

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA
I GLEBOZNAWSTWA
PAŃSTWOWY INSTYTUT
BADAWCZY



**STUDIA
I
RAPORTY
IUNG - PIB**

23

PROGRAM WIELOLETNI

2005–2010

PUŁAWY 2010

**ZWIĄZKI FITOGENICZNE
JAKO NATURALNA
ALTERNATYWA
ANTYBIOTYKOWYCH
PROMOTORÓW WZROSTU**

KSZTAŁTOWANIE
ŚRODOWISKA ROLNICZEGO POLSKI
ORAZ ZRÓWNOWAŻONY ROZWÓJ
PRODUKCJI ROLNICZEJ

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

Dyrektor: *prof. dr hab. Seweryn Kukula*

Redaktor: *prof. dr hab. Adam Harasim*

Recenzenci: *prof. dr hab. Jan Kowalczyk*

Opracowanie redakcyjne i techniczne: *dr Irena Marcinkowska*

ISBN 978-83-7562-066-5

Egzemplarz bezpłatny

Nakład 120 egz., B-5, zam. 70/A/10
Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG - PIB w Puławach
tel. (081) 8863421 w. 301 i 307; fax (081) 8864547
e-mail: iung@iung.pulawy.pl; <http://www.iung.pulawy.pl>

ZWIĄZKI FITOGENICZNE JAKO NATURALNA
ALTERNATYWA ANTYBIOTYKOWYCH
PROMOTORÓW WZROSTU

SPIS TREŚCI

Wstęp	7
1. Jerzy Księżak, Eliza Gawęł, Mariola Staniak – Dodatki paszowe stosowane w żywieniu zwierząt monogastrycznych i przeżuwaczy	9
2. Małgorzata Szumacher-Strabel, Adam Cieślak – Wtórne metabolity roślinne w żywieniu zwierząt przeżuwających	35
3. Dariusz Jędrejek, Anna Stochmal – Nowe składniki roślinne w żywieniu zwierząt przeżuwających (Projekt RUMEN-UP)	73
4. Bruno Stefanon, Geert Bruggeman, Jürgen Zentek, Anneluise Mader – Związki fitogeniczne w paszach – ich etykietowanie i możliwości śledzenia	93

Wstęp

Wtórne metabolity roślinne (fitozwiązki, substancje swoiste) postrzegane są jako substancje adaptacyjne, pozwalające roślinom bronić się przed roślinożercami, ale także przed różnymi biotycznymi i abiotycznymi czynnikami środowiska. Ponieważ są one składnikiem diety ludzkiej i zwierzęcej, ich znaczenie żywieniowe musi być brane pod uwagę. Wpływ tych związków na organizmy zwierzęce zależy w dużym stopniu od ich budowy chemicznej, koncentracji i ilości spożytej w pokarmie. Wcześniejsze badania nad tą grupą związków dotyczyły głównie ich szkodliwego działania na organizmy zwierzęce, a prace hodowlane nad nowymi odmianami roślin uprawnych nakierowane były na obniżanie ich zawartości w roślinach.

W ostatniej dekadzie znacznie wzrosło zainteresowanie wtórnymi metabolitami roślinnymi i ekstraktami roślinnymi w odniesieniu do żywienia zwierząt. Przyczyną tego był wzrost świadomości i presja konsumentów skierowana przeciwko stosowaniu w produkcji zwierzęcej tzw. antybiotykowych promotorów wzrostu. Dodawanie małych dawek antybiotyków do paszy różnych gatunków zwierząt było na świecie codzienną praktyką. Istniała zatem obawa, że takie działanie może prowadzić do wzrostu odporności na antybiotyki wielu mikroorganizmów chorobotwórczych, zagrażających życiu człowieka. Decyzją Unii Europejskiej w 2006 roku został wprowadzony całkowity zakaz stosowania antybiotykowych promotorów wzrostu na całym jej terytorium. Niestety zakaz ten wciąż nie obowiązuje w wielu krajach na świecie, co powoduje spadek konkurencyjności producentów z Europy w stosunku do krajów wciąż stosujących antybiotykowe promotory wzrostu. Aby wyrównać te szanse, Komisja Europejska finansowała szereg programów badawczych, których celem było sprawdzenie możliwości wykorzystania naturalnych roślinnych substancji, mogących zastąpić w paszach antybiotykowe promotory wzrostu.

Tym zagadnieniom poświęcone jest niniejsze opracowanie. Jest ono uzupełnieniem wcześniej opublikowanych w ramach zadania 2.6. programu wieloletniego IUNG-PIB dwóch opracowań dotyczących wykorzystania naturalnych substancji roślinnych w żywieniu świń (1) i drobiu (2). Niniejsze opracowanie zawiera cztery prace, z których pierwsza dotyczy ogólnych informacji na temat wykorzystania substancji naturalnych w żywieniu zwierząt. Drugie opracowanie szczegółowo przedstawia zagadnienie wykorzystania substancji naturalnych w żywieniu przeżuwaczy. Trzeci artykuł został opracowany na podstawie raportu końcowego tematu badawczego realizowanego w ramach 6. Programu Ramowego UE. Ostatnia praca jest tłumaczeniem raportu końcowego, jaki w ramach projektu UE Feed-Seg (<http://www.feed-seg.net/>) opracował zespół ekspertów, dotyczy zaś ogólnych uwag na temat etykietowania preparatów zawierających związki naturalne pochodzenia roślinnego oraz śledzenia ich wytwarzania i dystrybucji zgodnie z odpowiednimi dyrektywami Unii Europejskiej.

Kierownik zadania 2.6.

prof. dr hab. Wiesław Oleszek

Prace cytowane to:

1. Czaban J.: Fitogeniczne dodatki paszowe jako alternatywa antybiotykowych stymulatorów wzrostu w żywieniu świń. Monografie i Rozprawy Naukowe, IUNG-PIB Puławy, 2009, **23**: ss. 213.
2. Wallace R. J., Oleszek W., Franz C., Hahn I., Baser K. H. C., Mathe A., Teichmann K.: Dietary plant bioactives for poultry health and productivity. British Poultry Science, 2010, **51(4)**: 461-487.

Jerzy Księżak, Eliza Gawel, Mariola Staniak

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach*

DODATKI PASZOWE STOSOWANE W ŻYWIENIU ZWIERZĄT MONOGASTRYCZNYCH I PRZEŻUWACZY*

Wstęp

Antybiotyki jako dodatki paszowe w żywieniu zwierząt używane były od początku lat 50. Wpływają one korzystnie na wyniki produkcyjne, a ich efektywność jest szczególnie duża w gorszych warunkach środowiskowych. Jednak długotrwałe stosowanie nawet małych dawek powoduje powstawanie odporności u bakterii. Dlatego w UE od 1.01.2006 r. wprowadzono zakaz stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu w żywieniu zwierząt (regulacja UE 1831/2003). Wymaga to zmian w programie żywienia zwierząt, które muszą uwzględniać wzmocnienie naturalnej odporności i stabilizację korzystniejszej mikroflory przewodu pokarmowego, poprzez stosowanie określonych pasz i dodatków paszowych oraz modyfikację poziomu niektórych składników pokarmowych. Zmusza to hodowców, doradców i rolników do poszukiwania naturalnych i bezpiecznych dodatków, które można wykorzystać w celu optymalizacji składu flory bakteryjnej przewodu pokarmowego, osiągając tym samym lepsze trawienie składników pokarmowych paszy oraz wysoką wydajność i opłacalność produkcji. Wielu producentów rolnych, oprócz osiągnięcia dobrych efektów produkcyjnych, interesuje ponadto uzyskiwanie takich produktów pochodzenia zwierzęcego, które będą atrakcyjne dla konsumentów ze względu na swoją wartość odżywczą, dietetyczną i prozdrowotną. Jako dodatki paszowe w żywieniu zwierząt najczęściej wykorzystywane są: prebiotyki, probiotyki, synbiotyki, enzymy paszowe, barwniki, substancje aromatyczne i smakowe, preparaty dezodoryzujące, konserwanty, detoksykanty, zioła, przeciwutleniacze, lepiszcza i inne. Są one wprowadzane do diety głównie w celu (48):

- poprawy lub stabilizacji cech materiałów paszowych, mieszanek paszowych lub środków żywienia zwierząt;
- zaspokojenia potrzeb żywieniowych zwierząt lub poprawie cech użytkowych zwierząt w wyniku wpływu na florę żołądkowo-jelitową bądź na strawność paszy;

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.6 w programie wieloletnim IUNG - PIB

- wprowadzenia składników pokarmowych umożliwiających osiągnięcie szczególnych celów żywieniowych lub zaspokojenia specyficznych potrzeb żywieniowych w danym okresie;
- zapewnienia bezpieczeństwa produkowanych środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego;
- zapobiegania szkodliwemu wpływowi odchodów zwierzęcych na środowisko lub zmniejszenia tego wpływu.

Probiotyki

Probiotykami zgodnie z definicją F u l l e r a (37) nazywa się preparat zawierający mikroorganizmy żywe, które po spożyciu wywierają korzystny wpływ na organizm gospodarza poprzez prowadzenie do równowagi mikroflory jelitowej i aktywności enzymów, co powoduje dodatni wpływ na rozwój zwierząt i ich wzrost. Probiotyczne właściwości wykazują wyselekcjonowane naturalne szczepy bakterii, cechujące się zdolnością przeżycia i kolonizacji przewodu pokarmowego zwierząt oraz wypierania z niego szczepów patogennych, przez co wpływają one na polepszenie trawienia i wykorzystania paszy oraz stymulują odporność organizmu (38). Preparaty probiotyczne podawane są zwierzętom w formie proszku, zawiesiny wodnej, granulek, tabletek lub pasty, mogą być też rozpylane, z reguły stosuje się je wielokrotnie lub w sposób ciągły. Mogą być dodane do wody lub do paszy pełnoporcjowej albo do premiksów bądź rozpylane w pomieszczeniu (42). Forma podania probiotyków zwierzętom wpływa na ich efektywność. B r z ó s k a i S t e c k a (16) udowodnili, że podając w wodzie kurczętom bakterie probiotyczne uzyskuje się większą masę tuszek ptaków, wydajność rzeźną i większy europejski wskaźnik wzrostu kurcząt niż w przypadku podania tych bakterii w suchej mieszance paszowej.

Probiotyki znalazły zastosowanie w żywieniu prawie wszystkich grup technologicznych trzody chlewnej. Dobroczynne działanie probiotyków u tych zwierząt uwiadcza się ograniczeniem występowania biegunki i śmiertelności prosiąt, zwiększoną immunostymulacją oraz odpornością na działanie mikotoksyn (neutralizacja mikotoksyn), szybszym wzrostem i lepszym wykorzystaniem paszy. Z badań S i u t y (117) nad wpływem biopreparatu Probiomix P-I na stan zdrowia prosiąt, ze szczególnym uwzględnieniem częstotliwości występowania biegunek, charłactwa i przyrostów masy ciała oraz upadków wynika, że podany probiotyk był dobrym naturalnym stymulatorem stanu zdrowotnego prosiąt ssących i odsadzonych, ze względu na ograniczenie częstości występowania biegunek, całkowitą redukcję śmiertelności prosiąt od 42 do 63 dnia życia oraz występującą tendencję do poprawy przyrostów masy ciała. W innych badaniach nad „ekologicznym” dodatkiem paszowym dla prosiąt, zawierającym bakterie rodzaju *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* oraz drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, podawanym sukcesywnie, stwierdzono istotną, czterokrotnie wyższą przeżywalność prosiąt w całym okresie badań (118). Podobną przydatność probiotyków w żywieniu trzody chlewnej opisali wcześniej inni autorzy (42,

98, 100, 103, 117, 120, 123). R e k i e l i W i ą c e k (105) uważają, że uzasadnione jest stosowanie probiotyków w terapii schorzeń biegunkowych u prosiąt, a mniejsze jest ich znaczenie w zakresie stymulacji przyrostów masy ciała. Ponadto autorki te twierdzą, że lochom preparaty probiotyczne powinny być podawane w okresie okołoporodowym i 1-2 dni przed zadziałaniem czynnika stresowego, np. rui lub zmiany paszy, po leczeniu antybiotykami. Małą skuteczność stosowania probiotyków u starszej trzody chlewnej potwierdzają też inne badania (57, 86), zwłaszcza w odniesieniu do ich wpływu na tempo wzrostu i wykorzystania paszy. K o r e l e s k i i Ś w i ą t - k i e w i c z (69) podają, że w badaniach zagranicznych skuteczność stosowania probiotyków w poprawie wskaźników produkcyjnych u świń była zróżnicowana i wynosiła około 5%, a w przypadku prosiąt 6-8% dla wzrostu i 4-6% dla wykorzystania paszy.

W ostatnich latach opinie na temat skuteczności probiotyków jako stymulatorów wzrostu i preparatów poprawiających wykorzystanie paszy w końcowym etapie tuczu świń są zróżnicowane. Uzyskane wyniki wskazują, że nie zawsze dają pozytywne efekty, gdyż starsze świny mogą efektywniej trawić paszę, posiadają też większą odporność na dolegliwości jelitowe. W badaniach realizowanych przez S o k o ł a i B o b e l a (122) na tucznikach o średniej masie ciała, wynoszącej na początku eksperymentu około 30 kg i na koniec 104-109 kg, podawano tę samą mieszankę pełnoporcjową z dodatkiem w jednej grupie doświadczalnej probiotyku „B”, zawierającego zmieszane kultury bakterii *Bifidobacterium bifidum* 557, 558 i 100J w stosunku 2 : 2 : 1, w drugiej grupie probiotyk „BD”, składający się z kultury bakterii wymienionych wcześniej i kultury drożdży + *S. boulardi* w stosunku 1 : 1. Wykazały one, że tylko strawność tłuszczu surowego tuczników karmionych paszą z probiotykami była istotnie większa w porównaniu ze stwierdzoną w grupie kontrolnej (zwierzęta karmione paszą bez probiotyków). Potwierdzono też znaną prawidłowość, że probiotyki podawane w tuczu młodych zwierząt wykazują większą efektywność (4-9%) niż u zwierząt starszych (3-6%); (122).

Z dotychczasowych prac badawczych nad probiotykami w produkcji drobiu wynika, że nie zawsze uzyskuje się pozytywne rezultaty po zastosowaniu tego typu dodatków paszowych. W żywieniu drobiu probiotyczne bakterie kwasu mlekowego (LAB) działają wzmacniająco na endogenną florę bakteryjną przewodu pokarmowego oraz zakwaszająco, a także bakteriobójczo, ponieważ mają one zdolność syntezy bakteriocyny pobudzającej układ immunologiczny kurcząt do wytwarzania przeciwciał zwalczających mikroorganizmy chorobotwórcze oraz zmniejszając upadki powodowane schorzeniami przewodu pokarmowego (15, 42). W badaniach nad wskaźnikami odporności i efektywności odchowu kurcząt, podając bakterie kwasu mlekowego *Lactobacillus acidophylus* i *Streptococcus seacium faecrum*, stwierdzono istotne obniżenie pH treści jelita cienkiego i jelit ślepych, istotne zwiększenie poziomu hematokrytu i zawartości erytrocytów we krwi oraz zaobserwowano tendencję do spadku śmiertelności ptaków (96). B r ó s k a i S t e c k a (16), badając dodatek bakterii kwasu mlekowego (LAB), stwierdzili u kurcząt rzeźnych istotnie większą masę ciała

w pierwszym i drugim okresie chowu w przypadku podawania probiotyku w stosunku do grupy kontrolnej (bez dodatków) i grupy żywionej z dodatkiem antybiotyku. Podobne wyniki potwierdzające zwiększenie masy ciała kurcząt pod wpływem bakterii kwasu mlekowego *Lactobacillus plantarum* KKP 595 i *Lactobacillus rhamnosus* KKP 825 oraz *Enterococcus faecium* M-74 uzyskano w badaniach Brzóski i in. (15). Natomiast badania Pietrasa i Skrabę (96) nie wykazały istotnego wpływu zastosowanego probiotyku na masę ciała ptaków i zużycie paszy.

Brzóska i Stecka (16) nie stwierdzili wpływu probiotyków na jakość tuszek kurcząt i na udział mięśnia piersiowego i mięśni nóg w masie tuszek oraz na zawartość składników surowicy krwi (białka całkowitego, glukozy, trójglicerydów, cholesterolu całkowitego i lipoprotein wysokiej gęstości). W późniejszych badaniach Brzóska i in. (15) uzyskano istotny przyrost masy mięśni piersiowych kurcząt rzeźnych żywionych paszą z probiotykiem. Jednak autorzy zaznaczyli, że cecha ta jest silnie determinowana genetycznie, trudno więc jest wyciągnąć prawidłowe wnioski z przeprowadzonych badań, tym bardziej, że podobnej zależności nie stwierdzono w innych badaniach.

Stosowanie probiotyków zaleca się też w żywieniu różnych grup przeżuwaczy: cieląt, opasów młodych i dorosłych oraz krów mlecznych, zwłaszcza utrzymywanych w dużych fermach, gdzie zwierzęta narażone są na stresy i patogeny. U młodych przeżuwaczy probiotyki zapobiegają infekcji jelit, zwiększają przyrosty masy ciała, powodują szybszy rozwój przedżołądków, umożliwiają wcześniejsze odsadzenie, zapobiegają zapaleniu płuc, sprzyjają lepszemu wykorzystaniu paszy oraz obniżają śmiertelność (42, 65, 116, 129). Grela (48) u bydła dorosłego zanotował poprawę mleczności, stabilizację flory bakteryjnej w żwaczku i lepsze wykorzystanie składników paszy. U opasów probiotyki zwiększają pobranie i wykorzystanie paszy oraz stabilizują florę bakteryjną żwacza, natomiast u krów powodują zwiększenie wydajności mleka i zawartości w nim białka i tłuszczu. Jednak w złych warunkach utrzymania, przy niedoborach żywieniowych krów, nie należy spodziewać się pozytywnego wpływu zastosowanych probiotyków na wydajność mleczną (129). Z badań tych autorów wynika, że Biogen N podawany cielętom bezpośrednio po urodzeniu, a później Biogen B z równoczesnym podawaniem Biosanu na ściółkę, zmniejszał śmiertelność zwierząt z 14,9% w grupach kontrolnych do 6,2% w grupach doświadczalnych (w średnich warunkach produkcyjnych) i powodował zwiększenie tempa przyrostów. W doświadczeniu na kozach mlecznych po zastosowaniu Bigenu O uzyskano większą wydajność mleka, zaznaczyła się tendencja do zwiększenia zawartości białka w mleku, a także jego gęstości i zawartości w nim wapnia (119).

Preparaty probiotyczne na bazie drożdży zawierają w składzie żywe i martwe kultury. Martwe drożdże są źródłem witamin z grupy B (B_1 , B_2 , B_6 , H – biotyna) biorących udział w trawieniu węglowodanów, białka i tłuszczów w przewodzie pokarmowym zwierząt, biopierwiastków, enzymów oraz dobrze trawionego białka. Znajdują one zastosowanie jako komponent pasz, premiksów i mają znaczenie probiotyczne w żywieniu różnych grup zwierząt (4). Ze względu na działanie immunomodulujące

pobudzają odporność nieswoistą i swoistą zwierząt, co obniża ich wrażliwość na czynniki chorobotwórcze (128). Probiotyczne działanie drożdży (*Saccharomyces cerevisiae*) i preparatów drożdżopochodnych bogatych w witaminy z grupy B, enzymy, zwłaszcza w lizynę, selen, witaminę E, kwas foliowy w żywieniu świń polega na ich korzystnym wpływie na florę bakteryjną przewodu pokarmowego, stymulację wzrostu i rozwoju młodych zwierząt, uzyskaniu lepszych nawet o 20% przyrostów masy ciała tuczników (4). W żywieniu owiec matek wykazano, że zastosowanie preparatu drożdżowego Yea-Sacc 1026 powodowało zwiększenie produkcji mleka (76). W innych badaniach prowadzonych na jałówkach przeznaczonych do hodowli, podając metodą rozpyłową preparat InterYeast-S z suszonych drożdży piwnych w ilości 4% do paszy treściwej oraz 1% do mleka, stwierdzono istotne przyrosty masy ciała u cieląt oraz mniejsze zużycie pasz na 1 kg przyrostu masy ciała jałówek (102). Uzyskane wyniki badań sugerują lepsze wykorzystanie paszy i przez to większą opłacalność ekonomiczną odchowu cieląt żywionych z dodatkiem zastosowanego preparatu drożdżowego.

Zaletą dodatków probiotycznych podawanych zwierzętom jest to, że nie odkładają się one w tkankach zwierzęcych, jak to się dzieje z antybiotykowymi stymulatorami wzrostu (ASW) i nie pogarszają jakości produktów zwierzęcych, a tym samym nie wpływają na zdrowie konsumentów. G r e l a i S e m e n i u k (42), wykazując korzystne oddziaływanie probiotyków u świń, podkreślają ich zdolność do obniżania poziomu triglicerydów i cholesterolu we krwi i tkankach, co zdaniem autorów daje nadzieję na poprawę wartości dietetycznej wieprzowiny. Również L a c h o w s k i (76) stwierdził zwiększenie parametrów ubojowych tuczonych jagniąt, tj. zwiększenie powierzchni oka polędwicy i masy udźca oraz zmniejszenie zawartości tłuszczu i zwiększenie udziału mięsa w udźcu jagniąt pod wpływem zastosowanego preparatu drożdżowego. Badania H a d d i n a i in. (54) wykazały też pozytywne efekty w żywieniu kur niosek, bowiem po dodaniu do paszy probiotyku zawierającego szczep bakterii *Lactobacillus acidophilus* nastąpiło znaczne zwiększenie nieśności i obniżenie poziomu cholesterolu.

Prebiotyki

Prebiotykami stosowanymi w żywieniu zwierząt nazywane są substancje odżywcze stymulujące wzrost lub aktywność korzystnej flory bakteryjnej. Najczęściej prebiotykami są niestrawne, fermentujące cukry – oligosacharydy i fruktooligosacharydy. Prebiotyki ulegają selektywnej i szybkiej fermentacji bakteryjnej w dalszych odcinkach przewodu pokarmowego, stymulują tam wzrost bakterii kwasu mlekowego, zwłaszcza z rodzaju *Bifidobacterium*, a także wywołują efekt bifidogeny polegający na selektywnej fermentacji fruktanów przez bifidobakterie syntetyzujące enzym β -fruktozydazę. Dostarczane zwierzętom prebiotyki wykorzystywane przez bakterie wpływają na zmiany liczebności i rodzaju bakterii w jelitach, powodują też ograniczenie występowania bakterii chorobotwórczych *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigel-*

la, *Campylobacter jejuni* oraz *Clostridium perfringens*, jak też produkowanych przez nie toksyn, co podnosi odporność zwierząt (44, 116, 127, 128).

Znanymi preparatami prebiotycznymi są: inulina, laktoza, laktuloza, mannanoligosacharydy (MOS), agarooligosacharydy (AOS), fruktooligosacharydy (FOS), β -galaktooligosacharydy (GOS) i inne, jak np. wyciągi roślinne z *Yucca schidigera*. Prebiotyki zapobiegają zjawisku adhezji bakterii patogennych (*Salmonella* spp., *E. coli* spp.) do śluzówki przewodu pokarmowego, a zajmując miejsce na błonie komórkowej jelit uniemożliwiają bakteriom chorobotwórczym przyłączenie się do ścian jelit, co w konsekwencji prowadzi do ich wydalenia wraz z niestrawionym pokarmem i ograniczenia występowania biegunk u zwierząt oraz do skrócenia czasu ich trwania (65, 101).

W żywieniu trzody chlewnej znaczącą grupę prebiotyków stanowią betaglukany, pochodzące z wyselekcjonowanych polisacharydów ze ścian komórkowych szczepów drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Najbardziej poznaną grupą są 1,3-1,6 β -glukany, które znalazły zastosowanie również w żywieniu drobiu i bydła (132) oraz mannanooligosacharydy (MOS); (131). W badaniach prowadzonych na cielętach w wieku 6-8 tygodni, którym podawano paszę z dodatkiem preparatu Alphamune w ilości 14 g na zwierzę dziennie, wykazano zmiany immunologiczne oraz poprawę efektów produkcyjnych, tj. wzrost średnich tygodniowych przyrostów masy ciała o 1,45 kg i mniejsze o ponad 6% zużycie paszy w porównaniu z wynikami z grupy kontrolnej (bez prebiotyku); (131). Ponadto autorzy tego opracowania podkreślili lepszy stan ogólny, żywotność i kondycję oraz mniejszą podatność na infekcje w układzie pokarmowym i oddechowym u zwierząt otrzymujących MOS, β -glukany i β -mannany w preparacie Alphamune. W innym opracowaniu podkreśla się dużą rolę preparatów prebiotycznych w nieswoistej immunoprofilaktyce wielu chorób zwierząt w okresach zwiększonej zapadalności na infekcje zakaźne w wielkostatnych hodowlach bydła, trzody chlewnej i drobiu, jak też duże znaczenie tych preparatów w przyspieszaniu powrotu do zdrowia u zwierząt po przebytej chorobie (130). W badaniach na owcach stwierdzono, że mannanooligosacharydy (MOS) podawane jako prebiotyk w ilości 10 g/szt./dzień w żywieniu opartym na sianie i sianokiszonce łącznie podwyższały hematokryt oraz liczbę czerwonych i białych krwinek krwi, ale nie powodowały zmian wydajności i składu mleka maciorek (67). W modelu żywienia sianem maciorek w okresie ciąży i laktacji opisanych efektów stosowania Bio-Mosu nie zaobserwowano. Również w żywieniu brojlerów B r z ó s k a i S t e c k a (16) nie wykazali pozytywnych efektów zastosowania oligosacharydu mannanu na przyrosty masy ciała, wykorzystanie paszy, skład tuszek i mięsa.

Synbiotyki

Probiotyki i prebiotyki stosowane łącznie w żywieniu zwierząt noszą nazwę synbiotyków. Synbiotyki stosowane w żywieniu zwierząt wpływają na ich rozwój i stan poprzez zwiększenie przeżywalności flory bakteryjnej występującej w przewodzie pokarmowym, selektywne pobudzanie do wzrostu korzystnych dla zdrowia bakterii, po-

budzanie metabolizmu tych bakterii i stymulację rozwoju pożytecznych drobnoustrojów (65). Podawanie synbiotyku w postaci probiotyku – bakterii kwasu mlekowego (LAB) – oraz prebiotyku oligosacharydu mannanu (MOS) w preparacie Biomos w połączeniu z kwasem fumarowym lub kwasem mrówkowym w żywieniu brojlerów utrzymywanych do wieku 6 tygodni, spowodowało istotne zwiększenie wykorzystania paszy i poprawę europejskiego wskaźnika produkcji kurcząt (17). Badania przeprowadzone na jagniętach pochodzących od maciorek żywionych probiotykiem (Microbiosan) i prebiotykiem (MOS) wskazują na wzrost liczby czerwonych krwinek oraz zwiększenie wartości hematokrytu w krwi jagniąt, zwiększenie liczby leukocytów i obniżenie poziomu cholesterolu całkowitego przy zwiększającym się udziale frakcji HDL (66). Natomiast P i ę t a i in. (95) w badaniach nad wymienionym wcześniej preparatem synbiotycznym zanotowali zwiększenie mleczności owiec i jakości higienicznej mleka.

Zioła

Zioła od bardzo dawnych czasów stosowane były w leczeniu chorych zwierząt. Obecnie rośliny te oraz substancje w nich zawarte budzą zainteresowanie także jako potencjalne stymulatory wzrostu. Ziołami są gatunki pochodzące z naturalnych stanowisk lub pozyskiwane z upraw polowych, które zawierają substancje biologicznie czynne użyteczne w metabolizmie zwierząt. W ich działaniu upatruje się możliwości nadania atrakcyjnego dla zwierząt zapachu i smaku paszy, regulacji funkcji trawiennych przewodu pokarmowego, przyspieszenia rozwoju aktywności enzymów trawiennych, wzmocnienia systemu immunologicznego oraz działań antyoksydacyjnych. Mogą także wpływać na jakość produktów zwierzęcych (43, 45, 73, 88, 108). Zioła nie działają w sposób bezpośredni na przemiany metaboliczne, ale mogą wspomagać działanie naturalnych mechanizmów regulujących. W różnego rodzaju badaniach i w praktyce chowu zwierząt wykazano użyteczność poszczególnych ziół oraz mieszanek ziołowych jako dodatków paszowych. Charakterystykę wybranych ziół przedstawiono w tabeli 1.

Za zioła uważa się te części rośliny, w których nagromadzenie substancji czynnych, decydujących o właściwościach stymulujących lub profilaktyczno-leczniczych, jest największe. Mogą to być liście, korzenie, kwiaty, kora, owoce bądź nasiona. Substancje czynne ziół należą do dwóch typów metabolitów. Produkty metabolizmu podstawowego są takie same, jak w innych roślinach. Są to cukry proste, wielocukry, białka, tłuszcze, witaminy, związki mineralne i kwasy organiczne. Znacznie liczniejsza i bardziej zróżnicowana jest grupa metabolitów wtórnych, tj. substancji o ukierunkowanej aktywności biologicznej. Należą do nich garbniki, saponiny, terpeny, flawonoidy, glikozydy, alkaloidy, olejki eteryczne, śluz roślinne i pektyny. W skład ziół wchodzi również witaminy, związki mineralne i kwasy organiczne. W praktyce zastosowanie dodatku ziół do paszy zależy od wielu czynników, m.in. od gatunku zwierząt, wieku, kierunku produkcji, rodzaju i formy podawanej paszy oraz warunków technologicz-

Tabela 1

Charakterystyka wybranych ziół, które można stosować w żywieniu trzody chlewnej

Nazwa rośliny	Surowiec zielarski	Podstawowe substancje czynne	Działanie
Babka lancetowata i babka zwyczajna <i>Plantago lanceolata</i> i <i>Plantago maior</i>	ziele	garbniki, flawonoidy, glikozydy (aukubina), kwasy organiczne	przeciwzapalne, moczopędne, odtruwające, bakteriostatyczne
Czosnek pospolity <i>Allium sativum</i>	cebule „główki”	olejki eteryczne, flawonoidy, saponiny, fitosterole, śluzy	bakteriostatyczne, hipotensyjne, żółciopędne, pobudzające trawienie
Dziurawiec zwyczajny <i>Hypericum perforatum</i>	ziele	flawonoidy, garbniki, olejki eteryczne	uspokajające, żółciopędne, przeciwskurczowe, bakteriostatyczne
Kminek zwyczajny <i>Carum carvi</i>	owoce	olejki eteryczne, flawonoidy, garbniki, kwasy organiczne	pobudzające trawienie, rozkurczowe, uspokajające, żółciopędne
Krwawnik pospolity <i>Achillea millefolium</i>	ziele	olejki eteryczne, śluzy, flawonoidy, glikozydy (achilleina), garbniki	przeciwzapalne, przeciwkrwotoczne, rozkurczowe, odtruwające, bakteriostatyczne
Majeranek ogrodowy <i>Origanum majorana</i>	ziele	olejki eteryczne, garbniki, związki goryczkowe	rozkurczające, przeciwzapalne
Melisa lekarska <i>Melissa officinalis</i>	liście ziele	olejki eteryczne, flawonoidy, śluzy, terpeny	uspokajające, pobudzające trawienie, bakteriostatyczne
Mięta pieprzowa <i>Mentha piperita</i>	ziele	olejki eteryczne, flawonoidy, garbniki, kwasy organiczne	pobudzające trawienie, żółciopędne, rozkurczowe, bakteriostatyczne
Mniszek lekarski <i>Taraxacum officinale</i>	ziele kwiaty korzenie	terpeny, fitosterole, goryczki (taraksacyna), stymulatory biogenne, flawonoidy	pobudzające apetyt, rozkurczowe, żółciopędne, przeciwzapalne, bakteriostatyczne
Perz właściwy <i>Agropyron repens</i>	kłaczka	olejki eteryczne, saponiny, śluzy, kwasy organiczne	moczopędne, żółciopędne, przeciwzapalne, bakteriostatyczne
Pięciornik gęsi <i>Potentilla anserina</i>	ziele	flawonoidy, garbniki, śluzy, fitosterole, kwasy organiczne	przeciwzapalne, przeciwbiegunkowe, rozkurczowe, żółciopędne
Pokrzywa zwyczajna <i>Urtica dioica</i>	ziele liście korzeń	flawonoidy, fitosterole, karotenoidy, kwasy organiczne	hemostatyczne, odtruwające, bakteriostatyczne, przeciwbiegunkowe
Rdest ptasi <i>Polygonum aviculare</i>	ziele	flawonoidy, garbniki, kwasy organiczne	przeciwbiegunkowe, moczopędne, odtruwające, poprawiające przemianę materii
Rumianek pospolity <i>Matricaria chamomilla</i>	kwiatostany	olejki eteryczne, śluzy, flawonoidy, glikozydy,	przeciwzapalne, rozkurczowe, żółciopędne, uspokajające
Szałwia lekarska <i>Salvia officinalis</i>	liście ziele	olejki eteryczne, garbniki, terpeny, flawonoidy	przeciwzapalne, przeciwskurczowe, antybakteryjne
Wierzba purpurowa <i>Salix purpurea</i>	kora, mł. pędy	glikozydy, garbniki	bakteriobójcze, moczopędne, przeciwbiegunkowe

Źródło: Dodatki paszowe dla świń (29).

nych chowu. Sposób skarmiania ziół może być różny. Można stosować je pojedynczo lub w mieszankach, w postaci świeżej, suszu, lizawek, naparu czy odwaru. W celach paszowych zioła są podawane jako dodatki do pasz podstawowych w ilości maksymalnie do 4% suchej masy dawki (najczęściej 0,2-2%).

Zioła wprowadzone do pasz treściwych poprawiają efekty produkcyjne i zdrowie zwierząt oraz zwiększają walory dietetyczne i smakowe mięsa. K o ł a c z i in. (68) uzyskali istotnie większy przyrost dzienny zwierząt w stosunku do grupy kontrolnej po podaniu prosiętom mieszanki ziołowej zawierającej kwiat rumianku i nagietka, nasiona kopru i kozieradki oraz ziele bazylii. Badania G r e l i i in. (43) wykazały, że dodatek mieszanek ziołowych, zawierających liście pokrzywy, babki lancetowatej, ziele rdestu ptasiego, rozmarynu, macierzanki, tymianku, cebulki czosnku, owoce jałowca, nasiona jeżówki i anyżu, w żywieniu prosiąt korzystnie wpływał na wyniki produkcyjne cechujące się wyższymi przyrostami masy ciała oraz tendencją do lepszego wykorzystania paszy. Ponadto uzyskano wyraźnie lepsze wskaźniki krwi. W innych badaniach (45), w których stosowano w odchowie świń mieszankę ziołową złożoną z ziela dziurawca, kwiatostanu lipy, kory dębu, liścia orzecha włoskiego, ziela tymianku i szałwi oraz szyszek chmielu, zaobserwowano ograniczone występowanie biegunek u prosiąt. Zastosowanie ziół poprawiało ponadto apetyt i łaknienie zwierząt, zwiększało wydzielanie śliny oraz niektórych enzymów przewodu pokarmowego. Wyniki uzyskane przez H o l d e n a i in. (cyt. za 49) wskazują na wysoką jakość sensoryczną mięsa tuczników karmionych mieszanką z dodatkiem czosnku. Podobne wyniki uzyskali G r e l a i B a r a n o w s k a (45) po zastosowaniu mieszanki ziołowej złożonej z pokrzywy, babki lancetowatej, krwawnika, jałowca, perzu i czosnku.

Dużo uwagi poświęca się przydatności ziół w produkcji drobiarskiej. F a r u g a i in. (33) porównywali wskaźniki produkcyjne, zużycie paszy na jednostkę masy ciała oraz wyniki analizy chemicznej surowicy krwi młodych indyczek rzeźnych żywionych mieszanką zawierającą w swoim składzie preparat ziołowy Biostrong-500 oraz standardową mieszanką pełnoporcjową z antybiotykowym stymulatorem wzrostu – flawomycyną. W skład preparatu Biostrong-500 wchodziły: cykoria, prawoślaz lekarski, kozieradka, rumianek, mięta pieprzowa, czosnek, liść brzozy i koper włoski. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zastąpienie flawomycyny preparatem ziołowym Biostrong-500 pozwala na uzyskanie dobrych wskaźników produkcyjnych odchovu młodych indyczek, nie różniących się istotnie od wskaźników uzyskanych przy stosowaniu antybiotykowego stymulatora wzrostu. Średnie zużycie paszy oraz analiza chemiczna surowicy krwi były zbliżone w porównywanych grupach, chociaż u ptaków otrzymujących preparat ziołowy stwierdzono niższą zawartość cholesterolu we krwi, co jest zjawiskiem korzystnym. Zdaniem K r a u z e i in. (73) podawanie indyczkom preparatu z jeżówki (Echinovit C) oraz świeżego i rozdrobnionego czosnku zmniejszyło istotnie zawartość glukozy, białka ogólnego, kwasu moczowego, triglicerydów oraz frakcji LDL cholesterolu we krwi w porównaniu ze stwierdzonym w grupie kontrolnej. Uzyskane rezultaty mogą świadczyć m.in. o lepszym wykorzystaniu białka paszy przez indyczki otrzymujące preparat z jeżówki oraz czosnek. Z kolei

wyniki badań S c h l e i c h e r a i in. (113) wskazują na większe walory dietetyczne i smakowe mięsa drobiowego, dzięki wykorzystaniu mieszanek ziołowych, zawierających dziurawiec, krwawnik, rdest ptasi, rumianek, pokrzywę, lubczyk i czosnek.

Aktualny stan wiedzy dotyczący stosowania preparatów ziołowych w żywieniu przeżuwaczy jest bardzo mały. Wyniki badań N o w a k a i in. (88) wykazały, że cielęta żywione paszą z dodatkiem ekstraktu z jeżówki purpurowej istotnie zwiększały średnie dobowe przyrosty masy ciała w porównaniu z grupą kontrolną (pasza bez dodatku ziół) oraz cieląt otrzymujących dodatek borówki brusznicy. Nie miały natomiast istotnego wpływu na średnie dobowe pobranie mieszanki treściwej. Badane ekstrakty z ziół wpływały także istotnie na wzrost koncentracji immunoglobulin i białka całkowitego w surowicy krwi. Zioła mogą wykazywać działanie immunostymulujące i adaptogenne. Interesujące są wyniki prac dotyczące wpływu preparatów ziołowych na odporność cieląt. G r e l a i in. (50) stwierdzili, że zastosowanie mieszanki z trzech leczniczych ziół, tj. melisy lekarskiej, nagietka lekarskiego i bzu czarnego pozwoliło na uzyskanie efektu łagodnej immunostymulacji oraz przyczyniło się do większych przyrostów masy ciała i lepszej kondycji zwierząt. Wykazano również, że lepsze efekty produkcyjne uzyskuje się przy stosowaniu mieszanin ziołowych niż pojedynczych ziół. W przypadku bydła mlecznego dużo uwagi poświęca się też jakości pozyskiwanego mleka i możliwości poprawy walorów smakowych produktów wytwarzanych na bazie tego surowca. Niektóre rodzaje ziół zjadanych przez krowy bezpośrednio przed dojeniem wpływają bowiem na zmianę zapachu mleka, np. czosnek, czy tobołki polne, inne mogą „przekazać” do mleka goryczkę, np. liście dębu, dzikiej czereśni, akacji i drzew iglastych. Wiele ziół (owoce kopru, kolendry, kminku, liście pokrzywy, pietruszki, szpinak) z kolei poprawia smak i zapach mleka oraz zwiększa jego wydzielanie (30).

Wyniki przeprowadzonych przez różnych autorów w ostatnich latach badań wskazują na możliwość stosowania mieszanek ziołowych w miejsce antybiotykowego stymulatora wzrostu bez negatywnych skutków w odchowcie prosiąt, bydła i drobiu. O przydatności i wykorzystaniu ziół decydować będzie dobór komponentów roślinnych, uwzględniający zawartość i właściwości substancji biologicznie czynnych poszczególnych ziół, potrzeby fizjologiczne i warunki utrzymania zwierząt, a przede wszystkim oczekiwania konsumentów odnośnie eliminowania antybiotyków paszowych. Społeczeństwo bowiem coraz bardziej domaga się zdrowej, ekologicznej i smacznej żywności.

Enzymy

Enzymy są białkami o właściwościach katalizujących wytwarzanymi przez organizmy żywe i występującymi w minimalnych ilościach. Regulują przebieg procesów życiowych i działają w komórkach i pozakomórkowo. Dotychczas znanych jest około 2500 enzymów, które ze względu na katalizowane reakcje dzielimy na 6 grup: oksydo-reduktazy, transferazy, hydrolazy, liazy, izomerazy i ligazy. Ze względów żywnościowych najważniejszą grupą są hydrolazy. Należą do nich enzymy trawienne rozkłada-

jące do związków prostych wielocząsteczkowe związki pokarmowe zawarte w paszach: proteolityczne – proteazy (rozkładające białka do aminokwasów), amylolityczne – glikozydazy (rozkładające dwu- i wielocukry) oraz lipolityczne – lipazy (rozszerzające wiązania estrowe w tłuszczach, hydrolizujące triacyloglicerole do monoglicerydów i kwasów tłuszczowych). Enzymy paszowe produkowane są na drodze fermentacji przez różne mikroorganizmy (pleśnie, grzyby, bakterie), ale same ich nie zawierają (9). Do najważniejszych mikroorganizmów produkujących enzymy należą: *Aspergillus* ssp., *Penicillium* ssp., *Hurnicola* ssp. i *Bacillus* ssp. (49). Enzymy produkowane przez zwierzęta, ale w niewystarczającej ilości (zwierzęta młode), nazywane są endogennymi, natomiast wytwarzane przez mikroorganizmy, a nie przez zwierzęta – egzogennymi. Zwierzęta monogastryczne (świnie, drób) nie mają flory bakteryjnej i nie mogą trawić włókna pokarmowego, fitynianów, tanin i substancji antyodżywczych, chociaż występująca w jelicie ślepym i grubym flora bakteryjna umożliwia w niewielkim stopniu przebieg tych procesów. Dlatego w latach 50. pojawił się pomysł dodawania enzymów do paszy dla drobiu. Stosowanie enzymów jest bezpieczne dla ptaków, gdyż ulegają one, podobnie jak enzymy pochodzenia endogennego, rozłożeniu przez enzymy proteolityczne w jelicie cienkim (126). W związku z tym przedawkowanie preparatów enzymatycznych nie jest niebezpieczne dla zdrowia ptaków, nie pozostawiają one żadnych szkodliwych produktów rozkładu i można je stosować do końca okresu tuczu. Enzymy działają w świetle przewodu pokarmowego i nie zakłócają działania narządów wewnętrznych. Zdaniem R e k i e l i T o k a r s k i e j (106) enzymy lepiej są wykorzystywane przez drób niż świnie. Jest to głównie wynikiem mniejszej koncentracji β -glukanów w jelitach wywołanej większą zawartością wody w treści pokarmowej świń niż drobiu, co zmniejsza lepkość pokarmu. Ponadto świnie mogą trawić β -glukany w jelicie grubym, a częściowo ich degradacja zachodzi również w żołądku.

Wykorzystanie fosforu fitynowego z pasz roślinnych przez zwierzęta monogastryczne jest słabe, co związane jest z brakiem u tych zwierząt enzymu fitazy. Stąd dobre efekty uzyskuje się suplementując pasze fitazą mikrobiologiczną, zwłaszcza gdy podawana dawka paszowa nie pokrywa zapotrzebowania zwierzęcia na fosfor (23). Dodatek preparatów zawierających fitazy i fosfatazy pochodzenia mikrobiologicznego zapoczątkowuje proces hydrolizy fityn i uwalnianie P w górnych odcinkach przewodu pokarmowego (126). Według tej autorki fitazy dają największe efekty ekonomiczne i środowiskowe w żywieniu kurcząt starszych i kur niosek, ponieważ ptaki te pobierają najwięcej paszy i wydają duże ilości kałomoczu. Dodatek tego enzymu zmniejsza wilgotność i lepkość odchodów, ilość wydalanego N i P, poprawia zdrowotność stada i pozwala na lepsze wyrównanie stada ptaków.

Znaczne zwiększenie przyrostów dziennych masy ciała i wykorzystania paszy przez zwierzęta po podaniu fitazy obserwowali: u prosiąt C z e c h (23), a u kurcząt i indyków B o l i n g i n. (12) oraz M a g u i r e (82). Wykorzystanie paszy przez kurczęta po dodaniu fitazy było większe o 6-8% (2), a nawet 22% (12). Lochy podczas ciąży żywione z dodatkiem fitazy charakteryzowały się większym przyrostem masy ciała w pełnym cyklu reprodukcyjnym, lepszym wykorzystaniem paszy na 1 kg

przyrostu, a prosięta większą masą ciała w 21 dniu oraz po odsadzeniu (21). Natomiast badania G r e l i i K u m e k (47) wykazały, iż wprowadzenie fitazy mikrobiologicznej do dawek pokarmowych dla loch powodował uwalnianie z fitynianów składników mineralnych oraz odżywczych, przez co przyczynił się do poprawy efektów produkcyjnych. Ponadto u tych zwierząt, po odsadzeniu prosiąt, odnotowali zwiększoną strawność składników odżywczych (Ca i P) oraz większą ich zawartość w mleku. Dodatek fitazy w żywieniu świń i drobiu powodował znaczny wzrost dostępności P, a także wyraźne zmniejszenie ilości w wydalonym kale i moczu (23) oraz zmniejszenie zanieczyszczenia środowiska tym pierwiastkiem (60, 70). Taką samą reakcję fitazy zastosowanej w żywieniu pstrąga tęczowego obserwował S u g i u r a i in. (125). Natomiast zastosowanie fitazy mikrobiologicznej w mieszankach dla świń, drobiu i ryb poprawia dostępność nie tylko P, ale także innych pierwiastków dwuwartościowych (11, 125, 134), co pozwala na ograniczenie ich udziału w paszy o około 70% (94). Uzyskane przez S u g i u r ę i in. (125) wyniki badań na rybach wykazały korzystny wpływ fitazy na dostępność P i innych dwuwartościowych składników mineralnych, ale także poprawę efektów produkcyjnych (112). Natomiast zwiększenie fitazy w dawkach pokarmowych dla tuczników nie miało znaczącego wpływu na przyrosty masy ciała oraz przyswajanie P i Ca, ale ograniczało ich wydalanie z kałem (142). Doświadczenia W o y e n g o i in. (146) wykazały, że łączne podawanie fitazy i ksylanazy trzodzie chlewnej poprawiło strawność fosforu i aminokwasów. Korzyścią wynikającą ze stosowania fitazy jest znaczne zwiększenie absorpcji innych składników mineralnych, a zwłaszcza tych, które są związane w trudno rozkładalnych (jak na warunki panujące w przewodzie pokarmowym) kompleksach chelatowych z kwasem fitynowym, a przede wszystkim Ca, Mg, Zn, Cu i Fe (49). Niewielką poprawę wskaźników produkcyjnych (przyrost masy ciała i wykorzystanie paszy) u tuczników zanotowali P e t e r i in. (94). Dodatek fitazy mikrobiologicznej do mieszanek dla koni nie spowodował istotnych zmian ich masy ciała i ilości pobieranej wody (140). Działanie fitazy poprawia moczenie paszy z dodatkiem tego enzymu (80). Natomiast przygotowanie pasz z zastosowaniem temperatury powyżej 70°C powoduje znaczną inaktywację fitazy (59).

C z e c h (24) wykazała, że łączne stosowanie fitazy mikrobiologicznej z kwasem mrówkowym w żywieniu świń przyczynia się do wzrostu aktywności enzymów przemian białkowych (ALT i AST) i fosfatazy zasadowej (AP), a także do wzrostu aktywności i zawartości P i Ca w osoczu krwi. Zdaniem K e m m e i in. (63) połączenie fitazy mikrobiologicznej i kwasu mlekowego wpływa na poprawę strawności P, ale nie miało to wpływu na efekty produkcyjne zwierząt, a także na dostępność Ca i Mg. Efektywność stosowanej łącznie fitazy i kwasów organicznych jest większa u drobiu niż u świń (23). Taką zależność między fitazą a 1 α -hydroksycholekalifarolem zanotowali także B i e h l i B a k e r (11).

Prace M a r q u a r d t a i in. (84) oraz B r e n e s a i in. (14) wskazują na znaczne korzyści produkcyjne dodawania enzymów paszowych do mieszanek dla drobiu z jęczmieniem i pszenicą (8, 56) oraz kukurydzą (124, 147). S u m i s ł a w s k a (126)

podaje, że największe uzasadnienie ma dodawanie fitazy do mieszanek z kukurydzą. Greenwood i in. (41) wykazali, że dodatek proteazy i amylazy do paszy dla drobiu poprawia efekty produkcyjne. Natomiast Panda i in. (90) stwierdzili u brojlerów żywionych z dodatkiem fitazy poprawę mineralizacji kości. Podawanie enzymów paszowych jest uzasadnione w przypadku prosiąt, które nie mają w pełni rozwiniętego układu enzymatycznego (ich mikroflora jelitowa jest jeszcze niestabilizowana), a nierozłożone części pokarmu mogą spowodować namnażanie się mikroorganizmów wywołujących biegunkę (116).

Badania Ombegun i in. (89) wykazały, że dodatek do paszy dla prosiąt kilku enzymów zwiększał przyrostyienne masy ciała, wykorzystanie paszy, ale także strawność suchej masy, energii brutto, białka, skrobi, polisacharydów nieskrobiowych i fitynianów. Zanotowano także ograniczenie wydalania P z kałem. Natomiast dodatek samej β -glukanazy do paszy z jęczmieniem dla tych zwierząt powodował poprawę strawności suchej masy, energii i białka, ale nie obserwowano pozytywnego wpływu tego dodatku do paszy z jęczmieniem w żywieniu tuczników na przyrosty i wykorzystanie paszy (5, 35, 40, 79). Bassi Hacker (5), Graham i in. (40) oraz Thatcher i in. (136) podają, że u tuczników może to wynikać z wysokiej jelitowej i kałowej strawności skrobi, β -glukanów, a nawet arabinoksylianów zawartych w ziarnie jęczmienia. Dodatek preparatu enzymatycznego zawierającego β -glukanazę i ksylanazę do mieszanki pełnowartościowej dla tuczników z 15% udziałem poekstrakcyjnej śruty rzepakowej i 10% bobiku wpłynął dodatnio na tempo wzrostu zwierząt i wykorzystanie paszy (121). Rekel i in. (104) nie obserwowali korzystnego wpływu dodatku enzymatycznego na przyrosty i zużycie paszy tuczników żywionych mieszanką z udziałem pszenicy i jęczmienia, zanotowali natomiast zmniejszenie upadków prosiąt.

Zastosowanie enzymów w żywieniu przeżuwaczy ze względu na charakter trawienia jest znacznie mniejsze niż w przypadku zwierząt monogastrycznych. Uzasadnione jest ich zastosowanie przy skarmianiu pasz treściwych, gdyż warunki do rozwoju bakterii celulolitycznych nie są wówczas właściwe, a dodatek enzymów celulolitycznych uzupełnia enzymy bakteryjne (116). Wyniki wielu badań (6, 7, 75, 77, 148, 151) wskazują jednak na możliwość zwiększenia produkcji mleka i przyrostów dziennych masy ciała, pomimo iż są one zależne od zastosowanego enzymu i jego ilości (30). Natomiast dodatek enzymów fibrolitycznych do paszy dla krów mlecznych według Elwake i in. (32) nie wpłynął na ich produkcyjność. Badania niektórych autorów (75, 151) wskazują, że dodatki preparatów enzymatycznych stymulują mikroorganizmy żwacza do zwiększonej syntezy białka, rozkładu włókna, mobilności w wykorzystaniu lotnych kwasów tłuszczowych (LKT), przy jednoczesnym zmniejszeniu produkcji amoniaku i metanu oraz koncentracji mleczanów.

Preparaty konserwujące (konserwanty)

Jako preparaty zakwaszające (konserwanty) wykorzystywane są głównie krótkołańcuchowe kwasy organiczne (mlekowy, mrówkowy, propionowy, sorbowy, cytrynowy, fumarowy) lub ich sole (50, 92). Takie preparaty mogą zawierać także kwasy nieorganiczne, głównie ortofosforowy. Są one dodawane do surowców pojedynczo lub w postaci mieszaniny bądź mieszanek paszowych, a produkowane są w formie ciekłej lub sypkiej. Preparaty ciekłe zawierają pojedyncze kwasy lub rozpuszczalne sole, natomiast stałe zawierają kilka kwasów i nośnik, którym najczęściej jest krzemionka, ziemia okrzemkowa, wermikulit lub bentonit (107). Konserwanty posiadają właściwości wiązania wody w przechowywanych mieszankach lub surowcach paszowych, co przeciwdziała kondensacji pary wodnej i wzrostowi wilgotności. Ograniczają lub zapobiegają rozwojowi szkodliwej mikroflory bakteryjnej lub grzybiczej w paszach przechowywanych w złych warunkach. Stosowane kwasy organiczne mogą wpływać na procesy zachodzące w organizmach zwierząt (25). Niskie pH (1,5-3,5) w przewodzie pokarmowym trzody chlewnej jest konieczne dla utrzymania prawidłowego składu flory bakteryjnej oraz przekształcania uwalnianego w gruczołach żółdkowych pepsynogenu w pepsynę – główny enzym trawienny białka (71). Stosowanie zakwaszaczy daje korzystne efekty zwłaszcza u trzody chlewnej żywionej mieszankami z dużą ilością pasz wysokobiałkowych, które powodują zasadowy odczyn treści pokarmowej. Sprzyja to powstawaniu kolibakteriozy, objawiającej się biegunkami i zwiększoną liczbą padnięć prosiąt (72). Ponadto obniżenie pH powoduje zahamowanie rozwoju salmonelli przez kwas mrówkowy, pałeczki okrężnicy przez kwas mrówkowy i mlekowy, a zakażeń grzybowych przez kwas propionowy. Ograniczają one także rozwój patogennych mikroorganizmów: *E. coli*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* i *Clostridium*. Szczególnie korzystne jest działanie preparatów zakwaszających u prosiąt w okresie od urodzenia do 8 tygodni po odsadzeniu, bowiem wydzielanie kwasu solnego w żołądku jest niewielkie i zmienne, a stężenie kwasu mlekowego jest małe w wyniku niedoboru laktozy (91). Dodatek zakwaszaczy przeciwdziała efektowi buforowania paszy w początkowym odcinku przewodu pokarmowego, zwiększa przyrosty masy ciała (ok. 7%) oraz pobieranie i wykorzystanie paszy (72). Natomiast R o t h i K i r c h g e s s n e r (110) po dodaniu kwasu mrówkowego lub sorbowego zanotowali zwiększenie dziennych przyrostów masy prosiąt o ponad 20% w stosunku do osiąganych w grupie kontrolnej. Świnie, w żywieniu których stosowane są kwasy, odkładają więcej białka i wykazują tendencję do mniejszego otluszczenia (50). Również R e k i e l i T o k a r s k a (107) podają, że użycie kwasu propionowego, cytrynowego lub mrówkowego w żywieniu świń powoduje zmniejszenie grubości ich słoniny. E c k e l i n. (31) oraz M o s e n t h i n i n. (87) po zastosowaniu kwasów organicznych obserwowali u świń zmniejszenie ilości amin biogennych (kadaweryny, putrescyny i spermidyny) w jelicie. Natomiast P i v a (97) podaje, że konserwanty dodawane do paszy wpływają korzystnie na środowisko i ograniczają wydzielanie NH_3 . Ponadto M o s e n t h i n i n. (87) zanotowali po zastosowaniu kwasu propiono-

wego zwiększenie strawności niektórych aminokwasów w jelicie cienkim. Wprowadzenie kwasu cytrynowego do paszy dla świń zwiększa strawność składników pokarmowych (143) oraz wpływa korzystnie na gospodarkę mineralną (92, 147). Natomiast H o h l e r i P a l l a u f (55) zanotowali zwiększenie przyswajalności cynku po uzupełnieniu dawki pokarmowej dla prosiąt 1% kwasem cytrynowym. Dodając do dawki pokarmowej dla świń kwas mrówkowy lub dwusiarczan potasu, zanotowano istotne zwiększenie przyrostów masy ciała, jak również pobierania paszy (91). Kompleksowe zastosowanie w żywieniu prosiąt preparatów Ferrodex, BioFer i Digest Acid umożliwiło uzyskanie większego odchowu o 1,1 prosięcia w miocie przy jednoczesnym wzroście masy ciała w 70 dniu życia o 5,4 kg oraz zmniejszenie zużycia paszy o 0,47 kg na 1 kg przyrostu (71).

Zdaniem wielu autorów dodatki zakwaszające mogą być stosowane także w żywieniu drobiu (93, 141). Autorzy ci stwierdzili zwiększenie przyrostów masy brojlerów i wykorzystania paszy po uzupełnieniu mieszanek kwasem fumarowym lub mlekowym.

Konserwanty dodawane w formie osłoniętej mają działanie zgodne z fizjologią przewodu pokarmowego i nie powodują degradacji witamin, enzymów i probiotyków w paszy. Mogą być łączone w mieszance paszowej z chemicznymi i antybiotykowymi stymulatorami wzrostu, wykazują bowiem synergizm w połączeniu z kwasem fosforowym lub siarczanem miedziowym, a także z niektórymi przeciwutleniaczami. Nie wymagają okresów karencji i mogą być stosowane także w końcowym okresie tuczu świń. Przekroczenie dawek konserwantów nie stanowi zagrożenia dla zwierząt. Preparatów zawierających duże ilości soli amonowych należy unikać w żywieniu prosiąt, które są wrażliwe na większą niż 0,1% ilość jonów amonowych. Notowano także niekorzystny wpływ soli wapniowych kwasu propionowego na młode świnię.

Koncentrat z lucerny

Wprowadzenie zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu spowodowało, iż dodatków paszowych mogących je zastąpić poszukuje się wśród różnych grup roślin, głównie ziół, ale także wśród gatunków roślin uprawnych. Jednym z takich gatunków jest lucerna i jej produkty, które dzięki bogatemu składowi chemicznemu mają wielokierunkowe działanie na organizm zwierzęcia i mogą stanowić interesujący składnik mieszanek pokarmowych (1, 13, 19, 51, 53). Jako dodatek do paszy może być stosowany susz lub preparat sporządzony z roślin tego gatunku. Wyciąg z liści lucerny (PX) jest bogatym źródłem składników odżywczych, szczególnie aminokwasów o wysokiej wartości biologicznej, witamin i składników mineralnych (10). Zawartość fitynianów jest poniżej 0,2 g w 1 kg (111), a koncentracja saponin jest mniejsza (0,15%-1,4%) niż w innych gatunkach należących do rodziny motylkowatych (3-7%); (34). Ponadto saponiny nie wykazują działania toksycznego (83). Natomiast koncentracja L-kanawaniny jest podobna do jej zawartości w soi i o wiele mniejsza niż w innych produktach roślinnych (soczewicy). Wprowadzenie do mieszanki dla tuczników 2, 4 i 6% koncentratu z lucerny zwiększyło efekty produkcyjne tylko

w grupie żywionej mieszanką z 2% dodatkiem (135). W innych badaniach G r e l a i S e m e n i u k (51) stwierdzili lepsze efekty produkcyjne oraz wyraźne zmniejszenie wydalania azotu z moczem i kałem do środowiska. Natomiast D o n g i in. (28) podają, że wprowadzenie dodatku ekstraktu z lucerny w ilości 0,06% do mieszanek dla brojlerów nie miało istotnego wpływu na ich wydajność, ale obniżyło odkładanie tłuszczu sadełkowatego oraz zwiększyło odporność ptaków. B o u r d o n i in. (13) podają, że strawność białka ogólnego mieszanek z 10 i 20% dodatkiem suszu z lucerny była niemal identyczna, jak mieszanek ze śrutą sojową. Przyrosty dzienne zwierząt karmionych taką mieszanką po uzupełnieniu tryptofanem były porównywalne do osiągniętych u zwierząt karmionych paszą z udziałem poekstrakcyjnej śruty sojowej. Badania Y e n (150) wykazały, że stosowanie mieszanki z dodatkiem 10% suszu z lucerny w żywieniu tuczników może efektywnie zmniejszyć wydalanie N z moczem przy zbliżonej produkcji odchodów (kału i moczu) w porównaniu do działania paszy kukurydziano-sojowej u tuczników.

C z e c h i S e m e n i u k (22) stwierdziły, iż dodatek koncentratu lucerny do paszy tuczników zarówno w pierwszym, jak i drugim okresie tuczu nie wpływał na wartość wskaźników czerwonych (Hb, Ht, BBC). Zauważono jedynie nieznaczny wzrost liczby erytrocytów w krwi zwierząt otrzymujących dodatek koncentratu. W badaniach przeprowadzonych przez T a k y i i in. (133) wykazano istotny wzrost ilości hemoglobiny i pozostałych wskaźników czerwonych we krwi ludzi. Zdaniem S e g u i n i in. (115) wzrost wskaźników czerwonych może być związany z lepszym wchłanianiem pierwiastków uczestniczących w procesach erytropoetycznych. Wyniki uzyskane przez C z e c h i S e m e n i u k (22) wskazują, że leukocyty u świń w 1 i 2 okresie tuczu w grupie żywionej z dodatkiem koncentratu z lucerny (PX) były na zbliżonym poziomie, jak w grupie kontrolnej. Według tych autorów u warchlaków otrzymujących mieszankę z udziałem PX ich liczba była istotnie mniejsza, co może świadczyć o dobrym stanie zdrowotnym tych zwierząt i braku stanów zapalnych. Natomiast liczba limfocytów u zwierząt młodych była istotnie większa, a neutrocytów istotnie mniejsza w porównaniu ze stwierdzoną w pozostałych grupach zwierząt. Wyniki te mogą świadczyć o korzystnym działaniu składników biologicznie aktywnych zawartych w koncentracie z lucerny na pobudzenie układu immunologicznego, a tym samym poprawę odporności organizmu, co jest szczególnie korzystne dla młodych zwierząt (22). Związane jest to z obecnością w koncentracie z lucerny saponin triterpenowych, które posiadają bardzo silne właściwości przeciwbakteryjne oraz przeciwgrzybicze, a także mogą przywracać prawidłową florę bakteryjną jelit (36, 115). Natomiast nie obserwowano takich zależności u zwierząt starszych.

B a l c h (3) podaje, że koncentrat lucerny może przyczynić się do obniżenia poziomu cholesterolu, bez zmiany poziomu cholesterolu frakcji HDL. Można również zaobserwować obniżenie jelitowej absorpcji cholesterolu, a także zwiększenie wydzielania steroidów i kwasów żółciowych. Takie efekty są również związane z obecnością w lucernie dużej ilości saponin (64, 109). Zmniejszenie zawartości cholesterolu

całkowitego u indyków obserwowali Krauze i Grela (74), cholesterolu i frakcji LDL we krwi królików otrzymujących koncentrat PX – K h a l e e l i in. (64), a u trzody chlewnej zanotowali C z e c h i S e m e n i u k (22). Ponadto stwierdzili u zwierząt otrzymujących wyciąg PX także mniejszy stosunek zawartości cholesterolu całkowitego do frakcji HDL, który jest bardzo istotny z punktu widzenia klinicznego. Może to świadczyć o korzystnym działaniu koncentratu z lucerny w organizmie rosnących świń na metabolizm substancji lipidowych. Natomiast obniżenie triglicerydów, cholesterolu całkowitego i jego funkcji u gęsi zanotowali G u c k u i in. (52). Podobne rezultaty otrzymali M á t é o w á i in. (85) po włączeniu do dawki pokarmowej dla kurcząt mięty i oregano, a jeżówki i czosnku u indyków (73). W badaniach na kurczętach i świniach żywionych mieszanką z dodatkiem ekstraktu z lucerny zanotowano tendencję do obniżenia cholesterolu całkowitego w krwi kurcząt, natomiast nie stwierdzono wpływu na wydajność kurcząt i świń (139). U krów mlecznych, otrzymujących w dawce pokarmowej koncentrat lucerny, odnotowano wzrost witaminy E w mleku (20). C z e c h i S e m e n i u k (22) stwierdziły wzrost zawartości triacylogliceroli, zwłaszcza u młodych świń. Są one główną formą magazynowania rezerw tłuszczowych oraz uwalniania do krwioobiegu w razie zapotrzebowania. Dodatek koncentratu z lucerny nie spowodował istotnych zmian w zawartości białka i glukozy w osoczu krwi świń, (22), natomiast u indyków była mniejsza zawartość białka niż w grupie kontrolnej, ale nie zanotowano zmian glukozy, Ca i P w osoczu krwi (74). Także inni autorzy nie obserwowali zmian glukozy (114) oraz Ca i P (18). Natomiast W a n g i in. (144) po podaniu lucerny obserwowali u owiec podwyższenie zawartości poziomu białka ogólnego. Zdaniem C z e c h i S e m e n i u k (22) zawartość kwasu moczowego oraz mocznika w osoczu krwi świń i indyków według K r a u z e i G r e l i (74) ulegała obniżeniu. Jest to korzystna reakcja organizmu na stosowany dodatek, ponieważ jego wzrost świadczy o stanach chorobowych. Zastosowanie w żywieniu świń wyciągu z lucerny nie powodowało zmian aktywności aminotransfazy alaninowej (ALT) i aminotransferazy asparaginianowej (AST); (22). Natomiast w badaniach Y a n g - Y u F e n i in. (149) odnotowano znaczący wpływ preparatu z lucerny na aktywność AST.

Procesy utleniania są istotnym elementem jakości mięsa i wyrobów mięsnych. Mogą bowiem przyczynić się do niekorzystnych zmian właściwości tych produktów, prowadzą do degradacji tłuszczu oraz białek, powodują pogorszenie smakowości, barwy, wartości odżywczej oraz ograniczają ich trwałość. Hodowcy (producenci) zwierząt podejmują działania zwiększające ilość przeciwutleniaczy w mięsie poprzez ich zwiększenie w podawanej paszy. Analiza otrzymanych wyników przeprowadzona przez D o l a t o w s k i e g o (27) wykazała, że dodatek preparatu z lucerny (1,5%) zwiększa mięsność najważniejszych mięśni tuszki indyczej, natomiast zwiększenie do 3% nie miało wpływu na tę cechę. Według tego autora udział preparatu z lucerny w paszy, obserwowany na podstawie barwy, kwasowości DRP, zawartości aldehydu malonowego i właściwości technologicznych mięsa wykazał, że nie powoduje on tworzenia mięsa wadliwego typu PSE, DFD. Ponadto zaobserwowano korzystne od-

działywanie na czerwone zabarwienie mięsa, co świadczy o wzroście ilości mioglobiny lub zwiększonej zdolności redukujących substancji komórkowych. Ocena jakościowa szynki wieprzowej nie wykazała znaczącego wpływu ekstraktu lucerny na barwę oraz wskaźniki utleniania szynek wędzonych podczas ich 14-dniowego przechowywania (61, 62). Wartość potencjału oksydoredukcyjnego istotnie malała w szynkach przygotowanych z mięsa zwierząt karmionych z udziałem wyciągu z lucerny (27). Ponadto nie wykazano wpływu dodatku ekstraktu z lucerny do dawki paszowej świń na barwę, smak, soczystość, konsystencję i zapach szynek. Zastąpienie nasion soi nasionami lnu w dawkach dla świń spowodował zmniejszenie kwasów n-6 do n-3, do stosunku 5 : 1. Nie spowodowało to żadnych problemów związanych z oksydacją mięsa i tłuszczu w czasie jego krótkiego składowania (81, 99, 145).

Substancje dezodoryzujące

Elementem charakterystycznym otoczenia dużych chlewni i obór jest często towarzyszący im przykry odór. W pomieszczeniach dla zwierząt rozkładowi substancji organicznych, głównie kału i moczu, towarzyszy powstawanie szkodliwych gazów – amoniaku, siarkowodoru i tzw. gazów kłoczących. Najgroźniejszy dla środowiska naturalnego oraz zdrowia ludzi i zwierząt jest amoniak, ze względu na swoją agresywność fizykochemiczną, dużą toksyczność i olbrzymią emisję do atmosfery. W Polsce tylko z odchodów bydła i świń powstaje rocznie ponad 1,5 mln ton tego gazu (29). W produkcji zwierzęcej stosowano wiele substancji i preparatów mających na celu ograniczenie uwalniania lub wiązanie powstałego już amoniaku. Najczęściej stosowano: formaldehyd, wapno palone, superfosfat, kwas fosforowy, kwasy organiczne, preparaty fungistatyczne i inne. Środki te dodawano bezpośrednio do odchodów lub ściółki, jednak ich skuteczność była bardzo różna, a konieczność transportu i mieszania ze ściółką często ograniczały zakres ich stosowania. Poza tym substancje te nie zawsze były obojętne dla zdrowia zwierząt i środowiska.

Poszukiwane są więc środki o naturalnym podłożu, które mogłyby zastąpić substancje chemiczne. Zainteresowanie badaczy wzbudzają niektóre odmiany zeolitów, preparaty torfowe, ziemiste odmiany węgla brunatnego, wermikulity oraz saponiny, które wprowadzone do przewodu pokarmowego lub do odchodów powodują obniżenie uwalniania toksycznych gazów i odoru (26, 39). Według T y m c z y n a i in. (138) dobrym preparatem jest bentonit, minerał wydobywany w niektórych kopalniach jako produkt uboczny przy pozyskiwaniu innych surowców. Preparat ten wykazywał korzystne właściwości absorpcyjne i higroskopijne, obniżając poziom amoniaku oraz wilgotność powietrza i podłoża. Zastosowany w kurniku wpływał korzystnie na warunki utrzymania ptaków, poprawiał właściwości fizykochemiczne ściółki i mikroklimat kurnika. Działał też hamująco na rozwój bakteryjnej flory tlenowej i beztlenowej uczestniczącej w rozkładzie związków azotowych do amoniaku.

Interesującym preparatem jest również saponinowy ekstrakt z rośliny *Yucca schidigera*. Badania przeprowadzone przez J o h n s t o n a i in. (58) wykazały, że dodatek 60-120 g wyciągu w przeliczeniu na 1 tonę paszy prowadził do obniżenia

20-50% wydzielania amoniaku z odchodów. Wyniki uzyskane przez innych autorów potwierdziły, że wyciąg z juki (*Yucca schidigera*) posiada własności ograniczające uwalnianie NH_3 z podłoża, lecz w nieco mniejszym zakresie. Ponadto wyciąg ten wywierał korzystny wpływ na procesy mikrobiologiczne zachodzące w treści jelitowej i potem w kale oraz był w pełni bezpieczny dla zdrowia ludzi i zwierząt. Działał również korzystnie na zdrowie zwierząt (29, 137). Według niektórych autorów dodatki paszowe zawierające ekstrakt z juki powinny być stałym składnikiem mieszanek paszowych, ze względu na ich działanie zdrowotne i proekologiczne. Substancje w nim zawarte nie stanowią zagrożenia dla środowiska, gdyż są pochodzenia naturalnego i szybko ulegają procesowi rozkładu w glebie (29, 78). Należy jednak pamiętać, że takie preparaty nie likwidują zagrożeń płynących z nadmiernej koncentracji zwierząt, niewłaściwej lub niesprawnej wentylacji pomieszczeń itp., a wspomagają jedynie działalność człowieka zmierzającą do poprawy produktywności zwierząt oraz warunków ich bytowania.

Literatura

1. AOAC: Official methods of analysis. International, 17 ED., AOAC Inter., Gaithersburg, MD, USA, 2000.
2. Augspurger N. R., Webel D. M., Lei X. G., Baker D. H.: Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. J. Anim. Sci., 2003, **81**: 474-483.
3. Balch J. F.: The super antioxidants. Why they will change the face of healthcare in the 21 st. century. Wyd. Amber, Warszawa, 1999.
4. Barowicz T.: Drożdże w żywieniu zwierząt. Wiad. Rol. Polska, 2008, **10(50)**: 15.
5. Bass T. C., Thacker P. A.: Impact of gastric pH on dietary enzyme activity and survivability in swine fed α -glucanase supplemented diets. Can. J. Anim. Sci., 1996, **76**: 245-252.
6. Beauchemin K. A., Colombatto D., Morgavi D. P., Yang W. Z.: Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. J. Anim. Sci., 2003, **81**: 37-47.
7. Beauchemin K. A., Yang W. Z., Rode L. M.: Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. J. Dairy Sci., 1999, **82**: 378-390.
8. Bedford M. R., Morgan A. J.: The use of enzyme in poultry diets. World Poult. Sci. J., 1996, **52**: 61-68.
9. Bedford M. R., Schulze H.: Exogenous enzymes for pigs and poultry. Nutr. Res. Rev., 1998, **11(1)**: 91-114.
10. Bertin E.: Wyciąg z liści lucerny (EFL). W: Lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt. Wyd. Stow. „Progress” Dzierżówka - Lublin, 2008, 29-37.
11. Biehl R. R., Baker D. H.: Utilization of phytate and non-phytate phosphorus in chicks as affected by source and amount of vitamin D₃. J. Anim. Sci., 1997, **75**: 2986-2993.
12. Boling S. D., Webel D. M., Mavromichalis I., Parsons C. M., Baker D. H.: The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. J. Anim. Sci., 2000, **78**: 682-689.
13. Bourdon D., Perez J. M., Henry Y.: Valeur energetique et azotée d'un concentré de protéines de luzerne, le PX1 et utilisation par porc en croissance finition. Jour. Rec. Porc. France, 1980, 227-244.
14. Brenes A., Guenter W., Marquardt R. R., Rotter B. A.: Effect of β -glucanase/pentosanase enzyme supplementation on the performance of chickens and laying hens fed wheat, barley, naked oats and rye diets. Can. J. Anim. Sci., 1993, **73**: 941-951.

15. Brzóśka F., Śliwiński B., Stecka K., Wawrzyński M.: Efektywność bakterii probiotycznych, kwasu fumarowego i prebiotyku w żywieniu kurcząt rzeźnych. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2008, **35(2)**: 173-185.
16. Brzóśka F., Stecka K.: Effect of probiotic, prebiotic and acidifier on the body weight of broiler chickens, feed conversion, and carcass and meat composition. *Ann. Anim. Sci.*, 2007, **7(2)**: 279-288.
17. Brzóśka F.: Efektywność kwasów organicznych i synbiotyku w żywieniu kurcząt rzeźnych. *Med. Wet.*, 2007, **63(7)**: 831-835.
18. Burs M., Siwik T., Pudynkowska K., Majewska T.: Porównanie efektywności odchovu indorów rzeźnych żywionych paszą z dodatkiem węgla drzewnego lub preparatu Humo-karbowit. *Zesz. Nauk. Prz. Hod.*, 2001, **56**: 341-345.
19. Caillot J.: Produkcja lucerny w regionie Szampanii-Ardenach. W: *Lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt*. Wyd. Stow. „Progress” Dzierżówka-Lublin, 2008, 21-27.
20. Calderon F., Chauveau-Duriot B., Pradel P., Martin B., Graulet B., Doreau M., Noziere P.: Variations in carotenoids, vitamins A and E, and color in cow's plasma and milk following a shift from hay diet to diets containing increasing levels of carotenoids and vitamin E. *J. Dairy Sci.*, 2007, **90**: 5651-5664.
21. Czech A., Grela E. R.: Effect of microbial phytase and formic acid supplementation sow diets on performance and hematological parameters of blood. *Ann. Anim. Sci.*, 2002, Suppl.: 201-205.
22. Czech A., Semenik W.: Profil metaboliczny krwi świń żywionych mieszanką z udziałem koncentratu białkowo-ksantofilowego (PX) z lucerny. W: *Lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt*. Wyd. Stow. „Progress” Dzierżówka-Lublin, 2008, 107-119.
23. Czech A.: Efektywność fitazy w żywieniu zwierząt. *Med. Wet.*, 2007, **63(9)**: 1034-1039.
24. Czech A.: Effect of microbial phytase and formic acid supplementation in sow diets on biochemical parameters of blood. *Ann. Anim. Sci.*, 2004, Suppl.: 105-109.
25. Dibner J. J., Butwin P.: Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *J. Appl. Poult. Res.*, 2002, **11**: 453-463.
26. Dobrzański Z., Kolać R.: Wykorzystanie węgla brunatnego do poprawy jakości ściółki i mikroklimatu kurnika. *Mat. Konf. Nauk.-Techn.*, Wrocław, 1992, 32-36.
27. Dolatowski Z. J.: Jakość mięsa i produktów z indyków i świń żywionych paszą z dodatkiem koncentratu białkowo-ksantofilowego (PX) z lucerny. W: *Lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt*. Wyd. Stow. „Progress” Dzierżówka-Lublin, 2008, 93-105.
28. Dong X. F., Gao W. W., Tong J. M., Jia H. Q., Sa R. N., Zhang Q.: Effect of Polysavone (alfalfa extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. *Poult Sci.*, 2007, **86**: 1955-1959.
29. Dodatki paszowe dla świń. Praca zbiorowa pod red. M. Kotarbińskiej, E. Grela, JFiZZ PAN, Jabłonna, 1995, 121-131.
30. Dodatki paszowe. W: *Żywnienie bydła*. Praca zbiorowa pod red. J. Mikołajczaka, ATR Bydgoszcz, 2006, 338-359.
31. Eckel B., Kirchgessner M., Roth F. X.: Zum Einflub von Ameisensäure auf tägliche Zunahmen, Futteraufnahme, Futterverwertung und Verdaulichkeit. 1. Mitteilung: Untersuchungen zur nutritiven Wirksamkeit von organischen Säuren in der Ferkelaufzucht. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 1992, **67**: 93-100.
32. Elwakeel E. A., Titgemeyer E. C., Johnson B. J., Armendariz C. K., Shirley J. E.: Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs. *J. Dairy Sci.*, 2007, **90(11)**: 5226-5236.
33. Faruga A., Pudyszak K., Konwicki A., Polak M.: Wpływ preparatu ziołowego Biostrong-500 na efektywność odchovu i poziom niektórych wskaźników biochemicznych krwi indyczek rzeźnych. *Med. Wet.*, 2002, **58(10)**: 796-798.
34. Fenwick D. E., Oakenfull D.: Saponin content of food plants and some prepared foods. *J. Sci. Food Agric.*, 1983, **34**: 186-191.
35. Flis M., Sobotka W., Mieszkalski L., Czarnyszewicz Z.: Wartość pokarmowa gniecionego ziarna jęczmienia z dodatkiem enzymów w żywieniu tuczników. *Pasze Przem.*, 1999, **2/3**: 64-65.

36. Francis G., Kerem Z., Makkar H. P., Becker K.: The biological action of saponins in animal systems: a review. *Brit. J. Nutrit.*, 2002, **88**: 587-605.
37. Fuller R.: Probiotics in human medicine. *Gut.*, 1991, **32**: 439-442.
38. Fuller R.: Problems and prospects. W: *Probiotics – the scientific basis*. Red. R. Fuller. Chapman and Hall, London, UK, 1992, 377-386.
39. Gaweł A., Mazurkiewicz M.: Wpływ preparatu torfopochodnego (PTT) na odporność ptaków. *Mat. Konf. Nauk.-Techn.*, Wrocław, 1992, 52-55.
40. Graham H., Fadel J. G., Newman C. W., Newman R. K.: Effect of pelleting and β -glucanase supplementation on the ileal and fecal digestibility of a barley-based diet in the pig. *J. Anim. Sci.*, 1989, **67**: 1293-1298.
41. Greenwood M. W., Fritts C. A., Waldrup P. W.: Utilization of Avizyme1502 in corn-soybean meal diets with and without antibiotics. *Poult. Sci.*, 2002, **81**, Suppl., 1: 25.
42. Grela E. R., Semenjuk W.: Probiotyki w produkcji zwierzęcej. *Med. Wet.*, 1999, **55(4)**: 222-228.
43. Grela E., Czech A., Krukowski H.: Wpływ ziół na wzrost i składniki krwi prosiąt. *Med. Wet.*, 2003, **59(5)**: 410-412.
44. Grela E. R., Semenjuk W.: Konsekwencje wycofania antybiotykowych stymulatorów wzrostu w żywieniu zwierząt. *Med. Wet.*, 2006, **62(5)**: 502-507.
45. Grela E., Baranowska M.: Efektywność wybranych ziół w tuczu świń. *Trzoda Chlew.*, 1999, **12**: 73-77.
46. Grela E., Sembratowicz I., Czech A.: Immunostymulacyjne działanie ziół. *Med. Wet.*, 1988, **54(3)**: 152-158.
47. Grela E. R., Kumek R.: Effect of feed supplementation with phytase and formic acid on piglet performance and composition of sow colostrum and milk. *Med. Wet.*, 2002, **58**: 375-377.
48. Grela E. R.: Dodatki paszowe. W: *Żywienie bydła*. Praca zbiorowa pod red. J. Mikołajczaka. Wyd. ATR Bydgoszcz, 2006, 338-358.
49. Grela E. R.: Optymalizacja żywienia świń z wykorzystaniem nowej generacji dodatków paszowych. *PAN Inst. Genetyki i Hodowli Zwierząt. Prace i Mat. Zoot.* 2004, **15**, Zesz. Spec.: 53-63.
50. Grela E. R., Sawicka-Włodarczyk A., Krasucki W.: Kwasy organiczne w żywieniu tuczników. *Trzoda Chlew.*, 1998, **36, 5**: 21-24.
51. Grela E. R., Semenjuk V., Florek M.: Effects of adding protein-xanthophylls (PX) concentrate of alfalfa to reduced-crude protein, amino acid supplemented diets on nitrogen excretion, growth performance and meat quality of pigs. *J. Central Eur. Agric.*, 2008, **9(4)**: 669-676.
52. Gucku B., Iscan K., Uyanik F., Eren M., Agca A.: Effect of alfalfa meal in diet of laying quails on performance, egg quality and some serum parameters. *Arch. Anim. Nutr.*, 2004, **58(3)**: 255-363.
53. Haak L., Raes K., Smet K., Claeys E., Paelinck H., De Smet S.: Effect of dietary antioxidant and fatty acid supply on the oxidative stability of fresh and cooked pork. *Meat Sci.*, 2006, **74**: 476-486.
54. Haddadin M. S., Abdulrahim S. M., Hashlamoun E. A., Robinson R. K.: The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical composition of hen's eggs. *Poult. Sci.*, 1996, **75(4)**: 491-494.
55. Hohler D., Pallau J.: Effect of citric acid added to a maize-soya-diet with or without Zn supplementation on the availability of minerals. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 1993, **69(2)**: 133-142.
56. Hughes R. J., Zviedrans P.: Influence of dietary inclusion rate of wheat on AME, digesta viscosity and adenosine response. *Proc. Aust. Poult. Sci. Symp.*, 1999, **11**: 101-104.
57. Janik A., Koska M., Paluch U., Pieszka M., Barowicz T.: Probiotyki w żywieniu prosiąt. *Wiad. Zoot.*, 2006, **1**: 3-9.
58. Johnston N. L., Ouarles C. L., Fageerberger D. J., Caveny D. D.: Evaluation of yucca saponin on performance and ammonia suppression. *Poultry Sci.*, 1981, **60**: 2289-2292.

59. Jongbloed A. W., Kemme P. A., Mroz Z., Van Diepen H. T.: Efficacy use and application of microbial phytase in pig production: a review. Proc. Alltech's 16th Annual Symp. "Biotechnology in the feed industry." Nottingham Univ., 2000, 111-129.
60. Jongbloed A. W., Ohmann A., Van Diepen J. T., Vander Klis J. D., Knap I. H., Versteegh H. A.: Comparison of pigs and broilers in their response to microbial phytase. J. Anim. Sci., 1997, **75**, Suppl. 1: 185.
61. Karwowska M., Dołatowski Z. J., Grela E. R.: The effect of dietary supplementation with extracted alfalfa meal on oxidation stability of cooked ham oxidation. Polish J. Food Nutrit. Sci., 2007, **57(4 B)**: 271-274.
62. Karwowska M., Dołatowski Z. J., Grela E. R.: Wpływ dodatku preparatu z lucerny do paszy na właściwości fizykochemiczne mięsa wieprzowego i wyrobów. Roczn. Nauk. Zoot., 2008, **35(2)**: 101-107.
63. Kemme P. A., Jongbloed A. W., Mroz Z., Kogut J., Beynen A. C.: Digestibility of nutrients in growing-finishing pigs is affected by *Aspergillus niger* phytase and lactic acid levels: 1. Apparent ideal digestibility of amino acids. Livest. Prod. Sci., 1999, **58**: 107-117.
64. Khaleel A. E., Gad M. Z., El-Maraghy S. A., Hifnawy M. S., Abdel-Sattar E.: Study of hypocholesterolemic and antiatherosclerotic properties of *Medicago sativa* L. cultivated in Egypt. J. Food Drug Analiz., 2005, **13**: 212-218.
65. Kinal S., Lubojemska B.: Substancje biologicznie czynne w żywieniu cieląt. W: Produkcja mleka i wołowiny a zdrowie człowieka. Prace Komisji Nauk Rol., Leśnych i Wet., Polska Akademia Umiejętności, Kraków, 2007, **8**: 71-83.
66. Klebaniuk R., Czech A.: The influence of synbioty participation in feed ration for ewes on selected lamb blood parameters. Ann. UMCS, sec. EE, 2007, **25(2)**: 1-5.
67. Klebaniuk R., Matras J., Patkowski K., Pięta M.: Effectiveness of Bio-Mos in sheep nutrition. Ann. Anim. Sci., 2008, **8(3)**: 263-274.
68. Kołacz R., Bodak E., Świątała M., Gajewczyk P.: Herb as agents affecting the immunological status and growth of piglets weaned body weight deficiency. J. Anim. Feed Sci., 1997, **6**: 269-279.
69. Koreleski J., Świątkiewicz S.: Zakaz stosowania antybiotyków paszowych – co dalej? Biul. Pol. Zw. Prod. Pasz., 2006, **45**: 22-29.
70. Kornegay E. T., Denbow D. M., Zhang Z.: Phytase supplementation of corn-+ soybean meal broiler diets three to seven weeks of age. Poult. Sci. Abstr., 1997, **76**: 6.
71. Korniewicz D., Zalewski W., Korniewicz A.: Wpływ preparatu torfowego Biofer i zakwaszacza Digest Acid na odchów prosiąt. Trzoda Chlew., 1998, **8-9**: 100-1006.
72. Korol W.: Konserwanty i detoksykanty. W: Dodatki paszowe dla świń. Praca zbiorowa pod red. M. Kotarbińskiej, E. Grela, JFiZZ PAN, Jabłonna, 1995, 109-120.
73. Krauze M., Truchliński J., Adamczyk M., Modzelewska-Banachiewicz B.: Wpływ czosnku, syntetycznej pochodnej 1,2,4-triazolu oraz preparatu Echinovit C na wybrane wskaźniki profilu metabolicznego krwi indyczek Big-6. Ann. UMCS, sec. DD, 2007, **62(2)**: 1-6.
74. Krauze M., Grela E. R.: Wpływ dodatku koncentratu PX z lucerny (*Medicago sativa*) na wskaźniki hematologiczne i biochemiczne krwi indyków. W: Lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt. Wyd. Stow. „Progress” Dzierżkówka – Lublin, 2008, 121-127.
75. Kung L. J., Lazartie J., Wuelfel R. L., Rode L. M., Beauchemin K. A., Treacher R. J.: The effect of treating forages with fibrolytic enzymes in its nutritive value and lactation performance of dairy cows. J. Dairy Sci., 2000, **83**: 115-122.
76. Lachowski W.: Efektywność zastosowania preparatu drożdżowego Yea-Sacc 1026 w żywieniu owiec w okresie okołoporodowym. Mat. XXVI Sesji Nauk. Komisji Zwierząt „Dodatki paszowe w żywieniu zwierząt.” Olsztyn, 1996, 103-104.
77. Lewis G. E., Sanchez W. K., Hunt C. W., Guy M. A., Prichard G. T., Swanson B. I., Treacher R. J.: Effects of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. J. Dairy Sci., 1999, **82**: 611-617.

78. Lipiec A.: Ekstrakt z *Yucca schidigera* w ochronie środowiska zwierząt gospodarskich. Prz. Hod., 1994, **4**: 15-16.
79. Li S., Sauer W. C., Mosenthin R., Kerr B.: Effect of β -glucanase supplementation of cereal-based diets for starter pigs on the apparent digestibility of dry matter, crude protein and energy. Anim. Feed Sci. Techn., 1996, **59(4)**: 223-231.
80. Liu J., Bollinger D. W., Ledoux D. R., Eilersieck M. R., Veum T. L.: Soaking increases the efficacy of supplemental microbial phytase in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for growing pigs. J. Anim. Sci., 1997, **75**: 1292-1298.
81. Łyczyński A., Pospiech E., Czyżak-Runowska G., Rzosińska E., Grześ B., Mikołajczak B., Iwańska E.: Możliwości doskonalenia i kształtowania wartości rzeźnej i jakości mięsa wieprzowego. Mat. Konf. Nauk. „Genetyczne i środowiskowe możliwości dostosowania wartości rzeźnej i jakości mięsa u zwierząt do wymagań konsumentów”. AR Lublin, 2006, 23-31.
82. Maguire R. O., Sims J. T., Applegate T. J.: Phytase supplementation and reduced-phosphorus turkey diets reduce phosphorus loss runoff following litter application. J. Environ., Qual., 2005, **34**: 359-369.
83. Malinow M. R., McNulty W. P., Houghton D. C., Kessler S., Stenzel P., Goodnight S. H., Bardana E. J., Palotay J. L., McLaughlin P., Livingston A. L.: Lack of toxicity of alfalfa saponins in cynomolgus macaques. J. Med. Primatol., 1982, **11**: 106-118.
84. Marquardt R. R., Boros D., Guenter W., Crow G.: The nutritive value of barley, rye, wheat and corn for young chicks as affected by use of a *Trichoderma reesei* enzyme preparation. Anim. Feed. Sci. Techn., 1994, **45**: 363-378.
85. Máteová S., Sály J., Tucková M., Koscová J., Nemcová R., Gaálova M., Baranová D.: Effect of probiotics, prebiotics and herb oil on performance and metabolic parameters of broiler chickens. Med. Wet., 2008, **64(3)**: 294-297.
86. Mikołajczak J., Jarzynowska A., El-Essa: Wpływ preparatu probiotycznego na tempo wzrostu i stan zdrowotny prosiąt. Roczn. Nauk. Zoot., 2004, **20**, Suppl.: 115-119.
87. Mosenthin R., Sauer W. C., Ahrens F., De Lange C. F., Bornholdt U.: Effect of dietary supplements of propionic acid, siliceous earth or a combination of these on the energy, protein and amino acid digestibilities and concentrations of microbial metabolites in the digestive tract of growing pigs. Anim. Feed Sci. Technol., 1992, **37**: 245-255.
88. Nowak W., Potkański A., Zachwieja A., Szulc T., Wylegała S., Werwińska K.: Wpływ dodatku ekstraktu ziół w żywieniu na poziom immunoglobulin w surowicy i wyniki wychowu cieląt. Med. Wet., 2005, **61(9)**: 1049-1051.
89. Omogbenigun F. O., Nyachot C. M., Słominski B. A.: Dietary supplementation with multienzyme preparations improves nutrient utilization and growth performance in weaned pigs. J. Anim. Sci., 2004, **82**: 1053-1061.
90. Panda A. K., Rama Rao S. V., Raju M. V., Gajula S. S., Bhanja S. K.: Performance of broiler chickens fed low non phytate phosphorus diets supplemented with microbial phytas. J. Poult. Sci., 2007, **44**: 258-264.
91. Partanen K.: Organic acids – their efficacy and modes of action in pigs. In: Gut environment of pigs. Eds. A. Piva, K. E. Bach Knudsen, and J. E. Lindberg, Nottingham University Press, Nottingham, UK, 2001, 201.
92. Partanen K. H., Mróz Z.: Organic acids for performance enhancement in pig diets. Nutr. Res. Rev., 1999, **12(1)**: 117-145.
93. Patterson J. D., Waldroup P. W.: Use of organic acids in broiler diets. Poult. Sci., 1988, **67**: 1178-1182.
94. Peter M., Parr T. M., Parr E. N., Webel D. M., Baker D. H.: The effects of phytase on growth performance, carcass characteristics, and bone mineralization of late-finishing pigs fed maize-soybean meal diets containing no supplemental phosphorus, zinc, copper and manganese. Anim. Feed Sci. Techn., 2001, **94**: 199-205.

95. Pięta M., Patkowski K., Szymanowska A., Czech A.: Wpływ stosowania synbiotyków na mleczność maciorek polskiej owcy nizinnej. *Mat. LXXI Zjazdu Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego. Komunikaty Naukowe*, Bydgoszcz, 2006, **4**.
96. Pietras M., Skraba B.: Wpływ preparatu probiotycznego na wskaźniki odporności i wyniki odchovu kurcząt brojlerów. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2000, **6**, Suppl.: 357-361.
97. Piva A.: Non-conventional feed additives. *J. Animal Feed Scien.*, 1998, **7**, Suppl. 1: 143-154.
98. Podkowska W., Podkowska Z.: Probiotyki. W: *Dodatki paszowe dla świń*. Praca zbiorowa pod red. M. Kotarbińskiej i E. Greli, PAN Inst. Fizjol. i Żyw. Zwierząt, Jabłonna, 1995, 75-84.
99. Pospiech E., Borzuta K.: Rola surowca w kształtowaniu właściwości i jakości przetworów mięsnych. W: *Surowce, technologia i dodatki paszowe a jakość żywności*. pod red. A. Brzozowskiej, AR Poznań, 1999, 24-35.
100. Prost E. K.: Probiotyki. *Med. Wet.*, 1999, **55(2)**: 79.
101. Pejsak Z., Truszczyński M.: Przyczyny i konsekwencje wprowadzenia zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu u świń oraz możliwość przeciwdziałania negatywnym skutkom ich wycofania. *Życie Wet.*, 2006, **81(6)**: 380-383.
102. Preparaty drożdżowe InterYeast® w żywieniu cieląt jako czynnik podnoszący produkcyjność i zdrowotność. *Hod. Bydła*, 2008, **11**: 62-63.
103. Rekiel A.: Wpływ probiotyków na wskaźniki biochemiczne krwi tuczników. *Med. Wet.*, 2008, **64(1)**: 110-112.
104. Rekiel A., Kulisiewicz J., Więcek J., Miros K.: Wpływ dodatków probiotycznych i enzymatycznych na wyniki odchovu młodych świń. *Prz. Hod.*, 1994, **8**: 12-13.
105. Rekiel A., Więcek J.: Efektywność stosowania wybranych dodatków paszowych w produkcji świń. *Trzoda Chlew.*, 1999, **12**: 68-71.
106. Rekiel A., Tokarska G.: Efektywność stosowania wybranych dodatków paszowych w produkcji świń. *Cz. III. Enzymy*, *Trzod. Chlew.*, 2000, **1**: 55-58.
107. Rekiel A., Tokarska G.: Efektywność stosowania wybranych dodatków paszowych w produkcji świń. *Cz. IV. Konserwanty – preparaty zakwaszające*. *Trzoda Chlew.*, 2000, **2**: 56-60.
108. Rekiel A., Tokarska G.: Efektywność stosowania wybranych dodatków paszowych w produkcji świń. *Cz. V. Zioła i inne dodatki*. *Trzoda Chlew.*, 2000, **3**: 46-49.
109. Reshef G., Gestetner B., Birk Y., Bondi A.: Effect of alfalfa saponins on the growth and some aspects of lipid metabolism of mice and quails. *J. Sci. Food Agricult.*, 2006, **27(1)**: 63-72.
110. Roth F. X., Kirchgessner M.: Organic acids a feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. *J. Anim. Feed Sci.*, 1998, **7**: 25-33.
111. Sauveur B.: Phosphore phytique et phytases dans l'alimentation des volailles. *INRA Prod. Anim.*, 1989, **2**: 343-351.
112. Schäfer A., Koppe W. M., Meyer-Burghorff K. H., Günther K. D.: Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. *Wat. Sci. Tech.*, 1995, **31**: 149-155.
113. Schleicher A., Fritz Z., Kinal S.: Wpływ stosowania dodatków ziołowo-czosnkowych w mieszankach na wyniki produkcyjne i poubojowe kurcząt rzeźnych. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Zootech.*, 1996, **297(41)**: 180-189.
114. Schleicher A., Fritz Z., Kinal S.: Zastosowanie wybranych ziół w mieszankach treściwych dla kurcząt rzeźnych. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 1998, **25**: 213-244.
115. Seguin P., Zheng W., Souleimanov A.: Alfalfa phytoestrogen content: Impact of plant maturity and herbage components. *J. Agron. Crop Sci.*, 2004, **190**: 211-217.
116. Semeniuk W., Klebaniuk R., Grela E.: Dodatki paszowe w żywieniu zwierząt. W: *Lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt*. Wyd. Stow. „Progress” Dzierżkówka – Lublin, 2008, 139-164.
117. Siuta A.: Biopreparat probiotyczny Probiomix P-I w żywieniu świń. *Pasze Przem.*, 1999, **2(3)**: 58-59.
118. Siuta A.: Wpływ krajowego preparatu probiotycznego na wskaźniki odchovu prosiąt. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2000, **6**, Suppl.: 213-217.

119. Siuta A.: Wpływ preparatu probiotycznego „Biogen O” na wydajność i jakość mleka kóz. Dodatki paszowe w żywieniu zwierząt. Mat. XXVI Sesji Nauk. Komisji Zwierząt. Olsztyn, 1996, 91-93.
120. Siuta A., Kamiński J.: Terapeutyczno-dietetyczne właściwości probiotycznych produktów mlecznych. Med. Wet., 1998, **54(3)**: 172-174.
121. Sobotka W.: Efektywność wykorzystania preparatu enzymatycznego w żywieniu tuczników. Pasze Przem., 1999, **2(3)**: 66-67.
122. Sokół J., Bobel B.: Probiotyki w żywieniu tuczników. Trzoda Chlew., 2002, **1**: 46-48.
123. Stecka K. M., Grzybowski R. A., Zielińska K. J., Milewski J. A., Miecznikowski A. H.: Efekty stosowania biopreparatów w konserwacji pasz i żywieniu zwierząt. Pasze Przem., 1999, **2(3)**: 42-45.
124. Steinfeldt S., Mullertz A., Jensen J. F.: Enzyme supplementation of wheat-based diets for broilers. 1. Effect on growth performance and intestinal viscosity. Anim. Feed. Sci. Techn., 1998, **75**: 27-43.
125. Sugiyama S. H., Gabaudan J., Dong F. M., Hardy R. W.: Dietary microbial phytase supplementation and utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*) fed soybean meal diets. Aquacult. Res. 2001, **32**: 583-592.
126. Sumińska S.: Preparaty enzymatyczne w żywieniu drobiu. Pasze Przem., 1999, **2(3)**: 22-25.
127. Świątkiewicz S., Świątkiewicz M.: Zastosowanie fruktanów o właściwościach prebiotycznych w żywieniu zwierząt gospodarskich. Med. Wet., 2008, **64(8)**: 987-990.
128. Świątkiewicz S., Koreleski J.: Dodatki paszowe o działaniu immunomodulacyjnym w żywieniu drobiu. Med. Wet., 2007, **63(11)**: 1291-1295.
129. Szulc T., Zachwieja A., Gawlicz B.: Probiotyki Biogen N i Biogen B w żywieniu krów i cieląt. Prz. Hod., 1992, **8**: 12-15.
130. Szymańska-Czerwińska M., Bednarek D.: Wpływ prebiotyków na procesy immunologiczne u zwierząt. Med. Wet. 2008, **6(3)**: 262-264.
131. Szymańska-Czerwińska M., Bednarek D., Kowalski C.: Wpływ dodatku prebiotyków na aktywność interleukiny 1 i zmiany w subpopulacjach leukocytów krwi cieląt. Med. Wet., 2007, **63(12)**: 1591-1594.
132. Szymańska-Czerwińska M., Bednarek D.: Betaglukany alternatywą antybiotykowych stymulatorów wzrostu. Życie Wet., 2007, **82(10)**: 842-843.
133. Takai E. E., Kido Y., Rikimaru T., Kennedy D. O.: Possible use of alfalfa (*Medicago sativa*) as supplement in infant nutrition: Comparison of weight gained by rats fed on alfalfa and a popular weaning diet. J. Sci. Food Agric., 2006, **59(1)**: 109-115.
134. Tanveer A., Shahid R., Muhammad S., Ahsan-ul H., Zia-ul H.: Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. Anim. Feed Sci. Techn., 2000, **83**: 103-114.
135. Tartari E., Benatti G., Destefanis G., Bosticco A., Zoccarato I., Brugiapaglia A.: Lecerne leaf protein concentrate for growing/finishing pigs. L'impiego del concentrato proteico di medica nell'alimentazione del suino pesante. Riv. Suincolt., 1992, **33(1)**: 31-34.
136. Thacker P. A., Campbell G. L., Grootwassink J. W.: The effect of beta-glucanase supplementation on the performance of pigs hulled barley. Nutr. Rep. Inter., 1988, **38(1)**: 91-99.
137. Tymczyna L., Majewski T., Krukowski H.: Wpływ ekstraktu z *Yucca schidigera mohavensis* na warunki sanitarne i efekty produkcyjne w odchowie kurcząt brojlerów. Roczn. Nauk. Zoot., 1996, **23(21)**: 245-256.
138. Tymczyna L., Majewski T., Podgórski W., Polonis A.: Wpływ dodatku naturalnego glinokrzemianu (bentonitu) na warunki sanitarne i efekty odchovu kurcząt brojlerów. Roczn. Nauk. Zoot., 1995, **22(2)**: 371-381.
139. Ueda H., Ohshima M.: Nutritive value of alfalfa leaf protein concentrate prepared from low saponin variety in chicks and pigs. J. Zoot. Sci., 1989, **60(6)**: 561-566.

140. Van Doorn D.A., Everts H., Wouterse H., Beynen A.C.: The apparent digestibility of phytate phosphorus and the influence of supplementation phytase in horses. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**: 1756-1763.
141. Versteegh H.A., Jongbloed A.W.: The effect of supplementary lactic acid in diets on the performance of broilers. ID-DLO Rep. No. 99.006. Institute for Animal Science and Health, Branch Runderweg, Lelystad, The Netherlands, 1999.
142. Veum T.L., Ellersieck M.R.: Effects of low doses of *Aspergillus niger* phytase on growth performance, bone strength and nutrient absorption and excretion by growing and finishing swine fed corn-soybean meal diets deficient in available phosphorus and calcium. *J. Anim.*, 2008, **86**: 858-870.
143. Viswanathan T.V., Sekar M., Syammohan K.M.: Effect of citric acid and phytase on nutrient utilization on large white Yorkshire pigs. *Tamil. J. Vete. Anim. Sci.*, 2007, **3(2)**: 65-69.
144. Wang D., Fang J., Xing F., Yang L.: Alfalfa as a supplement of dried cornstalk diets: Associative effects on intake, digestibility, nitrogen metabolism, rumen environment and hematological parameters in sheep. *Liv. Sci.*, 2008, **113**: 87-97.
145. Wenk C.: Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. *Asian Austral. J. Anim. Sci.*, 2003, **16**: 282-298.
146. Woyengo T.A., Sands J.S., Guenter W., Nyachoti C.M.: Nutrient digestibility and performance responses of growing pigs fed phytase and xylanase supplemented wheat based diets. *J. Anim. Sci.*, 2008, **86**: 848-857.
147. Wyatt C.L., Bedford M.R., Waldron L.A.: Role of enzymes in reducing variability in nutritive value of maize using the ileal digestibility method. *Proc. Aust. Poult. Sci. Symp.*, 1999, **11**: 108-111.
148. Yang W.Z., Beauchemin K.A., Rode L.M.: A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**: 2512-2520.
149. Yang-Yu Fen, Lu-DeXun, Xu-Zi Rong, Wang-Yi Zhen, Liu-Jian Xin: A study on the effects of dietary fiber on performance and serum parameters in finishing pigs. *Acta Agricult. Univ. Jiangxiensis*, 2002, **24(5)**: 578-582.
150. Yen J.T.: Dehydrated alfalfa meal reduced urinary urea excretion in finishing gilts. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**, Suppl. 2: 68.
151. Zheng W.D., Schingoethe D.J., Stegeman G.A., Hippen A.R., Treacher R.J.: Determination of when during lactation cycle to start feeding a cellulose and xylanase enzyme mixture to dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**: 2319-2325.

Adres do korespondencji:

doc. dr hab. Jerzy Księżak
IUNG-PIB
Zakład Uprawy Roślin Pastewnych
ul. Czartoryskich 8
24-100 Puławy
tel.: (81) 886-34-21
e-mail: jksiezak@iung.pulawy.pl

Małgorzata Szumacher-Strabel, Adam Cieślak

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

WTÓRNE METABOLITY ROŚLINNE W ŻYWIENIU ZWIERZĄT PRZEŻUWAJĄCYCH

Wstęp

Specyfika budowy przewodu pokarmowego zwierząt przeżuwających, a przede wszystkim budowa żołądka składającego się z czterech komór, w tym trzech przedżołądków, pozwala na symbiozę przeżuwacza z mikroorganizmami zamieszkującymi główną komorę, jaką jest żwacz. Grupy mikroorganizmów zasiedlających żwacz to bakterie, pierwotniaki, metanogeny i grzyby. Średnia pojemność żwacza zwierząt przeżuwających wynosi 40-240 l, podczas gdy masa mikrobiologiczna bakterii i pierwotniaków, najliczniejszych grup mikroorganizmów, wynosi odpowiednio: 1463 i 455 g na krowę (Martin, 2002 – dane niepublikowane).

Trawienie w żwaczu zachodzi jako kombinacja mikrobiologicznej fermentacji i fizycznego rozkładu w czasie przeżuwania (49). Zwierzęta przeżuwające charakteryzują się zdolnością do wykorzystywania niskiej jakości pasz, przetwarzając słaby substrat w wysokiej jakości produkt, jakim jest mleko lub mięso (44). Ta zdolność wynika z symbiotycznych związków między przeżuwaczami a populacją mikroorganizmów bytujących w żwaczu. Dzięki obecności mikroorganizmów zwierzę wykorzystuje niedostępne dla systemu enzymatycznego ssaków składniki pokarmowe, czerpiąc energię z rozkładu węglowodanów strukturalnych (około 80% całkowitego zapotrzebowania) oraz białko z przemian związków azotowych (od 60 do ponad 80% całkowitego zapotrzebowania). Powstałe w wyniku mikrobiologicznego rozkładu węglowodanów strukturalnych lotne kwasy tłuszczowe są wchłaniane głównie w żwaczu, podczas gdy aminokwasy powstałe w wyniku rozkładu białka paszy oraz białka mikrobiologicznego, kwasy tłuszczowe i glicerol pochodzące z rozkładu tłuszczu oraz glukoza z rozkładu zarówno węglowodanów strukturalnych (celuloza i hemiceluloza), jak i niestrukturalnych (skrobia) są wchłaniane w jelicie cienkim. Tę symbiotyczną relację zwierzę–mikroorganizmy cechuje jednak ograniczone wykorzystanie energii i białka zawartych w dawce pokarmowej, znajdujące swoje odzwierciedlenie w produkcji i emisji, odpowiednio metanu i amoniaku (21, 145). Nieefektywność w wykorzystaniu białka i energii dawki pokarmowej prowadzi do strat ekonomicznych w postaci obniżenia rzeczywistej wartości pokarmowej skarmianych pasz, obniżenia produktywności zwierząt, a ponadto zwiększenia zanieczyszczenia środowiska naturalnego.

Aktualnie obserwuje się zwiększenie zainteresowania wykorzystaniem różnorodnych związków pochodzenia roślinnego w żywieniu zwierząt, w tym zwierząt przeżuwających, a główny nacisk położony jest na zmianę kierunku metabolizmu żwacza. Złożoność budowy i różnorodność fitoczynników występujących w roślinach jest jednak czynnikiem limitującym postęp w badaniach nad nimi. Fitoczyinki to nieodżywcze bioaktywne związki występujące w roślinach. Różnią się od tzw. związków pierwotnych, np. węglowodanów, białek i tłuszczów, ograniczoną dystrybucją, będąc zazwyczaj produktami specyficznych gatunków bądź grup roślin. Nawet w ramach poszczególnych gatunków roślin czy pojedynczych osobników występuje ogromne zróżnicowanie ich jakości i ilości. Pierwotnie sądzono, że nie odgrywają one żadnych funkcji w roślinach. Aktualnie wiadomo, że są one niezbędne, chronią bowiem przed patogenami i stresem abiotycznym, np. promieniowaniem UV (16). Służą również jako czynniki ułatwiające zapylanie roślin przez owady. Są często syntetyzowane jako odpowiedź na czynnik stresowy, np. częste koszenie lucerny (*Medicago sativa*) zwiększa koncentrację saponin (85).

Zagadnienie żywienia zwierząt jest nierozzerwalnie powiązane z innymi dziedzinami nauki, na przykład z jakością uzyskiwanych od nich produktów oraz ochroną środowiska naturalnego. W ostatnich latach intensywnie wzrasta zainteresowanie żywieniowców bioaktywnymi czynnikami roślinnymi, jako naturalnymi dodatkami paszowymi mogącymi:

- modyfikować procesy fermentacji zachodzące w żwaczu (defaunacja);
- poprawiać metabolizm białka, ograniczając jednocześnie produkcję i emisję amoniaku;
- hamować produkcję i emisję metanu do atmosfery;
- zwiększać koncentrację sprzężonych izomerów kwasu linolowego w produktach uzyskanych od zwierząt (np. w mleku). Wielka różnorodność bioaktywnych fitoczynników – saponin, olejków eterycznych i tanin zawartych w wielu gatunkach roślin została zidentyfikowana jako potencjalny czynnik oddziałujący na wyżej wymienione procesy. Efektywność ich działania nie została w pełni potwierdzona, gdyż zależy od wielu czynników, do których zaliczamy:
 - **ze strony zwierzęcia:** gatunek i kierunek produkcji, a w konsekwencji koncentrację węglowodanów strukturalnych w dawce pokarmowej, rodzaj zastosowanych pasz, szerokość geograficzną występowania zwierzęcia;
 - **ze strony rośliny:** rodzaj czynnika, jego budowę i aktywność, relacje synergistyczne bądź antagonistyczne w stosunku do innych komponentów dawki.

Historyczne uwarunkowania wykorzystania fitoczynników

Tło aktualnego zainteresowania wykorzystaniem roślin i ich biologicznie aktywnych komponentów jako modulatorów przemian zachodzących w przewodzie pokarmowym zwierząt nie jest zagadnieniem nowym. Tzw. etnoweterynaria i etnomedycyna od wieków wykorzystują różne postaci roślin (44). Jedne z pierwszych informacji dotyczących medycyny bazującej na roślinach pochodzą z 2600 roku przed naszą erą

z Mezopotamii i Chin (103). Chińczycy stosowali rośliny w terapii już 5000 lat temu, podczas gdy Egipcjanie stosowali rośliny i aktywne związki w nich zawarte jako konserwanty żywności oraz substancje mumifikujące 1550 lat przed naszą erą (Davidson i Naidu, cyt. za 21). Naturalna medycyna była szeroko stosowana (zwłaszcza na tzw. Zachodzie) do połowy XX wieku, kiedy to nastąpił zwrot w kierunku leków syntetycznych, efektywnych, możliwych do opatentowania i zapewniających duże profity (141). Między 1950 a 1980 rokiem badania naukowe koncentrowały się głównie wokół substytutów składników roślinnych. Od 1980 r. do późnych lat 90. nastąpił zwrot w kierunku wykorzystywania roślin jako potencjalnych źródeł nowych związków chemioterapeutycznych. Jednakże w związku z trudnościami (czas i koszt) związanymi z izolacją i charakterystyką poszczególnych czynników aktywnych, z często bardzo złożonych ekstraktów, a dalej z ich chemiczną syntezą, zainteresowanie tymi związkami było umiarkowane. Rozwój nowoczesnych technik, a przede wszystkim zmiana nastawienia społeczeństwa, skłaniają do skierowania uwagi ponownie w kierunku naturalnych związków pochodzenia roślinnego.

Wykorzystywanie antymikrobiologicznych własności fitoczynników w wielu sferach życia człowieka skłoniło naukowców do zastosowania tych związków również w żywieniu zwierząt. Próby zmian kierunku procesów zachodzących przy udziale mikroorganizmów oraz zwiększenia ich efektywności poprzez modulowanie składu populacji mikrobiologicznej w żwaczu opisywane są w literaturze światowej od wielu lat. Główny kierunek działania to dodatek do pasz związków mogących wpływać na skład i liczebność mikroorganizmów.

Pierwsze naukowe opracowanie dotyczące antymikrobiologicznych własności związków aktywnych występujących w roślinach pojawiło się na początku XX wieku (56). Wyniki pierwszych badań dotyczących wykorzystania biologicznie aktywnych związków w żywieniu zwierząt przeżuujących pochodzą z lat 60. O h i in. (108, 109) oraz N a g y i T e n g e r d y (98) opisali wpływ olejków eterycznych na procesy fermentacji zachodzące w żwaczu w warunkach *in vitro*, w tym produkcję gazów pofermentacyjnych, oraz aktywność bakterii żwaczowych. B o r c h e r e s (15) badał natomiast wpływ wtórnych metabolitów roślinnych na procesy przemiany białek w żwaczu. Otrzymane efekty wskazywały na możliwość modulowania procesów zachodzących w żwaczu w pożądanym kierunku. Jednak wprowadzona w latach 70. legalizacja stosowania antybiotyków jonoforowych jako promotorów wzrostu zahamowała rozwój badań nad stosowaniem naturalnych substancji roślinnych w żywieniu zwierząt i przez około 30 lat opublikowano na ten temat niewiele prac (17). Ponowny intensywny rozwój badań nad możliwością zastosowania fitoczynników, w tym wtórnych metabolitów roślinnych, w żywieniu zwierząt związany jest z ogłoszeniem przez Komisję Europejską zamiaru wprowadzenia zakazu stosowania wykorzystywanych dotychczas antybiotykowych stymulatorów wzrostu. Był to między innymi efekt presji konsumentów, aby wyeliminować wykorzystanie wszystkich nieroślinnych ksenobiotycznych czynników z pasz dla zwierząt i w konsekwencji zwrot (szczególnie w Europie) w kierunku stosowania dodatków naturalnych. Działania te zaowocowały (od 2000 roku) bardzo intensywnym rozwojem badań naukowych oraz wzrastającą lawi-

nowo liczbą publikacji na ten temat. Do roku 2006 stosowano głównie dodatki chemiczne, takie jak: antybiotyki, jonofory i inhibitory produkcji metanu oraz czynniki defaunizujące żwacz (116). Obowiązujący od 1 stycznia 2006 roku, a wprowadzony w 2003 roku, zakaz ich stosowania (dyrektywa 1831/2003/CEE, 37) spowodował intensywny rozwój badań nad znalezieniem i wykorzystaniem efektywnie działających naturalnych związków posiadających podobne własności.

Przyczyn zakazu stosowania związków chemicznych w modulowaniu procesów żwaczowych należy upatrywać w:

- ich toksyczności w stosunku do zwierzęcia i mikroorganizmów, objawiającej się między innymi brakiem wybiórczości w działaniu,
- braku zdolności adaptacyjnych mikroorganizmów w stosunku do zastosowanego środka,
- przechodzeniu do produktów pochodzenia zwierzęcego,
- rosnącej odporności na działanie antybiotyków,
- małej dostępności w praktycznym zastosowaniu (np. czynniki defaunizujące),
- spadającej akceptacji społeczeństwa odnośnie stosowania tych związków.

Powodami, dla których poszukiwano i poszukuje się zamienników wymienionych powyżej związków chemicznych, są również:

- rosnący potencjał genetyczny zwierząt, powodujący konieczność stosowania w żywieniu pasz o wysokiej koncentracji składników pokarmowych i wysokiej możliwości ich efektywnego wykorzystania,
- rosnące zanieczyszczenie środowiska przyrodniczego, będące skutkiem nieefektywnego wykorzystania dawki pokarmowej.

Opisany powyżej paradoks spowodował zwrot w kierunku stosowania w żywieniu zwierząt związków naturalnie występujących w roślinach, które stanowią podstawę dawki pokarmowej przeżuwaczy. Do związków naturalnych zaliczyć można probiotyki, prebiotyki, enzymy, kwasy organiczne i wtórne metabolity roślinne lub charakteryzujące się taką samą budową związki chemiczne. Występujące w roślinach wtórne metabolity, zaliczane do tzw. fitozwiązków, są czynnikami bioaktywnymi, mogącymi potencjalnie modulować procesy fermentacji zachodzące w żwaczu (148). Są to związki niezaangażowane w zasadnicze procesy biochemiczne zachodzące w roślinie, jak wzrost, rozwój i rozmnażanie, lecz stanowiące tzw. linię obrony zapewniającą przetrwanie struktur roślinnych i funkcji rozrodczych, chroniąc przed atakiem drapieżników (np. owadów; 116). Przez lata związki te uważane były za produkty odpadowe metabolizmu pierwotnego. Są one odpowiedzialne za zapach i kolor roślin, są chemicznymi przekaźnikami między rośliną i środowiskiem, a ponadto wykazują szeroką aktywność antymikrobiologiczną przeciwko bakteriom, drożdżom i pleśniam (Gershenson i Croteau, cyt. za 21).

Zakładając, że globalny rynek antybiotykowych stymulatorów wzrostu miał w swoim szczytowym okresie w 1996 roku wartość 237 x 106 \$ US (44), to nie jest trudno przewidzieć implikacje związane ze wzrostem zainteresowania alternatywnymi modulatorami fermentacji, w tym całymi roślinami, olejami roślinnymi, ekstraktami roślinnymi, czy wreszcie samymi czynnikami biologicznie aktywnymi.

Badania nad związkami występującymi w roślinach, mogącymi wpływać na metabolizm żywca, a w konsekwencji na produktywność zwierząt, powinny być nie tylko strategicznym, ale również fundamentalnym celem pozwalającym na poszerzenie wiedzy na temat współzależności między zwierzęciem a „koktailem” związków fitochemicznych, pobieranym przez nie każdego dnia z paszą.

Oczekiwane kierunki działania wtórnych metabolitów roślinnych w żywcu

Kolejne zapowiedzi zmian legislacyjnych dotyczą zamiaru wprowadzenia przez Komisję Europejską tzw. *cow tax*, podatku od hodowanych zwierząt przeżuwających. Celem jego wprowadzenia jest ograniczenie emisji gazów cieplarnianych do atmosfery. Aktualna propozycja zakłada 5 € za tonę wyemitowanego gazu, co implikuje opłaty rzędu 13 € za sztukę krowy mlecznej, 7 € za sztukę bydła niemlecznego, 1 € za owcę. Opisane zmiany są konsekwencją tzw. protokołu z Kioto (1997 r.; wszedł w życie w 2005 r.) stanowiącego uzupełnienie Ramowej Konwencji Narodów Zjednoczonych w sprawie Zmian Klimatu (*United Nations Framework Convention on Climate Change*), a jednocześnie będącego międzynarodowym porozumieniem dotyczącym przeciwdziałania globalnemu ociepleniu. Właśnie ze względu na przyczynianie się produkowanego metanu do ocieplania się klimatu Ziemi, jak i do powstawania wymiernych strat w produkcji zwierzęcej, obserwuje się rosnące zainteresowanie procesem metanogenezy zachodzącym w żywcu u zwierząt przeżuwających. Metan stanowi 18% ogólnej puli gazów cieplarnianych (160), a jego koncentracja w ciągu ostatnich kilku dziesięcioleci wzrosła o 151% i cały czas proces ten postępuje. Ilość powstającego metanu, jako efektu hodowli zwierząt przeżuwających, wynosi od 95 do 97% całkowitej produkcji zwierzęcej (70). Dane zestawione przez J e n s e n a (68) wskazują, że dzienna produkcja metanu przez zwierzęta przeżuwające kształtuje się w zakresie od 30 l (owca o masie 40 kg) do 230 l (krowa o masie 500 kg). W puli gazów produkowanych przez zwierzęta przeżuwające metan stanowi od 30 do 40%. Wielkość produkcji metanu zależy od kilku czynników, w tym od intensywności przemian zachodzących w organizmie, kierunku produkcji oraz rodzaju skarmianej paszy (62). Straty metanu pochodzącego z procesów fermentacyjnych w żywcu, a emitowanego do atmosfery, pogarszając wykorzystanie paszy, obniżają efekt ekonomiczny utrzymania zwierzęcia. J o h n s o n i in. (69) oraz M o s s i in. (96) oszacowali straty energii powstające podczas procesu fermentacji na 2 do 12% energii brutto pobranej w paszy. Proces metanogenezy może zachodzić jedynie w warunkach beztlenowych przy udziale mikroflory żywca, w wyniku międzygatunkowej symbiozy pomiędzy metanogenami a bakteriami, pierwotniakami lub grzybami. Symbioza ta polega, między innymi, na transferze H_2 powstającego w komórkach mikroorganizmów do metanogenów. Drobnoustroje te wykorzystują m.in. CO_2 do redukcji H_2 , a uzyskaną w tym procesie energię spożytkowują na generację ATP. Dzięki procesowi powstawania metanu w żywcu utrzymywane jest niskie stężenie H_2 w atmosferze żywca, co wpływa korzystnie na przemiany węglowodanów w tym środowisku (143, 156).

Z dostępnych danych wynika, że na produkcję metanu w żwaczu krowa zużywa dziennie nawet 800 l H_2 (61). Według badań przeprowadzonych przez Skilman i in. (129) populacja metanogenów w żwaczu już u 3 tygodniowych jagniąt może osiągnąć maksymalną liczebność 10^8 - 10^9 na gram treści żwacza. Dominującymi metanogenami w żwaczu zwierząt gospodarskich są mikroorganizmy należące do rodzaju *Methanobrevibacter* i *Methanosarcina*, a w szczególności gatunki: *Methanobacterium formicicum*, *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina mazei* i *Methanomicrobium mobile* (134). Rozwój nowoczesnych technik molekularnych wskazuje jednak, że to, który metanogen dominuje w żwaczu zależy od gatunku przeżuwacza (67). Wiele ośrodków naukowych na świecie prowadzi intensywne badania nad ograniczeniem negatywnego oddziaływania metanu pochodzącego od zwierząt na środowisko naturalne oraz na związany z tym efekt ekonomiczny produkcji zwierzęcej. Badania te w dużej mierze skupiają się nad możliwością sterowania procesami zachodzącymi w żwaczu, ze szczególnym uwzględnieniem mikroorganizmów w nich uczestniczących. Według Patra i Saxena (116) wtórne metabolity roślinne, tj. saponiny, taniny lub olejki eteryczne mogą modulować proces metanogenezy.

W ograniczenie ilości wyemitowanego metanu wpisuje się również zagadnienie ograniczenia produkcji i emisji amoniaku od zwierząt przeżuwających, które ma równocześnie aspekty naukowe i praktyczne, takie jak: zwiększenie wykorzystania białka dawki pokarmowej i ochronę środowiska naturalnego.

Kolejną przesłanką do stosowania fitoczynników w żywieniu zwierząt przeżuwających jest poprawa jakości mleka, między innymi, poprzez zmiany w procesie bio-uwodornienia w żwaczu oraz w procesie denaturacji jednonienasyconych kwasów tłuszczowych w gruczole mlekowym. Nienasycone kwasy tłuszczowe dochodzące do żwacza prowadziły jednak niejednokrotnie do niezamierzonych niekorzystnych zmian w składzie mikroflory. Zastosowanie bioaktywnych czynników roślinnych w żywieniu przeżuwaczy ma szansę na zapewnienie podobnych efektów bez wcześniej opisywanych negatywnych implikacji. W przypadku pozytywnych wyników omawiane fitocząynniki będą mogły znaleźć praktyczne zastosowanie w żywieniu zwierząt oraz w ochronie środowiska naturalnego.

Dobrym przykładem wykazującym (z ekonomicznego punktu widzenia) zasadność wykorzystania fitoczynników w żywieniu zwierząt jest rosnące zainteresowanie przemysłu paszowego wykorzystaniem wymienionych substancji jako komponentów produkowanych pasz. W 1996 roku rynek amerykański wykorzystał około 90 ton tych substancji o wartości rynkowej 413 000 € (Frost i Sullivan, cyt. za 44). Od 1996 roku obserwujemy znaczny wzrost wykorzystania fitoczynników, a prognozy na 2006 rok wynosiły 601 ton o wartości 1 643 000 €. W przypadku uzyskania pozytywnych efektów istnieje realna szansa na włączenie badanych substancji do standardowych mieszanek treściwych dla przeżuwaczy.

Korzystnych efektów wynikających ze stosowania fitoczynników w żywieniu zwierząt przeżuwających można oczekiwać w następujących aspektach:

- zmiany koncentracji lotnych kwasów tłuszczowych w kierunku zwiększenia koncentracji kwasu propionowego bez zmiany koncentracji sumy lotnych kwasów tłuszczowych;
- wpływu na proces biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych poprzez hamowanie biouwodorowania na poziomie *c9*, *t11* C18:2 lub *t11* C18:1, co w efekcie prowadzi do zwiększonej koncentracji wymienionych związków biologicznie aktywnych w mleku;
- zmniejszenie produkcji amoniaku w wyniku obniżania deaminacji i peptydolizy w żwaczu oraz obniżania liczebności i aktywności bakterii wyspecjalizowanych w produkcji amoniaku (*hyper ammonia producing bacteria*), co prowadzi do ograniczenia powstawania nadmiaru amoniaku w żwaczu; mniejsza koncentracja amoniaku w żwaczu, to większe wykorzystanie białka dawki pokarmowej;
- obniżeniu produkcji i emisji metanu poprzez ograniczenie liczebności pierwotniaków i żyjących z nimi w symbiozie mutualnej metanogenów.

Omawiane fitocząynniki są bardzo trudne do sklasyfikowania ze względu na różne szlaki metaboliczne ich syntezy, własności i mechanizm działania. Można je jednak podzielić na trzy grupy substancji potencjalnie regulujących procesy zachodzące w żwaczu, a tym samym wpływających na zdrowotność i produktywność przeżuwaczy: olejki eteryczne, saponiny i taniny. Najwięcej opublikowanych informacji, potwierdzonych badaniami w warunkach *in vitro* i *in vivo*, dotyczy wykorzystania olejków eterycznych w żywieniu zwierząt.

Omówienie poszczególnych grup fitocząynnków

Olejki eteryczne

Pochodzenie i klasyfikacja. Olejki eteryczne są mieszaniną wtórnych metabolitów roślinnych. Występują w roślinach określanych mianem zielarskich, przyprawowych czy zapachowych. Są odpowiedzialne za charakterystyczny zapach (*quinata essentia*) tych roślin. Są to głównie związki lotne, otrzymywane na drodze ekstrakcji parą wodną lub rozpuszczalnikiem z wielu partii roślin, np.: nasion, liści, kwiatów, łodyg, a ich skład i aktywność różnią się w zależności z jakiej rośliny (w tym również odmiany) i z jakiej jej części pochodzą (35). Chemiczne różnice występują również w zależności od materiału genetycznego, wieku rośliny i warunków środowiska (33). Wiele z nich wydaje się mieć działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne. Oddziałują zarówno na bakterie, jak i na grzyby, wirusy oraz pierwotniaki (44). Aktywne składniki olejków eterycznych należą, pod względem chemicznym, do dwóch grup – terpenoidów i fenylopropanoidów – pochodzących od dwóch prekursorów metabolizmu pierwotnego i są syntetyzowane poprzez różne szlaki metaboliczne (21).

Terpenoidy należą do najliczniejszych i najbardziej zróżnicowanych grup wtórnych metabolitów roślinnych. W literaturze opisano ich około 15 000 (Gershenzon i Croteau, cyt. za 21). Olejki eteryczne są mieszaniną głównie monoterpenoidów (C_{10}) i seskwiterpenoidów (C_{15}). W ich skład mogą również wchodzić diterpenoidy (C_{20}) oraz

różnorodne niskocząsteczkowe alifatyczne węglowodory, kwasy, alkohole, aldehydy, estry acylowe, laktony, a także związki zawierające N i S oraz kumaryny i homologi fenylopropanoidów (7, 35). Fenylopropanoidy syntetyzowane są poprzez szlak szikimowy (z fenyloalaniny), proces zachodzący jedynie w mikroorganizmach i roślinach (126).

Biologiczne własności i mechanizmy działania. Olejki eteryczne wykazują szereg biologicznych własności pozwalających na wykorzystanie ich jako związków zapobiegających rozwojowi licznych chorób, jednak najważniejsze, wykorzystywane w żywieniu zwierząt, to własności antymikrobiologiczne. Terpenoidy i fenylopropanoidy rozwinęły swoje antymikrobiologiczne właściwości, przede wszystkim w stosunku do bakterii, oddziałując na ich błony komórkowe (35). Aktywność ta jest odzwierciedleniem hydrofobowej natury cyklicznych węglowodorów, pozwalającej nie tylko na wzajemne oddziaływanie, ale również na akumulowanie się tych związków w bakteriowej błonie lipidowej, umiejscawiając się między łańcuchami kwasów tłuszczowych (142). W konsekwencji powoduje to zmiany konformacji błony komórkowej objawiające się jej rozszerzaniem i fluidyzacją, prowadząc do przenikania jonów i obniżania gradientu stężeń. Oddziaływanie terpenoidów i fenylopropanoidów nie prowadzi do śmierci komórki, gdyż bakterie jako mechanizm ochronny uruchamiają pompy jonowe. Proces ten powoduje jednak znaczne straty energetyczne, co w konsekwencji ogranicza wzrost bakterii, zmieniając liczebność i proporcje populacji, a w konsekwencji profil fermentacji zwaczowej (45, 142). Aktywność antymikrobiologiczna jest wyższa w przypadku nasyconych cyklicznych węglowodorów, szczególnie o strukturze fenolowej, w której grupa hydroksylowa i przemieszczające się elektrony, dzięki mostkom wodorowym, reagują z wodą, co czyni je szczególnie aktywnymi wobec mikroorganizmów (21, 35, 45).

U l t e e i in. (142) opisali alternatywny mechanizm działania, sprawdzający się głównie w stosunku do grup hydroksylowych związków aromatycznych, zgodnie z którym fenolowe grupy hydroksylowe działają jako transbłonowe nośniki jednowartościowych kationów i protonów, podobnie jak antybiotyki jonoforowe. Powyższy mechanizm nie funkcjonuje w przypadku związków niearomatycznych, ze względu na obecność systemu przemieszczającego się elektronu i wysoką kwasowość fenoli, a także ze względu na zdolność grup hydroksylowych do uwalniania swojego protonu.

Opisane mechanizmy są efektywniejsze w przypadku oddziaływania w stosunku do bakterii gram-dodatnich, w których błona komórkowa oddziałuje bezpośrednio z hydrofobowym charakterem olejków eterycznych (28). W przypadku bakterii gram-ujemnych zewnętrzna ściana komórkowa okalająca błonę komórkową jest hydrofilowa i nie przepuszcza związków lipofilowych. Większość aktywnych substancji występujących w olejkach eterycznych ma charakter lipofilowy i nie ma zdolności przenikania do błon komórkowych bakterii gram-ujemnych (34). Opisany powyżej proces nie zawsze funkcjonuje w odniesieniu do, np. niskocząsteczkowych molekuł, które reagują z wodą (poprzez mostki wodorowe), przenikają przez ścianę komórkową, warstwę lipopolisacharydową lub błonę białkową na drodze dyfuzji i wówczas współdzia-

łają z bakteryjną błoną lipidową (21, 35, 45). Helander i in. (51) zwracają uwagę natomiast na zdolności niektórych węglowodorów aromatycznych obecnych w olejkach eterycznych do uszkodzania zewnętrznej błony bakterii gram-ujemnych, w efekcie czego następuje uwalnianie lipopolisacharydów i wzrost przepuszczalności błony cytoplazmatycznej.

Powyższe rozważania pozwalają na stwierdzenie, iż małowcząsteczkowe wtórne metabolity roślinne działają zarówno w przypadku bakterii gram-dodatnich, jak i gram-ujemnych, co ma swoje ujemne implikacje w praktycznym żywieniu zwierząt, gdyż ogranicza ich selektywne działanie.

Kolejnym sposobem oddziaływania omawianych powyżej związków na mikroorganizmy jest opisany przez Gustafsona i Bowena (47) potencjał olejków eterycznych do koagulowania niektórych składników błony komórkowej, prawdopodobnie poprzez denaturację białek. Związki fenolowe reagują z białkami poprzez mostki wodorowe i jonowe lub interakcje hydrofobowe, podczas gdy związki niefenolowe reagują z innymi grupami, np. grupą karbonylową (Prescott i in., cyt. za 21 i 112). Szczególnym przypadkiem są związki zawarte w olejkach eterycznych czosnku (*Allium sativum*), aktywne wobec bakterii gram-ujemnych, gram-dodatnich, grzybów, wirusów i pasożytów, a główny mechanizm działania związany jest z ich zdolnością do wchodzenia w reakcje z grupami SH (105).

Podsumowując, działanie antymikrobiologiczne olejków eterycznych związane jest z ich wpływem na bakteryjne błony komórkowe poprzez oddziaływanie na transport elektronów, gradient jonów, translokację białek, fosforylację i inne reakcje enzymozależne (7, 35, 142).

Olejki eteryczne w żywieniu zwierząt przeżuwających. Badania nad możliwością zastosowania olejków eterycznych w żywieniu zwierząt przeżuwających prowadzone są już od wielu lat, jednak, w efekcie zmian legislacyjnych, wzrost natężenia badań datuje się na przełom XX i XXI wieku. Większość opublikowanych dotychczas prac to efekty doświadczeń przeprowadzonych w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem technik hodowli zamkniętej (*batch culture*) lub otwartej (*continuous culture*, *Rumen Simulation Technic* – *RUSITEC*) opisujące zmiany procesów fermentacyjnych w żwaczu po dodaniu określonego czynnika. Wyniki uzyskiwane w efekcie krótkotrwałej fermentacji, szczególnie z systemu *batch culture*, powinny być weryfikowane w dłuższym czasie zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* (27). Według Chizzola i in. (31) przyczyną takiego stanu rzeczy jest zdolność populacji zasiedlających żwacz do chemicznej redukcji aktywności składników olejków eterycznych do obojętnych alkoholi. Takie reakcje mogą zachodzić do czasu adaptacji mikroorganizmów do działającego czynnika, czyli w późniejszych okresach danego doświadczenia.

Dopiero w ostatnich kilku latach obserwuje się rosnącą liczbę publikacji dotyczących możliwości wykorzystania olejków eterycznych w bezpośrednim żywieniu zwierząt przeżuwających i opisujących ich wpływ na wyniki produkcyjne.

W przeprowadzonych i opublikowanych badaniach wykorzystywano szereg olejków eterycznych oraz zawartych w nich czynnych związków, stosowano różne pozio-

my suplementacji dawek, składających się z różnych komponentów. Opisywane w literaturze światowej wyniki są, w efekcie tych działań, często sprzeczne, a opisywane odpowiedzi, uzyskane w wyniku przeprowadzonych badań w warunkach *in vitro*, nie zawsze znajdują potwierdzenie w doświadczeniach w warunkach produkcyjnych (*in vivo*).

Wpływ olejków eterycznych na poszczególne grupy bakterii, pierwotniaków i grzybów zasiedlających żwacz. Działanie olejków eterycznych, jak i innych związków modulujących procesy fermentacji zachodzące w żwaczu, jest determinowane ich wpływem na mikroflorę w nim bytującą. Analizując wpływ różnorodnych związków, w tym fitoczynników, na bakterie żwaczowe, należy mieć świadomość, że w niektórych ekosystemach, szczególnie w zdominowanych przez wolno rosnące, wyspecjalizowane mikroorganizmy, jedynie niewielka ich frakcja, często mniej niż 1% całkowitej populacji, może być rejestrowana dostępnymi metodami hodowli (2). Dostępne w światowej literaturze dane wskazują na niejednoznaczną odpowiedź poszczególnych grup bakterii na działanie olejków eterycznych. Nie wszystkie bakterie żwaczowe są wrażliwe na olejki eteryczne, pomimo że stosowane wcześniej w tym samym celu antybiotykowe stymulatory wzrostu, np. monenzyna, były skuteczne w ograniczaniu ich liczebności i aktywności i *vice versa*. McIntosh i in. (86) analizowali wpływ mieszaniny olejków eterycznych na bakterie z grup *Lactobacillus plantarum*, *Clostridium sticklandii* i *Streptococcus bovis*. Wrażliwość na działanie czynnika doświadczalnego poszczególnych bakterii była uzależniona od jego koncentracji. Wzrost *Clostridium sticklandii* został ograniczony o 50% przy koncentracji 36 mg · l⁻¹ płynu żwacza, podczas gdy *Streptococcus bovis* pozostał na wyjściowym poziomie nawet przy koncentracji mieszaniny olejków osiągającej wartość 240 mg · l⁻¹. Autorzy w swych badaniach analizowali również zdolności adaptacyjne czystych kultur bakteryjnych w stosunku do zwiększającej się koncentracji mieszaniny olejków. Najistotniejszą zdolność adaptacyjną stwierdzono w grupie *Lactobacillus plantarum*, która zmniejszyła się trzykrotnie w efekcie działania czynnika doświadczalnego. Evans i Martin (38) w badaniach nad wpływem poszczególnych roślinnych metabolitów wtórnych na bakterie żwaczowe *Selenomonas ruminantium* i *Selenomonas bovis*, stwierdzili, że 90 mg · l⁻¹ tymolu wykazało efekt selektywny, hamując jedynie wzrost *Selenomonas ruminantium*, podczas gdy 400 mg · l⁻¹ tymolu zahamowało wzrost obydwu grup mikroorganizmów. Analiza uzyskanych wyników jest jednak pełna niekonsekwencji ze względu na brak naszej wiedzy na temat efektywnej koncentracji olejków eterycznych bądź wtórnych metabolitów roślinnych w środowisku żwacza (49).

Zainteresowanie wpływem olejków eterycznych na liczebność i aktywność poszczególnych grup pierwotniaków badało dotychczas kilka zespołów naukowych. Webb i in. (101) analizowali wpływ 100 mg mieszaniny olejków eterycznych w dziennej dawce dla owiec, natomiast Benchar i in. (9) dodawali 750 mg mieszaniny olejków do dawki dla bydła mlecznego. W obydwu przypadkach nie stwierdzono wpływu zastosowanych dodatków na liczebność pierwotniaków. Badania Ando

i in. (3) wskazują, że dzienny dodatek 200 gramów suszonej mięty pieprzowej (*Mentha piperita*) do dawek dla przetokowanych jałówek obniżył liczebność pierwotniaków o 50%.

Niewiele badań przeprowadzono nad wpływem olejków eterycznych na liczebność i aktywność grzybów żwaczowych. McIntosh i in. (86) stwierdzili obniżenie liczebności grzybów bytujących w żwaczu, a należących do wielowiciowego beztlenowego gatunku *Neocallimastix frontalis* (50).

Wpływ olejków eterycznych na procesy fermentacji w żwaczu. W początkowym okresie badań zainteresowanie stosowaniem olejków eterycznych w żywieniu przeżuwaczy wynikało głównie z ich roli w obniżaniu smakowitości niektórych gatunków roślin (7). Pierwsze doniesienia dotyczące wpływu olejków eterycznych na procesy fermentacji zachodzące w żwaczu pochodzą z prac Nagy i Tengerdy (98) oraz Oh i zespołu (108, 109). Nagy i Tengerdy (98) stwierdzili wpływ olejków eterycznych wyekstrahowanych z bylicy trójzębowej (*Artemisia tridentata*) na ograniczenie aktywności bakterii *in vitro*, natomiast Oh i in. (109) wykazali podobne zależności w efekcie zastosowania ekstraktu pochodzącego z igieł daglezi zielonej (*Pseudotsuga menziesii*). Stopień oddziaływania zależał każdorazowo od struktury chemicznej podanego związku czynnego. Stwierdzono, że utlenione monoterpeny, szczególnie alkohole i aldehydy, silnie hamują wzrost i metabolizm mikroorganizmów żwaczowych, monoterpeny zawierające w swej strukturze jednostki węglowodorowe nieznacznie, a w pewnych warunkach mogą również stymulować ich aktywność. Te informacje przyczyniły się do dalszych rozważań i badań nad wpływem olejków eterycznych i zawartych w nich związków biologicznie czynnych na metabolizm żwacza, w tym głównie na modulowanie przemian azotowych oraz wykorzystanie energii.

Wpływ olejków eterycznych na metabolizm białka w żwaczu. Symbiotyczna współzależność między przeżuwaczem a zasiedlającymi żwacz mikroorganizmami umożliwia zwierzęciu wykorzystanie niemalże każdego źródła azotu, który wbudowany jest w komórki mikroorganizmów, tworząc tym samym białko o najwyższej wartości biologicznej. Jednak relacja ta nie zabezpiecza zapotrzebowania wysoko produkcyjnych zwierząt na aminokwasy. Jakkolwiek dawki paszowe podawane przeżuwaczom są suplementowane komponentami białkowymi, których zadaniem jest uzupełnienie niedoborów tego składnika, w praktycznym rozrachunku powyższe rozwiązanie zwiększa koszty paszy, nie zawsze prowadząc do oczekiwanych efektów. Ponadto, zbyt wysoka koncentracja białka w dawce prowadzi do jego nieefektywnego wykorzystania, czego efektem są straty azotu zanieczyszczające środowisko naturalne. Według Lapierre i in. (77) na każdą jednostkę pobieranego przez krowy mleczne azotu około 0,3 jest wydalone w moczu. Wartość ta jest uśredniona i zależy w dużej mierze od wielu czynników, w tym np. od:

- poziomu azotu w podanej dawce pokarmowej,
- rodzaju źródła azotu w dawce i jego podatności na degradację do amoniaku w żwaczu (NPN),
- stosunku ilości powstałego w żwaczu amoniaku do ilości dostępnej dla syntezy białka bakteryjnego w żwaczu,

- rodzaju i aktywności enzymatycznej flory bakteryjnej zasiedlającej żwacz,
- tempa wypływu treści ze żwacza do dalszych odcinków przewodu pokarmowego.

Próba wpływu i modelowania przemian białka zachodzących w żwaczu jest zatem jednym z podstawowych wyzwań nowoczesnego żywienia zwierząt. Dodatek olejków eterycznych charakteryzujących się działaniem antymikrobiologicznym pozwala sądzić, że będą one naturalnym dodatkiem paszowym spełniającym te oczekiwania, a mechanizm ich działania będzie związany bezpośrednio z oddziaływaniem na bakterie wyspecjalizowane w produkcji amoniaku, a pośrednio z wpływem na rozkład aminokwasów.

Wczesne doświadczenia przeprowadzone przez B o r c h e r s (15) wykazały, że dodatek 1 grama tymolu na litr płynu żwacza w obecności kazeiny powoduje akumulowanie aminokwasów i obniżenie koncentracji azotu amoniakalnego, co sugeruje hamowanie deaminacji aminokwasów przez bakterie żwaczowe. B r o d e r i c k i B a l l t h r o p (17) w swoich badaniach potwierdzili hamowanie deaminacji aminokwasów w efekcie dodatku tymolu.

Opisane powyżej doświadczenia przedstawiają wpływ poszczególnych pojedynczych substancji na przemiany azotu w żwaczu. W literaturze światowej opublikowano również wyniki szeregu doświadczeń badających dodatki mieszanin fitoczynników i zawartych w nich związków chemicznych, wykorzystując występujące między nimi zjawisko synergii. Przykładem opisywanej zależności są wyniki badań opublikowanych przez B u s q u e t i in. (20), w których dodatek 2,2 mg olejków eterycznych z goździkowca korzennego (*Syzygium aromaticum*) na litr płynu żwacza fermentowanego w systemie *continuous culture* obniżył o 80% koncentrację dużych peptydów, lecz nie miał wpływu na poziom azotu amonowego, co sugeruje silne działanie peptydolityczne zastosowanego dodatku. Jednak zastosowana w tej samej ilości jedynie substancja czynna pochodząca z olejku z goździkowca korzennego – eugenol – nie wykazała żadnego działania, w tym również wpływu na aktywność peptydolityczną. Wyniki te sugerują, że właściwości peptydolityczne olejków eterycznych pochodzących z goździkowca korzennego są efektem współdziałania wielu zawartych w nim substancji.

Jednak w wielu przypadkach aktywnością charakteryzuje się zarówno pojedynczy składnik, jak i mieszanina substancji czynnych. B u s q u e t i in. (18) wykazali, że zarówno olejek eteryczny z oregano (*Origanum vulgare*), jak również jego główny składnik – biologicznie czynny karwakrol – obniżają koncentrację azotu amonowego analizowanego w systemie *batch culture*. Uzyskane wyniki sugerują, że o aktywności olejku eterycznego uzyskanego z oregano decyduje zawarty w nim karwakrol. Olejki eteryczne można podawać zarówno jako ekstrakt pochodzący bezpośrednio z danej rośliny bądź jako komercyjną mieszaninę.

W 2003 roku M c I n t o s h i in. (86) stwierdzili 9% redukcję tempa deaminacji aminokwasów w wyniku 48-godzinnej fermentacji *in vitro* hydrolizatu kazeiny w systemie *batch culture*. Płyn żwacza do inkubacji pobrano od krowy żywionej dawką

z udziałem 1 grama/dzień komercyjnej mieszaniny olejków eterycznych Crina® ruminants (Akzo Surface Chemistry Ltd., Herefordshire, UK). Dodatek Crina® ruminants zawiera 100-300 g · kg⁻¹ komponentów fenolowych, w tym między innymi: rezorcynol, tymol, gwajakol, eugenol (Rossi, cyt. za 7). Podobnie Nebold i in. (101) stwierdzili obniżenie tempa deaminacji aminokwasów (o 24%) w efekcie zastosowania dodatku 110 mg mieszaniny olejków eterycznych do płynu żwacza owiec, inkubowanego wraz z hydrolizatem kazeiny w systemie *in vitro* przez 24 godziny.

W żadnej z cytowanych prac nie stwierdzono wpływu zastosowanych dodatków na aktywność peptydolityczną i proteolityczną, a istotny z żywieniowego punktu widzenia nadmierny rozkład białka w żwaczu często przewyższa możliwość wykorzystania końcowych produktów degradacji, czyli np. wolnych aminokwasów przez mikroorganizmy. Spośród mikroorganizmów żwacza najbardziej proteolityczne są bakterie, wśród których wyróżnia się bakterie ściśle wyspecjalizowane w produkcji amoniaku (*hyper-ammonia producing bacteria* – HAP). Bakterie te występują w żwaczu w niewielkiej ilości (mniej niż 0,01% populacji bakterii w żwaczu), ale charakteryzują się bardzo dużą aktywnością metaboliczną (124). Według danych literaturowych w 50% odpowiedzialne są za rozkład białka w żwaczu i tym samym za produkcję amoniaku (49). Zidentyfikowano 14 morfologicznie różniących się gatunków, jednak największą aktywność przypisuje się *Clostridium sticklandii*, *Clostridium aminophilum*, *Bacteroides rumenicola* i *Peptostreptococcus anaerobius*. Są to bakterie gram-dodatnie, wrażliwe między innymi na antybiotyki jonoforowe. Po raz pierwszy *hyper-ammonia producing bacteria* wyizolowano w Nowej Zelandii i Australii u owiec, krów i jeleniowatych otrzymujących zielonkę (5). Obecność tych bakterii w płynie żwacza zależy od rodzaju dawki pokarmowej, a także od szerokości geograficznej, w której występują zwierzęta.

Wielu autorów wykazało potencjalnie korzystne, z punktu widzenia hodowcy zwierząt, oddziaływanie mieszaniny olejków eterycznych na aktywność i liczebność *hyper-ammonia producing bacteria*. McIntosh i in. (86) wykazali, że mieszanina olejków eterycznych w postaci preparatu Crina® ruminants hamuje wzrost niektórych bakterii (*Clostridium sticklandii*, *Peptostreptococcus anaerobius*). Ponadto badania wykazały niejednakowe oddziaływanie olejków eterycznych na poszczególne bakterie. Mieszanina olejków eterycznych w postaci preparatu Crina® ruminants mniej efektywnie oddziaływała na *Clostridium aminophilum*. Zdaniem Wallace (148) intensywność działania olejków eterycznych na HAP zależy od koncentracji białka w dawce pokarmowej. W przeprowadzonych przez niego badaniach liczebność HAP została obniżona o 77% u owiec żywionych paszą niskobiałkową z dodatkiem 100 mg mieszaniny olejków eterycznych na dzień, podczas gdy w grupie owiec otrzymujących paszę wysokobiałkową dodatek olejków eterycznych nie miał wpływu na HAP. Wallace (148) sugeruje, że efekt działania olejków eterycznych w żwaczu może być regulowany przez ich wpływ na *Ruminobacter amylophilus*, amylolityczny i proteolityczny organizm wrażliwy na olejki. Autor ten sugeruje, że *Ruminobacter amylophilus* może odgrywać istotną rolę w procesie kolonizowania substancji bogatych w białka i skrobię w żwaczu.

Efektywność oddziaływania fitoczynników na bakterie wyspecjalizowane w produkcji amoniaku zależy również od ich budowy chemicznej, co potwierdzili w swych badaniach F l y t h e i K a g a n (39). Wykorzystano bogatą w rozpuszczalne fenole koniczynę czerwoną (*Trifolium pratense*), a bezpośrednio do doświadczeń użyto wyekstrahowane czyste związki fenolowe m.in. biochanin A, a także ekstrakt z całej rośliny. Działanie przeciw *Clostridium sticklandii*, jednej z bakterii należących do grupy HAP, wykazał ekstrakt z całej rośliny oraz biochanin A, podczas gdy w przypadku innych związków fenolowych nie stwierdzono żadnego oddziaływania. Wyniki badań wskazują, że niektóre zawarte w koniczynie czerwonej związki fenolowe mogą odgrywać rolę w zapobieganiu rozkładowi aminokwasów w żwaczu.

Kolejnym czynnikiem, od którego zależy wpływ dodatku olejków eterycznych do dawki na metabolizm białka w żwaczu, jest czas trwania ekspozycji na czynnik doświadczalny. B e n c h a a r i in. (7) sugerują, że krótkoterminowe badania przeprowadzane w warunkach *in vitro* (24, 48 godz.) nie odzwierciedlają rzeczywistego wpływu zastosowanych dodatków na populację mikroorganizmów biorących udział w przemianach białka w żwaczu, w przeciwieństwie do badań długookresowych. Wyniki badań przeprowadzonych przez B u s q u e t i in. (20) oraz C a r d o z o i in. (22) sugerują, że po 6-7 dniach fermentacji mikroorganizmy mogą się zaadaptować do zmienionych warunków, w tym do obecności mieszaniny olejków eterycznych.

Decydującą rolę w oddziaływaniu na metabolizm białka w żwaczu ma również budowa chemiczna substancji czynnej zastosowanego dodatku. Dane opublikowane przez C a s t i l l e j o s i in. (25), dotyczące wpływu wzrastających dawek różnych związków czynnych występujących w olejkach eterycznych na koncentrację azotu amonowego w warunkach 24-godzinnej fermentacji *in vitro* wskazują, że aldehyd waniliowy był nieefektywny przy koncentracji 5, 50 i 500 mg · l⁻¹ fermentowanego płynu żwacza, 500 mg · l⁻¹ limonenu o budowie monoterpenu obniżało koncentrację azotu amonowego, eugenol o budowie fenolowej obniżył koncentrację azotu amonowego przy zawartości 5, 50 i 500 mg · l⁻¹ fermentowanego płynu żwacza, natomiast gwajakol (związek fenolowy) działał efektywnie przy wszystkich zastosowanych koncentracjach (5, 50, 500 lub 5000 mg · l⁻¹).

Powyższe badania wskazują również na działanie zależne od ilości zastosowanego dodatku. C a s t i l l e j o s i in. (26) w doświadczeniach z wykorzystaniem systemu hodowli ciągłej (*continuous culture*) stwierdzili brak wpływu 1,5 mg mieszaniny olejków eterycznych na koncentrację amoniaku, przepływ azotu bakteryjnego i paszowego, rozkład białka surowego oraz efektywność syntezy mikrobiologicznej. Również w kolejnych badaniach przeprowadzonych przez C a s t i l l e j o s i in. (26) z wykorzystaniem tych samych olejków eterycznych w ilości 5, 50 i 500 mg · l⁻¹ płynu żwacza nie stwierdzono ich wpływu na metabolizm azotu w trakcie 9-dniowej inkubacji. Według M c I n t o s h i in. (86) koncentracja olejków eterycznych zapewniająca efektywne oddziaływanie na procesy przemiany białka w żwaczu wynosi powyżej 35 mg · l⁻¹ płynu żwacza w warunkach *in vitro*. W badaniach B e n c h a a r i in. (10, 11) nie stwierdzono zmian we wskaźnikach przemian azotowych, w tym między innymi w koncentracji azotu amonowego i retencji N, w efekcie dodatku do dawki dla

krów mlecznych mieszaniny olejków eterycznych w ilości 0,75 i 2 g dziennie. Przyjmując objętość żwacza dorosłej krowy jako 100 litrów, a tempo wypływu treści jako $0,1 \text{ l} \cdot \text{h}^{-1}$, wyżej wymienione koncentracje mieszaniny olejków eterycznych w żwaczu *in vitro* wynosiłyby odpowiednio 3,1 i 8,3 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (7). Z przeliczeń powyższych koncentracji na warunki produkcyjne można stwierdzić, że zawartość dodatku w dawce produkcyjnej wynosząca 35 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ płynu żwacza w warunkach *in vitro* jest trudna do osiągnięcia. Wyniki badań uzyskanych przez B u s q u e t i in. (18) wskazują, że zarówno niektóre olejki eteryczne, jak i ich aktywne biologicznie związki, znacząco obniżają koncentrację azotu amonowego, gdy stosowane są w tak wysokich dawkach, jak 3000 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, umiarkowanie aktywne przy koncentracji 300 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ i nie wykazują żadnego działania przy koncentracji 3 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

Opisane efekty dotyczące przemian azotu w żwaczu związane są głównie z korzystnym działaniem bakterii. Pierwotniaki z kolei odgrywają negatywną rolę w wykorzystaniu białka przez przeżuwacze (7), gdyż pochłaniają i trawią znaczną ilość bakterii żwaczowych, obniżając tym samym przepływ białka bakteryjnego netto ze żwacza do dwunastnicy (66). Ponieważ pierwotniaki posiadają zdolność do przeprowadzania procesów proteolizy i deaminacji, stąd defaunacja żwacza (wyeliminowanie pierwotniaków z ekosystemu żwacza) prowadzi do zwiększenia ilości azotu pochodzenia mikrobiologicznego docierającego do dwunastnicy. Według I v a n i in. (63) ilość białka bakteryjnego dochodzącego do dwunastnicy defaunowanych owiec jest o 35% większa niż u niedefaunowanych. Według niektórych badaczy olejki eteryczne posiadają niewielki potencjał defaunujący. Od roku 2000 opublikowano zaledwie kilka informacji na temat wpływu olejków eterycznych jako czynników defaunujących żwacz, w tym pracę A n d o i in. (3). Autorzy stwierdzili, że dodatek 200 g dziennie mięty pieprzowej (*Mentha piperita*) do dawek dla jałówek obniżył całkowitą liczbę pierwotniaków, a także rodzajów: *Entodinium*, *Isotricha* i *Diplodinium*. Natomiast w badaniach przeprowadzonych przez B e n c h a a r i in. (7), M c I n t o s h i in. (86) oraz N e w b o l d i in. (101) nie potwierdzono negatywnego wpływu olejków eterycznych na populację pierwotniaków.

Doświadczenie S a n t o s i in. (127), w którym badano wpływ handlowej mieszaniny olejków eterycznych, między innymi, na wykorzystanie azotu dawki pokarmowej, nie wykazało żadnego wpływu zastosowanego dodatku składającego się z eugenolu, octanu geranylu oraz olejku z kolendry siewnej (*Coriandrum sativum*).

Wpływ olejków eterycznych na produkcję lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu. Lotne kwasy tłuszczowe stanowią podstawowe źródło energii dla przeżuwaczy, a ponadto kwas octowy stanowi podstawę do syntezy kwasów tłuszczowych, podczas gdy inne krótkołańcuchowe kwasy (np. izomasłowy, izowalerianowy i walerianowy) inicjują proces syntezy tych kwasów (159). Koncentracja lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu jest również odzwierciedleniem strawności składników pokarmowych stosowanej dawki. Analiza danych literaturowych wskazuje na niejednoznaczny wpływ dodatku olejków eterycznych na koncentrację lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu. W badaniach przeprowadzonych przez C a s t i l l e j o s i in. (26) dodatek 1,5 mg mieszaniny olejków eterycznych na litr płynu żwacza inkubowanego

w systemie hodowli ciągłej (*continuous culture*), przy stałej wartości pH, spowodował wzrost koncentracji sumy lotnych kwasów tłuszczowych bez wpływu na stopień strawności masy organicznej.

B e n c h a a r i in. (10) wskazują, że wpływ olejków eterycznych na koncentrację lotnych kwasów tłuszczowych może zależeć m.in. od dawki pokarmowej. W przeprowadzonych badaniach dodatek 750 mg mieszaniny olejków eterycznych dziennie do dawki z udziałem kiszonki z lucerny spowodował nieznaczny wzrost sumy lotnych kwasów tłuszczowych, podczas gdy dodany do dawki, której podstawę stanowiła kiszka z kukurydzy, obniżył sumę LKT w żwaczu.

Kolejnym czynnikiem decydującym o wpływie olejków eterycznych na koncentrację i wzajemne proporcje lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu jest ilość zastosowanego dodatku. W cytowanych już badaniach przeprowadzonych przez B u s q u e t i in. (18) analizowano dodatek szerokiej gamy olejków eterycznych i poszczególnych wtórnych metabolitów w nich zawartych na procesy fermentacji *in vitro*. W opisywanych badaniach stosowano rosnącą koncentrację dodatków aż do 3 gramów na litr inkubowanego płynu żwacza. Analizowane dodatki nie miały wpływu na koncentrację LKT, jedynie najwyższy dodatek – $3 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ – spowodował spadek sumy lotnych kwasów tłuszczowych, obniżając równocześnie poziom strawności dawki pokarmowej. Podobne badania przeprowadzili C a s t i l l e j o s i in. (25), analizując wpływ poszczególnych wtórnych metabolitów roślinnych w rosnących dawkach dodawanych do płynu żwacza. Wyniki uzyskane przez C a s t i l l e j o s i in. (25) wskazują również na brak działania, z wyjątkiem najwyższych dawek ($5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ płynu żwacza) eugenolu, gwajakolu, limonenu, tymolu i waniliny, które spowodowały obniżenie koncentracji sumy LKT w żwaczu. Obniżenie poziomu produkcji LKT i w efekcie ich koncentracji w żwaczu jest z żywieniowego punktu widzenia zjawiskiem niepożądanym, gdyż obniża wykorzystanie energii pochodzącej z pasz objętościowych, stanowiących jedno z najtańszych źródeł składników pokarmowych dla przeżuwaczy.

Oczekiwane efekty oddziaływania olejków eterycznych dotyczą ich wpływu na zmianę molarnych proporcji lotnych kwasów tłuszczowych (wzrost stężenia kwasu propionowego, redukcja stężenia kwasu octowego), bez obniżania ich całkowitej koncentracji. Zmiany molarnych proporcji dotyczą głównie ograniczenia koncentracji kwasu octowego i podwyższenia koncentracji kwasu propionowego. W badaniach przeprowadzonych przez B u s q u e t i in. (19) stwierdzono wzrost koncentracji kwasu propionowego kosztem kwasu octowego, jakkolwiek przy najwyższej zastosowanej dawce czynnika doświadczalnego zwiększyła się również koncentracja kwasu masłowego. Kolejne badania przeprowadzone przez B u s q u e t i in. (18), w których zastosowano dodatek 300 i 3000 mg olejku z czosnku zwyczajnego (*Allium sativum*) na litr fermentowanego płynu żwacza oraz salicylanu benzylu w takiej samej ilości wykazały, że zastosowane suplementy korzystnie zmieniają wzajemne proporcje kwasu octowego do propionowego, przy równoczesnym wzroście koncentracji kwasu masłowego.

Dodatek olejków eterycznych nie zawsze jednak oddziałuje korzystnie na poziom lotnych kwasów tłuszczowych. Wyniki badań przeprowadzonych przez C a s t i l l e - j o s i n. (25) wykazały, że 500 mg eugenolu obniżyło koncentrację kwasu propionowego bez zmiany sumy lotnych kwasów tłuszczowych. Wyniki doświadczeń C a r d o z o i in. (23) sugerują, że zmiany w koncentracji lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu w efekcie dodatku olejków eterycznych są zależne od wartości pH płynu żwacza. Przy pH równym 7,0 olejek eteryczny, będący źródłem aldehydu cynamonowego, zwiększył stosunek kwasu octowego do propionowego, podczas gdy przy pH wynoszącym 5,5 – obniżył. Z kolei badania innych autorów (19, 22) wskazują na zdolności adaptacyjne mikroorganizmów do zastosowanych dodatków wraz z upływem czasu.

Wpływ olejków eterycznych na proces metanogenezy w żwaczu. Informacje dotyczące wpływu olejków eterycznych na proces metanogenezy są niejednoznaczne (116). Wczesne badania i doniesienia literaturowe wskazują, że 40 ppm olejków eterycznych nie wpłynęło negatywnie na populację *Methanobrevibacter smithii* (55). W kolejnych badaniach wykazano jednak, że wzrastający udział olejków eterycznych jest bezpośrednią przyczyną redukcji populacji *Methanobrevibacter smithii* PS (ATCC 35061; 102). Potwierdziły to również badania M c I n t o s h i in. (86), w których stwierdzono, że ograniczenie liczebności *Methanobrevibacter smithii* nastąpiło dopiero przy zastosowaniu dodatku 1000 ppm komercyjnej mieszaniny olejków eterycznych. Wzrastająca ilość limonenu (40 i 400 mg · l⁻¹), głównego składnika olejku z jodły (*Abies alba*), spowodowała ograniczenie (średnio o 25%) ogólnej populacji metanogenów (32). Natomiast zastosowanie 4 mg · l⁻¹ limonenu nie miało wpływu na omawianą populację mikroorganizmów. Autorzy stwierdzają, że nie tylko najwyższe, ale także pośrednie ilości zastosowanego czynnika doświadczalnego mogą modulować populację metanogenów w środowisku żwacza. Podobne wnioski zostały wysunięte na podstawie badań przeprowadzonych przez A g a r w a l i in. (1). W doświadczeniu tym analizowano olejek z mięty pieprzowej (*Mentha piperita*; 0,33 μl · l⁻¹), który spowodował dwukrotny wzrost liczebności metanogenów, przy 20% ograniczeniu produkcji metanu. Natomiast dodatek zarówno 1, jak i 2 μl · l⁻¹ olejku z mięty pieprzowej zredukował proces metanogenezy poprzez ograniczenie średnio o 82% liczebności metanogenów. Na podstawie tych badań można wysunąć wniosek, że niższe dawki olejków eterycznych mogą zwiększać liczebność tych grup metanogenów, które są mniej aktywne w procesie powstawania metanu. Podobne zależności wykazały badania wykonane przez O h e n e - A d j e i in. (110), w których negatywne oddziaływanie olejków eterycznych nie tylko zależało od ich źródła i ilości, ale także od rodzaju szczepów metanogenów oraz ich powiązania z pierwotniakami. Stąd wniosek, że wykorzystanie olejków eterycznych w żywieniu zwierząt przeżuwających w aspekcie ograniczania procesu metanogenezy może być niejednoznaczne (110).

Wpływ olejków eterycznych na biouwodorowanie nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu i skład tłuszczu mleka. Działanie antymikrobiologiczne olejków eterycznych i zawartych w nich związków biologicznie aktywnych skierowane jest przeciw bakteriom gram-ujemnym i gram-dodatnim. W proces biouwodoro-

wania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żywcu zaangażowanych jest kilka grup bakterii gram-dodatnich (48), stąd sugestia, iż dodatek olejków eterycznych może potencjalnie modulować proces biouwodorowania. Proces ten zachodzi jako forma ochrony mikroorganizmów przed niekorzystnymi nienasyconymi kwasami tłuszczowymi pobieranymi przez zwierzę wraz z roślinami zielonymi bądź innymi dodatkami paszowymi. Mikroorganizmy, dla których tłuszcz nie stanowi źródła energii, przeprowadzają nienasycone formy kwasów tłuszczowych w mniej szkodliwe – nasycone. Biouwodorowanie zachodzi w kilku etapach, a powstające, między innymi, w wyniku izomeryzacji sprzężone izomery nienasyconych kwasów tłuszczowych wykazują działanie prozdrowotne. Modulowanie procesu biouwodorowania polega na hamowaniu działania przeprowadzających go bakterii, a tym samym zwiększeniu koncentracji powstających nienasyconych kwasów tłuszczowych. Powstałe, jako produkty pośrednie procesu biouwodorowania, nienasycone kwasy tłuszczowe (w tym sprzężone izomery), przechodząc do mleka modyfikują jego skład w kierunku pożądanym przez konsumentów. Opublikowane dotychczas wyniki badań wskazują na niewielkie oddziaływanie olejków eterycznych na proces biouwodorowania. W doświadczeniu przeprowadzonym przez B e n c h a a r i in. (10) suplementacja dawek dla krów mlecznych dodatkiem 750 mg mieszaniny olejków eterycznych nie miała wpływu na zmianę składu kwasów tłuszczowych mleka, natomiast dodatek 2 gramów podobnej mieszaniny dziennie zwiększył koncentrację sprzężonego kwasu linolowego.

Wpływ olejków eterycznych na wskaźniki produkcyjne przeżuwaczy. Nie wiele badań przeprowadzono dotychczas nad określeniem wpływu olejków eterycznych na wskaźniki produkcyjne zwierząt przeżuwających, w tym na produkcję i skład mleka i mięsa. W badaniach B e n c h a a r i in. (10, 11) nie stwierdzono zmian w pobraniu suchej masy paszy, produkcji mleka i jego składzie w efekcie zastosowania dodatku 750 mg lub 2 g mieszaniny olejków eterycznych.

Dane dotyczące wpływu olejków eterycznych na wskaźniki produkcyjne bydła mięsnego są niejednoznaczne. W badaniach B e n c h a a r i in. (8) wykazano, że dodatek komercyjnej mieszaniny olejków eterycznych (Vertan®, IDENA, Sautron, Francja), w której skład wchodziły między innymi tymol, eugenol, wanilina i limonen nie miał wpływu na pobranie paszy i średnie przyrosty masy ciała. Stwierdzono jednak zmianę stosunku przyrostów do pobrania suchej masy dawki pokarmowej, co w efekcie pozwala na zwiększenie efektywności wykorzystania składników pokarmowych dawki. S p a n g h e r o i in. (132) analizowali wpływ zwiększonych ilości mikrokapсуłkowanej mieszaniny olejków eterycznych RumaXol Feed (Soda Feed Ingredients, MC 98000, Monako) na produkcyjność krów mlecznych w pierwszej laktacji. Podane olejki eteryczne nie miały wpływu na pobranie suchej masy paszy i wody oraz zawartość suchej masy w odchodach; podobnie strawność składników pokarmowych nie została zmieniona pod wpływem zastosowanego czynnika doświadczalnego. Nie stwierdzono również wpływu na wydajność mleka i jego składników, jakkolwiek zawartość białka w mleku wzrosła w efekcie zastosowania średnich poziomów dodanych fitoczynników. Niejednoznaczność uzyskiwanych dotychczas wyników potwierdzają badania przeprowadzone przez S a n t o s i in. (127) na 310 sztukach krów mlecznych

we wczesnej laktacji, w których analizowano wpływ mieszaniny handlowej olejków eterycznych Agolin Ruminant (AGOLIN S.A., Bière, Szwajcaria), zawierającej w swym składzie głównie eugenol, octan geranylu i olejek z kolendry siewnej (*Coriandrum sativum*) na wskaźniki produkcyjne. Suplementacja dawek olejkami eterycznymi spowodowała obniżenie pobrania suchej masy paszy, spadek koncentracji tłuszczu w mleku (wyrażone w $\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ oraz w $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), przy niezmienionej produkcji mleka. Dodatek olejków eterycznych spowodował także obniżenie kondycji krów (BCS; *Body Condition Score*). Uzyskane wyniki wskazują na negatywny wpływ olejków eterycznych na syntezę tłuszczu mleka, prawdopodobnie w efekcie obniżonej produkcji kwasu octowego i zmienionej proporcji kwasu octowego do propionowego w żwacu.

Przeprowadzono kilka doświadczeń nad określeniem wpływu olejków eterycznych na wskaźniki produkcyjne młodego bydła opasowego. Meyer i in. (89) nie stwierdzili znaczącego wpływu badanych czynników (mieszanina tymolu, eugenolu, waniliny, gwajakolu i limonenu) na analizowane parametry, w tym na średnie dzienne przyrosty. Natomiast Yang i in. (161) badali wpływ czystego składnika (aldehydu cynamonowego) na wskaźniki wzrostu bydła opasowego i wykorzystanie paszy. Uzyskane rezultaty wskazują, że suplementacja paszy dla bydła opasowego niewielkimi dawkami aldehydu cynamonowego poprawia pobranie paszy w ciągu pierwszych 30 dni badań (łącznie 112 dni), lecz ma minimalny wpływ na dzienne przyrosty masy ciała, wykorzystanie paszy i podstawowe cechy tusz w czasie trwania doświadczenia. Podsumowując badania stwierdzono, że dodatek aldehydu cynamonowego w pierwszym okresie odchowu może poprawić pobranie paszy przez zwierzęta i obniżyć wpływ stresu.

Wpływ olejków eterycznych na patogeny zasiedlające przewód pokarmowy zwierząt przeżuwających. Olejki eteryczne wykazujące silne działanie antymikrobiologiczne są również aktywne wobec patogenów zasiedlających przewód pokarmowy. W niektórych przypadkach olejki eteryczne mogą zwiększać wrażliwość bakterii na patogeny (121). Badania przeprowadzone przez Ouehadi i in. (113) potwierdzają wrażliwość bakterii z rodzaju *Clostridium perfringens* na działanie $500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ związków biologicznie aktywnych zawartych w olejkach eterycznych (wtórnych metabolitów roślinnych), między innymi, karwakrolu, aldehydu cynamonowego, limonenu i tymolu. Bakterie *Escherichia coli* były również wrażliwe na wymienione związki podawane w koncentracji wynoszącej 5 i $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. W przytoczonych badaniach testowano także bakterie z grupy *Bifidobacterium*, które wykazały jednak znacznie mniejszą wrażliwość na zastosowane fitocząynniki. Badania te potwierdzają specyficzność oddziaływania związków biologicznie aktywnych w stosunku do czynników patogennych. Vidal i in. (146) wykazali aktywność olejków eterycznych pochodzących z mięty pieprzowej (*Mentha piperita*) w stosunku do *Giardia duodenalis*, pierwotniaka pasożytującego w jelitach bydła. Benchar i in. (7) sugerują, że olejki eteryczne i ich aktywne czynniki mogą oddziaływać na szereg innych pierwotniaków pasożytniczych, np. *Cryptosporidium*, kokcydiów lub też nicieni. Według tych autorów efekt działania olejków eterycznych w przewodzie pokarmowym będzie zależał od ich aktywności w poszczególnych jego odcinkach.

Wpływ olejków eterycznych na wskaźniki odchowu cieląt. Niewiele badań przeprowadzono dotychczas nad wpływem olejków eterycznych na wskaźniki odchowu młodych przeżuwaczy. S o l t a n (131) określił wpływ mieszaniny, w której skład wchodziły następujące olejki: eukaliptusowy, mentolowy i miętowy na wskaźniki odchowu dwóch grup cieląt – przed i po odsadzeniu od matek. W pierwszej grupie cieląt mieszaninę olejków dodawano do preparatu mlekozastępczego, natomiast w drugiej bezpośrednio do wody. W grupie cieląt przed odsadzeniem, jako rezultat stosowania olejków eterycznych, stwierdzono obniżenie pobrania suchej masy pasz, a w efekcie redukcji pobrania paszy treściwej, poprawę strawności składników pokarmowych, a także obniżenie częstotliwości występowania biegunek. Grupa cieląt po odsadzeniu, otrzymujących zwiększone dawki mieszaniny olejków bezpośrednio do wody, wykazała się lepszymi przyrostami masy ciała, zredukowanym pobraniem paszy przy jednoczesnym zwiększeniu jej wykorzystania. Najkorzystniejsze efekty uzyskano przy średnich dawkach dodanych olejków, sugerując, że wyższe ich koncentracje nie są uzasadnione efektywnością działania i wskaźnikami ekonomicznymi.

Saponiny

Pochodzenie i klasyfikacja. Z chemicznego punktu widzenia saponiny to wysoko cząsteczkowe glikozydy produkowane przez wiele gatunków roślin okrytozalążkowych, ale także przez niższe morskie zwierzęta i niektóre bakterie (122, 162). Saponiny występują w różnych częściach roślin, np. korzeniach, bulwach, korze, liściach, nasionach i owocach. Właściwością odróżniającą je od pozostałych glikozydów jest zdolność obniżania napięcia powierzchniowego (133). Nazwa „saponina” pochodzi od łacińskiego słowa *sapo*, co oznacza mydło. Saponiny są substancjami rozpuszczalnymi w wodzie, mającymi zdolność tworzenia piany i zmydlania się (111). Właściwości te wynikają z ich budowy. Saponiny zbudowane są z hydrofobowej sapogeniny, czyli aglikonu i hydrofilowej części cukrowej – glikonu, który najczęściej stanowią: glukoza, arabinoza, ksyloza i galaktoza. Saponiny klasyfikuje się na podstawie budowy aglikonu na dwie grupy: saponiny steroidowe (sterydowe, C27), pochodne spirostanu lub furostanu; saponiny triterpenowe (trójteterpenowe, C30), mające aglikon o charakterze triterpenu (133). O rozległym i różnorodnym potencjale biologicznym saponin decyduje liczba łańcuchów cukrowych, rodzaj występujących cukrów i stereochemia aglikonu (116). J u n g i in. (73) stwierdzili, że ramnoza wykazuje dużo większą aktywność cytotoksyczną w porównaniu z glukozą.

Biologiczne własności i mechanizmy działania. Rośliny zawierające saponiny już przed wiekami zyskały uznanie w medycynie, ziołolecznictwie, farmakologii i kosmetyce. Stosowano je jako detergenty, między innymi korzeń mydlnicy lekarskiej (*Saponaria officinalis* L.), a dzięki medycynie chińskiej na całym świecie znane są właściwości saponin zawartych w korzeniu żeń-szenia (*Panax ginseng* C. A. Mey). Saponiny są substancjami, które chronią rośliny przed infekcjami bakteryjnymi i grzybiczymi (137).

Saponiny zmieniając strukturę błon komórkowych, tym samym nabłonków, czynią je bardziej przepuszczalnymi dla składników organicznych. Mając zdolności lityczne mogą powodować całkowitą dezintegrację erytrocytów, a ta właściwość pomocna jest w ich detekcji i kwantyfikacji (40). Zdolności hemolityczne są efektem powinowactwa aglikonu do zawartych w membranach steroli, szczególnie cholesterolu (41). Saponiny wykazują właściwości przeciwbakteryjne, pierwotniakobójcze, przeciwgrzybicze, a także przeciwwirusowe. Niektóre mają zdolność wiązania toksyn i metabolitów. Na właściwości saponin duży wpływ ma wielkość zastosowanej dawki. W przypadku przedawkowania wykazują niekorzystny wpływ na organizm poprzez działanie: hemolityczne, nefrotoksyczne, hepatotoksyczne, kardiotoxyczne i antyżywniowe, polegające na inhibowaniu aktywnego transportu składników pokarmowych oraz zmniejszeniu smakowości paszy.

Biologiczny efekt działania saponin zachodzi w przewodzie pokarmowym zwierząt, głównie w żwaczu, ze względu na fakt, że saponiny są słabo wchłaniane (29). Jednak obserwowany w niektórych przypadkach brak wpływu saponin na mikroorganizmy bytujące w żwaczu jest wynikiem ich możliwej degradacji (49). Całkowitą degradację saponin pochodzących z mydłodziurza (kwilaja właściwa, *Quillaja saponaria*) stwierdzili M a k k a r i B e c k e r (82), natomiast M i l e s i in. (90) zaobserwowali hydrolizę saponin pochodzących z buzdyganka ziemnego (*Tribulus terrestris*) w żwaczu. Niejednoznaczne wyniki badań skłaniają do poszukiwań mechanizmu działania i oddziaływania mikroorganizmów żwaczowych na saponiny. Niektóre mikroorganizmy są zdolne do obniżania antymikrobiologicznych własności saponin, np. poprzez ich deglikozylację w żwaczu (140). Natomiast O d e n y o i in. (107), na podstawie badań wykonanych z wykorzystaniem tropikalnej rośliny sesban pospolity (*Sesbania sesban*), stwierdzili, że efekt oddziaływania na mikroorganizmy, głównie pierwotniaki, będzie zależał od sposobu podania czynnika doświadczalnego. W przeprowadzonym doświadczeniu 300 g *Sesbania sesban* wprowadzone bezpośrednio do żwacza pozostało toksyczne dla pierwotniaków, podczas gdy dodane do paszy nie wykazywało tych właściwości. Autorzy sugerują, że czynnikiem detoksykującym była w tym przypadku amylaza znajdująca się w ślinie zwierzęcia.

Saponiny w żywieniu zwierząt przeżuwających. Efekty stosowania roślinnych metabolitów wtórnych, w tym saponin, w żywieniu zwierząt przeżuwających to zagadnienie, które jest coraz intensywniej analizowane, pomimo że rośliny będące nośnikiem saponin były i są powszechnie stosowane w praktycznym żywieniu tej grupy zwierząt. Właściwości saponin były znane już przed wiekami i wykorzystywane w medycynie człowieka, jednak obecnie znaczenie saponin nabiera innego charakteru. Są one uznawane za potencjalny czynnik zmieniający fermentację w żwaczu (60). W żywieniu zwierząt przeżuwających najczęściej stosowanymi źródłami saponin są ekstrakty z jukki (*Yucca schidigera*), rośliny stanowiącej źródło saponin steroidowych i mydłodziurza (kwilaja właściwa, *Quillaja saponaria*), a przede wszystkim z lucerny siewnej (*Medicago sativa*) zawierającej saponiny triterpenowe (36, 59, 149, 152).

Należy mieć świadomość, że stosowana powszechnie w żywieniu przeżuwaczy lucerna siewna była do tej pory rozpatrywana jako nośnik białka, a nie zawartych w niej wtórnych metabolitów roślinnych. Jednak jej dostępność skłania do badań nad możliwością wykorzystania zawartych w niej saponin, jako czynników modulujących procesy fermentacji w żwaczu, a w efekcie produktywność zwierząt.

Wpływ saponin na proces metanogenezy w żwaczu. Oddziaływanie saponin zawartych w roślinach na proces metanogenezy zachodzący w żwaczu zwierząt przeżuwających, jak również na mikroorganizmy bezpośrednio z nim związane, nie jest jednoznaczny. Wiele badań wskazuje na to, iż dodatek saponin pochodzących z jukki (*Yucca schidigera*), mydleńca właściwego (*Sapindus saponaria*), czy rosnącej w tropikalnym klimacie *Sapindus rarak* do dawki pokarmowej dla zwierząt przeżuwających może zmniejszać produkcję metanu (52, 53, 104, 135, 136, 150). Badania przeprowadzone przez H e s s i in. (52) oraz L i l a i in. (80, 81) wskazują zarówno w doświadczeniach *in vitro*, jak i *in vivo* na zależność pomiędzy redukcją populacji pierwotniaków, produkcją metanu a dodatkiem saponin pochodzących z różnych źródeł. B e n c h a r i in. (12) potwierdzają, że wtórne metabolity roślinne (m.in. saponiny) wykazują antymikrobiologiczne oddziaływanie, stanowiąc tym samym potencjalny modulator przemian zachodzących w żwaczu. W a l l a c e i in. (149) sugerują, że saponiny mogą być stosowane jako czynnik eliminujący całkowicie populację pierwotniaków ze środowiska żwacza. Oddziaływanie saponin na pierwotniaki uczestniczące pośrednio w procesie metanogenezy w żwaczu może zależeć od budowy chemicznej saponin, która pozwala na interakcje z cholesterolem obecnym w błonach komórek eukariotycznych, prowadząc do destrukcji komórki (30, 155). Badania, w których analizowano wpływ saponin pochodzących z jukki (*Yucca schidigera*) potwierdzają tę tezę. Na przykład doświadczenia przeprowadzone w warunkach *in vitro* (118), jak i *in vivo* (59) wykazały redukcję liczebności pierwotniaków po zastosowaniu ekstraktu z *Yucca schidigera*. Natomiast badania innych autorów, przeprowadzone w warunkach *in vitro* i *in vivo*, nie wykazały takiej zależności (6, 7, 58). Przyczyną różnic może być ilość zastosowanych saponin (7, 57), stopień degradacji komórek bakteryjnych (100) oraz zaburzenia w produkcji śliny (139). G o e l i in. (42) wskazują dodatkowo, że różnice w składzie dawki mogą stanowić czynnik różnicujący oddziaływanie saponin na proces metanogenezy. Skarmiając dawkę pokarmową z przewagą pasz treściwych proces metanogenezy może być efektywniej hamowany, w porównaniu z dawką, w której przeważa pasza objętościowa. Problem związany z wykorzystaniem ekstraktów saponin lub roślin zawierających saponiny może wiązać się również z przemijającym działaniem antypierwotniaczym, które bezpośrednio zależy od czasu oddziaływania w/w substancji na proces powstawania metanu w żwaczu (100, 140). Pierwotniaki nie są odporne na saponiny (100), jednak substancje te mogą być poddane procesowi detoksyfikacji przez bakterie w płynie żwacza, a czas w którym się to dzieje jest ważnym elementem tego procesu (139, 140). Kolejnym aspektem, na który należy zwrócić uwagę jest fakt, że choć niekiedy populacja mikroorganizmów związanych z procesem metanogenezy zostanie zredukowana, nie jest to równoznaczne z ograniczeniem samej produkcji metanu. Na przykład badania

przeprowadzone przez H e s s a i in. (53) wykazały, że dodatek saponiny z mydlenca właściwego (*Sapindus saponaria*) w ilości $100 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ suchej masy redukuje metanogenezę o około 20%, bez wpływu na populację metanogenów w warunkach *in vitro*. Ograniczenie metanogenezy bez zmniejszenia liczebności metanogenów zaobserwowali również inni badacze, stosując saponiny z nasion herbaty (60, 84). Nie wykazano ponadto negatywnego oddziaływania saponin pochodzących z herbaty na czyste kultury metanogenów dominujących w płynie żwacza (*Methanobrevibacter ruminantium*; 46). Inhibowanie metanogenezy przez saponiny pochodzące z *Sapindus saponaria* było efektywniejsze u zwierząt zdefaunowanych (29%) niż u zwierząt z naturalnie liczną mikroflorą żwacza (14%); (54). Wykazano dodatkowo, że zmniejszenie produkcji metanu nie jest wyłącznie efektem ograniczenia liczebności pierwotniaków. Należy mieć jednak na uwadze, że sama krótko-, jak i długoterminowa defaunacja ogranicza emisję metanu o około 20% (95). Kolejne badania wykazały, że bezpośredni inhibujący wpływ saponin na metanogeny zależy od składu dawki pokarmowej i poziomu zawartości saponin w paszy. Saponiny z owoców *Sapindus rarak* zmniejszają stężenie RNA metanogenów przy najwyższej koncentracji w dawce ($4 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$), natomiast niższe stężenia nie mają wpływu na populację tych mikroorganizmów (155).

Wpływ saponin na procesy fermentacji w żwaczu i liczebność mikroorganizmów. W żwaczu, jak już wcześniej wspomniano, saponiny najefektywniej oddziałują na populację pierwotniaków, co spowodowane jest obecnością steroli w błonach komórkowych tych mikroorganizmów, w przeciwieństwie do błon bakteryjnych (153). W 1 ml płynu żwacza występuje około 10^4 - 10^6 pierwotniaków, należących głównie do typu *Ciliata*. Pierwotniaki pełnią istotną rolę dla organizmu, poprzez wpływ na aktywność bakterii, warunki panujące w żwaczu i dostarczając gospodarzowi niezbędnych metabolitów (75). Pierwotniaki odżywiając się bakteriami, zwiększają wykorzystanie azotu mikrobiologicznego w żwaczu, co redukuje pulę aminokwasów docierających do dwunastnicy (65). Z tych powodów istnieje przypuszczenie, że usunięcie pierwotniaków (tzw. defaunacja) spowoduje lepsze wykorzystanie azotu przez organizm, a także poprawi wydajność przemian metabolicznych zwierzęcia (63, 128, 153). Obecnie trudno uzyskać stan całkowitej defaunacji i nie jest dostępny żaden komercyjny czynnik wywołujący skutecznie i bezpiecznie taki proces (65, 139). Najefektywniejszym poznany czynnikiem (naturalnie występującym w roślinach) pozwalającym na ograniczenie liczebności pierwotniaków w żwaczu są saponiny. Zdaniem M o a t e (93) nawet ograniczenie liczebności fauny w żwaczu może być korzystne, ze względu na możliwy wzrost wydajności mlecznej oraz zmianę stosunku zawartości białka do tłuszczu w mleku krów, stąd sugestia, że całkowita defaunacja może być jednak niekorzystna (64).

Jedne z pierwszych doniesień na temat wpływu saponin na populację mikroorganizmów w żwaczu pochodzą z 1986 roku, kiedy to V a l d e z i in. (144) stwierdzili obniżenie liczebności pierwotniaków (przy jednoczesnym wzroście liczebności bakterii) w efekcie dodania jukki (*Yucca schidigera*) do dawki pokarmowej dla krów mlecznych. Zgodnie z koncepcją podaną w literaturze przez O d e n y o i in. (107) obserwu-

jemy wpływ podanych saponin, pochodzących np. z jukki (*Yucca schidigera*), na populację pierwotniaków w warunkach *in vitro* (80, 149), co w warunkach praktycznych byłoby jednoznaczne z podaniem saponin bezpośrednio do żywca, podczas gdy nie obserwuje się oczekiwanych wyników w doświadczeniach przeprowadzonych w warunkach *in vivo* (36).

Badania przeprowadzone przez L e n g i in. (78) wskazują, że zastosowanie saponin jako środka defaunującego jest efektywne jedynie w trakcie ich podawania. W trwających tydzień doświadczeniach stwierdzono obniżenie liczebności pierwotniaków w żywcu owiec i kóz, podając dodatki zawierające saponiny. Jednak po zaprzestaniu suplementacji liczebność pierwotniaków powróciła do stanu wyjściowego. Podobną tendencję stwierdzili w swoich badaniach I v a n i in. (64) oraz T e f e r e d e g n e i in. (140). Obserwuje się ponadto różnice w oddziaływaniu saponin pochodzących z różnych roślin na populację pierwotniaków u zwierząt żyjących w różnych szerokościach geograficznych. O d e n y o i in. (107) nie stwierdzili oddziaływania saponin zawartych w *Sesbania sesban* u owiec żyjących w Etiopii, które standardowo pobierały tę roślinę w dziennej dawce, natomiast liczebność pierwotniaków zamieszkujących żwacz owiec żyjących w Wielkiej Brytanii obniżyła się w efekcie zastosowania tego samego dodatku (*Sesbania sesban*; 100). Wpływ saponin na populację pierwotniaków jest niejednoznaczny i, poza wymienionymi czynnikami, zależy również od rodzaju pierwotniaków, a reakcja wielu ich grup nie została dotąd poznana (116).

Saponiny, podobnie jak olejki eteryczne, mogą oddziaływać na procesy fermentacji zachodzące w żywcu poprzez zmianę koncentracji sumy lotnych kwasów tłuszczowych, a także ich molarnych proporcji. Kierunek zmian jest jednak uzależniony od rodzaju skarmianej dawki pokarmowej. Stwierdzono wzrost produkcji kwasu propionowego, kosztem kwasu octowego i masłowego, ale głównie w przypadku dodatku saponin do dawki bogatej w węglowodany niestrukturalne (skrobię; 80), w przeciwieństwie do dawek bogatych w strukturalne pasze objętościowe (włókno surowe; 53).

Efekt oddziaływania saponin na koncentrację azotu amonowego i przemiany białka w żywcu jest bezpośrednio związany z interakcjami pierwotniak – bakteria i zmniejszonym wpływem azotu pochodzenia bakteryjnego ze żywca. Ponadto jest on zależny od rodzaju skarmianych saponin. Pomimo że saponiny wykazują potencjał (często nieudowodniony statystycznie) do wpływu na przemiany białka w żywcu (100), jednak inne badania nie potwierdzają tej hipotezy (59).

W dostępnej literaturze nie ma wielu informacji na temat wpływu saponin na populację bakterii w żywcu. Występują różnice w reakcji na czynnik doświadczalny w zależności od powinowactwa bakterii do substratu oraz rodzaju zastosowanego źródła saponin. Bakterie amyloliczne wydają się być bardziej wrażliwe na działanie saponin, podczas gdy celulolityczne nie wykazują tak dużej wrażliwości (151, 152). W a n g i in. (152) wskazują również na obniżanie aktywności celulolitycznych badanych grup bakterii, a potwierdzeniem jej zależności są wyniki badań W i n a i in. (154).

Badania z wykorzystaniem czystych kultur bakteryjnych wskazują, że dodatek ekstraktu z jukki (*Yucca schidigera*) zahamował wzrost powszechnych w żwaczu *Butyrivibrio fibrisolvens* i *Streptococcus bovis*, pozytywnie stymulował liczebność *Prevotella ruminicola*, natomiast nie miał wpływu na *Selenomonas ruminantium* Z108 (149). W badaniach przeprowadzonych przez G o e l i in. (43) nad wpływem wielu źródeł saponin na bakterie żwaczowe wykazano wzrost populacji *Fibrobacter succinogenes* w efekcie działania kozieradki pospolitej (*Trigonella foenum-graecum*) i *Sesbana sesban*, natomiast oset (*Carduus*) i kozieradka pospolita (*Trigonella foenum-graecum*) spowodowały wzrost populacji *Ruminococcus flavefaciens*, a saponiny świerzbownicy (*Knautia*) zwiększyły liczebność populacji bakterii z rodzaju *Ruminococcus*.

Autorzy ci badali także wpływ saponin na populację grzybów żwaczowych. Zarówno dodatek kozieradki pospolitej (*Trigonella foenum-graecum*), jak i *Sesbana sesban* obniżyły sumę grzybów beztlenowych bytujących w żwaczu. Efekt oddziaływania zależy nie tylko od źródła saponin, ale również od ich koncentracji. W badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vitro* z dodatkiem saponin pochodzących z *Sapindus rarak* stwierdzono obniżenie liczebności *Chytridiomycetes* przy wyższej dawce ($4 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$), w przeciwieństwie do dawki z dodatkiem 1 i $2 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$. W badaniach w warunkach *in vivo* stwierdzono z kolei wzrost populacji grzybów żwaczowych: *Enterolobium cyclocarpium* (99) i *Chytridiomycetes* (154).

Taniny

Pochodzenie i klasyfikacja. Taniny to rozpuszczalne w wodzie związki polifenolowe o wysokiej masie cząsteczkowej mające zdolności do strącania białek. Są rozpowszechnione w wielu, istotnych z punktu widzenia żywienia zwierząt, roślinach. Taniny dzielą się na dwie grupy:

- taniny hydrolizujące, będące pochodnymi kwasu galusowego;
- niehydrolizujące (skondensowane).

Taniny hydrolizujące to galotaniny, do których należy kwas galusowy ($\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$) i elangotaniny. Taniny niehydrolizujące są pochodnymi flawonoidów, nie zawierają części cukrowej.

Biologiczne własności i mechanizmy działania. Taniny wykazują zdolności antymikrobiologiczne, jednak mechanizm działania zależy z jednej strony od ich budowy chemicznej, a z drugiej od grupy mikroorganizmów, na które oddziałuje. Działanie ograniczające liczebność i aktywność bakterii wynika ze zdolności tanin do formowania kompleksów z elementami ścian i błon komórkowych, powodując zmiany morfologiczne w ich budowie oraz hamowanie wydzielania enzymów komórkowych (116, 130). Odmienne mechanizmy stwierdzono w oddziaływaniu w stosunku do grzybów żwaczowych. Do możliwych sposobów działania należy hamowanie celuloazy oraz ograniczanie kolonizowania fragmentów celulozy przez zoospory (np. u *Neocallimastix frontalis*; 97).

Taniny w żywieniu zwierząt przeżuwających. Taniny wykazują działanie antyżywniowe, które związane jest z ich zdolnością do tworzenia kompleksów z białkami i cukrami. Skompleksowanie powoduje obniżenie strawności zawartych w paszy białek oraz węglowodanów, a w konsekwencji obniżenie wykorzystania składników pokarmowych dawki pokarmowej, czyli straty ekonomiczne.

Działanie antyżywniowe zależy od ilości podanych tanin, a graniczna wartość decydująca o ich szkodliwości zależy od wielu czynników, w tym głównie od budowy chemicznej tanin. Koncentracja tanin w paszy przekraczająca poziom $60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ nadaje jej gorzki smak, pogarszając smakowość i zmniejszając spożycie paszy (76). Paul i in. (117) wskazują, że koncentracja do $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ płynu żwacza kwasu taninowego nie ma wpływu na wzrost i rozwój grzybów żwaczowych. Wysoka koncentracja tanin w dawce pokarmowej, w większości przypadków, negatywnie wpływa na populację drobnoustrojów żyjących w żwaczu, a co się z tym wiąże – obniża również zdolności trawienne przeżuwaczy. Jednak mikroorganizmy żwaczowe wykształciły szereg mechanizmów obronnych, a niektóre z nich potrafiły nawet przystosować się do obecności tanin w środowisku ich występowania i w ten sposób zapobiegają antyżywniowemu wpływowi tych substancji. Do mechanizmów, dzięki którym mikroorganizmy mogą przezwyciężać hamujący wpływ tanin zalicza się: biodegradację tanin (79), dysocjację kompleksu taniny–substrat (białka, węglowodany), odporność bakterii na taniny oraz wytwarzanie enzymu biorącego udział w rozkładzie tanin – tanazy, czyli acylohydrolazy tanin (EC. 3.1.1.20), syntetyzowanej przez wiele organizmów należących do grzybów nitkowatych, drożdży, jak i bakterii (13). Najważniejszym i najlepiej poznany źródłem tego enzymu są grzyby strzępkowate. Po raz pierwszy w 1913 r. Kundson opisał rolę tanazy obecnej u *Aspergillus niger*. Od tego czasu aktywność enzymu wykryto również u przedstawicieli rodzajów: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium* i *Ascochyta* (119). Ponadto Odenyo i Osuji (106) opisali 3 szczepy bakterii *Selenomonas* sp. odpornej na działanie tanin. Jeden ze szczepów EAT2 hydrolizował kwas taninowy do kwasu galusowego i następnie do pirogalolu, podczas gdy 2 pozostałe (ES3 i EG19) były zdolne do rozkładu kwasu taninowego tylko do kwasu galusowego. Z badań wynika, że szczep EAT2 wykazuje aktywność dekarboksylazy galusowej, jednak mechanizm ten nie jest do końca poznany.

Wpływ tanin na proces metanogenezy w żwaczu. Produkcja i emisja metanu przez zwierzęta przeżuwające zależy od wielu czynników, między innymi, od ilości i rodzaju pobranego pokarmu, typu węglowodanów w dawce pokarmowej, a także zmian zachodzących w mikroflorze żwacza (71). Puchala i in. (120) wykazali, że zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*, jednym z czynników mogących ograniczać rozmiar metanogenezy w środowisku żwacza jest dodatek tanin do dawek pokarmowych dla zwierząt przeżuwających. Doświadczenia przeprowadzone przez Min i in. (91, 92) na młodych wołach wykazują, że w warunkach *in vitro* taniny pochodzące z quebracho, w ilości 1 i 2% na kg suchej masy dawki, ograniczają produkcję gazów w żwaczu, w tym także metanu. Zawarte w paszach objętościowych taniny mogą również w istotny sposób wpływać na rozmiar metanogenezy w żwaczu w warunkach *in vitro*. Analiza pasz objętościowych z roślin motylkowatych – *Cal-*

liandra calothyrsus, esparcety siewnej (*Onobrychis viciifolia*) oraz topoli deltoidalnej (*Populus deltoides*) – wykazała wpływ tanin pochodzących z tych pasz na obniżenie poziomu produkcji metanu (87, 115). Podobne tendencje zaobserwowano u krów żywionych dawką z udziałem siekiernicy włoskiej (*Hedysarum coronarium*), u których stwierdzono niższą produkcję metanu w przeliczeniu zarówno na kg suchej masy pobranej dawki pokarmowej, jak i na kg wyprodukowanego mleka (157). Zbliżone tendencje zaobserwowano u owiec żywionych kiszoną z komonicą zwyczajną (*Lotus corniculatus*) (158), natomiast u jagniąt żywionych paszą objętościową z *Lotus pedunculatus* stwierdzono 16% redukcję emisji metanu (147). Porównywalne zależności wykazano u owiec żywionych dawką pokarmową, której podstawę stanowiła pasza objętościowa z jednej z odmian akacji australijskiej (*Acacia mearnsii*) (24). A n i m u t i in. (4) oraz M c M a h o n i in. (87) stwierdzili, że rozmiar ograniczenia produkcji i emisji metanu od zwierząt przeżuwających skorelowany jest liniowo z ilością tanin w dawce. Według niektórych badaczy obniżenie poziomu produkcji metanu przez zwierzęta przeżuwające może wiązać się ze zdolnością do zahamowania aktywności enzymów trawiennych zwierzęcia oraz modyfikacją aktywności mikroorganizmów żwacza w wyniku zastosowania tanin ($2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ suchej masy; 135). Rozmiar metanogenezy może być redukowany w wyniku oddziaływania tanin w sposób pośredni – poprzez obniżenie produkcji H_2 , jak i w sposób bezpośredni – poprzez hamowanie populacji metanogenów (14, 138). W badaniach przeprowadzonych z udziałem powszechnie występujących w środowisku żwacza metanogenów (*Methanobrevibacter ruminantium*, szczep YLM-1 i DSM1093) wykazano dezaktywację tych mikroorganizmów powiązaną z redukcją produkowanego metanu (138). T a v e n d a l e i in. (138) wykazali, że redukujące oddziaływanie tanin na populację metanogenów może zależeć od struktury chemicznej tanin. W swoich badaniach wykorzystali skondensowane taniny. W innych doświadczeniach zwrócono uwagę na pasze zawierające w swym składzie zarówno taniny hydrolizujące, jak i skondensowane, które wykazują większy potencjał do ograniczania metanogenezy niż pasze zawierające jedynie taniny hydrolizujące (14).

Podobnie jak w przypadku saponin, nie ma jednoznaczności w oddziaływaniu tanin na populację innych niż metanogeny mikroorganizmów uczestniczących w procesie metanogenezy. S a l a w u i in. (125) stwierdzili, że taniny redukują aktywność celulazy i ksylazy, natomiast nie redukują aktywności bakterii celulolitycznych (4). Poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za antymikrobiologiczne działanie tanin może spowodować lepsze gospodarowanie paszami, które posiadają w swym składzie taniny, a tym samym ułatwi ich stosowanie w praktyce (130). K a m r a i in. (74) dodatkowo podkreślają wysoką specyfikę substancji pochodzenia roślinnego (w tym tanin), które w dużym stopniu mogą oddziaływać na jakościowy i ilościowy skład ekosystemu żwacza, a tym samym wybiórczo hamować lub stymulować wzrost niektórych mikroorganizmów tam bytujących.

Wpływ tanin na procesy fermentacji w żwaczu, w tym na liczebność mikroorganizmów. Taniny hamują wzrost i aktywność enzymatyczną wielu bakterii żwaczowych. J o n e s i in. (72) wykazali, że proantocyjanidyny z esparcety siewnej

(*Onobrychis viciifolia*) wiążą się z polimerami płaszcza komórkowego u następujących grup bakterii: *Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola* i *Ruminobacter amylophilus*. Jednak nieprawidłowy wzrost oraz podział zaobserwowali wyłącznie u *Streptococcus bovis* i *Butyrivibrio fibrisolvens*. Natomiast szczep *Prevotella ruminicola* był odporny na skondensowane działanie taniny w ilości niższej niż $600 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Taniny mogą ponadto ograniczać liczebność pierwotniaków (88), jakkolwiek dane literaturowe na ten temat są niejednoznaczne (116). W przypadku oddziaływania tanin na populację pierwotniaków obiektem wielu badań z tego zakresu są taniny pochodzące z quebracho. Z jednej strony wykazano, że omawiane taniny redukują ogólną populację pierwotniaków w żwaczu, w tym głównie *Holotricha* i w mniejszym stopniu *Entodiniomorpha*, powodując zwiększenie syntezy białka mikrobiologicznego (83). Natomiast inne badania nie wykazały zmniejszenia liczebności orzęsków żwacza u krów żywionych dawką, w której znajdowało się 105 g tanin quebracho (7). Należy jednak podkreślić, że w większości danych literaturowych badacze wykazują negatywne oddziaływanie tanin na populację orzęsków żwacza (4, 114, 125). Dostępne są również doniesienia naukowe, w których wykazano wzrost populacji orzęsków w żwaczu owiec żywionych sianem z lucerny (*Medicago sativa*) z wzrastającym udziałem akacji (*Acacia cyanophylla*), która zawiera w swym składzie 4,5% skondensowanych tanin. Powyższe dane, podobnie jak w przypadku saponin, wskazują, że należy dogłębnie przeanalizować omawiane zagadnienia, aby móc zidentyfikować potencjalne czynniki mające wpływ na brak jednoznaczności uzyskanych wyników. W tym celu prowadzone są badania, w których wykonuje się analizę wielu pasz mogących stanowić dobre źródło tanin w żywieniu zwierząt przeżuwających. Przykładem takich analiz są badania wykonane przez M o n f o r t e - B r i c e n o i in. (94). Badacze przeanalizowali 15 roślin – nośników tanin – w aspekcie działania antypierwotniaczego. Jednak tylko trzy rośliny okazały się efektywne. Ponadto R u i z i in. (123) w swoich badaniach stwierdzili obniżenie liczebności pierwotniaków w wyniku zastosowania dawek pokarmowych wzbogaconych w taniny pochodzące z lucerny (*Medicago sativa*) jedynie w przypadku inokulum pochodzącego od owiec. Natomiast w inokulum pochodzącym od kóz nie zanotowano różnic. Autorzy tłumaczą to większą wrażliwością owiec na taniny niż kóz.

Podsumowanie

Reasumując przedstawione wyniki badań, należy zwrócić uwagę na kilka czynników, których analiza wydaje się być konieczna, aby opisane wtórne metabolity roślinne mogły znaleźć zastosowanie w praktycznym żywieniu zwierząt na dużą skalę i aby za ich pośrednictwem modulować procesy fermentacji zachodzące w żwaczu. Do tych czynników należy zaliczyć:

- zdolności adaptacyjne mikroorganizmów i patogenów występujących w przewodzie pokarmowym zwierząt przeżuwających w stosunku do zastosowanych

fitoczynników (konieczne wydaje się wydłużenie czasu przeprowadzanych doświadczeń);

- mechanizmy oddziaływania fitoczynników na poszczególne grupy organizmów bytujących w przewodzie pokarmowym;
- rodzaj dawki pokarmowej, ze szczególnym uwzględnieniem poziomu białka i energii, w tym rodzaju węglowodanów (strukturalne, niestrukturalne);
- przeprowadzanie doświadczeń w warunkach produkcyjnych, co pozwoli na uwzględnienie wpływu gatunku, rasy i wieku zwierzęcia oraz typu produkcji i stanu fizjologicznego.

Literatura

1. Agarwal N., Shekhar C., Kumar R., Chaudhary L. C., Kamra D. N.: Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. Anim. Feed Sci. Technol., 2009, **148**: 321-327.
2. Amann R. I., Ludwig W., Schleifer K. H.: Phylogenic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol. Rev., 1995, **59**: 143-149.
3. Ando S., Nishida T., Ishida M., Hosoda K., Bayaru E.: Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. Livest. Prod. Sci., 2003, **82**: 245-248.
4. Animut G., Goetsch A. L., Puchala R., Patra A. K., Sahlu T., Varel V. H., Wells J.: Methane emission by goats consuming different sources of condensed tannins. Anim. Feed Sci. Technol., 2008, **144**: 228-241.
5. Attwood G. T., Reilly K.: Identification of proteolytic rumen bacteria isolated from New Zealand cattle. J. Appl. Bacteriol., 1995, **79**: 22-29.
6. Baah J., Ivan M., Hristov A. N., Koenig K. M., Rode L. M., McAllister T. A.: Effects of potential dietary antiprotozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers. Anim. Feed Sci. Technol., 2007, **137**: 126-137.
7. Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A. V., Fraser G. R., Colombatto D., McAllister T. A., Beauchemin K. A.: A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Anim. Feed Sci. Technol., 2008, **145**: 209-228.
8. Benchaar C., Duynisveld J. L., Charmley E.: Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. Can. J. Anim. Sci., 2006, **86**: 91-96.
9. Benchaar C., Petit H. V., Berthiaume R., Ouellet D. R., Chiquette J.: Effects of essential oil supplements on ruminal fermentation, rumen microbial populations and *in sacco* degradation of dry matter and nitrogen in the rumen of lactating dairy cows. Can. J. Anim. Sci., 2003, **83**: 637-638.
10. Benchaar C., Petit H. V., Berthiaume R., Ouellet D. R., Chiquette J., Chouinard P. Y.: Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. J. Dairy Sci., 2007, **90**: 886-897.
11. Benchaar C., Petit H. V., Berthiaume R., Whyte T. D., Chouinard P. Y.: Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production and milk composition in dairy cows. J. Dairy Sci., 2006, **89**: 4352-4364.
12. Benchaar C., Wang Y., Chaves A. V., McAllister T. A., Beauchemin K. A.: Use of plant extracts in ruminant nutrition. Pages 465-489 in Advanced in Medicinal Plant Research. S. N. Acharya and J. E. Thomas, ed. Research Signpost, Kerala, India, 2007.

13. Bhat T.K., Singh B., Sharma O. P.: Microbial degradation of tannins a current perspective. *Biodegradation*, 1998, **9**: 373-457.
14. Bhatta R., Uyeno Y., Tajima K., Takenaka A., Yabumoto Y., Nonaka I., Enishi O., Kurihara M.: Difference in the nature of tannins on *in vitro* ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *J. Dairy Sci.*, 2009, **92**: 5512-5522.
15. Borchers R.: Proteolytic activity of rumen fluid *in vitro*. *J. Anim. Sci.*, 1965, **24**: 1033-1038.
16. Briskin D. P.: Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant Physiol.*, 2000, **124**: 507-514.
17. Broderick G.A., Balthrop J.E.: Chemical inhibition of amino acid deamination by ruminal microbes *in vitro*. *J. Anim. Sci.*, 1979, **49**: 1101-1111.
18. Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C.: Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89**: 761-771.
19. Busquet M., Calsamiglia S., Ferret S., Cardozo P.W., Kamel C.: Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *J. Dairy Sci.*, 2005, **88**: 2508-2516.
20. Busquet M., Calsamiglia S., Ferret S., Kamel C.: Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005, **123**: 597-613.
21. Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A.: Invited Review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.*, 2007, **90**: 2580-2595.
22. Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C.: Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**: 3230-3236.
23. Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C.: Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 2005, **83**: 2572-2597.
24. Carulla J.E., Kreuzer M., Machmüller A., Hess H.D.: Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 2005, **56**: 961-970.
25. Castillejos L., Calsamiglia S., Ferret A.: Effect of essential oils active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89**: 2649-2658.
26. Castillejos L., Calsamiglia S., Ferret A., Losa R.: Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005, **119**: 29-41.
27. Castillejos L., Calsamiglia S., Ferret A., Losa R.: Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oils compounds on rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2007, **132**: 186-201.
28. Chao S.C., Young D.G.: Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *J. Essent. Oil Res.*, 2000, **12**: 639-649.
29. Cheeke P.R.: Biological effects of feed and forage saponins and their impact on animal production. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1996, **405**: 377-385.
30. Cheeke P.R.: Actual and potential application of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.*, 1999, 1-10.
31. Chizzola R., Hochsteiner W., Hajek S.: GC analysis of essential oils in the rumen fluid after incubation of *Thuja orientalis* twigs in the Rusitec system. *Res. Vet. Sci.*, 2004, **76**: 77-82.
32. Cieślak A., Zmora P., Nowakowska A., Szumacher-Strabel M.: Limonene affect rumen methanogenesis. *Acta Bioch. Pol.*, 2009, **56 (Suppl. 2)**: 59-60.

33. Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F.: *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian thymus* essential oil. Lett. Appl. Microbiol., 1999, **29**: 130-135.
34. Cox S.D., Mann C.M., Markam J.L.: Interaction between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Appl. Microbiol., 2001, **91**: 492-497.
35. Dorman H.J.D., Deans S.G.: Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol., 2000, **88**: 308-316.
36. Eryavuz A., Dehority B.A.: Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. Anim. Feed Sci. Technol., 2004, **117**: 215-222.
37. European Commission: Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on Additives for Use in Animal Nutrition. Off. J. Eur., 2003, Union L: L268/29-L268/43.
38. Evans J.D., Martin S.A.: Effects of thymol on ruminal microorganisms. Curr. Microbiol., 2000, **41**: 336-340.
39. Flythe M., Kagan I.: Antimicrobial effect of red clover (*Trifolium pratense*) phenolic extract on the ruminal hyper ammonia-producing bacterium *Clostridium sticklandii*. Curr. Microbiol., 2010, Doi: 10.1007/s00284-010-9586-5.
40. Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S., Becker K.: The biological action of saponins in animal systems: a review. Brit. J. Nutr., 2002, **88**: 587-605.
41. Glaupert A.M., Dingle J.T., Lucy J.A.: Action of saponin on biological membranes. Nature, 1962, **196**: 953-955.
42. Goel G., Makkar H.P.S., Becker K.: Changes in microbial community, structure, methanogenesis and rumen fermentation in response to saponin-rich fractions from different plant materials. J. Appl. Microbiol., 2008, **105**: 770-777.
43. Goel G., Makkar H.P.S., Becker K.: Effect of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrient from roughage and concentrate based feeds to methane. Anim. Feed Sci. Technol., 2008, **147**: 72-89.
44. Greathhead H.: Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proc. Nutr. Soc., 2003, **62**: 279-290.
45. Griffin S.G., Wyllie S.G., Markham J.L., Leach D.N.: The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. Flav. Fragr. J., 1999, **14**: 322-332.
46. Guo Y.Q., Liu J.X., Lu Y., Zhu W.Y., Denman S.E., McSweeney C.S.: Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of mcrA gene, in cultures of rumen microorganisms. Lett. Appl. Microbiol., 2008, **47**: 421-426.
47. Gustafson R.H., Bowen R.E.: Antibiotic use in animal agriculture. J. Appl. Microbiol., 1997, **83**: 531-541.
48. Harfoot C.G., Hazlewood G.P.: Lipid metabolism in the rumen. Rumen Microbial Ecosystem. 2nd ed. P. N. Hobson and C. S. Stewart, ed. Blackie Academic & Professional, New York, 1988, 285-322.
49. Hart K.J., Yáñez-Ruiz D.R., Duval S.M., McEvan N.R., Newbold C.J.: Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol., 2008, **147**: 8-35.
50. Heath I.B., Bauchop T., Skipp R.A.: Assignment of the rumen anaerobe *Neocallimastix frontalis* to the *Spizellomycetales* (*Chytridiomycetes*) on the basis on its polyflagellate zoospore ultrastructure. Can. J. Bot., 1983, **61**: 295-307.
51. Helander I.M., Alakomi H., Latva-Kala K., Mattila-Sandholm T., Pol I., Smid E.J., Gorris L.G.M., Wright A.: Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. J. Agric. Food Chem., 1998, **46**: 3590-3595.
52. Hess H.D., Beuret R.A., Lotscher M., Hindrichsen K.I., Machmüller A., Carulla J.E., Lascano C.E., Kreuzer I.: Ruminant fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diet offered with *Sapindus saponaria* fruits and *Cratylia argentea* foliage. Anim. Sci., 2004, **79**: 177-189.

53. Hess H. D., Kreuzer M., Diaz T. E., Lascano C. E., Carulla J. E., Soliva C. R., Machmüller A.: Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2003, **109**: 79-94.
54. Hess H. D., Monsalve L. M., Lascano C. E., Carulla J. E., Diaz T. E., Kreuzer M.: Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on *in vitro* ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Aust. J. Agric. Res.*, 2003a, **54**: 703-713.
55. Hobson P. N.: Rumen bacteria. J. R. Norris, D. W. Ribbons, (Eds.), *Methods in Microbiology*, Academic Press Ltd., London, 1969, **(3B)**: 133-149.
56. Hoffman C., Evans C. A.: The use of spices as preservatives. *J. Ind. Eng. Chem.*, 1911, **3**: 835-838.
57. Hristov A. N., Grandeen K. L., Ropp J., Greer D.: Effect of *Yucca schidigera*-based surfactant on ammonia utilization *in vitro*, and *in situ* degradability of corn grain. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2004, **115**: 341-355.
58. Hristov A. N., Ivan M., Neill L., McAllister T. A.: A survey of potential bioactive agents for reducing protozoal activity *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2003, **105**: 163-184.
59. Hristov N. A., McAllister T. A., Van Herk F. H., Cheng K. J., Newbold C. J., Cheeke P. R.: Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. *J. Anim. Sci.*, 1999, **77**: 554-2563.
60. Hu W. L., Liu J. X., Ye J. A., Wu Y. M., Guo Y. Q.: Effect of tea saponin on rumen fermentation *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005, **120**: 333-339.
61. Hungate R. E.: Hydrogen as an intermediate in the rumen fermentation. *Arch. Microbiol.*, 1967, **40**: 952-958.
62. Islam M. R., Begum J.: Short review of global methane situation and of facilities to reduce in ruminants in third world countries. *AJAS*, 1997, **10**: 157-163.
63. Ivan M., Dayrell M. D., Mahadevan S., Hidirolou M.: Effect of bentonite on wool growth and nitrogen metabolism in fauna-free and faunated sheep. *J. Anim. Sci.*, 1992, **70**: 3194-3202.
64. Ivan M., Koenig K. M., Teferedenge B., Newbold C. J., Entz T., Rode L. M., Ibrahim M.: Effects of the dietary *Enterolobium cyclocarpum* foliage on the population dynamics of rumen ciliate protozoa in sheep. *Small Rum. Res.*, 2004, **52**: 81-91.
65. Ivan M., Mir P. S., Mir Z., Koenig K. M., Newbold C. J., Entz T., Rode L. M., Ibrahim M.: Use of dietary saponins or vegetable oil to control protozoal populations in the rumen of sheep. 6th International ICABR Conference Ravello, Italy, 2001, 1-12.
66. Ivan M., Neill L., Forster R., Alimon R., Rode L. M., Entz T.: Effects of *Isotricha*, *Dasytricha*, *Entodinium*, and total fauna on ruminal fermentation and duodenal flow in wethers fed different diets. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**: 776-787.
67. Janssen P. H., Kirs M.: Structure of the archeal community of the rumen. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, **74**: 3619-3625.
68. Jensen B. B.: Methanogenesis in monogastric animals. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1996, **42**: 99-112. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
69. Johnson D. E., Hill T. M., Ward G. M., Johnson K. A., Branine M. E., Carmean B. R., Lodman D. W.: Ruminants and other animals. M. A. K. Khalil ed. *Atmospheric methane: sources, sink, and role in global change*. Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg, 1993, 199-229.
70. Johnson D. E., Ward G. M.: Estimates of animal methane emissions. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1996, **42**: 133-141. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
71. Johnson K. A., Johnson D. E.: Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.*, 1995, **73**: 2483-2492.
72. Jones G. A., McAllister T. A., Muir A. D., Cheng K. J.: Effects of saifonin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, **60**: 1374-1378.

73. Jung H. J., Lee C. O., Lee K. T., Choi J., Park H. J.: Structure-activity relationship of oleanane disaccharides isolated from *Akebia quinata* versus cytotoxicity against cancer cells and NO inhibition. *Biol. Pharm. Bull.*, 2004, **27**: 744-747.
74. Kamra D. N., Agarwal N., Chaudhary L. C.: Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *Inter. Cong. Ser.*, 2006, **1293**: 156-163.
75. Kišidayová S., Váradyová Z., Michałowski T., Newbold C. J.: Regeneration of cryoresistance of *in vitro* rumen ciliate cultures. *Cryobiol.*, 2005, **51**: 76-84.
76. Kowalik B., Pająk J. J., Skomiał J.: Wpływ tanin na procesy zachodzące w żwaczku. *Post. Nauk Rol.*, 2009, **1**: 91-102.
77. Lapierre H., Berthiaume R., Ragio R., Thivierge M. C., Doepel M. C., Pacheco L., Debreuil P., Lobley G. E.: The route of absorbed nitrogen into milk protein. *Anim. Sci.*, 2005, **80**: 11-22.
78. Leng R. A., Bird S. H., Klieve A., Choo B. S., Ball F. M., Asefa G., Brumby P., Mudgal V. D., Chaudhry U. B., Haryono S. U., Hendrato N.: The potential for tree forage supplements to manipulate rumen protozoa to enhance protein to energy ratios in ruminants fed on poor quality forages. In: *Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock*. Rome, 1992.
79. Li M., Yao K., He Q., Jia D.: Biodegradation of gallotannins and ellagitannins. *J. Basic Microbiol.*, 2006, **46**: 68-84.
80. Lila Z. A., Mohammed N., Kanda S., Kamada T., Itabashi H.: Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**: 3330-3336.
81. Lila Z. A., Mohammed N., Kanda S., Kurihara M., Itabashi H.: Sarsaponin effects on ruminal fermentation and microbes, methane production, digestibility and blood metabolites in steers. *Asian-Aust. J. Anim.*, 2005, **12**: 1746.
82. Makkar H. P. S., Becker K.: Degradation of *Quillaja saponins* by mixed culture of rumen microbes. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1997, **25**: 243-245.
83. Makkar H. P. S., Blummel M., Becker K.: *In vitro* effects and interaction between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *J. Sci. Food Agric.*, 1995, **69**: 481-493.
84. Mao H. L., Wang J. K., Zhou Y. Y., Liu J. X.: Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livest. Sci.*, 2010, **129**: 56-62.
85. Marriott B. M.: Functional foods: an ecologic perspective. *A. J. Clin. Nutr.*, 2000, **71**: 1728-1734.
86. McIntosh F. M., Williams P., Losa R., Wallace R. J., Beever D. A., Newbold C. J.: Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, **69**: 5011-5014.
87. McMahon L. R., Majak W., McAllister T. A., Hall J. W., Jones G. A., Popp J. D., Cheng K. J.: Effect of sainfoin on *in vitro* digestion of fresh alfalfa and bloat in steers. *Can. J. Anim. Sci.*, 1999, **79**: 203-212.
88. McSweeney C. S., Palmer B., McNeill D. M., Krause D. O.: Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2001, **91**: 83-93.
89. Meyer N. F., Erickson G. E., Klopfenstein T. J., Greenquist M. A., Luebbe M. K., Williams P., Engstrom M. A.: Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. *J. Anim. Sci.*, 2009, **87**: 2346-2354.
90. Miles C. O., Wilkins A. L., Munday S. C., Holland P. T., Smith B. L., Lancaster M. J., Embling P. P.: Identification of the calcium salt of epismilagenin beta-D-glucuronide in the bile crystals of sheep affected by *Panicum-dichotomiflorum* and *Panicum-schinzii* toxicoses. *J. Agric. Food Chem.*, 1992, **40**: 1606-1609.

91. Min B. R., Pinchak W. E., Andersen R. C., Fulford J. D., Puchala R.: Effects of condensed tannins supplementation level on weight gain and *in vitro* and *in vivo* bloat precursors in steers grazing winter wheat. J. Anim. Sci., 2006, **84**: 2546-2554.
92. Min B. R., Pinchak W. E., Fulford J. D., Puchala R.: Wheat pasture bloat dynamic, *in vitro* ruminal gas production, and potential bloat mitigation with condensed tannins. J. Anim. Sci., 2005, **83**: 1322-1331.
93. Moate P. J.: Defaunation increases milk yield of dairy cows. University of New England Printery, Armidale, NSW, Australia, 1989.
94. Monforte-Briceno G. E., Sandoval-Castro C. A., Ramirez-Aviles L., Capetillo-Leal C. M.: Defaunating capacity of tropical fodder trees: effects of polyethylene glycol and its relationship to *in vitro* gas production. Anim. Feed. Sci. Technol., 2005, **123-124**: 313-327.
95. Morgavi D. P., Jouany J. P., Martin C.: Changes in methane emission and rumen fermentation parameters induced by refaunation in sheep. Aust. J. Exp. Agric., 2008, **48**: 69-72.
96. Moss A. R., Deaville E. R., Givens D. I.: Effect of supplementing grass silage with sugar beet feed on methane production by sheep. Proc. Brit. Soc. Anim. Prod. Paper, 1994, 53.
97. Muhammed S., Stewart C. S., Acamovic T.: Effects of tannic acid, ellagic acid, gallic acid and catchin on cellulose degradation by the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* strain RE1. Anim. Sci., 1995, **60**: 550A.
98. Nagy J. G., Tengerdy R. P.: Antibacterial action of essential oils of *Artemisia* as an ecological factor. II. Antibacterial action of the volatile oils of *Artemisia tridentata* (Big sagebrush) on bacteria from the rumen of mule deer. Appl. Microbiol., 1968, **16**: 441-444.
99. Navas-Camacho A., Laredo M. A., Cuesta A., Ortega O., Romero M.: Evaluation of tropical tree with high or medium saponins content as dietary alternative to eliminate protozoa from the rumen. Proc. Soc. Nutr. Physiol., 1994, **3**: 204.
100. Newbold C. J., ElHassan S. M., Wang J., Ortega M. E., Wallace R. J.: Influence of foliage from *African multipurpose* trees on activity of rumen protozoa and bacteria. Br. J. Nutr., 1997, **78**: 237-249.
101. Newbold C. J., McIntosh F. M., Williams P., Losa R., Wallace R. J.: Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol., 2004, **114**: 105-112.
102. Newbold C. J., Wallace R. J., Watt N. D., Richardson A. J.: The effect of the novel ionophore tetronasin (ICI 139603) on ruminal microorganisms. Appl. Environ. Microbiol., 1988, **54**: 544-547.
103. Newman D. J., Cragg G. M., Snader K. M.: The influence of natural products upon drug discovery. Nat. Prod. Rep., 2000, **17**: 215-234.
104. Ningrat R. W. S., Garnsworthy P. C., Newbold C. J.: Saponin fractions in *Sapindus rarak*: effects on rumen microbes. Reprod. Nutr. Dev., 2002, **42**: 82.
105. O'Gara E. A., Hill D. J., Maslin D. J.: Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. Appl. Environ. Microbiol., 2000, **66**: 2269-2273.
106. Odenyo A. A., Osuji P. O.: Tannin-tolerant ruminal bacteria from East African ruminants. Can. J. Microbiol., 1998, **44**: 905-909.
107. Odenyo A. A., Osuji P. O., Karanfil O.: Effect of multipurpose tree (MPT) supplements on ruminal ciliate protozoa. Anim. Feed Sci. Technol., 1997, **67**: 169-180.
108. Oh H. K., Jones M. B., Longhurst W. M.: Comparison of rumen microbial inhibition resulting from various essential oils isolated from relative unpalatable plant species. Appl. Microbiol., 1968, **16**: 39-44.
109. Oh H. K., Sakai T., Jones M. B., Longhurst W. M.: Effect of various essential oils isolated from Douglas Fir Needles upon sheep and deer rumen microbial activity. Appl. Microbiol., 1967, **15**: 777-784.

110. Ohene-Adjei S., Chaves A. V., McAllister T. A., Benchaar C., Teather R. M., Forster R. J.: Evidence of increased diversity of methanogenic archaea with plant extract supplementation. *Microbiol. Ecol.*, 2008, **56**: 234-242.
111. Oleszek W. A.: Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chromatogr.*, 2002, **A967**: 147-162.
112. Outtara B., Simard R. E., Holley R. A., Piette G. J. P., Bégin A.: Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 1997, **37**: 155-162.
113. Ouwehand A. C., Tiihonen K., Kettunen H., Peuranen S., Schulze H., Rautonen N.: *In vitro* effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota. *Vet. Med.*, 2010, **55**: 71-78.
114. Patra A. K., Kamra D. N., Agarwal N.: Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 2006, **128**: 276-291.
115. Patra A. K., Kamra D. N., Agarwal N.: Effect of extracts of leaves on rumen methanogenesis, enzyme activities and fermentation in *in vitro* gas production test. *Indian. J. Anim. Sci.*, 2008, **78**: 91-96.
116. Patra A. K., Saxena J.: Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Anton. Leeuwen.*, 2009, **96**: 369-375.
117. Paul S. S., Karma D. N., Sastry V. R. B., Sahu N. P., Kumar A.: Effect of phenolic monomers on biomass and hydrolytic enzyme activities of an anaerobic fungus isolated from wild nilgai (*Baselophus tragocamelus*). *Lett. Appl. Microbiol.*, 2003, **36**: 377-381.
118. Pen B., Sar C., Mwenya B., Kuwaki K., Morikawa R., Takahashi J.: Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on *in vitro* ruminal fermentation and methane emission. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2006, **129**: 175-186.
119. Pleszczyńska M., Szczodra J.: Taniny i ich rozkład enzymatyczny. *Biotechnologia*, 2005, **168**: 152-165.
120. Puchala R., Min B. R., Goetsch A. L., Sahl T.: The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J. Anim. Sci.*, 2005, **83**: 182-186.
121. Rafii F., Shahverdi A. R.: Comparison of essential oils from three plants for enhancement of antimicrobial activity of nitrofurantion against enterobacteria. *Chemotherapy*, 2007, **53**: 21-25.
122. Riguera R.: Isolating bioactive compounds from marine organisms. *J. Mar. Biotechnol.*, 1997, **5**: 187-193.
123. Ruiz D. R. J., Moumen A., Garcia A. I. M., Alcaide E. M.: Ruminal fermentation and degradation pattern, protozoa population, and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diet bases on two-stage olive cake: Effect of PEG supply. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**: 2023-2032.
124. Russell J. B., Strobel H. J., Chen G.: Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. *App. Environ. Microbiol.*, 1988, **54**: 872-877.
125. Salawu M. B., Acamovic T., Stewart C. S., Hovell F. D., De B.: Effects of feeding quebracho tannin diets, with or without a dietary modifier, on rumen function in sheep. *Anim. Sci.*, 1999, **69**: 265-274.
126. Sangwan N. S., Farooqi A. H. A., Shabih F., Sangwan R. S.: Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth. Reg.*, 2001, **34**: 3-21.
127. Santos M. B., Robinson P. H., Williams P., Losa R.: Effects of addition of an essential oil complex to the diet of lactating dairy cows on whole tract digestion of nutrients and productive performance. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2010, doi:10.1016/j.anifeeds.2010.02.001.
128. Santra A., Karim S. A.: Influence of ciliate protozoa on biochemical changes and hydrolytic enzyme profile in the rumen ecosystem. *J. Appl. Microbiol.*, 2000, **92**: 801-811.

129. Skillman L. C., Evans P. N., Naylor G. E., Morvan B., Jarvis G. N., Joblin K. N.: 16S ribosomal DNA-directed PCR primers for ruminal methanogens and identification of methanogens colonising young lambs. *Anaerobe*, 2004, **10**: 277-285.
130. Smith A. H., Zoetendal E. G., Mackie R. I.: Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microb. Ecol.*, 2005, **50**: 197-205.
131. Sultan M. A.: Effect of essential oils supplementation on growth performance, nutrient digestibility, health condition of Holstein male calves during pre- and post-weaning periods. *Pak. J. Nutr.*, 2009, **8**: 642-652.
132. Spanghero M., Robinson P. H., Zanfi C., Fabbro E.: Effect of increasing doses of a microencapsulated blend of essential oils on performance of lactating primiparous dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2009, **153**: 153-157.
133. Sparg S. G., Light M. E., van Staden J.: Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.*, 2004, **94**: 219-243.
134. Stewart C. S., Flint H. J., Bryant M. P.: The rumen bacteria. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. Hobson P. N. and Stewart C. S. Published by Blackie Academic and Professional, London, UK, 1997, 10-55.
135. Śliwiński B. J., Soliva C. R., Machmüller A.: Efficacy of plant rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2002, **101**: 101-114.
136. Śliwiński B., Kreuzer M., Wettstein H. R., Machmüller A.: Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins, and associated emission of nitrogen and methane. *Arch. Anim. Nutr.*, 2002, **56**: 379-392.
137. Śpiewak R., Szostak W., Jurzysta M., Biały Z., Maleszka R., Rzepicka B., Mazurek M.: Wpływ lucerny na wzrost *Trichophyton mentagrophytes* w mikrohodowli. *Wiad. Parazyt.*, 2001, **47**: 839-844.
138. Tavendale M. H., Meagher L. P., Pacheco D., Walter N., Attwood G. T., Sivakumaran S.: Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005, **123-124**: 403-419.
139. Teferedegne B.: New perspectives on the use of tropical plants to improve ruminant nutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, 2000, **59**: 209-214.
140. Teferedegne B., McIntosh F., Osuji P. O., Odenyo A., Wallace R. J., Newbold C. J.: Influence of foliage from different accessions of the sub-tropical leguminous tree, *Sesbania sesban*, on ruminal protozoa in Ethiopian and Scottish sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 1999, **78**: 11-20.
141. Tyler V. E.: Phytomedicines: back to the future. *J. Nat. Prod.*, 1999, **62**: 1589-1592.
142. Ultee A., Kets E. P., Smid E. J.: Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**: 4606-4610.
143. Ushida K., Jouany J. P.: Methane production associated with rumen-ciliated protozoa and its effect on protozoan activity. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1996, **23**: 129-132.
144. Valdez F. R., Bush L. J., Goetsch A. L., Owens F. N.: Effect of steroidal saponins on rumen fermentation and on production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1986, **69**: 1568-1575.
145. Van Nevel C. J., Demeyer D. I.: Manipulation of rumen fermentation. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. P. N. Hobson, ed. Elsevier Applied Science, New York, NY, 1988, 387-433.
146. Vidal F., Vidal J. C., Gadelha A. P. R., Lopes C. S., Coelho M. G. P., Monteiro-Leal L. H.: *Giardia lamblia*: the effect of extracts and fractions from *Mentha x piperita* Lin. (*Labiatae*) on trophozoites. *Exp. Parasitol.*, 2007, **115**: 25-31.
147. Waghorn G. C., Tavendale M. H., Woodfield D. R.: Methanogenesis from forages fed to sheep. *Proc. N.Z. Grass. Assoc.*, 2002, **64**: 167-171.
148. Wallace R. J.: Symposium on plants as animal foods: a case of catch 22? Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proc. Nutr. Soc.*, 2004, **63**: 621-629.

149. Wallace R. J., Arthaud L., Newbold C. J.: Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Appl. Environ. Microbiol., 1994, **60**: 1762-1767.
150. Wang C. J., Wang S. P., Zhou H.: Influences of flavomycin, ropadiar, and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation, and methane emission from sheep. Anim. Feed Sci. Technol., 2009, **148**: 157-166.
151. Wang Y. X., McAllister T. A., Newbold C. J., Rode L. M., Cheeke K. J.: Effects of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (RUSITEC). Anim. Feed Sci. Technol., 1998, **74**: 143-153.
152. Wang Y. X., McAllister T. A., Yanke L. J., Xu Z. J., Cheeke P. R., Cheng K. J.: *In vitro* effects of steroidal saponins from *Yucca schidigera* extract on rumen microbial protein synthesis and ruminal fermentation. J. Sci. Food Agric., 2000, **80**: 2114-2122.
153. Williams A. G., Coleman G. S.: The rumen protozoa. Springer-Verlag, London, 1992.
154. Wina E., Muetzel S., Becker K.: The dynamics of major fibrolytic microbes and enzyme activity in the rumen in response to short- and long-term feeding of *Sapindus rarak* saponins. J. Appl. Microbiol., 2006, **100**: 114-122.
155. Wina E., Muetzel S., Hoffmann E., Makkar H. P. S., Becker K.: Saponins containing methanol extract of *Sapindus rarak* affect microbial fermentation, microbial activity and microbial community structure *in vitro*. Anim. Feed Sci. Technol., 2005, **121**: 159-174.
156. Wolin M. J., Miller T. L.: Microbe-microbe interaction. In: The Rumen Microbial Ecosystem. Ed. by P. N. Hobson, Elsevier Applied Science, London, 1988, 343-459.
157. Woodward S. L., Waghorn G. C., Lassey K. R., Laboyrie P. G.: Does feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) reduce methane emission from dairy cows? Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod., 2002, **62**: 227-230.
158. Woodward S. L., Waghorn G. C., Ulyatt M. J., Lassey K. R.: Early indications that feeding *Lotus* will reduce methane emission from ruminants. Proc. N.Z. Anim. Prod., 2001, **61**: 23-26.
159. Wu Z., Huber J. T.: Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows. A Rev. Livest. Prod. Sci., 1994, **39**: 141-155.
160. Wuebbles D. J., Hayhoe K.: Atmospheric methane and global change. Earth-Sci. Rev., 2002, **57**: 117-210.
161. Yang W. Z., Ametaj B. N., Benchaar C., He M. L., Beauchemin K. A.: Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites. J. Anim. Feed Sci., 2010, **88**: 1082-1092.
162. Yoshiki Y., Kudou S., Okubo K.: Relationship between chemical structures and biological activities of triterpenoid saponins from soybean. Biosci. Biotech. Biochem., 1998, **62**: 2291-2299.

Adres do korespondencji:

dr hab. Małgorzata Szumacher-Strabel, prof. UP
Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wołyńska 33
60-637 Poznań
tel.: (61) 848 72 28
e-mail: mstrabel@jay.up.poznan.pl

Dariusz Jędrejek, Anna Stochmal

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach*

**NOWE SKŁADNIKI ROŚLINNE W ŻYWIENIU ZWIERZĄT
PRZEŻUWAJĄCYCH (PROJEKT RUMEN-UP)***

Wstęp

RUMEN-UP (Ruminal Metabolism Enhanced Naturally Using Plants) to nazwa europejskiego projektu badawczego promującego ekoroślność, zdrową żywność oraz bezpieczne metody hodowli zwierząt gospodarskich. Całość przedsięwzięcia sfinansowano ze środków Unii Europejskiej i wykonano w ramach V Programu Ramowego o nazwie „Quality of Life and Management of Living Resources”. Projekt miał za zadanie określenie możliwości wykorzystania materiałów roślinnych – ziół, ekstraktów roślinnych itp., jako suplementów diety dla złagodzenia lub przezwyciężenia zaburzeń metabolicznych u przeżuwaczy oraz ograniczenia niekorzystnego oddziaływania produktów ubocznych fermentacji mikroflory żwacza na środowisko naturalne (52). Składniki roślinne mogą stanowić także bezpieczną alternatywę dla dodawanych do pasz środków chemicznych i antybiotyków (52, 53).

Produkcja zwierzęca na terenie UE poddawana jest silnym naciskom ze strony organizacji społecznych, ekologicznych i politycznych wymuszających ograniczenie szkodliwego oddziaływania odpadów poprodukcyjnych na środowisko oraz poprawę zdrowotności i warunków bytowych zwierząt. Jednocześnie te same instytucje kładą duży nacisk na produkcję zdrowej, naturalnej i ekologicznej żywności bez konserwantów i polepszaczy oraz wprowadzenie bezpiecznych, nie mających skutków ubocznych, stymulatorów wzrostu zastępujących antybiotyki, których używanie w tej roli zostało zakazane na terenie UE wraz z początkiem 2006 r. (12, 53).

Celem projektu RUMEN-UP było znalezienie możliwych do przyjęcia, pod względem ekonomicznym i społecznym, rozwiązań problemów hodowców zwierząt przeżuwających (52). Dzięki badaniom prowadzonym w ramach tego przedsięwzięcia w jadalospisie hodowanego przez człowieka bydła i owiec, mogą się wkrótce pojawić naturalne składniki roślinne (12). Byłaby to swoista fitoterapia dla zwierząt przeżuwających.

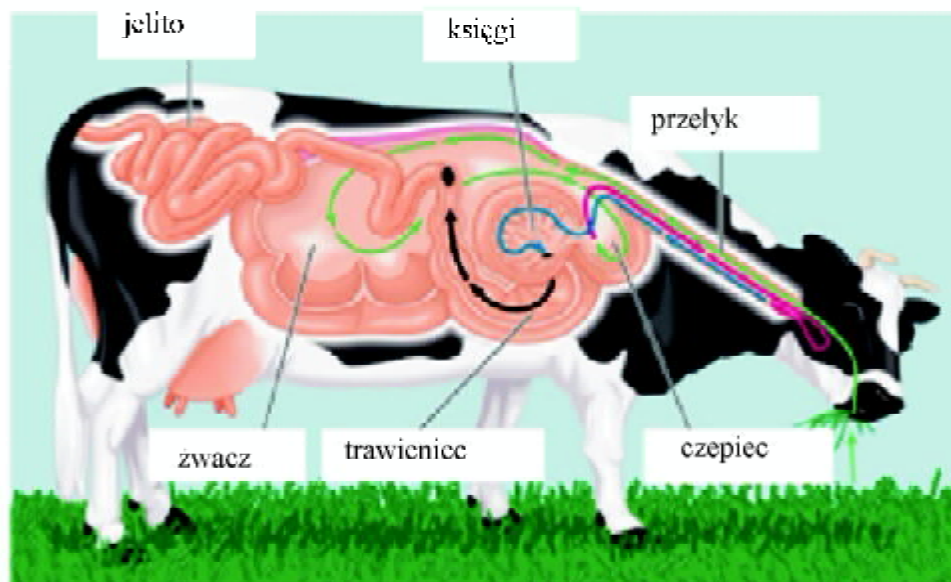
* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.6 w programie wieloletnim IUNG - PIB

Charakterystyka układu pokarmowego przeżuwaczy

Charakterystyczną cechą zwierząt przeżuwających, tj. bydła, owiec, kóz itp. jest wielokomorowy żołądek, składający się u większości przedstawicieli z 4 komór: żwacza, czepca, księgi oraz trawieńca. Pierwszy z trzech tzw. przedżołądków – żwacz – umożliwia przeżuwaczom trawienie materiałów roślinnych, których głównym budulcem jest polisacharyd – celuloza. Pozostałe, nieprzeżuwające zwierzęta roślinożerne nie są zdolne do wykorzystywania błonnika (celulozy) jako źródła pożywienia.

Żwacz to ogromny organ (u bydła osiągający pojemność nawet 150 dm³), będący właściwie inkubatorem symbiotycznych bakterii i pierwotniaków dysponujących całą gamą enzymów trawiennych (w tym celulolitycznych); (21). Mikroorganizmy zasiedlające go są wysoce wyspecjalizowane i nie występują w przyrodzie poza przewodem pokarmowym zwierząt przeżuwających (17). Jednym z głównych produktów przebiegającej w żwacu fermentacji pokarmu roślinnego są lotne kwasy tłuszczowe (octowy, butyrowy, propionowy), stanowiące podstawowe źródło energii dla gospodarza. Źródłem białek dla przeżuwaczy są głównie komórki symbiotycznych mikroorganizmów, które zostają strawione, a ich aminokwasy są absorbowane i wykorzystywane do budowy ich własnych polipeptydów. W kontekście ewolucji ssaków roślinożernych żwacz stanowi wysoce wydajny organ, umożliwiający im odżywanie się nie-
zwycię ubogą roślinnością, jaką są m.in. trawy (21).

Proces fermentacji bakteryjnej w żwacu posiada jednak pewne ograniczenia i niedoskonałości. Naturalną konsekwencją przemian beztlenowych (rozkładu celulozy) w przewodzie pokarmowym przeżuwaczy jest produkcja palnej mieszanki złożo-



Rys. 1. Przewód pokarmowy przeżuwacza

Źródło: <http://www.zfz.wp.ap.siedlce.pl/ukpok.ppt> (23).

nej z metanu, dwutlenku węgla i wodoru, która jest wydalana do atmosfery. Metan to silnie działający gaz cieplarniany. Pod tym względem zwierzęta przeżuwające, nie tylko te udomowione, przyczyniają się do niszczenia środowiska naturalnego (efekt cieplarniany). Niezwykle uciążliwą „niedoskonałością” układu trawienno przeżuwaczy jest niski poziom przyswajania białek dostarczanych w pokarmie. Wiąże się to ze znacznymi stratami azotu białkowego, który zostaje wydany z organizmu. Jest to problem zarówno o podłożu ekonomicznym (konieczność stosowania dodatków białkowych do pasz), jak i środowiskowym (niekorzystne oddziaływanie na środowisko bogatych w azot wydaliny). Ponadto zaburzenia fermentacji bakteryjnej u przeżuwaczy wywołują szereg bolesnych i niekiedy niebezpiecznych dolegliwości trawienno, występujących wyłącznie u tej grupy zwierząt, tj. wzdęcia żwacza i kwasicę mleczanową (21).

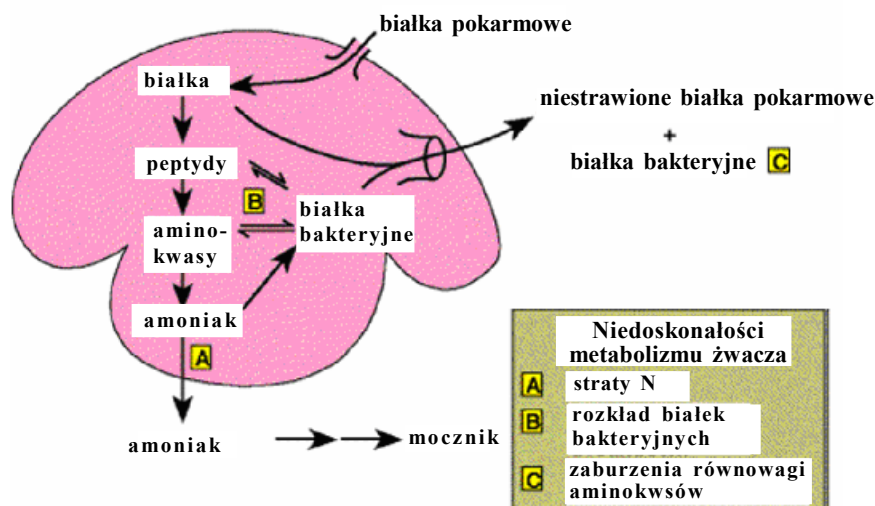
Przemiany białek w żwaczu

Trawienie białek. Wydajne wykorzystywanie białek wchodzących w skład pożywienia stanowi kluczową kwestię żywienia konsumpcyjnych zwierząt przeżuwających (47). Trafiając do żwacza 70-80% polipeptydów jest rozkładanych poprzez peptydy i aminokwasy do amoniaku i krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA); (4). Powstające przy zbyt szybkim rozkładzie białek znaczne ilości amoniaku (NH_3) nie mogą być w pełni wykorzystane przez bakterie żwacza. Amoniak ze względu na swoją toksyczność, po przetworzeniu w wątrobie na mocznik, wydany jest z organizmu, co stanowi oczywistą stratę azotu pochodzącego z pożywienia (21). Niekontrolowany i zbyt szybki rozkład białek przez mikroorganizmy żwacza jest procesem nieekonomicznym, ograniczającym ilość polipeptydów dostępnych dla organizmu gospodarza. Jest to niezwykle istotne przy intensywnych systemach produkcji zwierzęcej opartych na wysokobiałkowych dietach (4). Niska wydajność przyswajania związków azotowych u przeżuwaczy wiąże się ze stratami ekologicznymi i ekonomicznymi, gdyż wywołuje zjawisko stresu metabolicznego u zwierząt oraz obciąża środowisko naturalne bogatymi w azot odpadami (21).

Ograniczenie i spowolnienie procesu rozkładu białek przez mikroflorę żwacza prowadzi do wzrostu produktywności zwierząt oraz zmniejszenia niekorzystnych skutków ubocznych (46). Wiele różnych gatunków mikroorganizmów (bakterii, grzybów, pierwotniaków), korzystających z całej gamy enzymów proteolitycznych, przeprowadza początkowy etap proteolizy (27, 30). Zróżnicowanie obecnych w żwaczu drobnoustrojów, dysponujących enzymami rozkładającymi białka, uniemożliwia kierunkową manipulację wstępnym etapem trawienia polipeptydów (21).

Dalsze procesy rozkładu peptydów i aminokwasów związane są z bardziej określonymi i poznanymi populacjami mikroorganizmów. Jedynymi powszechnie dostępnymi metodami hamowania ich aktywności proteolitycznej są antybiotyki i jonofory (monenzyna, salinomycyna, tetronazyna); (21) dodawane do pasz i ograniczające ich rozwój w żwacz, a przez to spowalniające metabolizm białek, peptydów i aminokwasów (47, 51).

PRZEMIANY BIAŁEK W ŻWACZU



Rys. 2. Przemiany białek w żwaczu

Niedoskonałości metabolizmu żwacza obejmują: szlak rozkładu białek, prowadzący od białek do amoniaku, szybkie przekształcenia białek bakteryjnych oraz zubożony skład aminokwasowy białek wychodzących ze żwacza.

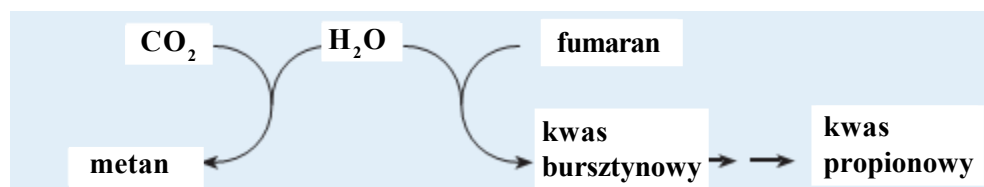
Źródło: http://www.rowett.ac.uk/rumen_up (21).

Wprowadzony przez UE zakaz stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu zwrócił uwagę na potrzebę znalezienia zastępczych sposobów promujących wydajne przyswajanie azotu u przeżuwaczy. Rośliny i wyciągi roślinne stanowią obiecującą alternatywę (52). Badania roślin i ich metabolitów pod kątem wykorzystania jako środków spowalniających rozkład białek w żwaczu dotyczyły przede wszystkim gatunków bogatych w taniny (garbniki). Związki te powodują jednak powstawanie niekorzystnych efektów ubocznych, m.in. spadek wydajności trawienia celulozy. Z tego względu kontynuuje się poszukiwania bardziej użytecznych inhibitorów procesu proteolizy polipeptydów u gospodarskich zwierząt przeżuwających. Nowe, naturalne substancje roślinne spełniające to kryterium mogą prowadzić do bardziej akceptowalnych metod hamowania procesu powstawania amoniaku w żwaczu (21).

Rozkład białek bakteryjnych. Wydajność trawienia celulozy przez bakterie celulolityczne zamieszkujące przewód pokarmowy przeżuwaczy może zostać zwiększona poprzez ograniczenie populacji orzęsionych pierwotniaków żwacza. *Protozoa* pożerają ogromne ilości symbiotycznych bakterii żwacza i białek przez nie rozkładanych, zmniejszając w ten sposób (nawet o 50%) całkowitą pulę białek bakteryjnych uzyskiwanych w procesie fermentacji (3, 55). Zahamowanie rozwoju populacji pierwotniaków zamieszkujących przewód pokarmowy bydła i owiec ograniczy ilość wytwarzanego NH_3 oraz zminimalizuje konieczność wzbogacania diety zwierząt białkami. Supresyjne właściwości w stosunku do *Protozoa* wykazano u niektórych gatunków roślin tropikalnych (32, 54), zwłaszcza bogatych w saponiny (29).

Metan – produkt uboczny fermentacji bakteryjnej

Metan jest gazem cieplarnianym, który zatrzymuje promieniowanie podczerwone w atmosferze ponad dwieście dwadzieścia razy silniej niż dwutlenek węgla (6). W ciągu ostatniego półwiecza jego stężenie w atmosferze podwoiło się i w bardzo szybkim tempie stale rośnie (20). Przeżuwacze stanowią jedno z głównych źródeł metanu pochodzenia naturalnego. Oszacowano, że znaczne ograniczenie produkcji metanu przez udomowione zwierzęta przeżuwające ustabilizuje jego stężenie w atmosferze (20, 26).



Rys. 3. Alternatywne szlaki wykorzystywania H_2 przez mikroorganizmy żwacza

Źródło: http://www.rowett.ac.uk/rumen_up (21).

Na konferencji w Kyoto w grudniu 1997 r., dotyczącej zmian klimatu i przeciwdziałania globalnemu ociepleniu, zobowiązano większość najbardziej uprzemysłowionych krajów świata do zmniejszenia emisji gazów cieplarnianych. Traktat wszedł w życie 16 lutego 2005 roku. Państwa, które go ratyfikowały muszą zredukować do 2012 roku własną emisję dwutlenku węgla, metanu, tlenku azotu, perfluorowęglowodorów i fluorowanych alkanów – gazów powodujących efekt cieplarniany, o co najmniej 5% poziomu emisji z 1990 r. (43).

Nie udało się znaleźć chemicznego inhibitora aktywnie hamującego (co najmniej kilka dni) tworzenie metanu (CH_4) przez bakterie żwacza (22, 28, 36, 50). Jedyną skuteczną i powszechnie stosowaną metodą redukcji powstawania CH_4 w procesie fermentacji mikroflory żwacza jest stosowanie antybiotyków i jonoforów – związków chemicznych zdolnych do transportowania jonów przez błonę lipidową komórki i ograniczających wzrost drobnoustrojów dostarczających H_2 bakteriom metanogennym. Dodatek tych związków do pasz zmniejsza produkcję metanu przez przeżuwacze maksymalnie o 25% (36, 50).

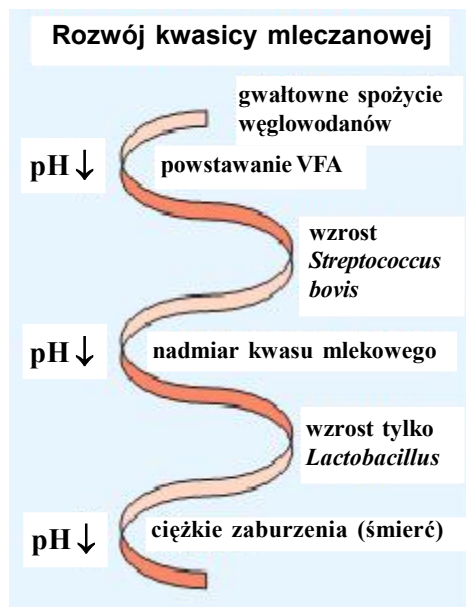
Niektóre przebadane wyciągi roślinne, charakteryzujące się wysoką zawartością flawonoidów, oddziałują na fermentację mikroorganizmów żwacza, zmniejszając wytwarzanie przez nie CH_4 (8, 9). Podobne właściwości odkryto u roślin zawierających taniny (19, 37, 42). Efektywność oddziaływania na przebieg fermentacji celulozy metabolitów roślinnych, tj. saponin, flawonoidów i tanin, różni się w zależności od ich pochodzenia, rodzaju i koncentracji (38).

Zaburzenia trawienia

Wzdęcie żwacza polega na powstawaniu i zaleganiu w żwaczu trwałej piany uniemożliwiającej uchodzenie gazów tworzonych w procesie fermentacji bakteryjnej

(21). Stan ten jest bolesnym i niekiedy niebezpiecznym zaburzeniem u zwierząt przeżuwających. Gromadzący się w nadmiarze gaz uciska na przeponę i narządy wewnętrzne, powodując zaburzenia w krążeniu i oddychaniu, co przy braku właściwej interwencji może doprowadzić nawet do śmierci. Przyczyny powstawania tego zjawiska nie są jeszcze w pełni poznane. Występowaniu choroby sprzyja karmienie zwierząt mokrymi roślinami motylkowatymi, paszami objętościowymi o niskiej zawartości włókna surowego i wysokim poziomie białka oraz lekkostrawnymi węglowodanami. Czasem piana powstająca w żwacu może być pochodzenia bakteryjnego (10, 15). Zapobieganie wzdęciom żwacza polega przede wszystkim na właściwym żywieniu, unikaniu pastwisk i pasz powodujących wzdęcia (13). Poszukuje się nowych środków zapobiegania i leczenia tego zaburzenia; rośliny i zawarte w nich związki mogą stanowić w tym nieocenioną pomoc.

Kwasica mleczanowa. Niestrawność kwaśna, nazywana również kwasicą żwacza lub lactoacidozą, jest występującym u przeżuwaczy zatruciem wywołanym powstałymi w żwacu produktami przemian węglowodanów (41). Schorzenie występuje po przekarmieniu lub przypadkowym zjedzeniu dużych ilości pasz zasobnych w łatwostrawne węglowodany. Szczególnie częste zachorowania obserwuje się po nagłym przejściu w żywieniu zwierząt z bogatej w celulozę paszy objętościowej na paszę o dużej zawartości prostszych węglowodanów. Następstwem tych zakłóceń jest szybkie wytwarzanie i gromadzenie się w żwacu dużych ilości kwasu mlekowego. Kwas ten powoduje spadek poniżej norm fizjologicznych pH płynu żwacza (nawet do 3,8) i ciężkie zaburzenia.



Rys. 4. Łańcuch zdarzeń prowadzący do ostrej kwasicy mleczanowej

Źródło: http://www.rowett.ac.uk/rumen_up (21).

W żwaczu wskutek niskiego pH znikają prawie zupełnie pierwotniaki i bakterie celulolityczne, których miejsce zajmują bakterie kwasu mlekowego (56). Ich działaniu przypisuje się wytwarzanie obok kwasu mlekowego również toksycznych amin, będących produktami przemiany białek. Tworzenie się dużych ilości tych związków powoduje dalszy spadek pH (kwas mlekowy ma silniejsze właściwości kwasowe niż kwasy tłuszczowe). Organizm stara się wyrównać powstałe zaburzenia przez wzmożony transport związków zasadowych. Przekroczenie granic możliwości neutralizacji stężenia jonów H^+ w przedżołądkach przez nadmiar kwasu mlekowego prowadzi do ogólnej kwasicy (41). Odtworzenie właściwego przebiegu fermentacji może stać się niemożliwe i doprowadzić nawet do śmierci zwierzęcia. Jednak w większości przypadków przeżuwacze cierpią na kwasice subkliniczne, które są bolesne, ale nie zagrażają ich życiu. W doraźnych przypadkach dla odtworzenia właściwego odczynu pH żwacza podaje się zwierzętom roztwory buforów chemicznych (10). Znacznie lepszym rozwiązaniem byłaby możliwość wykorzystania naturalnych, roślinnych substancji jako selektywnych inhibitorów rozwoju bakterii mleczanowych, bez uciekania się do pomocy antybiotyków.

Antybiotyki jako stymulatory wzrostu w produkcji zwierzęcej

Od połowy XX wieku antybiotyki są szeroko stosowane w produkcji zwierzęcej na całym świecie. Dodawane w niewielkich dawkach do pasz przeznaczonych dla zwierząt gospodarskich, w tym przeżuwaczy, mogą poprawić wskaźniki wzrostu masy ciała, sprzyjając lepszemu stanowi zdrowia i większej żywotności, obniżając liczbę padnięć, ograniczając konieczność stosowania leczenia oraz minimalizując „niedoskonałości” metabolizmu przeżuwaczy (16). Jednakże od pewnego czasu organizacje konsumenckie, ekologiczne i rządowe domagają się eliminowania promowania i stosowania antybiotykowych dodatków żywieniowych trafiających w mięsie lub mleku na nasze stoły (52). Od stycznia 2006 roku obowiązuje na terenie UE całkowity zakaz stosowania w paszach dla zwierząt antybiotyków jako stymulatorów wzrostu (12, 39, 52). Obecnie ich dodawanie jest dopuszczalne wyłącznie w celach weterynaryjnych (16). W przypadku bydła i owiec stosowanie antybiotyków było mniej rozpowszechnione i dlatego skutki zakazu nie są aż tak wielkie, jak w przypadku hodowców trzody chlewnej i drobiu (52). Niemniej jednak uważa się, że w wyniku wycofania antybiotykowych stymulatorów wzrostu również producenci zwierząt przeżuwających w Europie znaleźli się w niekorzystnej sytuacji konkurencyjnej, ponieważ w innych krajach, takich jak USA, Chiny czy Rosja, ograniczeń nie wprowadzono.

Brak jest jednak jednoznacznego uzasadnienia naukowego decyzji o wycofaniu antybiotyków z żywienia zwierząt konsumpcyjnych (49). Część naukowców uważa, że podawanie zwierzętom antybiotykowych stymulatorów wzrostu znacząco obniża skuteczność antybiotykoterapii chorób bakteryjnych człowieka. Wyniki badań przedstawione w ostatnio opublikowanych pracach wskazują, że rola podawanych zwierzętom antybiotyków w zwiększaniu lekooporności bakterii u nich występujących jest mniejsza niż uprzednio sądzono (40). Niemniej jednak w aspekcie ochrony zdrowia

publicznego stosowanie antybiotyków u zwierząt użytkowych może mieć wielokierunkowe i ciągle nie w pełni wyjaśnione działanie, co jest związane m.in. ze złożonością przyczyn i źródeł pojawiania się bakterii antybiotykoopornych (39).

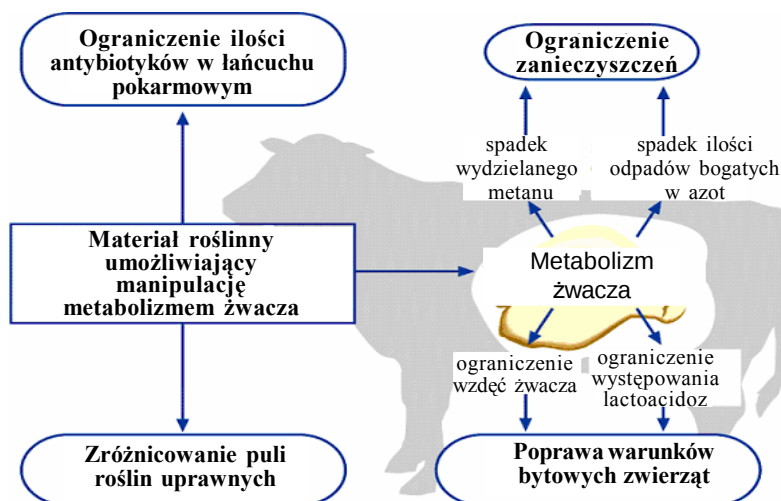
Obecnie dąży się do oparcia nowych strategii manipulacji metabolizmem przeżuwaczy na wykorzystaniu bezpiecznych, nieakumulujących się związków pochodzenia naturalnego. W ramach projektu RUMEN-UP badano możliwość stosowania materiału roślinnego – ziół, wyciągów z roślin, w tym olejków eterycznych, a także innych substancji jako bezpiecznej alternatywy dla dodawanych do pasz antybiotykowych środków przeciw drobnoustrojom.

Główne cele projektu RUMEN-UP

Założenia projektu RUMEN-UP obejmowały:

- zmniejszenie emisji metanu i azotu przez udomowione zwierzęta przeżuwające (produkty te są szkodliwe dla środowiska i zwierząt, które tracą ważne źródła energii);
- złagodzenie stresu żywieniowego (zaburzenia trawienia: kwasica i wzdęcia żwacza);
- znalezienie alternatywy dla antybiotyków i środków chemicznych stosowanych jako dodatki do pasz (53).

Sukces projektu może przyczynić się również do zwiększenia różnorodności gatunków roślin uprawianych na terenie UE oraz zwiększenia konkurencyjności europejskich produktów rolnych (mięsa oraz mleka) uzyskiwanych ze zwierząt, w żywieniu których nie stosuje się antybiotykowych stymulatorów wzrostu.



Rys. 5. Diagram wyjaśniający główne cele projektu RUMEN-UP

Źródło: http://www.rowett.ac.uk/rumen_up (21).

Partnerzy projektu RUMEN-UP

Projekt RUMEN-UP, będąc pod patronatem Komisji Europejskiej, był przedsięwzięciem partnerskim skupiającym naukowców z kilku krajów europejskich, m.in. Wielkiej Brytanii, Niemiec, Hiszpanii i Szwajcarii. Projekt zaangażował zarówno badaczy z uniwersytetów europejskich, jak i przedsiębiorstw komercyjnych. W ramach skoordynowanego programu badawczego połączono wiedzę oraz umiejętności czterech akademickich grup badawczych oraz dwóch koncernów biotechnologicznych.

Konsorcjum wykonawcze projektu stanowiło 6 partnerów:

1. Rowett Research Institute w Aberdeen, Wielka Brytania.
2. Uniwersytet w Hohenheim, Niemcy.
3. Uniwersytet w León, Hiszpania.
4. Uniwersytet w Reading, Wielka Brytania.
5. Alltech, Irlandia.
6. CRINA, Szwajcaria.

Koordynatorem tego 5-letniego projektu był dr John Wallace z Rowett Research Institute w Wielkiej Brytanii (53).

Plan i przebieg projektu RUMEN-UP

Całość projektu była podzielona na trzy zasadnicze etapy:

Etap 1 trwał 12 miesięcy. Jego głównym celem było zgromadzenie odpowiedniej ilości materiału roślinnego do testów laboratoryjnych i prowadzonych na zwierzętach. Rośliny i ekstrakty roślinne pochodziły z uniwersyteckich zbiorów botanicznych, kolekcji narodowych i lokalnych oraz zbiorów dwóch komercyjnych partnerów. Wstępnej selekcji materiału roślinnego dokonano na podstawie:

- informacji o zawartych metabolitach wtórnych oraz tradycyjnym ich użyciu (medycyna ziołowa),
- własności agronomicznych i odżywczych roślin,
- możliwości uprawy na terenie Europy.

Zakończeniem tej fazy była konferencja partnerów projektu tworzących konsorcjum wykonawcze i międzynarodowej grupy botaników, której celem był ostateczny wybór materiału roślinnego do badań, określenie składu oraz koncentracji zastosowanych diet.

Etap 2 obejmował skринing zebranych próbek roślinnych pod kątem ich efektywności w spowalnianiu proteolizy, hamowaniu produkcji CH_4 , rozwoju pierwotniaków, kwasicy mleczanowej i wzdęć żwacza. Potwierdzono brak niekorzystnego oddziaływania potencjalnie użytecznych roślin na ogólny przebieg fermentacji bakteryjnej w żwaczu, tj. produkcję lotnych kwasów tłuszczowych i efektywność trawienia celulozy.

Dla określenia wpływu materiału roślinnego na metabolizm i ekosystem układu pokarmowego przeżuwaczy zastosowane techniki badawcze obejmowały inkubację próbek z płynami pobranymi ze żwacza owiec i bydła w warunkach *in vitro* z zastoso-

waniem diet typowych dla różnych systemów produkcji zwierzęcej w Europie. Dokonywano pomiarów składu i objętości tworzonych gazów, niskocząsteczkowych produktów fermentacji (SCFA – rozgałęzionych, krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych i amoniaku) oraz białek syntetyzowanych przez mikroorganizmy symbiotyczne. Niezależnie określono wpływ próbek na *Protozoa*, trawienie białek, rozwój kwasicy oraz wzdęcia żwacza. Za ten etap badań odpowiedzialne były cztery akademickie grupy badawcze wchodzące w skład konsorcjum.

Przeprowadzone analizy umożliwiły zidentyfikowanie i wyeliminowanie materiałów roślinnych, które były ogólnie nieefektywne lub toksyczne. Stworzono w ten sposób krótką listę roślin i ich metabolitów o największym potencjale oddziaływania na przebieg fermentacji u przeżuwaczy.

Etap 3 obejmował szczegółowe badania najbardziej obiecujących i potencjalnie użytecznych roślin w kategoriach mikrobiologicznej odpowiedzi i chemicznej natury składników aktywnych. Cztery akademickie grupy badawcze były odpowiedzialne za analizy *in vitro* dotyczące określenia reakcji na dawkę substancji, czasu efektywnego działania i możliwości nabywania oporności adaptacyjnej przez mikroorganizmy żwacza. Celem tych szczegółowych analiz było wyselekcjonowanie dwóch lub trzech roślin, lub wyciągów z roślin, do testów *in vivo* obejmujących ostatnie 6 miesięcy trwania projektu. Badania na zwierzętach (zwierzętami testowymi były owce) dotyczące, m.in. przyswajalności, toksyczności i smakowitości wyselekcjonowanych roślin zlecono naukowcom z Uniwersytetu w León (Hiszpania) i Uniwersytetu w Hohenheim (Niemcy).

Wpływ większości roślin oraz ich ekstraktów na przebieg fermentacji opiera się głównie na modulacji populacji drobnoustrojów zamieszkujących żwacz. Oddziaływanie badanych roślin na różne gatunki mikroorganizmów oznaczano z użyciem zarówno klasycznych metod hodowli i analiz mikrobiologicznych, jak i nowoczesnych metod molekularnych korzystających z sond molekularnych 16SrDNA.

Jednym z czynników ograniczających użycie niektórych roślin w karmieniu zwierząt jest ich nieprzyjemny smak związany z zawartymi w nich substancjami wytwarzanymi w obronie przed atakiem insektów oraz zwierzętami roślinożernymi. Badany materiał roślinny stanowił niewielki dodatek do pasz, co powinno wyeliminować problem, jednakże przeprowadzono dodatkowe testy, mające wykazać jego przyswajalność i tolerancję zwierząt.

Rośliny i wyciągi z roślin o najbardziej pożądanym działaniu poddano analizom w celu identyfikacji natury chemicznej substancji aktywnych. Obejmowały one, m.in. ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi (metanol, butanol, chloroform, octan etylu), chromatografię cienkowarstwową (TLC), chromatografię gazową i spektrometrię mas.

Wyniki projektu

W trakcie pierwszych dwunastu miesięcy trwania projektu zebrano imponującą kolekcję około 500 roślin i ekstraktów roślinnych, które nie były dotychczas wykorzy-

stywane na szerszą skalę w żywieniu zwierząt gospodarskich. Przy współpracy botaników jednoznacznie ustalono przynależność taksonomiczną zebranych próbek oraz utworzono bazę danych zawierającą podstawowe informacje dotyczące badanego materiału roślinnego (systematyka, pokrój, biologia, zastosowanie w medycynie ziołowej, występujące metabolity wtórne itp.). Całość zebranej kolekcji została zdeponowana w Rowett Research Institute w Wielkiej Brytanii. Wszystkie testowane gatunki roślin były pochodzenia rdzennie europejskiego lub mogą być uprawiane w Europie (16).

Spśród około 500 zebranych i zbadanych w ramach projektu próbek roślinnych, 22 wykazały potencjalnie korzystne działanie na zwierzęta przeżuwające i ma duże szanse znaleźć się w przyszłości w diecie tej grupy zwierząt gospodarskich. Wykazały one zdolność manipulowania ekosystemem i metabolizmem żwacza, w jednym lub kilku docelowych miejscach, bez wywierania niekorzystnego wpływu na całociowy przebieg fermentacji.

Najlepsze efekty w drugiej fazie projektu uzyskano, badając rośliny lub ekstrakty roślinne o właściwościach hamujących rozwój pierwotniaków, spowalniające proteolizę oraz ograniczające powstawanie metanu. Wstępny skринing materiału roślinnego pod kątem aktywności antyproteolitycznej przy użyciu metody z ^{14}C -kazeiną umożli-

Tabela 1

Materiał roślinny wykazujący potencjalnie najkorzystniejsze działanie

Nazwa botaniczna (łacińska)	Opis próbki	Oddziaływanie
<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	macznica lekarska; pędy	proteoliza
<i>Bellis perennis</i>	stokrotka polna; cała roślina	<i>Protozoa</i>
<i>Carduus pycnocephalus</i>	oset; pędy i kwiaty	metanogeneza
<i>Epilobium montanum</i>	wierzbownica górska; liście	proteoliza
<i>Eugenia caryophyllata</i>	goździkowiec korzenny; wysuszone nasiona	<i>Protozoa</i> , metanogeneza
<i>Gentiana asclepidea</i>	gorczyzka trojeściowa; pędy	<i>Protozoa</i>
<i>Gentiana lutea</i>	gorczyzka żółta; korzenie	<i>Protozoa</i>
<i>Helianthemum canum</i>	posłonek; liście i kwiaty	proteoliza
<i>Knautia arvensis</i>	świerzbica polna; pędy	proteoliza
<i>Lactuca sativa</i>	sałata siewna; pędy	kwasicza żwacza
<i>Lonicera japonica</i>	wiciokrzew japoński; pędy i kwiaty	<i>Protozoa</i>
<i>Lonicera japonica</i> (flower)	wiciokrzew japoński; ekstrakt kwiatowy	<i>Protozoa</i>
β -Myrcene	β -myrcen; składnik olejków eterycznych	<i>Protozoa</i>
<i>Olea europaea</i>	oliwka europejska; wysuszone liście	<i>Protozoa</i>
<i>Paeoniae alba radix</i>	piwonia biała; korzenie	metanogeneza
<i>Peltiphyllum peltatum</i>	tarczownica tarczowata; pędy	proteoliza
<i>Populus tremula</i>	topola osika; pędy	metanogeneza
<i>Prunus avium</i>	wiśnia ptasia; pędy (głównie liście)	metanogeneza
<i>Rheum nobile</i>	rabarbar; pędy	metanogeneza
<i>Salix caprea</i>	wierzba iwa; pędy (głównie liście)	metanogeneza
<i>Symphytum officinale</i>	żywokost lekarski; pędy	<i>Protozoa</i>
<i>Urtica dioica</i>	pokrzywa zwyczajna; cała roślina	kwasicza żwacza

Źródło: Rochfort S. i in., 2008 (44).

wił wytypowanie 21 próbek o największym potencjale, spośród których 8 (m.in. *Knautia arvensis*, *Peltiphyllum peltatum*, *Potentilla anserina*, *Gleditsia japonica* i *Fagopyrum esculentum*) poddano dalszym analizom. Spośród 38 próbek najefektywniejszych w hamowaniu bakteriolitycznej aktywności *Protozoa* (w najmniej 50% dla stężenia $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ płynu żwacza) do dalszych analiz w fazie trzeciej wytypowano 7 z nich (*Lonicera japonica*, *Gentiana asclepiadea*, *Eugenia caryophyllata*, *Bellis perennis*, *Olea europaea*, *Symphytum officinale* i β -*Myrcene*). Wstępne analizy dodatków roślinnych dotyczące aktywności antymetanowej pozwoliły wyselekcjonować 34 rośliny, które (o co najmniej 15%) hamowały powstawanie metanu (przy koncentracji $0,1 \text{ g/g}$ paszy). Do bardziej szczegółowych testów wybrano 7 próbek (*Salix caprea*, *Carduus pycnocephalus*, *Populus tremula*, *Prunus avium*, *Paeoniae alba radix*, *Quercus robur* oraz *Rheum nobile*). Spośród roślin o działaniu stabilizującym na odczyn pH płynu żwacza do trzeciej fazy wytypowano trzy: *Lactuca sativa*, *Vicia cracca* oraz *Urtica dioica*. Ze względu na trudności w testowaniu oraz małą efektywność próbek w przeciwdziałaniu wzdęciom żwacza zdecydowano o zaprzestaniu dokładniejszych analiz dotyczących tego problemu.

Zaobserwowano złożoność oddziaływania niektórych roślin na metabolizm żwacza. Pięć próbek wykazało pozytywne działanie odnośnie supresji pierwotniaków i powstawania metanu, dwie działały spowalniająco na proteolizę i supresję pierwotniaków, trzy powodowały supresję pierwotniaków i redukcję kwasicy, pięć efektywnie hamowało tworzenie metanu oraz zapobiegało kwasicy (52).

Dla prawnej ochrony własności intelektualnej (w postaci zebranych informacji o najbardziej obiecujących próbkach roślinnych) złożono wnioski patentowe w Europejskim Urzędzie Patentowym, który został wydany w kwietniu 2005 r. Ochrona zebranej wiedzy poprzez patent jest istotna w kontekście możliwości późniejszego jej wykorzystania przy wprowadzaniu na rynek produktów opartych o badany materiał roślinny.

W trzeciej fazie projektu najbardziej wartościowe próbki roślinne badano pod kątem indywidualnych właściwości i wykazywanej aktywności modulacyjnej na metabolizm żwacza. Dokładniejsze testy w warunkach laboratoryjnych wykazały generalnie małą efektywność materiału roślinnego przy niskich stężeniach; dla zaobserwowania pozytywnych efektów większość próbek musiała stanowić co najmniej 3-5% składu diety. W badaniach nad dawką i czasem działania najlepsze rezultaty uzyskano dla:

- *Bellis perennis* i *Gentiana asclepiadea* odnośnie supresji *Protozoa*;
- *Knautia arvensis* i *Peltiphyllum peltatum* w kategorii spowalniania proteolizy;
- *Quercus robur*, *Rheum nobile* i *Carduus pycnocephalus* odnośnie ograniczenia powstawania metanu;
- *Lactuca sativa* i *Urtica dioica* odnośnie stabilizacji pH płynu żwacza.

Istotnym czynnikiem ograniczającym w testach *in vivo*, który spowodował odrzucenie kilku bardzo obiecujących roślin, takich jak *Lonicera japonica* (wiciokrzew japoński) i *Gentiana asclepiadea* (goryczka trojeściowa), była dostępność dużych

ilości materiału roślinnego do karmienia zwierząt. Największe nadzieje w badaniach z wykorzystaniem zwierząt wiązano z czterema próbkami roślinnymi: *Knautia arvensis* (świerzbica polna), *Bellis perennis* (stokrotka pospolita), *Urtica dioica* (pokrzywa zwyczajna) i *Lactuca sativa* (sałata siewna). Testy na owcach, trwające 6 miesięcy, przeprowadzono w Uniwersytecie w León (Hiszpania) i Uniwersytecie w Hohenheim (Niemcy). Do badań wytypowano 3 próbki roślinne: *Knautia arvensis*, *Bellis perennis* i *Urtica dioica*. Testy zakończyły się jednak niepełnym sukcesem. Żadna z badanych roślin nie wykazała toksycznego wpływu na układ trawienny zwierząt oraz zaobserwowano pozytywne następstwa oddziaływania *Bellis perennis* i *Knautia arvensis* na przebieg fermentacji. Dodatnie efekty ich działania były jednak mniejsze niż zakładano. Niezbędne są dalsze testy dla określenia rozmiaru i zmienności odpowiedzi metabolizmu i ekosystemu żwacza, biorąc pod uwagę zróżnicowany skład pasz oraz gatunki zwierząt przeżuwających itp.

Molekularne analizy flory symbiotycznej ujawniły zmienioną strukturę populacji mikroorganizmów żwacza, będącą wynikiem działania badanych próbek materiału roślinnego. Testy te wykazały konieczność ostrożnego stosowania roślin w karmieniu zwierząt, ze względu na dużą wrażliwość bakterii symbiotycznych (głównie bakterii celulolitycznych), szczególnie w przypadku roślin zawierających duże ilości tanin (*Peltiphyllum peltatum*, *Quercus robur*).

Analizy w warunkach *in vivo* nie ujawniły nietolerancji i awersji u owiec w stosunku do badanego materiału roślinnego. Zaobserwowano nieznaczne problemy w żywieniu zwierząt paszami z dodatkiem większych ilości *Knautia arvensis*, *Peltiphyllum peltatum* i *Bellis perennis*. Bardzo wysoką tolerancję u owiec stwierdzono odnośnie pozostałych testowanych roślin (*Lactuca sativa*, *Urtica dioica* i *Carduus pycnocephalus*).

Analizy w celu identyfikacji chemicznej biologicznie aktywnych substancji przeprowadzono na dziewięciu najefektywniejszych roślinach (*Bellis perennis*, *Gentiana asclepiadea*, *Knautia arvensis*, *Peltiphyllum peltatum*, *Quercus robur*, *Rheum nobile*, *Carduus pycnocephalus*, *Lactuca sativa* i *Urtica dioica*). Aktywność supresyjna w stosunku do pierwotniaków u roślin, takich jak *Bellis perennis* i *Gentiana asclepiadea* związana jest z dużą zawartością saponin, które odpowiadają również za ich cierpki smak. Pod względem budowy chemicznej saponiny są wielkocząsteczkowymi glikozydami, gdzie łańcuch lub łańcuchy cukrowe są połączone z fragmentem niecukrowym o budowie steroidowej lub triterpenowej (45). Aglikonowy pierścień obu gatunków roślin ma charakter triterpenowy, jednakże związki znacznie różnią się od siebie. Saponiny obecne w *Bellis perennis* wykazują właściwości hemolityczne, których brak u saponin wyizolowanych z *Gentiana asclepiadea*. Z przeprowadzonych dotychczas badań *in vitro* (fermentorowe symulatory żwacza) oraz *in vivo* wynika, że rośliny bogate w glikozydy saponinowe działają hamująco na powstawanie metanu u przeżuwaczy (14, 18). Dokładny mechanizm działania saponin pozostaje niejasny. Jest oczywiste, że powodują one obniżenie aktywności pierwotniaków żwacza (1, 24, 25, 32, 33, 48). Przypuszcza się, że ponad 25% bakterii metanogennych jest z nimi związanych (34, 35). Saponiny mogą również oddziaływać bezpośrednio na

metanogeny żwacza (8). Hess i in. (14) odnotowali 16% spadek produkcji metanu w badaniach *in vitro* nad *Sapindus saponaria*.

Przypuszcza się, że aktywność antymetanowa u takich roślin, jak *Quercus robur*, *Rheum nobile* i *Carduus pycnocephalus* związana jest z wysoką koncentracją tanin (garbników). Beauchemin i in. (5) oraz Puchala i in. (42) wykazali, że rośliny bogate w taniny hamują metanogenezę u owiec i bydła, działając bezpośrednio na bakterie metanogenne lub pośrednio wpływając na trawienie celulozy.

Antyproteolityczna aktywność *Peliphyllum peltatum* związana jest z wysoką zawartością związków fenolowych, a w szczególności garbników. Badania materiału roślinnego pod kątem właściwości spowalniających rozkład białek w żwaczu dotyczą przede wszystkim gatunków bogatych w taniny (garbniki); (2, 4, 47). Poprzez tworzenie kompleksów z polipeptydami taniny zmniejszają ich dostępność dla proteaz, a przez to spowalniają proces proteolizy. Testy *in vivo* na owcach potwierdziły, że taniny pochodzące z różnych gatunków roślin powodują spadek koncentracji NH_3 w żwaczu oraz usprawniają przepływ N przez układ pokarmowy przeżuwaczy. Jednakże ich działanie wiąże się z niekorzystnymi efektami ubocznymi, tj. spadkiem apetytu u zwierząt oraz osłabieniem wydajności innych procesów metabolicznych, w tym trawienia celulozy (47). Badania metabolitów wtórnych występujących u *Knautia arvensis* wykazały niską zawartość tanin. Antyproteolityczna aktywność tej rośliny jest związana ze związkami innymi niż garbniki, których nie udało się zidentyfikować, ale ustalono, że są one odporne na ogrzewanie i są rozpuszczalne w metanolu. Przypuszcza się, że składnik aktywny *Knautia arvensis* jest raczej selektywnym inhibitorem rozwoju bakterii niż inhibitorem proteaz, gdyż efekty jego działania są podobne do działania jonoforu monenzyny (47).

Pomimo stosowania w procesie ekstrakcji różnych rozpuszczalników, nie udało się zidentyfikować związków chemicznych występujących w *Lactuca sativa* i *Urtica dioica* odpowiedzialnych za aktywność zapobiegającą występowaniu u przeżuwaczy kwasicy (21).

Rośliny wykorzystane do testów na zwierzętach

Świerzbnica polna (*Knautia arvensis*) – gatunek byliny należący do rodziny szczeciowatych. Pospolita w Europie i na terenie całej Polski (swoim zasięgiem obejmuje niż, sięgając aż po tereny podgórskie do wysokości 1500 m n.p.m.). Porasta suche łąki, przydroża, nieużytki, obrzeża lasów oraz pola uprawne (chwast); (7). W ostatnich dziesięcioleciach obserwuje się wzrost liczby stanowisk tej rośliny. Ze względu na swoją zasadalubność świerzbnica traktowana jest jako gatunek wskaźnikowy (gleba miejsc, na których licznie występuje jest bogata w wapń), ponadto preferuje gleby luźne i gliniaste. Cechą charakterystyczną gatunku jest szorstkie owłosienie całej gęsto rozgałęziającej się łodygi. Kwiaty niebieskofioletowe, czerwone lub białe, zebrane w koszyczki, są obupłciowe lub jednopłciowe (przeważnie męskie). Morfologicznie jest to bylina dosyć zmienna, występująca w licznych formach związanych

z różnymi siedliskami bytowymi. Różnią się one przede wszystkim kształtem liści oraz owłosieniem łodygi i liści. Dawniej świerzbica była wykorzystywana w medycynie ludowej, ponieważ ziele oraz korzenie zawierają liczne związki aktywne oddziałujące na organizm zwierząt, m.in. garbniki, gorycz (cefalariozyd), kwas ursolowy, saponiny i alkaloidy (31). Testy przeprowadzone w ramach projektu RUMEN-UP w warunkach laboratoryjnych jednoznacznie wykazały supresyjne działanie świerzbnicy w stosunku do proteolitycznej aktywności mikroflory żwacza. Dodatek wysuszonego materiału roślinnego w ilości 18% zwiększał o około 60% stężenie białek rozpuszczalnych po 12 h inkubacji w porównaniu z próbami kontrolnymi. Testy *in vivo*, polegające na żywieniu owiec wysuszonymi pędami świerzbnicy, potwierdziły wpływ badanej rośliny na metabolizm białek, jednak uzyskane dodatnie efekty były niewielkie w porównaniu z grupą kontrolną, której nie podawano wysuszonych pędów (21).

Pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica*) jest dwupienną rośliną rozłogową o wysokości do 150 cm. Łodygi są czterokanciaste, a liście duże, ząbkowane, ostro zakończone. Nadziemna część rośliny pokryta jest silnie parzącymi włoskami. Pokrzywa zwyczajna kwitnie od czerwca do października. Kwiaty są drobne, oliwkowozielone, zebrane w długie kwiatostany (7). Pokrzywa jest rozpowszechniona niemal na całej kuli ziemskiej, z wyjątkiem strefy tropikalnej. W Polsce występuje pospolicie na obszarze całego kraju. Porasta wilgotne lasy liściaste, przydroża, ogrody, zarośla, pastwiska. W lecznictwie ludowym pokrzywę stosowano od dawna jako lek gojący i hamujący krwawienie. W ziele pokrzywy występują kwasy organiczne, kwasy fenolowe, flawonoidy, garbniki, karotenoidy, aminy biogenne, witaminy z grupy B, K i C. Wyciągi z pędów i korzeni tej rośliny stosuje się w zaburzeniach przemiany materii, niedokrwistości, niedoborach pierwiastków, stanach zapalnych dróg moczowych i przewodu pokarmowego, w niektórych schorzeniach skórnych oraz jako środek wzmacniający włosy. W weterynarii posiekane ziele, sproszkowane korzenie oraz nasiona pokrzywy dodaje się do pokarmów dla zwierząt gospodarskich jako środek krwiotwórczy, odtruwający, przeciwbiegunkowy, w celu szybszego przyrostu masy ciała, podniesienia mleczności krów lub poprawienia nieśności drobiu (45). W trakcie testów laboratoryjnych (w warunkach odpowiadających środowisku żwacza) przeprowadzonych w ramach projektu *Urtica dioica* zmniejszała koncentrację jonów H^+ o 23% w porównaniu z ich zawartością w próbach kontrolnych. Podstawą diety była pszenica, a pokrzywa stanowiła 10% jej składu. Rezultaty pomiarów wartości pH podczas badań *in vivo* wykazały, że 5% dodatek do pasz badanej rośliny powodował wzrost stężenia jonów H^+ w żwaczu w porównaniu ze stwierdzonym w próbach kontrolnych, jednakże przy zastosowaniu innej diety (21).

Stokrotka pospolita (*Bellis perennis*) jest bardzo niską byliną o wysokości nieco ponad 10 cm. Występuje w Europie i na terenie całej Polski. Porasta łąki, murawy, pobocza dróg, pastwiska od nizin aż do wysokości 2000 m n.p.m. Stokrotka kwitnie bardzo długo – od marca do listopada, a czasem również podczas cieplejszych i bezśnieżnych zim (31). Kwiaty są obupłciowe, przeważnie białe, czasem czerwone. Charakteryzują się dużą odpornością na zimno, bez widocznej szkody mogą znieść

temperaturę nawet do -15°C . Jest to roślina lecznicza, wykorzystywana w medycynie ludowej jako środek w chorobach górnych dróg oddechowych, zapaleniu stawów, chorobie reumatycznej, przy dolegliwościach nerek i wątroby, jako środek wzmacniający, a także zewnętrznie do kąpieli. W ziele stokrotki występują triterpenowe saponiny (apigenina), które są prawdopodobnie głównym składnikiem aktywnym oraz flawonoidy, kwasy fenolowe, olejki eteryczne i taniny (7). W weterynarii roślina ta wykorzystywana jest jako środek przeciwzapalny, przeciwskurczowy oraz przy dolegliwościach skórnych. Skrining *in vitro* w ramach projektu pozwolił na zidentyfikowanie *Bellis perennis* jako jednej z najefektywniejszych roślin wpływających na mikroflorę żwacza. Wielkość reakcji była ściśle zależna od stosowanej dawki, a 24 h testy wskazywały na trwałość aktywności supresyjnej. Dodatek do pasz wysuszonych części roślin (głównie liści) umożliwił zahamowanie aktywności proteolitycznej *Protozoa* nawet o 93% (przy stężeniu $5\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ płynu żwacza). Testy *in vivo* potwierdziły częściową „defaunację”, jednak efekty były znikome w porównaniu z występującymi w próbach kontrolnych. Warto zwrócić uwagę, że pozytywne efekty oddziaływania monenzyny, która jest standardowym suplementem diety w Ameryce Płn., rejestruje się tylko w 7% przypadków. Dlatego brak pozytywnej odpowiedzi na tym etapie badań nie powinien wykluczać *Bellis perennis* z dalszych testów (21).

Wnioski

Projekt RUMEN-UP odniósł niewątpliwy sukces i został wysoce pozytywnie oceniony przez opinię publiczną, komercyjnych partnerów projektu oraz wielu naukowców z całego świata. Zebrana kolekcja około 500 roślin oraz ich wyciągów dostarczyła olbrzymiej ilości cennych i potencjalnie użytecznych informacji. Co najmniej 23 rośliny wykazały potencjalnie korzystne działanie na metabolizm i ekosystem żwacza. Istnieje zatem możliwość wykorzystania ich w przyszłości jako suplementów diety w hodowli zwierząt gospodarskich. Informacje zebrane o pozostałych roślinach oraz ekstraktach roślinnych po upublicznieniu stanowiąc będą użyteczne źródło wiedzy dla naukowców, producentów roślin itp. Istotnym kryterium doboru roślin, wziętym pod uwagę przez konsorcjum projektu, była możliwość ich uprawy na terenie UE. Rośliny o udowodnionych najkorzystniejszych właściwościach mają szansę wzbogacić pulę roślin uprawnych.

Żadna z badanych roślin nie odniosła, jak dotychczas, sukcesu rynkowego i nie jest wykorzystywana na szerszą skalę w żywieniu zwierząt. Nie wynika to jednak z niepowodzeń naukowych projektu, lecz raczej ze zbyt krótkiego czasu jego trwania, niewystarczających testów laboratoryjnych, zbyt małej ilości testów na zwierzętach oraz wreszcie jego ograniczonego budżetu. Zebrana podczas realizacji projektu kolekcja próbek roślinnych stanowi wstęp dla kolejnego europejskiego przedsięwzięcia w ramach 6 PR o nazwie REPLACE, którego celem jest przetestowanie materiału roślinnego pod kątem wykorzystania w hodowli nie tylko przeżuwaczy, ale również trzody chlewnej, drobiu i ryb. Po ogłoszeniu wyników projekt cieszył się dużym zaintereso-

sowaniem ze strony naukowców i przedsiębiorstw w wielu krajach. Plany podobnych przedsięwzięć podjęto w Australii i Chinach. Jednym z konsultantów obu tych projektów został dr Wallace z Rowett Research Institute w Aberdeen (Wlk. Brytania), będący koordynatorem projektu RUMEN-UP.

Wielkim atutem projektu była możliwość współpracy partnerów akademickich i komercyjnych. Tak wielka skala przeprowadzonych doświadczeń możliwa była jedynie dzięki obecności oraz współdziałaniu wszystkich członków konsorcjum wykonawczego. Partnerzy projektu po jego zakończeniu podjęli decyzję o kontynuowaniu współpracy zarówno w ramach przedsięwzięć unijnych (projekt REPLACE), jak i zewnętrznych programów badawczych (21).

Mocne strony projektu:

Najmocniejszą stroną projektu okazała się ogromna ilość zgromadzonych informacji o bogatej i różnorodnej kolekcji roślin, którą zebrano w ciągu pierwszych 12 miesięcy jego trwania. Wiedza ta będzie bardzo użyteczna w przyszłości, kiedy naciski na zastąpienie dodatków chemicznych odpowiednikami naturalnymi w przemyśle żywienia zwierząt staną się większe (zwłaszcza w USA, Chinach i Rosji). Kolejnym atutem przedsięwzięcia był jego partnerski charakter. Projekt zaangażował 4 uniwersyteckie jednostki badawcze oraz 2 firmy biotechnologiczne. Możliwość współpracy dla badaczy z placówek naukowych i przedsiębiorstw komercyjnych okazała się niezwykle cennym doświadczeniem (21).

Słabe strony projektu:

Jak oceniono na zakończenie projektu, brak przezorności dotyczący procesu gromadzenia materiału roślinnego, a związany m.in. z sezonowością i trudnościami w otrzymaniu dużych ilości niektórych roślin był jedną z jego największych słabości. Doprowadziło to do wykluczenia niektórych obiecujących roślin z testów *in vivo*. Kolejną słabą stroną projektu okazał się brak korelacji wyników skriningu w warunkach laboratoryjnych z testami na zwierzętach. Wiele roślin wykazało swe pozytywne działanie w badaniach *in vitro*, jednakże efekty nie były zadowalające w przypadku analiz *in vivo*. Podczas następnego przedsięwzięcia konieczne wydaje się włączenie wstępnych testów dotyczących dawki efektywnego oddziaływania roślin (21).

W związku z brakiem wyraźnych pozytywnych efektów działania badanego materiału roślinnego na wybrane aspekty funkcjonowania układu pokarmowego zwierząt przeżuujących, zwłaszcza w trakcie analiz *in vivo*, bezpośrednie wdrożenie na rynek rezultatów projektu pod postacią produktów komercyjnych nie jest możliwe w najbliższej przyszłości. Jednakże konsorcjum wykonawcze nie wyklucza tego w nieco odleglejszym czasie. Konieczne jest przeprowadzenie dalszych testów, zwłaszcza na zwierzętach, zanim podjęta zostanie decyzja o komercjalizacji wyników projektu.

Literatura

1. Abreu A., Carulla J. E., Lascano C. E., Díaz T. E., Kreuzer M., Hess H. D.: Effects of *Sapindus saponaria* fruits on ruminal fermentation and duodenal nitrogen flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**: 1392-1400.
2. Aerts R. J., Barry T. N., McNabb W. C.: Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agric. Ecosyst. & Environ.*, 1999, **75**: 1-12.
3. Annison E. F., Bryden W. L.: Perspectives on ruminant nutrition and metabolism. *Nutr. Res. Rev.*, 1998, **11**: 173-198.
4. Barry T. N., McNabb W. C.: The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *Brit. J. Nutr.*, 1999, **81**: 263-272.
5. Beauchemin K. A., McGinn S. M., Martinez T. F., McAllister T. A.: Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.*, 2007, **85**: 1990-1996.
6. Bodas R., Lopez S., Fernandez M., Garcia-Gonzales R., Rodriguez A. B., Wallace R. J., Gonzales J. S.: *In vitro* screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2008, **145**: 245-258.
7. Broda B., Mowszowicz J.: Przewodnik do oznaczania roślin leczniczych, trujących i użytkowych. Wyd. Lekarskie PZWL, 2000.
8. Broudiscou L. P., Papon Y., Broudiscou A. F.: Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2000, **87**: 263-277.
9. Broudiscou L. P., Papon Y., Broudiscou A. F.: Effects of dry plant extracts on feed degradation and the production of rumen microbial biomass in a dual outflow fermenter. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2002, **101**: 183-189.
10. Burmańczuk A., Burmańczuk Z., Choduń M.: Praktyczne aspekty leczenia zaburzeń czynności przewodu pokarmowego na tle żywieniowym u dużych zwierząt. *Biul. Lub. Izby Lek.-Wet.*, 2006, **4**: 22-26.
11. Callaway T. R., Edrington T. S., Rychlik J. L., Genovese K. J., Poole T. L., Jung Y. S., Bischoff K. M., Anderson R. C., Nisbet D. J.: Ionophores: their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. *Curr. Iss. Intest. Microbiol.*, 2003, **4**: 43-51.
12. Cardozo P. W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C.: Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**: 3230-3236.
13. Cheng K. J., McAllister T. A., Popp J. D., Hristov A. N., Mir Z., Shin H. T.: A review of bloat in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, 1998, **76**: 1997.
14. Hess H. D., Kreuzer M., Diaz T. E., Lascano C. E., Carulla J. E., Soliva C. R., Machmuller A.: Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2003, **109**: 79-94.
15. <http://195.205.152.139/helpdesk/index.php>
16. http://cordis.europa.eu/news/focus/home_pl.html
17. <http://www.antoranz.net>
18. http://www.belspo.be/belspo/home/publ/pub_ostc/CG2131/rappCG29syn_en.pdf
19. <http://www.coalinfo.net.cn/coalbed/meeting/2203/papers/agriculture/AG053.pdf>
20. <http://www.ifad.org/lrkm/events/cops/papers/climate.pdf>
21. http://www.rowett.ac.uk/rumen_up
22. <http://www.tcfa.org/Research/Report>
23. <http://www.zfz.wp.ap.siedlce.pl/ukpok.ppt>
24. Hu W. J., Liu J. X., Ye J. A., Wu Y. M., Guo Y. Q.: Effect of tea saponin on rumen fermentation *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005, **120**: 333-339.

25. Ivan M., Koenig K. M., Teferedegne B., Newbold C. J., Entz T., Rode L. M., Ibrahim M.: Effects of the dietary *Enterolobium cyclocarpum* foliage on the population dynamics of rumen ciliate protozoa in sheep. *Small Ruminant Res.*, 2004, **52**: 81-91.
26. Johnson K. A., Johnson D. E.: Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.*, 1995, **73(8)**: 2483-2492.
27. Kamra D. N.: Rumen microbial ecosystem. *Current Sci.*, 2005, **89(1)**: 124-131.
28. Lila Z. A., Mohammed N., Kanda S., Kamada T., Itabashi H.: Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**: 3330-3336.
29. Lu C. D., Jorgensen N. A.: Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. *J. Nutrit.*, 1987, **117**: 919-927.
30. Morrison M., Mackie R. I.: Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. *Austral. J. Agricult. Res.*, 1996, **47**: 227-246.
31. Mowszowicz J.: Przewodnik do oznaczania krajowych roślin zielarskich. PWRiL, Warszawa, 1985.
32. Navas-Camacho A., Laredo M. A., Cuesta A., Ortega O., Romero M.: Evaluation of tropical trees with high or medium saponin content as dietary alternative to eliminate ciliate protozoa from the rumen. *Proc. Soc. Nutrit. Physiol.*, 1994, **3**: 204.
33. Newbold C. J., El Hassan S. M., Wang J., Ortega M. E., Wallace R. J.: Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *Brit. J. Nutrit.*, 1997, **78**: 237-249.
34. Newbold C. J., Lassalas B., Jouany J. P.: The importance of methanogenesis associated with ciliate protozoa in ruminal methane production *in vitro*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1995, **21**: 230-234.
35. Newbold C. J., Rode L. M.: Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. *Internal Congress Series*, 2006, **1293**: 138-147.
36. Ominski K. H., Wittenberg K. M.: Strategies for reducing enteric methane emissions in forage-based beef production systems. Sprawozdanie z konferencji naukowej "The science of changing climates – impact on agriculture, forestry and wetlands", Uniwersytet Alberty, 2004.
37. Patra A. K.: Nutritional management in organic livestock farming for improved ruminant health and production – an overview. *Livest. Res. Rural Develop.*, 2007, **19(3)**: <http://lrrd.org/lrrd19/3/patr19041.htm>.
38. Patra A. K., Kamra D. N., Agarwal N.: Effect of spices on rumen fermentation, methanogenesis and protozoa counts in *in vitro* gas production test. *Int. Congr. Ser.*, 2006, **1293**: 176-179.
39. Pejsak Z., Truszczyński M.: Przyczyny i konsekwencje wprowadzenia zakazu stosowania antybiotyków stymulatorów wzrostu oraz możliwości przeciwdziałania negatywnym skutkom ich wycofania. *Życie Wet.*, 2006, **81(6)**: 380-383.
40. Phillips J., Casewell M., Cox T., de Groot B., Fries Ch., Jones R., Nightingale Ch., Preston R., Waddell J.: Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2004, **53**: 28-52.
41. Pinkiewicz E.: Niestrawność kwaśna przeżuwaczy w świetle badań krajowych w ostatnim pięcioleciu. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 1974, 165.
42. Puchala R., Min B. R., Goetsch A. L., Sahlu T.: The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J. Anim. Sci.*, 2005, **83**: 182-186.
43. Reilly J., Prinn R., Harnisch J., Fitzmaurice J., Jacoby H., Kicklighter D., Melillo J., Stone P., Solokov A., Wang C.: Multi-gas assessment of the Kyoto Protocol. *Nature*, 1999, **401**: 549-555.
44. Rochfort S., Parker J. A., Dunshea F. R.: Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*, 2008, **69**: 299-322.

45. Sadowska A., Ruszkowska J., Rumowska M., Obidowska G., Łata B.: Rośliny lecznicze w weterynarii i zootechnice. Wyd. SGGW, 2003, **48-55**: 175-177.
46. Santos F.A.P., Santos J.E.P., Theurer C.B., Huber J.T.: Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review. J. Dairy Sci., 1998, **81**: 3182-3213.
47. Selje N., Hoffman E.M., Muetzel S., Negrat R., Wallace R.J., Becker K.: Results of a screening programme to identify plants or plant extracts that inhibit ruminal protein degradation. Brit. J. Nutrit., 2007, **98**: 45-53.
48. Teferedegne B.: New perspectives on the use of tropical plants to improve ruminant nutrition. Proc. Nutrit. Soc., 2000, **59**: 209-214.
49. Truszczyński M., Pejsak Z.: Wpływ stosowania u zwierząt antybiotyków na lekoooporność bakterii chorobotwórczych dla człowieka. Med. Wet., 2006, **62(12)**: 1339-1343.
50. Van Nevel C.J., Demeyer D.I.: Control of rumen methanogenesis. Environ. Monit. Assess., 1996, 77-101.
51. Wallace R.J.: Ruminal microbial metabolism of peptides and amino acids. J. Nutrit., 1996, **126**: 1326-1334.
52. Wallace R.J.: Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proc. Nutrit. Soc., 2004, **63**: 621-629.
53. Wallace R.J.: Plant extracts for sustainable livestock production. Feed Mix, 2006, **14(4)**: 25-27.
54. Wallace R.J., Arthaud L., Newbold C.J.: Influence of *Yucca shidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Appl. Environ. Microbiol., 1994, **60**: 1762-1767.
55. Williams A.G., Coleman A.G.: The rumen *Protozoa*. Springer-Verlag, New York, 1992.
56. Zawadzki W., Czerski A., Gnus J., Hauzer W., Rudnicki J., Jasiński K.: Niestrawność kwaśna – choroba metaboliczna przeżuwaczy. Acta Sci. Pol., Med. Vet., 2007, **6(4)**: 3-13.

Adres do korespondencji:

mgr Dariusz Jędrejek
Zakład Biochemii i Jakości Pólów
ul. Czartoryskich 8
24-100 Puławy
tel.: (81) 886-34-21
e-mail: djedrejek@iung.pulawy.pl

Bruno Stefanon¹, Geert Bruggeman², Jürgen Zentek³, Anneluise Mader³

¹*Universita Degli Studi Di Udine, Italy*

²*Nutrition Sciences N.V., 9031 Drongen, Belgium*

³*Freie Universität Berlin, Germany*

ZWIĄZKI FITOGENICZNE W PASZACH ICH ETYKIETOWANIE I MOŻLIWOŚCI ŚLEDZENIA*

Wstęp

W środowisku naturalnym zwierzęta rzadko żyją w dużym zagęszczeniu, ale przy intensywnej produkcji zwierzęcej wysoka ich koncentracja stanowi czynnik ryzyka wystąpienia syndromów związanych ze stresem i w konsekwencji sprzyja rozprzestrzenianiu się chorób zakaźnych. Choroby te wykazują wieloczynnikową zależność i są wynikiem złożonego zestawu powiązanych przyczynowo czynników, takich jak czynniki drobnoustrojowe, zła organizacja produkcji, błędy rolnika, niedostateczna opieka i niewłaściwe warunki bytowe zwierząt (24). Często nieinfekcyjne czynniki są jedną z głównych przyczyn chorób zakaźnych, jako że długotrwałe warunki stresowe prowadzą do obniżenia odporności i ułatwiają atak bakterii na żywiciela.

Wynalezienie antybiotyków doprowadziło do wprowadzenia opieki weterynaryjnej opartej głównie na ich stosowaniu, a w konsekwencji zaprzestaniu stosowania tradycyjnych zabiegów weterynaryjnych. Jednakże wraz z nasileniem stosowania antybiotyków wzrastało ryzyko wykształcenia się na nie odporności mikroorganizmów. W związku z ryzykiem wystąpienia odporności na antybiotyki i dla poprawienia bezpieczeństwa żywności stosowanie antybiotykowych stymulatorów wzrostu zostało zakazane przez Wspólnotę Europejską począwszy od stycznia 2006 r.

Nowe cele i strategie zastąpienia antybiotykowych promotorów wzrostu polegają na użyciu w hodowli takich alternatywnych metod, które co najmniej utrzymują wydajność produkcji zwierzęcej, a są to, m.in., ekstensywne lub ekologiczne rolnictwo, wybór zwierząt odpornych na stres i choroby, szczepienia, terapia genowa, a także medycyna alternatywna (fitoterapia) i fitogeniczne związki wykorzystywane jako dodatki paszowe. Zapewnione naukowcom wsparcie finansowe ze strony Wspólnoty

* Opracowanie stanowi tłumaczenie tekstu „Labelling and traceability of feed by focussing on phyto-genic compounds and genetically modified plants”, będącego częścią składową raportu końcowego projektu Feed-Seg, realizowanego w 6 Programie Ramowym Unii Europejskiej (<http://www.feed-seg.net/>)
Tłumaczenie mgr Agata Szczepaniak.

Europejskiej, zmierzające do intensyfikacji badań nad związkami fitogenicznymi, spowodowało gwałtowny wzrost liczby publikacji na ten temat.

Leki uzyskiwane z roślin są dobrze znane w medycynie ogólnej, jak również w medycynie weterynaryjnej. Ich stosowanie wzrosło w ostatniej dekadzie, a rośliny zielarskie, opisane w farmakopei, są coraz częściej stosowane również jako dodatki do pasz. Produkty pochodzenia roślinnego cechują się szerokim zakresem oddziaływań na organizmy zwierzęce, poczynając od działania polegającego na poprawieniu zdrowotności zwierząt (aktywność antyoksydacyjna i antybiotykowa), zastosowaniu jako technologicznych polepszaczy (konserwanty, barwniki) lub wykorzystaniu innych funkcjonalnych własności niepowiązanych ze zdrowiem (stymulatory wzrostu, czynniki łagodzące).

Związki fitogeniczne, nazywane również fitobiotykami, fitoterapeutykami, związkami naturalnymi lub substancjami roślinnymi, to produkty pochodzenia roślinnego, które są dodawane do pożywienia zwierząt, w celu poprawienia efektywności produkcyjnej zwierząt gospodarskich. W związku z dużą liczbą produktów pochodzenia roślinnego, które są stosowane w żywieniu zwierząt, konieczne jest zdefiniowanie dokładnych granic pomiędzy istniejącymi preparatami wykorzystywanymi w medycynie weterynaryjnej a produktami, które nie są lekami, ale mogą być wykorzystane w paszach (np. związki fitogeniczne użyte w dodatkach paszowych).

Substancje fitogeniczne stosowane są w dodatkach paszowych w postaci suszu różnych gatunków ziół, przypraw lub ekstraktów ziół z nich wyodrębnionych (np. olejki eteryczne). Wykorzystanie roślinnych dodatków paszowych podlega jednak restrykcyjnym regulacjom prawnym. Substancje te są generalnie uznawane za produkty aplikowane przez farmera zdrowym zwierzętom w celach odżywczych lub poprawiających ich dobrostan, w przeciwieństwie do leków weterynaryjnych stosowanych w ograniczonym okresie czasu (70). Zgodnie z regulacją Unii Europejskiej dodatki paszowe muszą nosić etykiety umożliwiające śledzenie procesu powstawania i stwierdzające skuteczność efektów odżywczych, w tym brak możliwych interakcji z innymi dodatkami paszowymi. Muszą być jednak bezpieczne dla zwierząt, użytkowników, konsumentów produktów pochodzenia zwierzęcego i dla środowiska (Regulacja 1831/2003/EC). Trudności z prawodawstwem dotyczącym dodatków paszowych mogą pojawiać się zwłaszcza przy fitogenicznych związkach stosowanych jako dodatki paszowe poprawiające zdrowotność albo w przypadku substancji pochodzenia roślinnego, podejrzewanych o regulowanie metabolizmu (np. fitohormonalny sposób działania).

Obecne opracowanie dotyczy produktów pochodzenia roślinnego, ich terminologii w prawodawstwie europejskim, a ponadto związków fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe w zakresie udowodnionego wpływu na zwierzęta, prawodawstwa dotyczącego dodatków paszowych, ich etykietowania i możliwości śledzenia, jak również wskazania głównych kwestii, które nie są uregulowane bądź są „przeregulowane” w prawie oraz wytyczenia głównych zadań na przyszłość.

Definicje naturalnych produktów roślinnych

Na rynku używane są różne terminy i definicje dotyczące naturalnych produktów roślinnych, takich jak fitoterapeutyki, produkty zielarskie, pasza funkcjonalna, nutraceutyki, suplementy czy dodatki paszowe. Wynika to z faktu, że związki pochodzenia roślinnego pokrywają szeroki zakres aktywności biologicznej (np. aktywność antybiotykowa, działanie przeciwzapalne, modulujące odporność, stymulujące pracę serca, antymalaryczne, przeciwmiażdżycowe), a niektóre z nich mogą być zawarte w diecie jako technologiczny polepszacz, antyoksydant, konserwant, barwnik, polepszacz właściwości smakowych albo inne, posiadające niepowiązane ze zdrowiem funkcjonalne właściwości (stymulatory wzrostu, antystresowe, czynniki łagodzące). Często te same rośliny lub otrzymane z nich ekstrakty wykazują więcej niż jedną z wymienionych właściwości (np. terpeny, karotenoidy, olejki eteryczne) i ich zawartość w paszach wymaga właściwego wyszczególnienia. Bazując na różnorodności produktów pochodzenia roślinnego i rozmaitych możliwościach ich wykorzystania, należy zdefiniować ich kategorie.

Wiele jest czynników, które mogą wpływać na koncentrację molekuł w roślinach i ekstraktach roślinnych. Zawartość aktywnych związków (np. alkaloidów) w danej roślinie zależy od wzrostowych czynników środowiska, takich jak temperatura czy dostępność wody, jak również od odmiany, genotypu itp. Ponadto związki aktywne występują w mieszaninach strukturalnie różnych molekuł i niektóre z nich mogą mieć negatywne skutki dla zdrowia ludzi i zwierząt. Ryzyko zanieczyszczenia ziół podczas zbierania i przetwarzania podobnymi, ale toksycznymi gatunkami botanicznymi, bakteriami, grzybami i owadami, stwarza problemy ze sformułowaniem poprawnej i bezpiecznej terapii opartej na wykorzystaniu fitogenów. Czynniki, które gwarantują farmakologiczną jakość preparatów botanicznych to poprawna identyfikacja gatunku, części rośliny, środowisko, warunki zbierania i przechowywania, nieskażony surowiec i przetwarzanie. Żeby zagwarantować jakość produktu musi on być produkowany w standaryzowanych warunkach i sprawdzany przez certyfikowane laboratoria.

Różnica pomiędzy suplementami żywności a produktami medycznymi dla ludzi jest regulowana Dyrektywą 2002/46/EC i 2001/83, z poprawkami wniesionymi odpowiednio przez Dyrektywę 2004/27. Chociaż pojęciowa różnica pomiędzy preparatami stosowanymi jako leki lub jako suplement diety jest taka, że pierwsze są przeznaczone do leczenia lub zapobiegania chorobom, a drugie są podawane, aby pobudzać lub utrzymywać procesy fizjologiczne bądź zdrowie, to istnieje pewien stopień pokrywania się terminologii (tab. 1).

Definicje prawne dodatków paszowych i leczniczych produktów weterynaryjnych są ustalane odpowiednio przez Regulację EC 1831/2003 i Dyrektywę 2001/82/EC, (tab. 2). W tym przypadku wszystkie substancje, które ingerują w fizjologię zwierząt, zaliczane są do produktów medycznych, mimo iż punkty d) i f) artykułu 5 wskazują, że dodatki paszowe mogą być stosowane do zaspokojenia potrzeb odżywczych i do kontroli wydajności produkcyjnej i dobrostanu zwierząt.

Tabela 1

Definicja prawna suplementu żywności i leku dla ludzi

Definicja suplementu żywności (Dyrektywa 2002/46/EEC)	Definicja leku (Dyrektywa 2001/83, z poprawkami wniesionymi przez Dyrektywę 2004/27)
Środek spożywczy, którego celem jest uzupełnienie normalnej diety , będący skoncentrowanym źródłem witamin lub składników mineralnych albo innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny , pojedynczy lub złożony, wprowadzany do obrotu w formie umożliwiającej dawkowanie, w postaci: kapsułek, pastylek, tabletek, pigułek i innej podobnej formie, jak saszetki z proszkiem, ampułki z płynem, butelki z kroplomierzem i innych podobnych formach płynu lub proszku, przeznaczonych do spożywania w małych, odmierzonych ilościach jednostkowych.	Każda substancja albo mieszanina substancji, posiadających właściwości lecznicze albo zapobiegające chorobom u ludzi ; lub Każda substancja albo mieszanina substancji, która może być stosowana lub podawana ludziom, w celu przywrócenia, poprawienia lub modyfikowania funkcji fizjologicznych przez wywieranie działania farmakologicznego, immunologicznego lub metabolicznego bądź w celu postawienia diagnozy medycznej.

Tabela 2

Definicja prawna dodatku paszowego i produktu weterynaryjnego dla zwierząt

Definicja dodatku paszowego (Regulacja EC 1831/2003)	Definicja medycznego produktu weterynaryjnego (Dyrektywa 2001/82/EC)
„Dodatki paszowe” to substancje, mikroorganizmy lub preparaty inne niż pasze i premiksy, które są celowo dodawane do paszy lub wody pitnej by pełniły, w szczególności, jedną lub więcej funkcji wymienionych w artykule 5 (3). 3. Dodatek paszowy musi: a) korzystnie wpływać na cechy paszy; b) korzystnie wpływać na cechy środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego; c) korzystnie wpływać na ubarwienie ozdobnych ryb lub ptaków; d) zaspokajać potrzeby żywieniowe zwierząt; e) mieć korzystne skutki dla środowiska w wyniku produkcji zwierzęcej; f) korzystnie wpływać na hodowlę, cechy użytkowe lub dobrostan zwierząt, szczególnie wskutek wpływu na florę żołądkowo-jelitową lub na strawność paszy; lub g) mieć działanie kokcydiostatyczne lub histomonostatyczne.	Każda substancja lub mieszanina substancji stosowanych do leczenia lub zapobiegania chorobom u zwierząt. Każda substancja lub grupa substancji, które mogą być podawane zwierzętom w celu postawienia diagnozy weterynaryjnej lub w celu przywrócenia, poprawienia lub modyfikowania funkcji fizjologicznych u zwierząt jest również uważana za weterynaryjny produkt medyczny.

Fitogeniczne związki stosowane jako dodatki paszowe

Rośliny i zioła nie tylko zawierają szeroką gamę związków chemicznych (stosowanych w terapiach medycznych), ale także stanowią surowiec wyjściowy do otrzymywania półsyntetycznych leków. Produkty pochodzenia roślinnego, których nie używa się do leczenia weterynaryjnego, są powszechnie stosowane jako dodatki paszowe.

Dodatki paszowe to produkty stosowane w żywieniu zwierząt w celu poprawy jakości paszy i jakości żywności pochodzenia zwierzęcego lub w celu poprawienia wydajności produkcji i dobrostanu zwierząt, np. zapewniając lepszą strawność składników paszowych. Dodatki paszowe nie mogą być wprowadzane na rynek bez odpowiedniego zezwolenia popartego oceną naukową, wykazującą, że dodatki te nie mają szkodliwych skutków dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz środowiska.

Związki fitogeniczne stosowane jako dodatki paszowe (PFA) są produktami pochodzenia roślinnego, włączonymi do diety w celu poprawienia wydajności produkcji zwierzęcej poprzez ulepszenie właściwości paszy, a także poprawę jakości żywności pochodzącej od tych zwierząt. Definicja ta jest stosowana dla celów użytkowych, ale inne terminy są również powszechnie stosowane do klasyfikacji ogromnej różnorodności związków fitogenicznych, głównie w odniesieniu do ich pochodzenia i sposobu przetwarzania, np. zioła, przyprawy, olejki eteryczne, oleożywice. Wskutek znaczącego wzrostu liczby publikacji naukowych od 2000 roku, zainteresowanie PFA wzrosło. Publikacje te dotyczyły zwłaszcza stosowania dodatków paszowych w żywieniu świń i drobiu, ale także (w mniejszej liczbie) przeżuwaczy i zwierząt domowych (70). Badania nad tymi zagadnieniami stały się priorytetowymi w Unii Europejskiej od 1999 r., kiedy to pojawiły się pierwsze dyskusje nad koniecznością zakazu stosowania większości antybiotykowych dodatków paszowych, który to zakaz został wprowadzony w 2006 roku. Prawodawstwo musiało być zmienione z powodu wystąpienia ryzyka wytwarzania się odporności na antybiotyki u bakterii chorobotwórczych.

Badania naukowe nad dodatkami paszowymi są stosunkowo nowym tematem i dlatego wiedza dotycząca sposobu ich działania i stosowania jest wciąż ograniczona. Większość informacji o związkach fitogenicznych bazuje na wiedzy tradycyjnej (ludowej) lub medycznej. Były one także wdrożone do stosowania w żywieniu zwierząt, ale ich skuteczność wciąż nie jest dowiedziona naukowo. Dalsze komplikacje powstały z powodu różnego pochodzenia botanicznego roślin, ich składu chemicznego oraz sposobu przetwarzania. Technika przetwarzania modyfikuje liczbę substancji aktywnych w produkcie końcowym. Rośliny produkują ogromnie różnorodne metabolity wtórne, jako naturalną ochronę przeciw atakom mikrobów i insektów. Niektóre z tych związków są toksyczne także dla zwierząt (68). Większość badań dotyczących PFA obejmuje mieszaniny różnych związków aktywnych i skupia się na produktywności zwierząt zamiast na wykazywaniu określonych działań fizjologicznych. Niektóre PFA są znane jako związki wykazujące aktywność przeciwko mikroorganizmom i wirusom (29, 53, 64) i z tego powodu zostały sklasyfikowane jako substancje alternatywne dla stosowania antybiotyków u młodych zwierząt i ptaków (40, 45, 52, 72).

Skuteczność związków fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe w żywieniu zwierząt gospodarskich. Rośliny lecznicze szeroko stosowane w fitoterapii wykazują korzystne działanie w szeregu problemów zdrowotnych, ale czy są również skuteczne w leczeniu chorób lub zapobieganiu im u zwierząt? W medycynie niektóre rośliny lecznicze stosowane są uniwersalnie, niektóre są stosowane lokalnie, a jeszcze inne są szkodliwe. Ziołarze oferują szeroki zestaw tradycyjnych produktów fitogenicznych, stosowanych w różnych lekkich zaburzeniach zdrowia, ale często bez naukowego udowodnienia ich skuteczności. W medycynie bazującej na efektywności (MBE), z powodu niewielkiej liczby studiów klinicznych (ukierunkowanych, losowych itp.), występują pewne trudności z dopuszczaniem do stosowania związków fitogenicznych i leków alternatywnych (np. tradycyjna medycyna chińska – TCM). Co więcej, w literaturze odnotowano informacje o interakcjach pomiędzy niektórymi substancjami roślinnymi i lekami stosowanymi w terapii chorób przewlekłych (antykoagulanty, antydiabetyki, antydepresanty) i pomiędzy ekstraktami roślinnymi a składnikami diety. W latach 1990–1994 w bazie danych MedLine CD-ROM można było znaleźć około 100 prac opublikowanych na temat skuteczności tradycyjnych środków leczniczych, potwierdzonych w testach laboratoryjnych i badaniach klinicznych (5). Barsh (5) donosi o tradycyjnych lekach, dla których stwierdzono efektywność w 23 zastosowaniach medycznych, a przy ocenie których uwzględniono zarówno dane literaturowe, jak i przekazy ludowe. Autor ten dostarcza także licznych przykładów studiów pokazujących wysoki poziom skuteczności wszystkich roślin wymienionych w farmakopei.

Z powodu niedostatku danych naukowych dotyczących PFA nieznane są zarówno sposoby ich działania, jak i możliwości zastosowania. Generalnie PFA uważane są za substancje o zróżnicowanym spektrum oddziaływania, np. modulujące odporność, działające przeciwzapalnie i jako stymulatory metaboliczne, środki moczopędne (diuretyki), stymulujące pracę serca, środki znieczulające, niszczące mikroorganizmy, stabilizujące mikroflorę (redukujące biegunkę), poprawiające strawność paszy, przyspieszające wzrost, poprawiające właściwości smakowe i środki obniżające utlenianie lipidów mięsa.

Liczne badania wskazujące na aktywność przeciwutleniającą i przeciwmikrobową PFA przeprowadzone zostały w warunkach *in vitro*, a dane eksperymentalne uzyskane w warunkach *in vivo* są ograniczone. Odnosi się to również do przypuszczenia, że związki fitogeniczne mogą swoiście stymulować funkcje immunologiczne, wzmacniać działanie enzymów trawiennych i absorpcję składników odżywczych oraz poprawiać smak. Nieliczne badania porównawcze PFA z antybiotykami i kwasami organicznymi wskazują na ich podobny wpływ na jelita, taki jak zmniejszenie liczby kolonii bakterii, zmniejszenie zawartości produktów fermentacji (amoniak i biogenne aminy), ograniczenie działania systemu limfatycznego związanego z jelitami i poprawa trawienia w żwaczu, wskazują na ogólną poprawę równowagi jelitowej. Ponadto niektóre związki fitogeniczne wydają się pobudzać wydzielanie soków trawiennych.

Podsumowując, zgromadzone dowody wskazują, że PFA można dołączyć do zestawu nieantybiotykowych polepszaczy wzrostu, takich jak kwasy organiczne i pro-

biotyki, które mogą mieć zastosowanie w żywieniu zwierząt gospodarskich. Z powodu braku danych potwierdzonych naukowo oraz braku systematycznego gromadzenia danych o związkach fitogenicznych w żywieniu zwierząt, dotychczasowa wiedza może prowadzić do wyciągnięcia błędnych wniosków odnośnie wpływu PFA na różne gatunki zwierząt, a w następstwie na ludzi spożywających wytworzone z nich produkty. Dlatego poniżej podsumowano wiedzę na temat PFA i udowodnionych modeli ich działania, skuteczności i bezpieczeństwa stosowania w żywieniu zwierząt gospodarskich.

Antyoksydacyjne właściwości związków fitogenicznych. Właściwości przeciwutleniające (*in vitro*) są dobrze opisane dla ziół i przypraw, ale część substancji aktywnych o silnym aromacie, ostrym lub cierpkim smaku może ograniczać ich zastosowanie w karmieniu zwierząt. Na przykład produkty z rozmarynu lekarskiego (terpeny fenolowe, takie jak kwas rozmarynowy i rosmarol), tymianku pospolitego, oregano (monoterpeny, tymol i karwakrol), imbiru, anyżu, zielonej i czerwonej papryki, jak również z roślin bogatych we flawonoidy (np. zielona herbata) i antocyjany (np. wiele owoców) wykazują właściwości przeciwutleniające i są przedmiotem zainteresowania (17, 18, 20, 47, 61, 65, 69).

Dla różnych produktów pochodzenia zwierzęcego, takich jak mięso drobiowe, wieprzowe i królicze oraz jaja, można wykazać, że związki fenolowe występujące w ziołach mogą poprawić ich stabilność oksydacyjną (6, 8, 13, 27, 30, 31, 37, 51, 59, 71). Dla osłony lipidów występujących w paszach przed zmianami oksydacyjnymi do diety zwierząt dodawane są zwykle przeciwutleniacze (np. α -tokoferole). Wciąż jednak nie jest wiadomo czy fitogeniczne przeciwutleniacze są w stanie zastąpić powszechnie stosowane przeciwutleniacze syntetyczne.

Immunostymulacyjne właściwości związków fitogenicznych. Niektóre badania wskazują (25, 26), że w przypadku przeżuwaczy wiele związków pochodzenia roślinnego w warunkach *in vitro* wykazuje działanie przeciwzapalne, hamując migrację komórek neutrofilnych. Badania odnoszące się do zwierząt jednożołądkowych są nieliczne. Na przykład, zastosowanie *Echinacea purpurea* w żywieniu świń spowodowało wzrost odporności po szczepieniu przeciw chorobie wywołanej przez *Erysipelothrix insidiosa*, a następnie nieznaczną poprawę współczynnika konwersji paszy, ale przy tym znacznie zmniejszyło spożycie paszy u brojlerów i kur niosek (42, 57). Jednakże, rozważając złożoność systemu immunologicznego, potrzeba więcej dowodów i badań klinicznych, aby oszacować bioaktywność związków pochodzenia roślinnego u zwierząt.

Destrukcyjne działanie związków fitogenicznych na mikroorganizmy. Zioła i przyprawy są znane z ich aktywności przeciwmikrobowej w warunkach *in vitro*, w tym przeciwgrzybowej, podczas gdy substancje aktywne są najbardziej znane z powodu właściwości przeciwutleniających (tymianek, oregano, szalwia), ze wzglę-

du na zawartość związków fenolowych jako podstawowych substancji aktywnych (1, 14, 22, 33, 50, 62, 63). Silną aktywność antibakteryjną wykazują również różnorodne substancje niefenolowe, np. limonene (14).

Badania przeprowadzone na brojlerach w warunkach *in vivo* wykazały niszczącą mikroorganizmy skuteczność olejków eterycznych przeciwko *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens*, natomiast u świń, w kilku przeprowadzonych dotychczas badaniach, nie wykazano wpływu związków fitogenicznych na liczebność specyficznych patogenów (32, 35, 36, 38, 46).

W literaturze można znaleźć kilka, ale wciąż zbyt niewielkich, raportów wskazujących, że fitogeniczne dodatki paszowe mogą poprawiać drobnoustrojową higienę tusz zwierzęcych. Wykazano korzystny wpływ olejków eterycznych uzyskanych z oregano na skażenie tuszy brojlerów takimi bakteriami, jak np. salmonella, jak również specyficznymi patogenami (2).

Poprawa smaku i aromatu dzięki związkom fitogenicznym. Dodatki paszowe (PFA) są uznawane za związki poprawiające smak i aromat paszy, a zatem zwiększające wydajność produkcji, jednak pomimo licznych raportów o wzroście spożycia paszy liczba dokładnych badań jest wciąż ograniczona. Badania smakowitości wykazały, że wraz ze wzrostem dawek maleje poczucie smaku u świń karmionych paszą zawierającą olejki eteryczne z kopru włoskiego, kminku, tymianku i ziela oregano (39, 60). Zioła, przyprawy i ich ekstrakty znane są z korzystnego wpływu na układ trawienny, takiego jak działanie przeczyszczające i rozkurczowe, zapobieganie wzdęciom, stymulacja wydzielania soków trawiennych (np. ślina, żółć, śluz), wzmacnianie działania enzymów i hamowanie jelitowego wytwarzania amoniaku (16, 54). Do obniżenia zanieczyszczenia powietrza w pomieszczeniach gospodarskich (amoniak), które uważa się za ważny czynnik zdrowotny (zwłaszcza dla młodych zwierząt), proponuje się wykorzystanie saponin roślinnych (28).

Fitogeniczne dodatki paszowe przyspieszające wzrost zwierząt. Z powodu całkowitego zakazu stosowania antybiotyków jako promotorów wzrostu w Unii Europejskiej, PFA znajdują się w centrum zainteresowania żywieniowców. Kontrola patogenów, będąca jedną z podstawowych funkcji dodatków paszowych, w połączeniu ze zdolnością do przyspieszania wzrostu, wynika ze stabilizacji higieny pasz (np. kwasy organiczne), a nawet bardziej z korzystnego wpływu na mikroflorę przewodu pokarmowego (56), zwłaszcza w fazach krytycznych (np. odsadzanie młodych zwierząt od matki), które charakteryzuje wysoka podatność na zaburzenia trawienia. W efekcie uzyskuje się bardziej ustabilizowane zdrowotnie zwierzęta, a ich przewód pokarmowy jest mniej narażony na drobnoustrojowe toksyny i inne niepożądane metabolity, takie jak amoniak i aminy biogenne (23). W wyniku tego dodatki paszowe przyspieszające wzrost, odciażają system immunologiczny zwierząt w sytuacjach krytycznych i zwiększają jelitową przyswajalność podstawowych składników odżywczych.

Przykłady wyników badań w odniesieniu do PFA wskazują na działania przyspieszające wzrost, ale dostępne dane są wciąż niewystarczające, aby pozwoliły oszacować ten potencjał, systematycznie odnosząc go do pochodzenia botanicznego i do zawartości składników aktywnych w roślinach. Na przykład, dane prezentowane dla świń różnią się znacznie. Niektóre doniesienia mówią o obniżeniu wydajności produkcji zwierzęcej, podczas gdy inne wskazują na poprawę podobną do tej obserwowanej przy popularnych promotorach wzrostu, takich jak antybiotyki, kwasy organiczne i probiotyki (32, 43, 44, 48, 49, 55, 60, 67). Dla drobiu większość wyników badań wskazuje na zmniejszenie spożycia pasz przy niezmiennym przyroście masy ciała, wynikającym z lepszej przemiany paszy, wtedy gdy dodawane są do niej związki fitogeniczne (3, 6, 15, 27, 34, 41, 58).

Prawodawstwo odnoszące się do ziół stosowanych w paszach

Bezpieczeństwo pasz stanowi istotną część bezpieczeństwa żywności. Podmioty działające na rynku pasz i żywności muszą rozpoznać swoją odpowiedzialność i przezwyciężyć nieufność partnerów w łańcuchu produkcyjnym. W sektorze paszowym obserwuje się bieżące wdrażanie kodeksów postępowania, ale ciągle brakuje harmonizacji.

We Wspólnocie Europejskiej substancje pochodzenia roślinnego, które stosowane są w żywieniu ludzi lub zwierząt bazują na sposobie podawania, przeznaczeniu (celu) i dawkowaniu. Substancje te mogą być sklasyfikowane w kategoriach, takich jak: „żywność” lub „pasza”, „suplementy” lub „dodatki”, „leki dla ludzi” lub „leki weterynaryjne” i/lub „kosmetyki”. W związku z liczbą produktów pochodzenia roślinnego, które stosowane są w żywieniu zwierząt w różnych aspektach medycznych, takich jak poprawa samopoczucia zwierząt i wydajności, konieczne jest zdefiniowanie dokładnych granic pomiędzy lekami a produktami, które mogą być wykorzystane w paszach, np. związki fitogeniczne użyte w dodatkach paszowych. Dodatki paszowe to produkty stosowane w żywieniu zwierząt w celu poprawy jakości paszy i jakości żywności pochodzenia zwierzęcego lub poprawiające wydajność i zdrowie zwierząt, np. zapewniając lepszą strawność pasz. Zazwyczaj są one uznawane za produkty aplikowane przez farmera zdrowym zwierzętom w celach odżywczych na ustalonych zasadach (np. podczas całego okresu produkcji poszczególnych gatunków zwierząt), w przeciwieństwie do leków weterynaryjnych (aplikowanych w celach profilaktycznych i w leczeniu zdiagnozowanych problemów zdrowotnych, pod kontrolą weterynarza, przez ograniczony okres czasu). Ponadto muszą posiadać określoną tożsamość i możliwość śledzenia produktu handlowego oraz skuteczność stwierdzonych efektów odżywczych. Dodatki paszowe nie mogą być umieszczone na rynku bez uprawnienia nadanego stosownie do oceny naukowej, pokazującej, że dodatek nie ma szkodliwego wpływu, włączając brak możliwych interakcji z innymi dodatkami paszowymi, jak również zapewnia bezpieczeństwo zwierzętom (np. tolerancja), użytkownikom (np. rolnikowi, pracownikom zakładu produkującego pasze), a także konsumentom produktów pochodzenia zwierzęcego oraz środowisku.

Definicje i prawodawstwo dotyczące fitoterapeutyków i ziół. Fitoterapeutyki są to leki pochodzenia roślinnego i leki tradycyjne, które zarejestrowane są w Oficjalnej Farmakopei i uważane oficjalnie za lekarstwa. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) definiuje fitoterapeutyki jako lekarstwa, które zawierają aktywne składniki pochodzenia roślinnego. Medyczne zastosowanie produktów roślinnych regulowane jest przez Dyrektywę Tradycyjnych Ziołowych Produktów Medycznych (Directive 2004/24/EC), która wnosi poprawki do Dyrektywy 2001/83/EC.

Prawodawstwo wspólnotowe zezwala na sprzedaż fitoterapeutyków tylko wtedy, gdy ich bezpieczeństwo i skuteczność są udowodnione, wytwarzanie przebiega według wysokich standardów jakościowych, opakowanie i etykietowanie respektuje aktualne regulacje EU, a także kiedy produkt jest polecany i rozprowadzany przez kwalifikowane służby medyczne (lekarzy i farmaceutów). W szczególności etykieta powinna informować o składzie chemicznym, podanym w postaci listy aktywnych fitoterapeutyków, formie farmaceutycznej (proszki, zastrzyki, suche ekstrakty, naturalne barwniki, glicerole), a dla produktów pochodzących z suchych ekstraktów powinna zawierać sposób odmierzenia lub ilość najważniejszego składnika aktywnego.

Aktywne produkty pochodzenia roślinnego i fitoterapeutyki mogą być także sprzedawane jako żywność i suplementy diety stosowane w celach poprawiających zdrowie. Wszystkie te produkty należą wówczas do żywności, a nie do farmaceutyków, i często stosowane są do leczenia, pomimo braku danych na temat ich bezpieczeństwa, jakości i skuteczności.

Stosowanie ziół jako żywności regulowane jest przez Europejską Dyrektywę (EC) Nr 178/2002. Zioła stosowane jako żywność podlegają również Dyrektywie Rady 2002/46/EC, która ma także na celu utworzenie systematycznej listy suplementów pochodzenia roślinnego, wykazujących działanie odżywcze lub fizjologiczne, dzięki której podniesie się bezpieczeństwo konsumentów.

Specyfikacja dotycząca ziół określa ogólne wymagania przy stosowaniu produktów roślinnych jako suplementów diety. W specyfikacji produktu przedstawione są wymagania dotyczące poszczególnego wyrobu. Klasyfikacja składników może być dokonywana poprzez zawartość fitozwiązków lub przez procentową zawartość roślin i ich części. Producenci muszą mieć pewność, że lista składników jest dokładna,

a składniki są bezpieczne. Jako że producenci nie zawsze są świadomi jakości surowców używanych do wytwarzania suplementów diety, należy stosować kontrolę jakości, aby móc ocenić czystość i biobezpieczeństwo składników.

Uzyskiwanie uprawnień i stosowanie dodatków paszowych. Zarządzenie 1831/2003/EC reguluje stosowanie dodatków w żywieniu zwierząt i przedstawia wymogi dotyczące uzyskania uprawnień, marketingu i etykietowania dodatków paszowych. Zgodnie z tym zarządzeniem, tylko dodatki, które przeszły procedury dopuszczające je do obrotu, mogą być umieszczone na rynku. Uprawnienia przyznawane są określonym produktom przydatnym w żywieniu poszczególnych gatunków zwierząt, przy określonych warunkach stosowania i na okres 10 lat.

Żeby ułatwić procedurę oceny, dodatki sklasyfikowane są w następujących kategoriach:

- dodatki technologiczne (np. środki konserwujące, przeciwutleniacze, emulgatory, środki utrwalające – stabilizatory, regulatory kwasowości),
- dodatki sensoryczne (np. smakowe, barwniki),
- dodatki odżywcze (np. witaminy, aminokwasy, mikroelementy),
- dodatki zootechniczne (np. poprawiające strawność, stabilizatory flory jelita),
- kokcydiostatyki i histomonostatyki.

Uwzględniając tę klasyfikację, prawodawstwo Komisji Europejskiej nie rozróżnia dodatków paszowych (PFA) bazujących na materiale roślinnym czy zwierzęcym. Zgodnie z tym PFA musi odpowiadać jednej lub więcej z wymienionych kategorii. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) odpowiedzialny jest za przeprowadzenie oceny dostarczonych danych z prośbą o rejestrację. Po pozytywnej opinii EFSA Komisja przygotowuje projekt Zarządzenia.

Zarządzenie (EC) nr 1831/2003 zawiera także dodatkowe przepisy, np. ustanawia przepisy cofające uprawnienia dla stosowania antybiotykowych dodatków paszowych od 1 stycznia 2006 r. Uwzględnia także niektóre przepisy dotyczące wymagań co do etykietowania i pakowania dodatków paszowych oraz procedur nadzoru, modyfikacji, wstrzymania, cofnięcia i odnowienia uprawnień oraz na temat poufności i ochrony danych. Zarządzenie ponadto zawiera przepisy dotyczące międzynarodowych miar oraz statusu produktów umieszczonych na rynku przed wejściem w życie Zarządzenia 1831/2003/EC.

Zanim dodatek paszowy zostanie wprowadzony do sprzedaży lub stosowania, musi zostać dopuszczony do obrotu zgodnie z przepisami Zarządzenia. Aplikacje powinny być złożone zgodnie z procedurami sprecyzowanymi w Zarządzeniu (EC) nr 1831/2003 i Zarządzeniu (EC) nr 429/2008. Wytyczne 429/2008/EC, zastępujące Zarządzenie 87/153/EEC, opisują procedury, którymi należy się kierować przy przygotowywaniu i prezentacji aplikacji oraz akt technicznych, w celu uzyskania uprawnienia dla umieszczenia dodatku paszowego na rynku. Akta techniczne zawierają dane o tożsamości, charakterystyce, warunkach stosowania, metodach analitycznych, skuteczności i bezpieczeństwie produktu dla zwierząt, konsumentów i środowiska.

Zarządzenie 429/2008/EC zawiera formularz zgłoszeniowy (Aneks I), opis wymaganych badań do przygotowania akt (Aneks II) i część szczegółową (Aneks III). Część szczegółowa uwzględnia różne kategorie dodatków i grup funkcjonalnych, dodatków paszowych już stosowanych w żywności, dodatków stosowanych w żywieniu tylko pewnych gatunków zwierząt oraz dodatków stosowanych tylko w żywieniu zwierząt domowych.

Metody analityczne stosowane do określania obecności dodatku w paszy i jego możliwych pozostałości w żywności oceniane są przez Wspólnotowe Laboratorium Referencyjne (CRL) zgodnie z Zarządzeniem (EC) nr 378/200, które było ostatnio zmienione przez Zarządzenie (EC) nr 850/2007. CRL przygotowało praktyczne wskazówki dla aplikujących, odnoszące się do części dotyczącej metod analitycznych.

Dodatki i premiksy zawierające dodatki są produktami przeznaczonymi do stosowania w produkcji i dostępne są tylko w przedsiębiorstwach zarejestrowanych i zatwierdzonych jako producenci dodatków lub pośrednicy. Dodatki nie mogą być podawane bezpośrednio zwierzętom lub posypywane na paszę.

Dokument przedstawiający dodatki dopuszczone do stosowania oraz warunki ich stosowania dostępny jest na stronie internetowej Komisji Europejskiej: http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives.comm_register_feed_additives_1831-03.pdf

Wspólnotowy rejestr dodatków po raz pierwszy opublikowany został w listopadzie 2005 r. i jest uaktualniany wtedy, kiedy zmieniane są uprawnienia. Udzielone uprawnienie jest ważne przez 10 lat i jest odnawialne. Aplikacja o ponowną ocenę musi być złożona co najmniej na rok przed datą wygaśnięcia uprawnienia.

Związki fitogeniczne stosowane jako dodatki paszowe. Stosownie do Wspólnotowego Rejestru Dodatków Paszowych i zgodnie z Zarządzeniem (EC) nr 1831/2003 prawie wszystkie dodatki paszowe pochodzenia roślinnego sklasyfikowane są w kategorii 2 b), czyli jako dodatki sensoryczne ze związkami smakowymi. Tego typu substancje fitogeniczne powinny poprawiać zapach paszy lub właściwości smakowe. Dalej zdefiniowane są w podgrupie „produkty naturalne – botanicznie określone”. Uzyskiwane efekty produkcyjne w formie przyspieszenia wzrostu mogą być wynikiem zwiększonego spożycia paszy. Jednak zgodnie z działaniem niektórych związków fitogenicznych, które są stosowane w żywieniu zwierząt, mogą one być sklasyfikowane także jako, na przykład, dodatki zootechniczne, ale nie mogą być zarejestrowane jako takie. Według ekspertów przemysłowych wymagania proceduralne dla uzyskania uprawnień są czaso- i kapitałochłonne, szczególnie dlatego, że każda pojedyncza substancja z mieszaniny musi być przebadana zanim zostanie złożona aplikacja dotycząca właściwej mieszaniny związków fitogenicznych.

Etykietowanie dodatków paszowych. Zarządzenie 1831/2003/EC, obejmujące definicje i regulacje dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt, zawiera obowiązujące dane z Zarządzenia 70/524/EEC artykułu 16, które regulują etykietowanie i pakowanie dodatków paszowych. Zarządzenie zawiera standardowe zasady etykietowania i pakowania, takie jak to, że etykieta musi być w języku narodowym oraz muszą być podane szczegółowe nazwy związków i grup funkcjonalnych, nazwa firmy i adres lub siedziba główna, waga netto lub objętość netto, numer zatwierdzenia lub rejestracji, numer identyfikacyjny, numer porządkowy partii i data produkcji. Ponadto muszą być podane instrukcje stosowania, rekomendacje odnośnie bezpieczeństwa i specyficzne wymagania. Związki smakowe i premiksy muszą być etykietowane odpowiednio jako „Mieszaniny związków smakowych” lub „Premiksy”.

Klasyfikacja dodatków paszowych w pięciu kategoriach nie bierze pod uwagę tego, że dla niektórych produktów istnieje potrzeba zaznaczenia, że dodatek paszowy oparty jest na związkach fitogenicznych.

Możliwość śledzenia produktów pochodzenia roślinnego. Identyfikacja pochodzenia składników żywności i pasz oraz źródeł żywności ma zasadnicze znaczenie dla ochrony konsumentów, szczególnie wtedy, kiedy produkty okazują się wadliwe. Możliwość śledzenia ułatwia wycofanie żywności i umożliwia dostarczenie konsumentom celowej i dokładnej informacji odnośnie produktów wadliwych.

Zarządzenie EC/178/2002 definiuje możliwość śledzenia i identyfikowania żywności, pasz i składników poprzez wszystkie etapy produkcji, przetwarzania i dystrybucji. Zarządzenie zawiera ogólne przepisy określające możliwość śledzenia (mające zastosowanie od 1 stycznia 2005 r.), które obejmują całą żywność i pasze, wszystkich operatorów biznesu żywności i pasz, bez ingerencji w istniejące prawodawstwo dotyczące konkretnych sektorów, takich jak: wołowina, ryby, GMO itd. Podobny wpływ ma ono na importerów, gdyż wymaga się od nich identyfikacji przez kogo produkt był eksportowany w kraju pochodzenia. Jeśli nie istnieją szczegółowe przepisy dla dalszej możliwości śledzenia, to ogranicza się ono do zapewnienia, że przedsiębiorstwa są przynajmniej w stanie zidentyfikować bezpośredniego dostawcę odpowiedniego produktu i bezpośredniego kolejnego odbiorcę, z wyjątkiem detalistów do odbiorców końcowych (jeden krok do tyłu – jeden krok do przodu).

Wykorzystywanie produktów pochodzenia roślinnego wymaga wysokiej jakości materiałów pod względem bezpieczeństwa żywności, właściwości organoleptycznych i zawartości składników aktywnych. Żeby zapewnić i poprawić te parametry, surowce, takie jak rośliny i zioła, powinny być produkowane raczej na kontrolowanych plantacjach, a nie pochodzić ze spontanicznego zbioru. Import roślin z krajów bez kontrolowanych upraw może stanowić ryzyko pod względem jakości i bezpieczeństwa, z powodu, np. przypadkowego skażenia pestycydami lub stosowania niewłaściwych metod zbierania (błędy w identyfikacji gatunków), suszenia i konserwacji. Rezygnacja ze spontanicznego zbioru na korzyść upraw kontrolowanych może także wynikać z niskiej produktywności i trudności z uzyskaniem jednorodnego i bezpiecznego produktu. Tylko na niektórych obszarach, takich jak góry czy dżungla, i dla roślin charakteryzujących się powolnym wzrostem lub ze szczególnymi wymaganiami środowiskowymi (porosty), spontaniczny zbiór może być nadal użyteczny. Około 90% roślin zielarskich pochodzi z niekontrolowanego zbioru z rodzimych populacji, stwarzającego ryzyko nadeksploatacji i wyniszczenia gatunku (21).

Autoryzowane deklaracje zdrowotne do etykietowania dodatków paszowych. Deklarowanie pozytywnego wpływu fitogenów na zdrowie zwierząt jest zjawiskiem narastającym w ostatniej dekadzie, co łączy się z konkurencją na rynku producentów pasz, dodatków paszowych i pokarmu dla zwierząt domowych. Odróżnienie tych deklaracji od deklaracji medycznych nie zawsze jest oczywiste. Niejasne jest uregulowanie prawne dotyczące stosowania deklaracji zdrowotnych, tzn. jak deklaracje są uzasadniane, zarządzane i kontrolowane. Celem Wspólnoty Europejskiej powinno być zapewnienie lepszego wglądu w deklaracje zdrowotne dotyczące dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt oraz poszukiwanie możliwości kontroli deklaracji zdrowotnych w przyszłości. Regulacje i narzędzia opracowane dla deklaracji

medycznych i zdrowotnych, stosowanych dla produktów przeznaczonych do konsumpcji przez ludzi, mogą być wykorzystane jako wskazówki.

Zaprojektowane zarządzenie dotyczące Deklaracji Odżywczych i Zdrowotnych 2006/1924/EC określa czym jest deklaracja zdrowotna. Jest to oświadczenie na opakowaniu żywności, w marketingu żywności lub reklamie, stwierdzające, że ze spożycia konkretnego produktu mogą wynikać korzyści zdrowotne. Artykuły 10-19 zarządzenia obejmują deklaracje zdrowotne, które można zaliczyć do dwóch głównych typów. Deklaracje funkcjonalne (artykuł 13) oparte są na konkretnych uzasadnieniach naukowych oraz opisują rolę składnika odżywczego lub innej substancji we wzroście, rozwoju i funkcjach organizmu lub opisują funkcje psychologiczne albo behawioralne bądź odnoszą się do odchudzania, kontroli wagi, zmniejszenia poczucia głodu, zwiększenia poczucia sytości. Stosownie do artykułu 13 kraje członkowskie w ciągu 12 miesięcy od wejścia w życie zarządzenia opracują listę deklaracji będących w powszechnym użyciu i opartych na konkretnych uzasadnieniach naukowych. Ramy czasowe dla publikacji przez EC 'pozytywnej listy' dopuszczonych funkcjonalnych deklaracji zdrowotnych to 3 lata od wejścia w życie zarządzenia. Drugi typ oświadczeń zawarty jest w artykule 14 (zmniejszenie ryzyka chorób oraz te, które odnoszą się do dzieci) i ten typ wymaga, aby deklaracja była potwierdzona szczegółowymi materiałami dowodowymi. Trzeba wziąć pod uwagę, że w przypadku gdy dodatek paszowy jest pochodzenia roślinnego, to dodanie takiego oświadczenia powinno być dozwolone. A zatem potrzebna jest jasna definicja związków fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe.

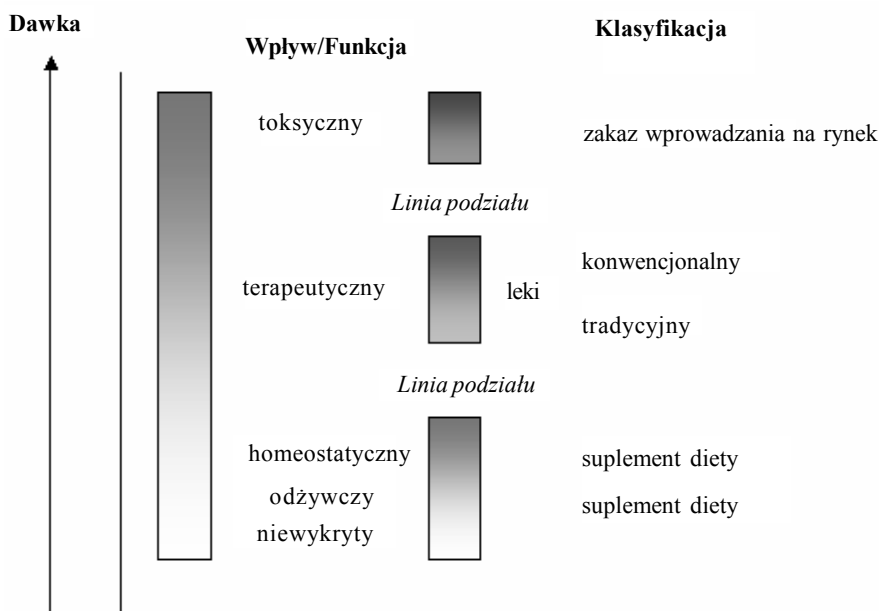
Problemy w stosowaniu związków fitogenicznych w paszach

Stosownie do zarządzeń EC (Nr) 1831/2003/EC i (EC) Nr 378/2005, częściowo zmodyfikowanych przez (EC) Nr 850/2007 i (EC) Nr 429/2008, definicje i określenia dodatków przeznaczonych do stosowania w żywieniu zwierząt oraz sposoby przygotowania i prezentacji aplikacji, w celu uzyskania uprawnienia do stosowania dodatków paszowych, a także rola Wspólnotowego Laboratorium Referencyjnego w opiniowaniu aplikacji do uzyskania uprawnień do stosowania dodatków paszowych, są dobrze zdefiniowane. Obecne opracowanie wskazuje na problemy dotyczące stosowania ziół w paszach, które eksperci nauki i przemysłu uznają za ważne i dlatego powinny być one dyskutowane i badane.

Wysiłek rolników, żeby zwiększyć wydajność zwierząt gospodarskich prowadzi do włączenia tradycyjnych, ale także zbadanych substancji pochodzenia roślinnego, które mają pozytywny wpływ na dobrostan i wydajność zwierząt. Z jednej strony związki fitogeniczne są stosowane jako alternatywne fitoterapeutyki i zagadnienie to jest regulowane przepisami opracowanymi dla stosowania leków (np. 2004/24/EC tradycyjne leki ziołowe), a z drugiej strony związki fitogeniczne stosowane są jako dodatki paszowe i jest to zagadnienie, które podjęto w niniejszym opracowaniu.

Granica pomiędzy lekami, fitoterapeutykami i związkami fitogenicznymi.

Zgodnie z Europejską Fundacją Szkolenia i Oceny (ETAF) sposób wykorzystania jest elementem rozróżniającym fitoterapeutyki i suplementy w obrębie ram prawnych, zwłaszcza w przypadku tak zwanych roślin ambiwalentnych (stosowanych zarówno w medycynie, jak i w paszach); (7). Dlatego podział klasyfikacyjny produktów pochodzenia roślinnego zależy od koncentracji związków aktywnych i ich oddziaływania fizjologicznego (19). Potrzebna zatem jest jasna definicja stosowanych terminów oraz niezbędne są uzasadnienia naukowe, określające różnice pomiędzy dodatkiem paszowym, lekiem i trucizną w ogóle (rys. 1), a w szczególności jeśli chodzi o produkty pochodzenia roślinnego.



Rys. 1. Możliwe oddziaływania substancji na organizm w zależności od dawkowania
Źródło: Coppens i in., 2006 (20).

Terminy i definicje związków fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe. Wskutek tradycyjnego stosowania związków fitogenicznych o różnym działaniu w żywności, paszach, suplementach, dodatkach i lekarstwach, w dokumentach naukowych stosuje się różne terminy. Związki fitogeniczne stosowane jako dodatki paszowe nazywane są także fitobiotykami, fitoterapeutykami lub produktami roślinnymi. Produkty pochodzenia roślinnego stosowane w żywieniu zwierząt w celu poprawienia ich wydajności produkcyjnej i obejmujące szeroki zestaw ziół, przypraw i produktów pochodnych (np. olejki eteryczne), powinny mieć takie nazwy, które będą stosowane w etykietowaniu.

Związki fitogeniczne stosowane jako dodatki paszowe muszą mieć dobrze zdefiniowaną nazwę. Definicja powinna zawierać europejską kategorię produktu opartą na formulacji, celu stosowania, dawce i sposobie podawania. Na przykład leki – dane prezentujące ich właściwości lecznicze, żywność – przeznaczenie do przyjmowania jako pokarm, suplementy – przedstawiane jako produkty mające właściwości odżywcze i fizjologiczne. Kolejnym przykładem jest definicja i klasyfikacja ziół w żywieniu ludzi. Zioła, których zastosowanie w żywności stanowi zagrożenie z powodu możliwych wpływów toksycznych lub farmakologicznych, powinny być umieszczone na liście negatywnej. Zioła o niekonwencjonalnym wykorzystaniu w żywności lub suplementcie diety powinny być poddane pełnej ocenie ze względu na bezpieczeństwo. Zioła konwencjonalnie stosowane w żywności lub suplementcie diety, ale stosowane w postaci koncentratów, które mogą powodować wyższe spożycie niż w normalnych warunkach, powinny być włączone na listę do dokładnego sprawdzenia.

Aby móc rozróżnić stosowanie ziół w celach leczniczych lub jako dodatków paszowych, muszą zostać zdefiniowane wyraźne granice między sposobami ich wykorzystania. Za podstawę do rozróżnienia można przyjąć definicje fitomedykamentów i suplementów diety, mimo iż nadal istnieją w tej dziedzinie pewne tematy do dyskusji.

Związki fitogeniczne stosowane jako dodatki paszowe (PFA). Często twierdzi się, że fitogeniczne dodatki paszowe mają działanie przeciwutleniające (ochrona jakości paszy i żywności pochodzenia zwierzęcego), antybiotykowe (redukcja patogenów jelitowych) i stymulujące wzrost oraz poprawiające właściwości smakowe (wzrost aktywności enzymów trawiennych, zwiększenie absorpcji i produkcji śluzu jelitowego). W porównaniu z antybiotykowymi dodatkami paszowymi i kwasami organicznymi, substancje fitogeniczne obecnie stosowane mogą potencjalnie modulować czynniki żołądkowo-jelitowe, takie jak mikroorganizmy jelitowe, produkty fermentacji (włączając substancje niepożądane i toksyczne), strawność składników pokarmowych, morfologię tkanek jelitowych i reakcje połączonego z jelitem systemu limfatycznego. Biorąc pod uwagę fakt, że wyniki badań są dostępne tylko w stosunku do produktów komercyjnych, zawierających mieszaniny substancji fitogenicznych, to wciąż brakuje systematycznego podejścia do wyjaśnienia skuteczności i sposobu działania dla poszczególnych typów i dawek związków aktywnych, jak również możliwych interakcji z innymi składnikami paszy. Pomimo to fitogeniczne dodatki paszowe mogą podnosić efektywność produkcji zwierzęcej i w ten sposób uzupełniać nieantybiotykowe stymulatory wzrostu, takie jak kwasy organiczne i probiotyki.

Uprawnienia do wprowadzania nowych dodatków paszowych. Stosownie do Dyrektywy 429/2008/EC, która opisuje procedury jakimi należy się kierować przy przygotowywaniu i prezentacji aplikacji oraz akt technicznych w celu uzyskania uprawnienia do umieszczenia dodatku paszowego na rynku, wymagania aby zgłosić nową substancję są bardzo wysokie. Akta techniczne zawierające dane o tożsamości, charakterystyce, warunkach stosowania, metodach analitycznych, skuteczności i bezpieczeństwie produktu dla zwierząt, konsumentów i środowiska, które z jednej strony są

konieczne do zapewnienia bezpieczeństwa produktów, z drugiej zaś są finansowym i czasochłonnym ograniczeniem dla przemysłu, hamują bowiem wdrażanie nowych produktów.

Bezpieczeństwo związków fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe. Żywnienie zwierząt gospodarskich będzie bardziej złożone w przypadku stosowania dodatków paszowych (PFA), z uwagi na różnice jakościowe między partiami materiału roślinnego. Konieczna jest zatem ocena czystości i potrzebne są procedury certyfikacji. Może to oznaczać wzrost wymagań odnośnie bezpieczeństwa składników odżywczych występujących w paszach w przyszłości. W celu zagwarantowania odpowiedniej jakości paszy niezbędna jest szczegółowa charakterystyka składników i etykietowanie surowców. Poprzez podnoszenie standardów na europejskim rynku pasz, wzrośnie kontrola na zewnętrznych granicach EU.

Podczas stosowania PFA trzeba rozważyć możliwość wystąpienia ich interakcji z innymi dodatkami do pasz. Wiele testów paszowych, w których badano skuteczność PFA, uwzględniało inne dodatki zdolne do stymulowania wzrostu (np. antybiotyki, kwasy organiczne i probiotyki), wykazując antagonistyczne interakcje między tymi dodatkami paszowymi. Badania dotyczące interakcji PFA z preparatami enzymatycznymi (np. fitazą, enzymami rozkładającymi nieskrobiowe polisacharydy) są nadal nieliczne. Istnieją na przykład doniesienia o braku lub negatywnych interakcjach czosnku i tymianku z nieskrobiowymi polisacharydami u brojlerów oraz o interakcjach PFA zawierających składniki o właściwościach ściągających z białkopodobnymi dodatkami paszowymi (4, 58).

Żeby zapewnić bezpieczeństwo pasz, wahania jakościowe między partiami muszą być ograniczone do minimum oraz muszą być kontrolowane potencjalne interakcje z innymi paszami lub lekami.

Jakość i bezpieczeństwo związków fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe. Wyższa jakość pasz jest wynikiem rozwoju różnych koncepcji zarządzania jakością, dobrych praktyk produkcyjnych i dobrych praktyk laboratoryjnych. Wskutek internacjonalizacji rynków będą one bardziej złożone, a przejrzystość procedur dla rolników i konsumentów może być bardziej ograniczona. Wymagane będą zaawansowane i kosztowne systemy nadzoru i kontroli, a potrzeba rozwoju dokładnie wydzielonych kanałów dystrybucji jest dyskutowana.

Związki fitogeniczne stosowane jako pasza dla zwierząt. Związki fitogeniczne muszą być bezpieczne dla zwierząt, użytkownika, konsumenta produktów pochodzenia zwierzęcego i dla środowiska. W odniesieniu do użytkownika (dostosowanie się do etykietowania i określenie pochodzenia, np. rolnika, producenta paszy) obchodzenie się z czystymi preparatami wymaga zazwyczaj odzieży ochronnej, ponieważ związki te mają działanie drażniące i mogą wywołać alergiczne zapalenie skóry (14). Producenci fitogenicznych dodatków paszowych nie mogą być zwolnieni z obowiązku informowania o możliwości wystąpienia niepożądanych pozostałości w produktach

pochodzących od zwierząt karmionych dodatkami, takimi jak karwakrol i tymol u świń, oraz o pozostałościach ich metabolitów w postaci glukuronidów i siarczanów w osoczu krwi i w nerkach (66). Z powodu zmiennej aktywności metabolicznej (np. absorpcji, skłonności do akumulowania w określonych tkankach) związków fitogenicznych, ich bezpieczeństwo musi być szacowane oddzielnie dla każdego indywidualnego fitogenicznego dodatku paszowego.

Etykietowanie i możliwość śledzenia związków fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe. Zobowiązując konsumentów, w tym przypadku rolników, do dokonania właściwego wyboru paszy należy zapewnić klientowi możliwość łatwego odnalezienia wszystkich istotnych informacji o produkcie oraz prawdziwą i niewprowadzającą w błąd etykietę. Etykietowanie PFA zorientowane na klienta jest ważne i dlatego producenci powinni stosować się do regulacji i dyrektyw Komisji Europejskiej. Aby producent był w stanie etykietować produkty we właściwy sposób, muszą być wprowadzone jasno definiowane pisemne deklaracje. Istnieje zatem potrzeba jasnej definicji terminów używanych dla związków fitogenicznych stosowanych w dodatkach paszowych i powinna być stworzona regulacja dotycząca deklaracji zdrowotnych, które mogą być umieszczane na etykietach. Zorientowane na konsumenta etykietowanie pasz jest pierwszym krokiem. Konieczne jest dalsze uprawnienie metod analitycznych stosowanych do wykrywania substancji zakazanych i zanieczyszczeń, aby móc kontrolować poprawność etykietowania i pochodzenie produktów (np. metody izotopowe).

Uprawnienia i deklaracje zdrowotne dotyczące związków fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe. Głównym celem Regulacji Europejskiej EC (Nr) 429/2008 było usunięcie odmiennego traktowania zasad w różnych krajach EU, które dotyczyły produkcji, rejestracji i komercjalizacji produktów pochodzenia roślinnego oraz zagwarantowania ich jakości, bezpieczeństwa i efektywności. Regulacja nie wyklucza aplikowania o dalsze deklaracje zdrowotne. Istnieje duże zainteresowanie oświadczeniami zdrowotnymi, pomimo że procedura aplikacyjna jest czasowo- i kosztowna, zwłaszcza jeśli produkt ma być uprawniony w kategoriach innych niż 1 lub 2 wymienione w Regulacji EC (Nr) 1831/2003. W przypadku nadmiernej podaży deklaracji zdrowotnych produktów fitogenicznych w żywieniu ludzi, należy wziąć pod uwagę wprowadzenie ograniczeń i restrykcji dla tych deklaracji. Etykietowanie deklaracji zdrowotnych mogłoby odnosić się tylko do farmaceutyków.

Wnioski i zadania na przyszłość

Produkty pochodzenia roślinnego stosowane w paszy stały się ważnym tematem, zwłaszcza gdy Wspólnota Europejska zakazała stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu i wyzwoliła publiczne nawoływanie i wsparcie finansowe dla naukowców w celu intensyfikacji badań nad związkami fitogenicznymi stosowanymi w żywieniu zwierząt. Grupa robocza „Etykietowanie i możliwość śledzenia” projektu

Feed-Seg skupiła się zatem na związkach fitogenicznych stosowanych jako dodatki paszowe.

Biorąc pod uwagę konsumentów, rolników, producentów komercyjnych, przemysł i specjalistów od spraw żywienia, powinny być dalej poddawane pod dyskusję zagadnienia przedstawione poniżej, dotyczące wykorzystania związków fitogennych w paszach. Reasumując należy stwierdzić, że potrzebne są dalsze regulacje Wspólnoty Europejskiej i projekty badawcze dotyczące problematyki dodatków paszowych dla zwierząt.

1. Terminologia, definicje i linie podziału – należy zdefiniować jasne granice pomiędzy działaniem związków fitogenicznych i ich klasą („brak efektu”, „efekt terapeutyczny” i „efekt toksyczny”, „leki”, „fitoterapeutyki”, „dodatki paszowe”, „zioła”, „związki fitogeniczne” i „naturalne”).
2. Potrzebne jest systemowe podejście wyjaśniające skuteczność i model działania dla każdego typu związku fitogenicznego, dawkowanie aktywnych związków oraz możliwe interakcje z innymi składnikami paszy.
3. Wymagania przy aplikowaniu o dopuszczenie dodatku paszowego są czasowo i kosztochłonne, stanowią więc barierę przy wprowadzaniu nowych produktów na rynek.
4. Musi zostać zapewnione bezpieczeństwo produktów. Wahania jakościowe pomiędzy partiami pasz zawierającymi produkty fitogeniczne muszą być ograniczone do minimum, a także muszą być kontrolowane ich możliwe interakcje z innymi paszami i lekami.
5. Dla zapewnienia bezpieczeństwa konsumentów, niezbędne jest ustalenie możliwych niepożądanych pozostałości związków fitogenicznych i ich metabolitów w produktach pochodzenia zwierzęcego. Aktywność metaboliczna (np. absorpcja, akumulacja w tkankach jadalnych) różni się znacznie dla związków fitogenicznych i dlatego bezpieczeństwo powinno być oceniane osobno dla każdego indywidualnego dodatku paszowego.
6. Etykietowanie produktów musi być zorientowane na klienta, prawdziwe i nie wprowadzające w błąd. Potrzebne są jasne określenia i definicje dla związków fitogenicznych stosowanych w dodatkach paszowych.
7. Wdrożenie Informacyjnej Platformy Europejskiego Konsumenta (eCIP) wzmacniałoby zaufanie do jakości produktu.
8. Możliwość śledzenia powinna być traktowana tak, jak w przypadku normalnych składników paszy (numery seryjne, miejsce pochodzenia).
9. Muszą być ustanowione regulacje zapewniające konkurencyjność przemysłu UE.
10. Muszą być ustanowione standardy jakościowe dla ziół importowanych spoza UE.
11. Do kontroli poprawności etykietowania i określania pochodzenia niezbędna jest dalsza standaryzacja metod analitycznych stosowanych do wykrywania zakazanych substancji i skażeń.

12. Powinny być wprowadzone regulacje odnośnie deklaracji zdrowotnych dla dodatków paszowych w celu uniknięcia trudnej do kontrolowania ich liczby.
13. Odkrywanie potencjału indyjskich i chińskich leków tradycyjnych, poprzez rozważanie uczciwego handlu i kwestii zrównoważenia.

Literatura

1. Adam K., Sivropoulou A., Kokkiki S., Lanaras T., Arsenakis M.: Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. hirtum, *Mentha spicata*, *Lavendula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. J. Agric. Food Chem., 1998, **46**: 1739-1745.
2. Aksit M., Goksoy E., Kok F., Ozdemir D., Ozdogan M.: The impacts of organic acid and essential oil supplementations to diets on the microbiological quality of chicken carcasses. Archiv. Geflügel., 2006, **70**: 168-173.
3. Alcicek A., Bozkurt M., Cabuk M.: The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. South Afr. J. Anim. Sci., 2003, **33**: 89-94.
4. Anadon A., Arbroix Arzo M., Bories G., Brantom P., De Barbera J.B., Chesson A., Cocconcelli P.S., De Knecht J., Dierick N., Flachowsky G., Franklin A., Gropp J., Lundebye Haldorsen A.K., Halle I., Mantovani A., Peltonen K., Rycken G., Sanders P., Soares A., Wester P., Windisch W.: Opinion of the feedap panel on the safety and efficacy of the product farmatan for rabbits and piglets. The EFSA J., 2005, **222**: 1-20.
5. Barsh R.: The epistemology of traditional healing systems. Human Org., 1997, **56**: 28-37.
6. Basmacioglu H., Tokusoglu O., Ergul M.: The effect of oregano and rosemary essential oils or alpha-tocopheryl acetate on performance and lipid oxidation of meat enriched with n-3 pufa's in broilers. South Afr. J. Anim. Sci., 2004, **34**: 197-210.
7. Bast A., Chandler R.F., Choy P.C., Delmulle L.M., Gruenwald J., Halkes S.B.A., Keller K., Koeman J.H., Peters P., Przyrembel H., De Ree E.M., Renwick A.G., Vermeer I.T.M.: Botanical health products, positioning and requirements for effective and safe use. Env. Tox. Pharm., 2002, **12**: 195-211.
8. Botsoglou N., Florou-Paneri P., Botsoglou E., Dotas V., Giannenas I., Koidis A., Mitrakos P.: The effect of feeding rosemary, oregano, saffron and alpha-tocopheryl acetate on hen performance and oxidative stability of eggs. South Afr. J. Anim. Sci., 2005, **35**: 143-151.
9. Botsoglou N.A., Christaki E., Florou-Paneri P., Giannenas I., Papa-georgiou G., Spais A.B.: The effect of a mixture of herbal essential oils or alpha-tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. South Afr. J. Anim. Sci., 2004, **34**: 52-61.
10. Botsoglou N.A., Florou-Paneri P., Christaki E., Fletouris D.J., Spais A.B.: Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. Brit. Poult. Sci., 2002, **43**: 223-230.
11. Botsoglou N.A., Florou-Paneri P., Christaki E., Giannenas I., Spais A.B.: Performance of rabbits and oxidative stability of muscle tissues as affected by dietary supplementation with oregano essential oil. Archiv. Anim. Nutr., 2004, **58**: 209-218.
12. Botsoglou N.A., Govaris A., Botsoglou E.N., Grigoropoulou S.H., Papa-georgiou G.: Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and alpha-tocopheryl acetate supplementation in long-term frozen stored turkey meat. J. Agric. Food Chem., 2003, **51**: 2930-2936.

13. Botsoglou N.A., Grigoropoulou S.H., Botsoglou E.N., Govaris A., Papageorgiou G.: The effects of dietary oregano essential oil and alpha-tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Sci.*, 2003, **65**: 1193-1200.
14. Burt S.: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *Inter. J. Food Microb.*, 2004, **94**: 223-253.
15. Cabuk M., Bozkurt M., Alcicek A., Akbas Y., Kucukyilmaz K.: Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *South Afr. J. Anim. Sci.*, 2006, **36**: 135-141.
16. Chrubasik S., Pittler M.H., Roufogalis B.D.: *Zingiberis rhizoma*: A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine*, 2005, **12**: 684-701.
17. Colitti M., Sgorlon S., Stradaoli G., Farinacci M., Gabai G., Stefanon B.: Grape polyphenols affect mRNA expression of PGHS-2, TIS11b and FOXO3 in endometrium of heifers under ACTH-induced stress. *Theriogenology*, 2007, **68**: 1022-1030.
18. Colitti M., Stefanon B.: Effect of natural antioxidant on superoxide dismutase and glutathione peroxidase mRNA expression in leukocytes from periparturient dairy cows. *Vet. Res. Comm.*, 2006, **30**: 19-27.
19. Coppens P., Delmulle L., Gulati O., Richardson D., Ruthsatz M., Sievers H., Sidani S.: Use of botanicals in food supplements - regulatory scope, scientific risk assessment and claim substantiation. *Ann. Nutr. Metabol.*, 2006, **50**: 538-554.
20. Cuppett S.L., Hall C.A.: Antioxidant activity of *Labiatae*. *Adv. Food Nutr. Res.*, 1998, **42**: 243-271.
21. De Alwis L.B.G., Bhat K.S.S., Burley J., Vantomme P.: A biocultural medicinal plants conservation project in Sri Lanka. In: Bodeker G., Bhat K. S. S., Burley J., Vantomme P. (eds.) *Medicinal plants for forest conservation and health care*. Rome, Food Agric. Org., 1997.
22. Dorman H.J.D., Deans S.G.: Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microb.*, 2000, **88**: 308-316.
23. Eckel B., Roth F.X., Kirchgessner M., Eidelsburger U.: Influence of formic acid on concentrations of ammonia and biogenic amines in the gastrointestinal-tract. 4. Investigations about the nutritive efficacy of organic acids in the rearing of piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.-Zeit. Tierphysiol. Tierern. Futterm.*, 1992, **67**: 198-205.
24. Enevoldsen C., Grohn Y.T.: A methodology for assessment of the health-production complex in dairy herds to promote welfare. *Act. Agric. Scand. Sect. A - Anim. Sci.*, 1996, 86-90.
25. Farinacci M., Colitti M., Sgorlon S., Stefanon B.: Immunomodulatory activity of plant residues on ovine neutrophils. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 2008, **126**: 54-63.
26. Farinacci M., Colitti M., Stefanon B.: Modulation of ovine neutrophil function and apoptosis by standardised extracts of *Echinacea angustifolia*, *Butea frondosa* and *Curcuma longa*. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 2008, Nov 2007 doi:10.1016/j.vetimm.2008.11.024.
27. Florou-Paneri P., Giannenas I., Christaki E., Govaris A., Botsoglou N.: Performance of chickens and oxidative stability of the produced meat as affected by feed supplementation with oregano, vitamin C, vitamin E and their combinations. *Archiv. Geflügel.*, 2006, **70**: 232-240.
28. Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S., Becker K.: The biological action of saponins in animal systems: a review. *Brit. J. Nutr.*, 2002, **88**: 587-605.
29. Friedman M.: Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2007, **51**: 116-134.
30. Giannenas I.A., Florou-Paneri P., Botsoglou N.A., Christaki E., Spais A. B.: Effect of supplementing feed with oregano and/or alpha-tocopheryl acetate on growth of broiler chickens and oxidative stability of meat. *J. Anim. Feed Sci.*, 2005, **14**: 521-535.
31. Govaris A., Botsoglou N., Papageorgiou G., Botsoglou E., Ambrosiadis I.: Dietary versus post-mortem use of oregano oil and/or alpha-tocopherol in turkeys to inhibit development of lipid oxidation in meat during refrigerated storage. *Inter. J. Food Sci. Nutr.*, 2004, **55**: 115-123.

32. Hagmuller W., Jugl-Chizzola M., Zitterl-Eglseer K., Gabler C., Spergser J., Chizzola R., Franz C.: The use of *Thymi herba* as feed additive (0.1%, 0.5%, 1.0%) in weanling piglets with assessment of the shedding of haemolysing E-coli and the detection of thymol in the blood plasma. Berl. Münch. Tierärztl. Wochens., 2006, **119**: 50-54.
33. Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V.: Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J. Appl. Microb., 1999, **86**: 985-990.
34. Hernandez F., Madrid J., Garcia V., Orenge J., Megias M.D.: Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poult. Sci., 2004, **83**: 169-174.
35. Jamroz D., Orda J., Kamel C., Wilczkiewicz A., Wiertelcki T., Skorupinska J.: The influence of phytogetic extracts on performance, nutrient digestibility, carcass characteristics, and gut microbial status in broiler chickens. J. Anim. Feed Sci., 2003, **12**: 583-596.
36. Jamroz D., Wiertelcki T., Houszka M., Kamel C.: Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 2006, **90**: 255-268.
37. Janz J.A.M., Morel P.C.H., Wilkinson B.H.P., Purchas R.W.: Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality. Meat Sci., 2007, **75**: 350-355.
38. Jugl-Chizzola M., Spergser J., Schilcher F., Novak J., Bucher A., Gabler C., Hagmuller W., Zitterl-Eglseer K.: Effects of *Thymus vulgaris* L. as feed additive in piglets and against haemolytic E-coli *in vitro*. Berl. Münch. Tierärztl. Wochens., 2005, **118**: 495-501.
39. Jugl-Chizzola M., Ungerhofer E., Gabler C., Hagmuller W., Chizzola R., Zitterl-Eglseer K., Franz C.: Testing of the palatability of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. as flavouring feed additive for weaner pigs on the basis of a choice experiment. Berl. Münch. Tierärztl. Wochens., 2006, **119**: 238-243.
40. Kommera S.K., Mateo R.D., Neher F.J., Kim S.W.: Phytobiotics and organic acids as potential alternatives to the use of antibiotics in nursery pig diets. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 2006, **19**: 1784-1789.
41. Lee K.W., Everts H., Kappert H.J., Frehner M., Losa R., Beynen A.C.: Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. Brit. Poult. Sci., 2003, **44**: 450-457.
42. Maass N., Bauer J., Paulicks B.R., Bohmer B.M., Roth-Maier D.A.: Efficiency of *Echinacea purpurea* on performance and immune status in pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 2005, **89**: 244-252.
43. Manzanilla E.G., Nofrarias M., Anguita M., Castillo M., Perez J.F., Martin-Orue S.M., Kamel C., Gasa J.: Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. J. Anim. Sci., 2006, **84**: 2743-2751.
44. Manzanilla E.G., Perez J.F., Martin M., Kamel C., Baucells F., Gasa J.: Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. J. Anim. Sci., 2004, **82**: 3210-3218.
45. Mao X.F., Piao X.S., Lai C.H., Li D.F., Xing J.J., Shi B.L.: Effects of beta-glucan obtained from the Chinese herb *Astragalus membranaceus* and lipopolysaccharide challenge on performance, immunological, adrenal, and somatotrophic responses of weanling pigs. J. Anim. Sci., 2005, **83**: 2775-2782.
46. Mitsch P., Zitterl-Eglseer K., Kohler B., Gabler C., Losa R., Zimmernik I.: The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. Poult. Sci., 2004, **83**: 669-675.
47. Nakatani N.: Antioxidants from spices and herbs. Ho C.T., Osawa T., Huang M.T., Rosen R.T. (eds.) Food Phytochemicals for Cancer Prevention II: Teas, Spices and Herbs. Washington, DC, Am. Chem. Soc., 1994.

48. Namkung H., Li M., Gong J., Yu H., Cottrill M., De Lange C. F. M.: Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, 2004, **84**: 697-704.
49. Nofrarias M., Manzanilla E. G., Pujols J., Gibert X., Majo N., Segales J., Gasa J.: Effects of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs. *J. Anim. Sci.*, 2006, **84**: 2735-2742.
50. Ozer H., Sökmen M., Güllüce M., Adıgüzel A., Sahin F., Sökmen A., Kiliç H., Baris O.: Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of *Hippomarathrum microcarpum* (Bieb.) from Turkey. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**: 937-42.
51. Papageorgiou G., Botsoglou N., Govaris A., Giannenas I., Iliadis S., Botsoglou E.: Effect of dietary oregano oil and alpha-tocopheryl acetate supplementation on iron-induced lipid oxidation of turkey breast, thigh, liver and heart tissues. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2003, **87**: 324-335.
52. Peeters E., Driessen B., Geers R.: Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, vitamin E, and herbs on stress responses and pork quality. *J. Anim. Sci.*, 2006, **84**: 1827-1838.
53. Piao X. L., Piao X. S., Kim S. W., Park J. H., Kim H. Y., Cai S. Q.: Identification and characterization of antioxidants from *Sophora flavescens*. *Biol. Pharm. Bull.*, 2006, **29**: 1911-1915.
54. Platel K., Srinivasan K.: Digestive stimulant action of spices: A myth or reality? *Ind. J. Med. Res.*, 2004, **119**: 167-179.
55. Rodehutschord M., Kluth H.: Animal feeding without antibiotic growth promoters. *Züchtungskunde*, 2002, **74**: 445-452.
56. Roth F. X., Kirchgessner M.: Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. *J. Anim. Feed Sci.*, 1998, **7**: 25-33.
57. Roth-Maier D. A., Bohmer B. M., Maass N., Damme K., Paulicks B. R.: Efficiency of *Echinacea purpurea* on performance of broilers and layers. *Archiv. Geflügel.*, 2005, **69**: 123-127.
58. Sarica S., Ciftci A., Demir E., Kilinc K., Yildirim Y.: Use of an antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *South Afr. J. Anim. Sci.*, 2005, **35**: 61-72.
59. Schiavone A., Righi F., Quarantelli A., Bruni R., Serventi P., Fusari A.: Use of *Silybum marianum* fruit extract in broiler chicken nutrition: influence on performance and meat quality. *J. Anim. Physiol. Anim. Nut.*, 2007, **91**: 256-262.
60. Schone F., Vetter A., Hartung H., Bergmann H., Biertumpfel A., Richter G., Muller S., Breitschuh G.: Effects of essential oils from fennel (*Foeniculi aetheroleum*) and caraway (*Carvi aetheroleum*) in pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nut.*, 2006, **90**: 500-510.
61. Sgorlon S., Stradaoli G., Zanin D., Stefanon B.: Biochemical and molecular response to antioxidant supplementation in sheep. *Small Rum. Res.*, 2006, **64**: 143-151.
62. Si W., Gong J., Tsao R., Zhou T., Yu H., Poppe C., Johnson R., Du Z.: Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *J. Appl. Microb.*, 2006, **100**: 296-305.
63. Smith-Palmer A., Stewart J., Fyfe L.: Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. App. Microb.*, 1998, **26**: 118-122.
64. Sokmen M., Serkedjieva J., Daferera D., Gulluce M., Polissiou M., Tepe B., Akpulat H. A., Sahin F., Sokmen A.: *In vitro* antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**: 3309-3312.
65. Stefanon B., Sgorlon S., Gabai G.: Usefulness of nutraceuticals in controlling oxidative stress in dairy cows around parturition. *Vet. Res. Comm.*, 2005, **29** (suppl. 2): 387-390.

66. Stoni A., Zitterl-Egelseer K., Kroismayr A., Wetscherek W., Windisch W.: Tissue recovery of essential oils used as feed additive in piglet feeding and impact on nutrient digestibility. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, 2006, **15**.
67. Straub R., Gebert S., Wenk C., Wanner M.: Growth performance, energy, and nitrogen balance of weanling pigs fed a cereal-based diet supplemented with Chinese rhubarb. *Liv. Prod. Sci.*, 2005, **92**: 261-269.
68. Wallace R. J.: Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proc. Nutr. Soc.*, 2004, **63**: 621-629.
69. Wei A., Shibamoto T.: Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**: 1737-1742.
70. Windisch W., Schedle K., Plitzner C., Kroismayr A.: Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J. Anim. Sci.*, 2008, **86**: E140-8.
71. Young J. F., Stagsted J., Jensen S. K., Karlsson A. H., Henckel P.: Ascorbic acid, alpha-tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. *Poult. Sci.*, 2003, **82**: 1343-1351.
72. Yuan S. L., Piao X. S., Li D. F., Kim S. W., Lee H. S., Guo P. F.: Effects of dietary *Astragalus polysaccharide* on growth performance and immune function in weaned pigs. *Anim. Sci.*, 2006, **82**: 501-507.

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

W serii wydawniczej „STUDIA I RAPORTY IUNG-PIB” publikowane są recenzowane prace z zakresu agronomii i kształtowania środowiska rolniczego, wykonane w ramach zadań programu wieloletniego pn. „Kształtowanie środowiska rolniczego Polski oraz zrównoważony rozwój produkcji rolniczej”. W zeszytach problemowych o charakterze monografii, wydawanych w ramach tej serii, mogą być zamieszczane również prace autorów spoza IUNG - PIB, które merytorycznie mieszczą się w tematyce zadań programu wieloletniego. **Publikowane są prace problemowe, głównie mające charakter przeglądowy, z podkreśleniem znaczenia omawianych zagadnień dla rolnictwa polskiego.**

Wydruk tekstu do recenzji:

czcionka 12 p., z odstępem 1,5-wierszowym.

Przygotowanie do druku:

- tekst i tabele w programie Word, wersja 6.0 lub wyższa
- czcionka – Times New Roman
- układ pracy: wstęp, wyniki i dyskusja bądź omówienie wyników, podsumowanie, literatura

tekst

- czcionka – 11 p. (spis pozycji literatury – 9 p.)
- wcięcie akapitowe – 0,5 cm

tabele

- podział na wiersze i kolumny (z funkcji tworzenia tabel)
- szerokość dokładnie 13 cm (tabele w pionie) lub 19 cm (tabele w poziomie)
- czcionka 9 p., pojedyncze odstępy międzywierszowe
- umieszczone w oddzielnych plikach
- pod tabelą przypis ze wskazaniem źródła danych (autorstwa)

rysunki

- czarno-białe
- wykresy w programie Word lub Excel
- wymiary w zakresie 13 cm × 19 cm
- w podpisach czcionka 9 p.
- na dyskietce w oddzielnych plikach
- pod rysunkiem przypis ze wskazaniem źródła danych (autorstwa)

jednostki miary

- system SI
- jednostki zapisywać potęgowo (np. t · ha⁻¹)

literatura

- spis literatury na końcu pracy w układzie alfabetycznym wg nazwisk autorów, w kolejności: nazwisko (pismo rozstrzelone), pierwsza litera imienia, tytuł pracy, miejsce publikacji: tytuł wydawnictwa (wg ogólnie przyjętych skrótów tytułów czasopism), rok, numer (pismo pogrubione), strony,
- cytowanie w tekście – jako numer pozycji ze spisu literatury (w nawiasach okrągłych) lub dodatkowo z nazwiskiem autora (pismo rozstrzelone).

Pracę do recenzji należy składać w 2 egzemplarzach. Po recenzji oryginalny egzemplarz recenzowany i ostateczną wersję pracy, uwzględniającą uwagi recenzenta i redaktora, składać do Redakcji w 1 egzemplarzu i na dyskietce lub przesłać e-mailem na adres:

Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG-PIB
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
e-mail: imarcinkowska@iung.pulawy.pl

W serii wydawniczej „RAPORTY PIB”, a od 2007 r. „STUDIA I RAPORTY IUNG - PIB” ukazały się następujące pozycje:

1. *Wybrane aspekty agrochemicznych badań gleby*. Puławy, 2006.
2. *Zasady wprowadzania nawozów do obrotu*. Puławy, 2006.
3. *Regionalne zróżnicowanie produkcji rolniczej w Polsce*. Puławy, 2006.
4. *Monitoring skutków środowiskowych planu rozwoju obszarów wiejskich*. Puławy, 2007.
5. *Sprawdzenie przydatności wskaźników do oceny zrównoważonego gospodarowania zasobami środowiska rolniczego w wybranych gospodarstwach, gminach i województwach*. Puławy, 2007.
6. *Możliwości rozwoju rolnictwa ekologicznego w Polsce*. Puławy, 2007.
7. *Współczesne uwarunkowania organizacji produkcji w gospodarstwach rolniczych*. Puławy, 2007.
8. *Efektywne i bezpieczne metody regulacji zachwaszczenia, nawożenia i uprawy roli*. Puławy, 2007.
9. *Wybrane elementy technologii produkcji roślinnej*. Puławy, 2007.
10. *Problem erozji gleb w procesie przemian strukturalnych na obszarach wiejskich*. Puławy, 2008.
11. *Uprawa roślin energetycznych a wykorzystanie rolniczej przestrzeni produkcyjnej w Polsce*. Puławy, 2008.
12. *Wybrane zagadnienia systemów informacji przestrzennej i obszarów problemowych rolnictwa w Polsce*. Puławy, 2008.
13. *Tworzenie postępu biologicznego w hodowli tytoniu i chmielu*. Puławy, 2008.
14. *Kierunki zmian w produkcji roślinnej w Polsce do roku 2020*. Puławy, 2009.
15. *Wybrane elementy regionalnego zróżnicowania rolnictwa w Polsce*. Puławy, 2009.
16. *Systemy wspomagania decyzji w zrównoważonej produkcji roślinnej*. Puławy, 2009.
17. *Stan i kierunki zmian w produkcji rolniczej (wybrane zagadnienia)*. Puławy, 2009.
18. *Produkcyjne i środowiskowe aspekty współczesnych metod nawożenia i regulacji zachwaszczenia*. Puławy, 2009.
19. *Oddziaływanie rolnictwa na środowisko przyrodnicze w warunkach zmian klimatu*. Puławy, 2010.
20. *Ocena zrównoważenia gospodarowania zasobami środowiska rolniczego w wybranych gospodarstwach, gminach, powiatach i województwach*. Puławy, 2010.
21. *Możliwości rozwoju obszarów problemowych rolnictwa (OPR) w świetle PROW 2007–2013*. Puławy, 2010.
22. *Możliwości rozwoju gospodarstw o różnych kierunkach produkcji rolniczej w Polsce*. Puławy, 2010.