków suplementacyjnych wpłynęło korzystnie na kształtowanie się zawartości MDA i stosunek TB w mleku krów podczas prowadzonych badań.

Optymalna zawartość mocznika powinna wynosić 150-300 mg/l, przy zawartości białka w mleku 3,20-3,60%. Natomiast Podwyższona zawartość mocznika w mleku jest konsekwencją skarmiania zielonki. Dlatego też, monitorowanie poziomu mocznika w mleku stanowi cenną informacje o zbilansowaniu dawki pokarmowej oraz pozwala ocenić przebieg metabolizmu związków azotowych w żwaczu.

Tabela 28. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki oregano, rozmarynu i kminku na ogólny skład chemiczny mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Składnik [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| białko ogólne | 1 | 3,18 | 0,253 |
| 7 | 3,40 | 0,385 |
| 14 | 3,56 | 0,854 |
| 21 | 3,41 | 0,194 |
| Ogółem | 3,39 | 0,486 |
| tłuszcz | 1 | 5,03 | 0,520 |
| 7 | 3,62 | 0,877 |
| 14 | 4,08 | 2,486 |
| 21 | 3,94 | 1,518 |
| Ogółem | 4,17 | 1,550 |
| laktoza | 1 | 4,72 | 0,186 |
| 7 | 4,77 | 0,179 |
| 14 | 4,67 | 0,250 |
| 21 | 4,69 | 0,226 |
| Ogółem | 4,71 | 0,204 |
| sucha masa | 1 | 13,56 | 0,609 |
| 7 | 12,77 | 0,834 |
| 14 | 13,51 | 2,940 |
| 21 | 12,89 | 1,422 |
| Ogółem | 13,18 | 1,655 |
| sucha masa beztłuszczowa | 1 | 8,52ab | 0,237 |
| 7 | 9,07a | 0,491 |
| 14 | 9,14b | 0,712 |
| 21 | 8,94 | 0,319 |
| Ogółem | 8,92 | 0,511 |

Analiza składu mleka jest bardzo przydatnym narzędziem ułatwiającym kontrolę żywienia oraz stanu zdrowotnego krów mlecznych. Nigdy jednak zawartość białka i tłuszczu w mleku nie powinna być interpretowana w oderwaniu od pozostałych analiz obejmujących m.in.: podstawową analizę żywienia, kontrolę zbilansowania dawki pokarmowej w 1 kg suchej masy, wskaźników rozrodu oraz kondycji krów. Badanie nie wykazały istotnego wpływu zastosowanej suplementacji na kształtowanie się parametrów użytkowych mleka. Tłuszcz mlekowy jest składnikiem najbardziej podatnym na wpływ żywienia. Jednakże uzyskany poziom 5% tłuszczu w próbie kontrolnej może świadczyć o niedoborze energii w dawce pokarmowej krów (ketoza), co zostało skorygowane poprzez zastosowaną suplementację. Poziom tłuszczu w pobraniu 2., 3. i 4. znajdował się już w normie- co świadczy o pozytywnym wpływie zastosowanej mieszanki ziołowej na kształtowanie się parametrów profilu metabolicznego.

Tabela 29. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki oregano, rozmarynu i kminku na parametry przydatności technologicznej mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| punkt zamarzania [°C] | 1 | 0,620 | 0,030 |
| 7 | 0,624 | 0,032 |
| 14 | 0,619 | 0,066 |
| 21 | 0,615 | 0,020 |
| Ogółem | 0,620 | 0,038 |
| Kwasowość[°SH] | 1 | 8,44 | 1,171 |
| 7 | 8,20 | 1,088 |
| 14 | 8,63 | 2,533 |
| 21 | 9,50 | 1,105 |
| Ogółem | 8,69 | 1,585 |
| kwas cytrynowy[g/100g] | 1 | 0,176 | 0,023 |
| 7 | 0,180 | 0,027 |
| 14 | 0,182 | 0,029 |
| 21 | 0,188 | 0,018 |
| Ogółem | 0,182 | 0,024 |
| WKT [mmol/100g] | 1 | 0,391 | 0,399 |
| 7 | 0,378 | 0,149 |
| 14 | 0,891 | 0,910 |
| 21 | 1,025 | 0,625 |
| Ogółem | 0,671 | 0,631 |
| gęstość [cm3/g] | 1 | 1,031 | 0,015 |
| 7 | 1,032 | 0,002 |
| 14 | 1,032 | 0,002 |
| 21 | 1,031 | 0,003 |
| Ogółem | 0,921 | 0,325 |
| Kazeina[g/100g] | 1 | 2,52 | 0,227 |
| 7 | 2,78 | 0,289 |
| 14 | 2,90 | 0,593 |
| 21 | 2,80 | 0,151 |
| Ogółem | 2,75 | 0,367 |

Istotnym problemem, wpływającym na jakość mleka i produktów mleczarskich jest zapalenie gruczołu mlekowego. Mleko, pochodzące od krów chorych na *mastitis* charakteryzuje się obniżoną zawartością większości składników. Badania wykazały istotny wpływ zapalenia wymienia na kształtowanie się poziomu składników obrazujących jakość technologiczną mleka. Dominującym ilościowo białkiem mleka krowiego, które ma istotne znaczenie dla przemysłu mleczarskiego jest kazeina. Jej zawartość w mleku krowim zawiera się najczęściej w przedziale 2,4-2,8%, stanowiąc około 75-80% ogólnej puli białek. W wyniku zastosowanej suplementacji stwierdzono podwyższenie poziomu kazeiny o prawie 11%; z poziomu 2,52 do 2,80%.

Tabela 30. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki oregano, rozmarynu i kminku na zawartość białek serwatkowych w mleku krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Białko serwatkowe | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Lz [ug/L] | 1 | 10,86 | 2,695 |
| 7 | 10,73 | 3,016 |
| 14 | 9,88 | 6,559 |
| 21 | 10,79 | 2,932 |
| Ogółem | 10,57 | 3,908 |
| Lf [g/L] | 1 | 0,286 | 0,071 |
| 7 | 0,283 | 0,079 |
| 14 | 0,260 | 0,173 |
| 21 | 0,284 | 0,077 |
| Ogółem | 0,278 | 0,103 |
| ALA [g/L] | 1 | 1,395 | 0,067 |
| 7 | 1,296 | 0,209 |
| 14 | 1,377 | 0,619 |
| 21 | 1,308 | 0,250 |
| Ogółem | 1,344 | 0,334 |
| BLG [g/L] | 1 | 4,344 | 0,209 |
| 7 | 4,036 | 0,651 |
| 14 | 4,288 | 1,928 |
| 21 | 4,073 | 0,779 |
| Ogółem | 4,185 | 1,0409 |

Analiza statystyczna nie wykazała istotnego wpływu zastosowanych dodatków na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych.

Tabela 31. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki oregano, rozmarynu i kminku na potencjał antyoksydacyjny mleka krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lipofilne witaminy | dni eksperymentu | LSM | SD |
| BK [mg/L] | 1 | 0,449 | 0,051 |
| 7 | 0,314 | 0,063 |
| 14 | 0,384 | 0,225 |
| 21 | 0,355 | 0,142 |
| Ogółem | 0,375 | 0,140 |
| A [mg/L] | 1 | 0,711 | 0,081 |
| 7 | 0,497 | 0,099 |
| 14 | 0,608 | 0,357 |
| 21 | 0,563 | 0,225 |
| Ogółem | 0,595 | 0,222 |
| E [mg/L] | 1 | 0,861 | 0,098 |
| 7 | 0,602 | 0,121 |
| 14 | 0,736 | 0,432 |
| 21 | 0,682 | 0,273 |
| Ogółem | 0,720 | 0,269 |
| TAS [mmol/L] | 1 | 0,788 | 0,345 |
| 7 | 0,628 | 0,168 |
| 14 | 0,739 | 0,475 |
| 21 | 0,524 | 0,305 |
| Ogółem | 0,670 | 0,338 |

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.

**Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci w postaci mieszanki ziołowej z oregano rozmarynu i kminku na kształtowanie się zawartości kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej**

Tabela 32. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki ziołowej z oregano rozmarynu i kminku na koncentrację grup kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Nasycone - SFA | 1 | 61,793aB | 3,521 |
| 7 | 61,203C | 3,648 |
| 14 | 55,101a | 7,376 |
| 21 | 49,918BC | 7,923 |
| Ogółem | 57,004 | 7,525 |
| Jednonienasycone - MUFA | 1 | 28,378a | 2,363 |
| 7 | 29,782B | 2,155 |
| 14 | 27,261 | 5,381 |
| 21 | 24,149aB | 4,767 |
| Ogółem | 27,393 | 4,292 |
| Wielonienasycone - PUFA | 1 | 4,880 | 0,942 |
| 7 | 5,006 | 0,967 |
| 14 | 4,878 | 0,977 |
| 21 | 4,321 | 0,866 |
| Ogółem | 4,771 | 0,932 |
| PUFA omega 3 | 1 | 1,201A | 0,134 |
| 7 | 1,232b | 0,138 |
| 14 | 0,991bC | 0,304 |
| 21 | 0,878AC | 0,269 |
| Ogółem | 1,075 | 0,261 |
| PUFA omega 6 | 1 | 2,290a | 0,337 |
| 7 | 2,349b | 0,346 |
| 14 | 2,226 | 0,282 |
| 21 | 1,971ab | 0,250 |
| Ogółem | 2,209 | 0,326 |

Tabela 33. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki ziołowej z oregano rozmarynu i kminku na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C8:0 kaprylowy | 1 | 2,455a | 0,824 |
| 7 | 2,518b | 0,845 |
| 14 | 1,842 | 0,504 |
| 21 | 1,631ab | 0,446 |
| Ogółem | 2,112 | 0,754 |
| C12: laurynowy | 1 | 2,158AB | 0,466 |
| 7 | 2,213CD | 0,478 |
| 14 | 1,603AC | 0,228 |
| 21 | 1,420BD | 0,202 |
| Ogółem | 1,849 | 0,493 |
| C14:0 mirystynowy | 1 | 9,422AB | 1,525 |
| 7 | 9,666CD | 1,564 |
| 14 | 7,555AC | 1,073 |
| 21 | 6,692BD | 0,951 |
| Ogółem | 8,334 | 1,777 |
| C16:0 palmitynowy | 1 | 29,957AB | 2,083 |
| 7 | 30,232CD | 1,805 |
| 14 | 23,952AC | 5,136 |
| 21 | 21,218BD | 4,549 |
| Ogółem | 26,340 | 5,279 |
| C18:0 stearynowy | 1 | 10,734a | 2,065 |
| 7 | 9,323BC | 2,548 |
| 14 | 13,489aB | 2,865 |
| 21 | 13,056C | 2,966 |
| Ogółem | 11,650 | 3,044 |

Tabela 34. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki ziołowej z oregano rozmarynu i kminku na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych jednonienasyconych (MUFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C12:1 laurynooleinowy | 1 | 0,137 | 0,024 |
| 7 | 0,140 | 0,024 |
| 14 | 0,124 | 0,039 |
| 21 | 0,109 | 0,034 |
| Ogółem | 0,127 | 0,032 |
| C14:1 mirystynooleinowy | 1 | 1,120aB | 0,324 |
| 7 | 1,149CD | 0,333 |
| 14 | 0,710aC | 0,204 |
| 21 | 0,629BD | 0,181 |
| Ogółem | 0,902 | 0,350 |
| C16:1 palmitynooleinowy | 1 | 1,461aB | 0,361 |
| 7 | 1,499cD | 0,370 |
| 14 | 1,035ac | 0,363 |
| 21 | 0,917BD | 0,322 |
| Ogółem | 1,228 | 0,425 |
| C18:1 trans-11 | 1 | 5,603 | 2,902 |
| 7 | 5,892 | 3,022 |
| 14 | 6,233 | 4,158 |
| 21 | 5,521 | 3,684 |
| Ogółem | 5,812 | 3,318 |
| C18:1 cis-9oleinowy | 1 | 19,213A | 2,238 |
| 7 | 20,236B | 2,527 |
| 14 | 18,477c | 1,641 |
| 21 | 16,368ABc | 1,454 |
| Ogółem | 18,573 | 2,395 |

Tabela 35. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci mieszanki ziołowej z oregano rozmarynu i kminku na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych wielonienasyconych (PUFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C18:2 n6 Linolowy(LA) | 1 | 2,068 | 0,312 |
| 7 | 2,122 | 0,320 |
| 14 | 2,023 | 0,262 |
| 21 | 1,792 | 0,232 |
| Ogółem | 2,001 | 0,299 |
| C18:3 n3 Alfa-linolenowy(LNA) | 1 | 0,986A | 0,153 |
| 7 | 1,012bC | 0,157 |
| 14 | 0,785b | 0,284 |
| 21 | 0,695AC | 0,252 |
| Ogółem | 0,869 | 0,249 |
| C18:2 cis9, trans 10skoniugowany linolowy(CLA) | 1 | 1,389 | 0,540 |
| 7 | 1,425 | 0,554 |
| 14 | 1,661 | 0,708 |
| 21 | 1,472 | 0,627 |
| Ogółem | 1,487 | 0,590 |
| C22:5 n3Eikozapentaenowy(EPA) | 1 | 0,102A | 0,022 |
| 7 | 0,104bC | 0,022 |
| 14 | 0,081b | 0,021 |
| 21 | 0,072AC | 0,019 |
| Ogółem | 0,090 | 0,024 |
| C22:6 n3Dokozaheksaenowy(DHA) | 1 | 0,012Ab | 0,003 |
| 7 | 0,012Cd | 0,003 |
| 14 | 0,031AC | 0,018 |
| 21 | 0,027bd | 0,016 |
| Ogółem | 0,021 | 0,014 |

Zastosowanie fito dodatku w postaci mieszanki ziołowej w kompozycji oregano, rozmaryn i kminek podobnie jak dodatek czosnku wywołało dużą zmienność w profilu kwasów tłuszczowych. Istotne zmiany wykazano w odniesieniu do sumy kwasów nasyconych i z grupy zarówno 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.

**4. Eksperyment żywieniowy z fito dodatkiem w postaci Pyłku kwiatowego**

**Wpływ zastosowanej suplementacji Pyłkiem Kwiatowym (150 g/d/szt.) na kształtowanie sie poziomu składników frakcji białkowej oraz tłuszczowej w trakcie trwania doświadczenia**

MDA (aldehyd dimalonowy) oraz WKT (wolne kwasy tłuszczowe) zaliczane są do wskaźników obrazujących procesy peroksydacji lipidów. Peroksydacja lipidów jest wolnorodnikowym procesem utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) (zwiększenie poziomu PUFA w mleku może stymulować powstawanie tego procesu), bierze swój początek w fosfolipidach, które najbogatsze są w PUFA. MDA powstaje podczas peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (pod wpływem działania ROS), w wyniku wyczerpania układów antyoksydacyjnych. W organizmach występują dwie formy MDA: endogenny powstający podczas peroksydacji lipidów oraz egzogenny dostarczany wraz z pożywieniem. Dialdehyd malonowy modyfikuje właściwości fizyczne błon komórkowych, uczestniczy pośrednio w syntezie białek, DNA, RNA, przypisuje się mu również właściwości mutagenne i kancerogenne. Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania (1 – 4) na kształtowanie sie poziomu MDA w analizowanych próbkach mleka (rys. 13). Najniższy poziom tego składnika wykazany został w pobraniu 3, czyli po 14 dniach suplementacji pyłkiem kwiatowym.

Antyoksydant to substancja, która nawet w niskim stężeniu w porównaniu z substancją podatną na utlenianie, znacznie opóźnia albo zapobiega jej utlenianiu. Przeciwutleniacze neutralizują ROS zmniejszając oksydacyjne uszkodzenia komórek i biocząsteczek. Antyoksydanty zmniejszają ryzyko miażdżycy, chronią przed chorobą niedokrwienną serca, zmniejszają ryzyko choroby nowotworowej, spowalniają przebieg choroby Alzheimera, chronią organizm przed zanieczyszczeniami środowiska. Do najważniejszych antyoksydantów endogennych zaliczane są enzymy antyoksydacyjne, białka oraz koenzymy. Szczególnie ważną rolę odgrywają: dysmutaza nadtlenkowa (SOD - *Super Oxid Dismutase*), peroksydaza glutationowa selenozależna, reduktaza glutationowa, laktoferyna, kazeina, laktoperoksydaza, β-laktoglobulina, kwas moczowy, albumina, glutation, endogenny koenzym Q10, CLA, BA oraz kwasy z rodziny n-3 (LNA, EPA i DHA). Z kolei typowe antyutleniacze egzogenne - dostarczane wraz z pożywieniem lub w postaci specjalnie dobranych suplementów to: witaminy A, C, E i karotenoidy (α i β-karoten) oraz egzogenny koenzym Q10.

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji tłuszczowej. Zawartość witaminy A, E oraz TAS była najwyższa w 4. pobraniu (rys. 14).

Główną część białek serwatkowych w mleku stanowią albuminy, które są reprezentowane przez α-laktoalbuminę (α-LA), β-laktoglobulinę (β-LG) oraz bydlęcą albuminę serum, tzw. albuminę surowicy krwi (BSA). β-LG w odróżnieniu od kazeiny, zawiera wolne grupy sulfhydrylowe - SH (pochodzące od cysteiny), którym przypisuje się charakterystyczny zapach mleka powstający podczas gotowania. Białka α-LA, β-LG oraz BSA występują w mleku w rozproszeniu i są bardzo trudne do wydzielenia w postaci skrzepu, nie zawierają fosforu, bogate natomiast są w lizynę.

Laktoferyna (Lf) jest najważniejszym białkiem serwatkowym mleka krowiego, posiada wiele funkcji, jednak główna jej rola związana jest z naturalnym systemem obronnym organizmu. W latach 60. ubiegłego wieku naukowcy odkryli, że wiąże ona jony żelaza i tworzy środowisko bakteriostatyczne (Kruzel, 2003). Od funkcji antyoksydacyjnej Lf uzależnione są jej właściwości neuroprotekcyjne, prowadzące do zapobiegania tworzenia się złogów β-amyloidu w chorobie Alzheimera, natomiast właściwości antykancenogenne Lf są wynikiem aktywowania antyonkogenu p53. Lf posiada również właściwości antywirusowe przez co oddziałuje na RNA i DNA wirusów, a w wyniku procesu immunomodulacji charakteryzuje się działaniem przeciw biegunkowym - stymuluje wzrost bakterii ze szczepu *Lactobacillus* - przez co poprawia wchłanianie żelaza.

Badania wykazały istotny wpływ numeru pobrania na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych. Najwyższy poziom Lz, Lf, ALA i BLG wykazany został w 2. i 3. pobraniu (rys. 15).

**Wpływ poziomu komórek somatycznych na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji białkowej oraz tłuszczowej w trakcie suplementacji Pyłkiem Kwiatowym [150 g/d/szt.]**

Badania wykazały istotny wpływ poziomu LKS na kształtowanie się poziomu MDA w próbkach mleka. Najniższy poziom LKS, związany był z najniższą koncentracja MDA w analizowanych próbach mleka (rys. 16).

Badania wykazały istotny wpływ poziomu LKS na kształtowanie się poziomu bioaktywnych składników frakcji tłuszczowej. Najniższy poziom LKS, związany był z najwyższym poziomem BK, witaminy A, E i TAS (rys. 17).

Badania wykazały 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 (rys. 18).

**Wpływ poziomu suplementacji Pyłkiem Kwiatowym [150 g/d/szt.] na kształtowanie się podstawowego składu chemicznego, jakości technologicznej oraz poziomu parametrów zdrowotności krów w warunkach produkcji ekologicznej**

Tabela 36. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na parametry zdrowotności krów w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| StosunekTB | 1 | 1,09a | 0,128 |
| 7 | 1,23 | 0,183 |
| 14 | 1,14b | 0,178 |
| 21 | 1,35ab | 0,223 |
| Ogółem | 1,20 | 0,199 |
| Mocznik [mg/l] | 1 | 245 | 36 |
| 7 | 283 | 51 |
| 14 | 258 | 54 |
| 21 | 258 | 58 |
| Ogółem | 260 | 49 |
| Aldehyd di-malonowy[nM/ml] | 1 | 45,98ab | 17,16 |
| 7 | 73,02ac | 16,86 |
| 14 | 76,54bd | 34,58 |
| 21 | 42,55cd | 15,77 |
| Ogółem | 59,52 | 26,35 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanej suplementacji na kształtowanie się poziomu stosunku TB (tłuszczu do białka), mocznika i poziomu MDA w analizowanych próbkach mleka. Najwłaściwszym postępowaniem terapeutycznym jest wprowadzenie do dawki podstawowej krów dodatków bogatych w antyoksydanty (a takie są zastosowane przez zespół badawczy fito dodatki), co umożliwi właściwe uzupełnienie procesów metabolicznych, które wpłyną na zmniejszenie peroksydacji lipidów (a więc obniżenie poziomu MDA) i zahamują powstawanie wolnych rodników i nadtlenków lipidowych, poprawiając w ten sposób status zdrowotny krowy. Stosunek tłuszczu do białka w przypadku stada zdrowego i prawidłowo skomponowanej dawce pokarmowej powinien wahać się w okolicach wartości 1,1 – 1,3. W przypadku pobrania kontrolnego wartość ta wyniosła 1,09, natomiast po 7. dniach suplementacji uległa podwyższeniu do poziomu 1,23. Dlatego też można stwierdzić, że suplemntacja pyłkiem kwiatowym wpłynęła na poprawę stosunku TB.

Tabela 37. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na ogólny skład chemiczny mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Składnik [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Białko Ogólne | 1 | 3,20 | 0,296 |
| 7 | 3,09 | 0,395 |
| 14 | 3,03 | 0,401 |
| 21 | 3,14 | 0,495 |
| Ogółem | 3,12 | 0,385 |
| Tłuszcz | 1 | 3,49A | 0,460 |
| 7 | 3,77 | 0,408 |
| 14 | 3,41B | 0,287 |
| 21 | 4,22AB | 0,686 |
| Ogółem | 3,72 | 0,557 |
| Laktoza | 1 | 4,43 | 0,183 |
| 7 | 4,44 | 0,206 |
| 14 | 4,48 | 0,201 |
| 21 | 4,58 | 0,143 |
| Ogółem | 4,48 | 0,184 |
| Sucha Masa | 1 | 12,09 | 0,646 |
| 7 | 12,29 | 0,615 |
| 14 | 11,86a | 0,430 |
| 21 | 12,83a | 1,007 |
| Ogółem | 12,27 | 0,760 |
| sucha masa beztłuszczowa | 1 | 8,47 | 0,243 |
| 7 | 8,35 | 0,346 |
| 14 | 8,38 | 0,357 |
| 21 | 8,42 | 0,366 |
| Ogółem | 8,39 | 0,321 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanej suplemntacji na kształtowanie się podstawowego składu chemicznego analizowanych prób mleka w trakcie trwania doświadczenia. Za optymalną zawartość białka w mleku pozyskiwanym od krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej przyjmuje się wartości w granicach 3,2 – 3,6 proc., natomiast zawartość tłuszczu w mleku krów tej rasy znajduje się w przedziale 3,5 – 4,5 proc. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że zastosowana suplementacja, wpłynęła pozytywnie na kształtowanie się parametrów użytkowych mleka.

Tabela 38. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na parametry przydatności technologicznej mleka w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| parametr | dni eksperymentu | LSM | SD |
| punkt zamarzania [°C] | 1 | 0,517 | 0,014 |
| 7 | 0,512 | 0,015 |
| 14 | 0,513 | 0,016 |
| 21 | 0,533 | 0,034 |
| Ogółem | 0,519 | 0,022 |
| Kwasowość[°SH] | 1 | 6,26 | 1,018 |
| 7 | 6,27 | 1,174 |
| 14 | 6,23 | 1,295 |
| 21 | 6,63 | 1,576 |
| Ogółem | 6,35 | 1,221 |
| kwas cytrynowy[g/100g] | 1 | 0,141 | 0,026 |
| 7 | 0,148 | 0,024 |
| 14 | 0,149 | 0,027 |
| 21 | 0,156 | 0,042 |
| Ogółem | 0,148 | 0,029 |
| WKT [mmol/100g] | 1 | 0,086 | 0,025 |
| 7 | 0,126 | 0,081 |
| 14 | 0,077 | 0,018 |
| 21 | 0,144 | 0,096 |
| Ogółem | 0,108 | 0,067 |
| gęstość [cm3/g] | 1 | 1,030 | 0,011 |
| 7 | 1,029 | 0,014 |
| 14 | 1,029 | 0,013 |
| 21 | 1,029 | 0,013 |
| Ogółem | 1,029 | 0,013 |
| Kazeina[g/100g] | 1 | 2,52 | 0,215 |
| 7 | 2,45 | 0,283 |
| 14 | 2,39 | 0,278 |
| 21 | 2,50 | 0,358 |
| Ogółem | 2,47 | 0,276 |

Na podstawie analizy statystycznej można stwierdzić, że zastosowana suplenetacja w postaci pyłku kwiatowego nie wpłynęła na kształtowanie się jakości technologicznej mleka.

Tabela 39. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na zawartość białek serwatkowych w mleku krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Białko serwatkowe | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Lz [ug/L] | 1 | 13,75a | 2,132 |
| 7 | 11,42 | 3,782 |
| 14 | 11,81 | 3,341 |
| 21 | 9,23a | 3,154 |
| Ogółem | 11,55 | 3,400 |
| Lf [g/L] | 1 | 0,811a | 0,125 |
| 7 | 0,674 | 0,223 |
| 14 | 0,697 | 0,197 |
| 21 | 0,544a | 0,186 |
| Ogółem | 0,681 | 0,200 |
| ALA [g/L] | 1 | 2,536a | 0,393 |
| 7 | 2,106 | 0,697 |
| 14 | 2,178 | 0,616 |
| 21 | 1,700a | 0,581 |
| Ogółem | 2,130 | 0,627 |
| BLG [g/L] | 1 | 1,972 | 0,393 |
| 7 | 2,410 | 0,768 |
| 14 | 2,409 | 1,060 |
| 21 | 2,754 | 1,087 |
| Ogółem | 2,386 | 0,870 |

Badania wykazały istotny wpływ zastosowanej suplementacji w postaci pyłku kwiatowego na kształtowanie się poziomu bioaktywnych białek serwatkowych. **Laktoferyna** (Lf) jest najważniejszym białkiem serwatkowym mleka krowiego, zwiększenie jej koncentracji w mleku jest bardzo korzystne z punktu widzenia konsumentów. Poziom Lf w analizowanych próbkach mleka przedstawiał się następująco. W pobraniach 2, 3 i 4 wykazane zostało obniżenie poziomu tego składnika. Należy zaznaczyć, że zmienność poziomu laktoferyny w mleku zależy nie tylko od stanu zdrowotnego gruczołu mlekowego, ale również od fazy laktacji, wieku krów oraz rodzaju bakterii, które były przyczyną stanu zapalnego.

Lizozym (Lz) jest jednym z najważniejszych komponentów nieswoistych mechanizmów immunologicznych. Wykazano istotny statystycznie obniżenie koncentracji Lz w trakcie trwania doświadczenia. Dlatego też można stwierdzić, że zastosowana suplemntacja wpłynęła na obniżenie z natężenia procesu zapalnego, dlatego też koncentracja lizozymu uległa obniżeniu po 21 dniach suplemntacji względem pobrania kontrolnego.

Tabela 40. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na potencjał antyoksydacyjny mleka krów utrzymywanych w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lipofilne witaminy | dni eksperymentu | LSM | SD |
| BK [mg/L] | 1 | 0,377 | 0,097 |
| 7 | 0,483 | 0,199 |
| 14 | 0,397 | 0,174 |
| 21 | 0,483 | 0,179 |
| Ogółem | 0,435 | 0,165 |
| A [mg/L] | 1 | 0,575A | 0,061 |
| 7 | 0,674B | 0,074 |
| 14 | 0,622C | 0,049 |
| 21 | 0,855ABC | 0,167 |
| Ogółem | 0,682 | 0,143 |
| E [mg/L] | 1 | 0,793A | 0,084 |
| 7 | 0,931B | 0,102 |
| 14 | 0,859C | 0,067 |
| 21 | 1,180ABC | 0,231 |
| Ogółem | 0,941 | 0,197 |
| TAS [mmol/L] | 1 | 1,092A | 0,447 |
| 7 | 1,312b | 0,486 |
| 14 | 1,259c | 0,456 |
| 21 | 2,221Abc | 1,267 |
| Ogółem | 1,471 | 0,838 |

Wpływ dodatku suplementacyjnego na zawartość wybranych antyoksydantów oraz poziom TAS został zaprezentowany w tabeli 13. Pyłek kwiatowy w znaczący sposób wpłynał zarówno na zawartość witamin rozpuszczalnych w tłuszczu mlekowym jak i na wzrost potencjału antyoksydacyjnego mleka. TAS (*total antyoxidant status*) daje możliwość oznaczenia całkowitego poziomu związków antyoksydacyjnych (enzymów, antyoksydantów pochodzenia endo- i egzogennego) w mleku w bardzo krótkim czasie,służy również do monitorowania poszczególnych składników przeciwutleniaczy, jak i ogólnego stanu systemu zapobiegającemu utlenianiu. W przeprowadzonych doświadczeniach uzyskano wysoko istotny wzrost zawartości TAS w mleku, po 21 dniach suplementacji wykazany został prawie 2-krotny wzrost poziomu tego parametru względem pobrania kontrolnego.

**Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na kształtowanie się zawartości kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej**

Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na kształtowanie się zawartości kwasów tłuszczowych nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych i ich przedstawicieli w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej przedstawiono w tabelach 41- 44.

Tabela 41. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na koncentrację grup kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| Nasycone - SFA | 1 | 48,795 | 1,675 |
| 7 | 52,568 | 6,991 |
| 14 | 52,081 | 7,096 |
| 21 | 55,760 | 7,352 |
| Ogółem | 52,301 | 6,404 |
| Jednonienasycone - MUFA | 1 | 25,873 | 3,288 |
| 7 | 30,043 | 4,472 |
| 14 | 28,393 | 3,951 |
| 21 | 29,199 | 2,012 |
| Ogółem | 28,377 | 3,706 |
| Wielonienasycone - PUFA | 1 | 3,893 | 0,622 |
| 7 | 4,340 | 1,084 |
| 14 | 4,489 | 1,348 |
| 21 | 4,939 | 1,458 |
| Ogółem | 4,415 | 1,169 |
| PUFA omega 3 | 1 | 0,833 | 0,392 |
| 7 | 0,808 | 0,233 |
| 14 | 0,842 | 0,296 |
| 21 | 0,929 | 0,328 |
| Ogółem | 0,853 | 0,303 |
| PUFA omega 6 | 1 | 0,853 | 0,303 |
| 7 | 1,923 | 0,266 |
| 14 | 2,308 | 0,517 |
| 21 | 2,387 | 0,647 |
| Ogółem | 2,625 | 0,694 |

Tabela 42. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C8:0 kaprylowy | 1 | 0,898 | 0,736 |
| 7 | 1,197 | 0,771 |
| 14 | 1,247 | 0,814 |
| 21 | 1,342 | 0,852 |
| Ogółem | 1,171 | 0,768 |
| C12: laurynowy | 1 | 1,746 | 0,381 |
| 7 | 2,182 | 0,530 |
| 14 | 2,266 | 0,686 |
| 21 | 2,489 | 0,759 |
| Ogółem | 2,171 | 0,635 |
| C14:0 mirystynowy | 1 | 6,668 | 1,758 |
| 7 | 6,615 | 1,953 |
| 14 | 6,463 | 1,931 |
| 21 | 6,833 | 2,135 |
| Ogółem | 6,645 | 1,842 |
| C16:0 palmitynowy | 1 | 22,066 | 1,829 |
| 7 | 25,024 | 3,326 |
| 14 | 25,287 | 4,450 |
| 21 | 26,988 | 4,633 |
| Ogółem | 24,842 | 3,953 |
| C18:0 stearynowy | 1 | 10,197 | 1,113 |
| 7 | 9,481 | 2,979 |
| 14 | 8,861 | 2,280 |
| 21 | 9,460 | 2,600 |
| Ogółem | 9,500 | 2,267 |

Tabela 43. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych jednonienasyconych (MUFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C12:1 laurynooleinowy | 1 | 0,121 | 0,053 |
| 7 | 0,166 | 0,037 |
| 14 | 0,172 | 0,049 |
| 21 | 0,190 | 0,056 |
| Ogółem | 0,162 | 0,053 |
| C14:1 mirystynooleinowy | 1 | 0,720aB | 0,296 |
| 7 | 0,948 | 0,156 |
| 14 | 0,974a | 0,186 |
| 21 | 1,073B | 0,211 |
| Ogółem | 0,929 | 0,245 |
| C16:1 palmitynooleinowy | 1 | 0,855aB | 0,387 |
| 7 | 1,144 | 0,179 |
| 14 | 1,181a | 0,253 |
| 21 | 1,294B | 0,265 |
| Ogółem | 1,119 | 0,312 |
| C18:1 trans-11 | 1 | 4,807 | 2,006 |
| 7 | 6,504 | 2,589 |
| 14 | 4,903 | 1,503 |
| 21 | 5,109 | 1,237 |
| Ogółem | 5,331 | 1,927 |
| C18:1 cis-9oleinowy | 1 | 18,748 | 2,028 |
| 7 | 20,425 | 2,088 |
| 14 | 20,268 | 2,437 |
| 21 | 20,561 | 1,618 |
| Ogółem | 20,001 | 2,083 |

Tabela 44. Wpływ zastosowania fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego na koncentrację wybranych kwasów tłuszczowych wielonienasyconych (PUFA) w tłuszczu mlekowym w warunkach produkcji ekologicznej

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupa kwasów tłuszczowych [g/100g] | dni eksperymentu | LSM | SD |
| C18:2 n6 Linolowy(LA) | 1 | 1,293 | 0,361 |
| 7 | 1,369 | 0,555 |
| 14 | 1,404 | 0,600 |
| 21 | 1,546 | 0,646 |
| Ogółem | 1,403 | 0,528 |
| C18:3 n3 Alfa-linolenowy(LNA) | 1 | 0,650 | 0,405 |
| 7 | 0,584 | 0,227 |
| 14 | 0,609 | 0,274 |
| 21 | 0,673 | 0,303 |
| Ogółem | 0,629 | 0,294 |
| C18:2 cis9, trans 10skoniugowany linolowy(CLA) | 1 | 1,137 | 0,351 |
| 7 | 1,224 | 0,525 |
| 14 | 1,260 | 0,598 |
| 21 | 1,384 | 0,652 |
| Ogółem | 1,251 | 0,520 |
| C22:5 n3Eikozapentaenowy(EPA) | 1 | 0,065 | 0,011 |
| 7 | 0,076 | 0,020 |
| 14 | 0,079 | 0,025 |
| 21 | 0,087 | 0,027 |
| Ogółem | 0,077 | 0,022 |
| C22:6 n3Dokozaheksaenowy(DHA) | 1 | 0,026 | 0,030 |
| 7 | 0,045 | 0,048 |
| 14 | 0,048 | 0,054 |
| 21 | 0,053 | 0,060 |
| Ogółem | 0,043 | 0,048 |

Zastosowanie fito dodatku w postaci pyłku kwiatowego spowodowało jedynie istotne zwiększenie syntezy kwasów jednonienasyconych: mirystynooleinowego i palmitooleinowego, odpowiednio w porównaniu z pobraniem kontrolnym z 0,700 do 1,073 i z 0,855 do 1,294 g/100g tłuszczu po 21 dniach suplementacji.

Poprzez zastosowanie odpowiednich dodatków w żywieniu krów jesteśmy w stanie wpływać na zwiększenie się poziomu bioaktywnych składników zarówno frakcji białkowej, jak i tłuszczowej zmierzające w kierunku uzyskania większej zawartości składników pozytywnie wpływających na zdrowie konsumenta. Antyoksydanty tłuszczu mlekowego są bardzo skuteczne, pomimo, iż występują w śladowych ilościach w 1 litrze mleka, ale ich działanie względem siebie jest synergistyczne.

**4. Opis potencjału aplikacyjnego wyników projektu**

 Zapalenie wymienia, czyli *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, tj.: *Mycobacterium bovis, Aspergillus sp.* W przypadku leczenia w gospodarstwach konwencjonalnych, wysokonakładowych wykorzystuje się następujące środki: hemioterapeutyki (głównie antybiotyki), środki przeciw zapalne (sterydowe i NSAID), lydium, biotropinę, ceromangan, środki nasercowe (kofeina), jak również maści działające lokalnie (chłodzące, pobudzające krążenie). W zależności od czynnika etiologicznego, stopnia zmian zazwyczaj leczenie trwa 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). Przy braku objawów ogólnych zalecane jest dowymieniowe podanie antybiotyków np.: Nafpenzalu MC 1 tubostrzykawka/strzyk. W cięższych formach konieczne jest leczenie ogólne – podanie np.: Biotylu 200 2-5 ml/100 kg m.c. lub innego antybiotyku w zależności od objawów klinicznych i wyników badań bakteriologicznych. Wyleczenie tej formy zapalenia wymienia trwa dość długo, między 3 a 6 miesięcy. Podanie niektórych antybiotyków krowom może powodować utrudnione oddawanie moczu, zmętnienie moczu, krwiomocz oraz u zwierząt nadwrażliwych na sulfonamidy hematurię i apatię. Skutki uboczne stosowania sulfonamidów mogą wyrażać się reakcjami nadwrażliwości lub bezpośrednim efektem toksycznym. Reakcje nadwrażliwości mogą manifestować się wystąpieniem zmian skórnych, anafilaksją, podwyższoną temperaturą ciała, zapaleniami stawów, anemią hemolityczną, agranulocytozą. Niekiedy może dojść do wystąpienia hematurii oraz obstrukcji kanalików nerkowych, czyli do krystalurii. Szybki wlew dożylny niektórych antybiotyków może powodować powstanie efektu toksycznego, którego objawami klinicznymi są słabość mięśni, ataksja, ślepota i zapaść. Niekiedy mogą wystąpić 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 witaminy B. Długotrwała terapia wysokimi dawkami antybiotyków może powodować zapalenie wątroby, żółtaczkę, zapalenie nerwów, zwyrodnienia rdzenia kręgowego i nerwów obwodowych oraz suche zapalenie rogówki.

W niektórych sytuacjach **czosnek** może działać sto razy silniej niż antybiotyki, jest on skuteczniejszy niż erytromycyna i cyprofloksacyna. Podobne działanie może posiadać **cebula**. Wiele spośród ziół wykazują również działania bakteriostatyczne i dodatkowo mlekopędne. Zaliczamy do nich m.in. **rozmaryn, kminek i oregano**. Inne badania z kolei wskazują, że **pyłek kwiatowy** odznaczają się silnym działaniem antybiotycznym, przy czym działa on zarówno na bakterie patogenne, jak i na grzyby drożdżoidalne (Bilińska i współ 1985; Valdez i współ 1993). Za działanie to odpowiedzialne są głównie flawonoidy i fenolokwasy (Kędzia i wsp. 1994). Pyłek wykazuje działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze w stosunku do szczepów bakterii *Pseudomonas aeruginosa, E. Coli i Straoh aureus* (Bilinska i wsp. 195; Gałuszka i inni 1990). W badaniach na zwierzętach wykazano, że pyłek kwiatowy odznacza się działaniem przeciwzapalnym (Donew i Wasilew 1987; Loschem i Ebeling 1991). Jego siłę działania przyrównuje się do takich leków przeciwzapalnych, jak naproksen czy indometacyna. Ze względu na skład pyłek pszczeli zwany jest "bombą witaminową" (Kędzia i Hołderna–Kędzia 1994). Odznacza się on także wysoką wartością odżywczą (Loschem i Ebeling 1991) oraz działaniem adaptogennym (dostosowawczym). Działaniem adaptogennym polega na podwyższaniu odporności przeciw szkodliwym czynnikom fizycznym, chemicznym i biologicznym. Zalicza się tutaj zarówno podwyższanie sprawności fizycznej organizmu w sytuacjach nadmiernego obciążenia, a także wzrost odporności organizmu na zakażenia (Wan i wsp. 1993).

 Podwyższenie koncentracji w mleku składników o właściwościach antyoksydacyjnych przy wykorzystaniu dodatków suplementacyjnych jest naturalnym sposobem stymulacji układu immunologicznego krów, umożliwiającym ograniczenie stosowania hemioterapeutyków (np. kokcydiostatyków) i stymulujących wzrost antybiotyków (antybiotyki, hormony i środki o podobnym w działaniu). Wysoka koncentracja bioaktywnych składników mleka po zastosowanej suplementacji w istotny sposób może wpłynąć 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.

**5. Podsumowanie**

 Dodatki fitogenne są w pełni bezpieczne, a przypadkowe przedawkowanie w najgorszym wypadku może doprowadzić do czasowego obniżenia pobrania paszy. Zastosowana suplementacja w postaci ***ekstraktu z cebuli, ekstraktu z czosnku, mieszanki ziołowej: oregano, rozmarynu, kminku*** oraz ***pyłku kwiatowego*** do dawki pokarmowej krów, ze zdiagnozowanym subklinicznym zapaleniem gruczołu mlekowego, wpłynęła na obniżenie liczby komórek somatycznych i ogólnej liczby bakterii w surowcu oraz na podwyższenie koncentracji bioaktywnych składników odpowiedzialnych za immunostymulację m.in: laktoferyny i antyoksydantów.

Uzyskane wyniki stanowią doskonałe uzupełnienie istniejącego stanu wiedzy i pozwoliły na wykazanie skuteczności zastosowanych dodatków paszowych w walce z subklinicznym stanem *mastitis* w gospodarstwach ekologicznych specjalizujących się w produkcji mleka oraz korzystnego wpływu na jakość surowca.

* Pośród zastosowanych fitobiotyków najkorzystniejsze oddziaływanie wykazał pyłek kwiatowy, powodując 3-krotne obniżenie LKS ze średniego poziomu wyjściowego 645 tys/cm3 do 223 tys/cm3 po 3 tygodniach stosowania go w ilości 150 g/na sztukę na dobę. ***Jedynie przy stosowaniu tego dodatku wykazano, że stan zdrowia gruczołu mlekowego badanych krów utrzymywał się stabilnie do końca doświadczenia pomimo zaniechania suplementacji.***
* Porównanie tych 4 wyselekcjonowanych dodatków charakteryzujących się różnym spectrum działania w przeprowadzonych doświadczeniach żywieniowych, umożliwiło wybranie dawki suplementacyjnej w ilości 150 g pyłku kwiatowego/ na sztukę na dobę wpływającej najkorzystniej na jakość cytologiczną i mikrobiologiczną mleka. ***Wykazano całkowitą zmianę zróżnicowanej flory bakteryjnej mleka na jednorodną dominującą Enterobacteriacea po zastosowaniu pyłku kwiatowego.***