

**UNIWERSTET IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNANIU**

**Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych**

**Wydział Chemii**

**Zakład Fizykochemii Środowiska**



**ROZPRAWA DOKTORSKA**

**mgr Joanna Adamska**

**Opracowanie środków poprawiających dobrostan drobiu opartych o  
ekstrakty z biomasy roślinnej**

Development of products to improve the welfare of poultry based on plant biomass extracts

**Promotor**

Prof. UAM dr hab. Radosław Pankiewicz

Poznań 2024

**Praca doktorska została zrealizowana w ramach programu „Doktorat wdrożeniowy” nr DWD/4/33/2020 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego**

**Pragnę podziękować:**

Promotorowi prof. UAM dr hab. **Radosławowi Pankiewiczowi**  
za wszelką pomoc, szczególnie w końcowym  
etapie i cenne wskazówki organizacyjne.  
Udzielał mi się Pana spokój i optymizm.

Prof. dr hab. **Bogusławie Łęskiej**, dzięki której rozpoczęłam  
przygodę z doktoratem wdrożeniowym.

Dr **Lukaszowi Tabiszowi** i **Zuzannie Piotrowicz** za  
pomoc i życzliwość, o cokolwiek zapytałam.

Pracodawcy, Pani Prezes **Katarzynie Własińskiej**  
za możliwość realizacji doktoratu i wszelką pomoc, na jaką, nie  
tylko w ostatnim czasie, mogłam liczyć.

Szczególne podziękowania kieruję do moich najbliższych za  
okazane wsparcie, zrozumienie i cierpliwość.

Córkom **Julii** i **Magdalenie** za przekonanie, że mama da radę.  
**Mamie** za troskę, wiarę we mnie i bezwarunkowe  
wsparcie teraz i przez całe życie.

## Spis treści

A. Streszczenie .....	6
B. Summary .....	8
C. Spis akronimów wykorzystanych w pracy .....	10
I. Cel pracy.....	11
II. Wstęp .....	13
III. Część literaturowa .....	15
1. Krótka charakterystyka wybranych ziół .....	15
1.1. Tymianek.....	15
1.2. Rozmaryn .....	17
1.3. Oregano .....	19
1.4. Szałwia .....	21
1.5. Pokrzywa.....	23
1.6. Rdest .....	26
2. Główne związki chemiczne występujące w roślinach i ich właściwości.....	29
2.1. Olejki eteryczne .....	29
2.2. Polifenole .....	37
3. Metody pozyskiwania substancji czynnych .....	39
3.1. Pozyskiwanie olejków eterycznych .....	40
3.2. Pozyskiwanie polifenoli .....	42
4. Charakterystyka chowu kur.....	45
5. Mycie, dezynfekcja i zabiegi profilaktyczne w chowie kur.....	50
IV. Część doświadczalna.....	54
1. Aparatura i odczynniki .....	54
2. Materiał roślinny .....	57
3. Opracowanie składu powłoki na posadzkę kurnika .....	59
4. Pozyskiwanie substancji czynnych.....	68
4.1. Ekstrakcja.....	68
4.2. Destylacja .....	71
5. Oznaczenie związków organicznych .....	73
5.1. Metoda Folina – Ciocalteau .....	73
5.2. ABTS .....	74
5.3. UPLC .....	75
5.4. GC-FID .....	80
6. Procedura wzbogacenia powłoki ekstraktami i olejkami z roślin.....	83
7. Eksperymentalny chów kur .....	87
7.1. Komory hodowlane .....	87
7.2. Ferma drobiu .....	115
D. Podsumowanie.....	121
E. Literatura.....	124

F. Dorobek naukowy .....	134
G. Opis wdrożenia.....	138

## A. STRESZCZENIE

We współczesnym przemyśle rolno-spożywczym środki dezynfekcyjne stosowane są bardzo powszechnie i cały czas poszukiwane są nowe rozwiązania pozwalające na walkę z drobnoustrojami. Dezynfekcja ma na celu usunięcie niepożądanych mikroorganizmów, po to by uchronić się przed ich niebezpiecznym, często śmiertelnym efektem działania. W chowie drobiu mięsnego zabiegi mycia i dezynfekcji odbywają się po każdym zakończonym cyklu produkcyjnym, trwającym najczęściej 6 tygodni. Stosowane środki muszą działać szybko i skutecznie, a jednocześnie być ekonomicznie dostępne, tak by opłacalność chowu była zachowana. Jednocześnie mikroorganizmy stają się coraz bardziej odporne na stosowane środki, co powoduje konieczność stosowania coraz wyższych dawek lub kombinacji substancji o coraz silniejszym działaniu. Wszystkie środki dezynfekcyjne są klasyfikowane jako niebezpieczne dla zdrowia i środowiska, nie wyłączając nawet działania rakotwórczego czy mutagennego. Powoduje to problemy z aplikacją oraz ciągły wzrost kosztów. Mimo profesjonalnie prowadzonych zabiegów dezynfekcji skażenia w cyklu hodowlanym cały czas są problemem i w każdym cyklu trwa walka o jak najmniejsze straty wynikające z zachorowań lub padnięć ptaków. Źródłem skażenia są same ptaki, które mogą trafić do kurnika będąc nosicielami drobnoustrojów, ale również są to czynniki zewnętrzne, takie jak ściółka, woda, pasza, powietrze, powierzchnie kurnika oraz człowiek, będący często wektorem zakażenia. Hodowcy kur oraz pracownicy firmy zajmujących się usługowym myciem i dezynfekcją kurników zakładają, że część skażeń może mieć charakter wtórny, tzn. przenosić się z zakończonego cyklu chowu na kolejny, mimo wykonania zabiegów dezynfekcyjnych. Budowa pomieszczeń i struktura ich powierzchni powodują, że zabiegi dezynfekcyjne nie docierają do wszystkich zakamarków, np. mikrouszkodzeń betonu i stają się one miejscem, gdzie pozostały drobnoustroje, które atakują nowy wsad kurcząt.

Walkę z drobnoustrojami może też prowadzić od wewnątrz, czyli stymulując układ odpornościowy kur do walki z zakażeniami. Oprócz tradycyjnych farmaceutyków, można do tego wykorzystać substancje naturalnie występujące w przyrodzie. Trwają liczne prace nad wpływem substancji pochodzenia naturalnego, które podawane do paszy lub wody pomagają budować odporność kur.

W ramach wdrożeniowej pracy doktorskiej połączone zostały dwa kierunki działania zainicjowane wyżej opisanymi problemami:

1. Opracowanie rozwiązania umożliwiającego odcięcie drobnoustrojów, które mogły pozostać po zakończonym chowie kur na powierzchni posadzki kurnika, pomimo jego mycia i dezynfekcji, a które stanowią zagrożenie dla nowego cyklu chowu brojlerów;
2. Wprowadzenie w trakcie chowu kur substancji aktywnych uzyskanych z roślin ziołowych inną drogą niż karmienie czy pojenie, tak by mogły stymulować układ odpornościowy kur.

Jako rozwiązanie zaproponowany został produkt w postaci powłoki do nanoszenia na posadzkę i ściany kurnika, który zawierałby w sobie ekstrakty lub olejki z roślin wykorzystywanych dotychczas w żywieniu drobiu i znane ze swoich właściwości prozdrowotnych.

Badania zostały podzielone na etapy:

1. Opracowanie receptury powłoki, która nałożona na betonową posadzkę i ściany kurnika, wytworzy warstwę izolacyjną w stosunku do czynników chorobotwórczych;
2. Pozyskanie substancji czynnych z roślin zielarskich na drodze ekstrakcji i destylacji, z uwzględnieniem możliwości technologicznych na produkcję wielkoskalową;
3. Wzbogacenie receptury powłoki o uzyskane ekstrakty i/lub olejki;
4. Przeprowadzenie eksperymentalnego chowu kur w komorach testowych w celu obserwacji wpływu zastosowania produktu powłokowego na warunki środowiskowe i dobrostan drobiu;
5. Chów na kurnikach wielkopowierzchniowych z zastosowaniem produktu powłokowego w celu porównania parametrów zootechnicznych i dobrostanu w warunkach rzeczywistego zastosowania.

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem roślin: tymianek pospolity (*Thymus vulgaris* L.), rozmaryn lekarski (*Rosmarinus officinalis* L.), lebiotka pospolita (*Origanum vulgare* L.), szalwia lekarska (*Salvia officinalis* L.), pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica* L.) i rdest ptasi (*Polygonum aviculare* L.). Substancje czynne pozyskiwano na drodze ekstrakcji w aparacie Soxhleta oraz destylacji wodnej w aparacie Clevengera. Właściwości ekstraktów i olejków eterycznych były sprawdzane na drodze analiz spektrofotometrycznych (metoda Folina – Ciocalteau i ABTS) oraz chromatograficznych (UPLC, GC-FID).

W wyniku przeprowadzonych badań został opracowany i wdrożony produkt powłokowy zawierający olejek rozmarynowy, który w wpływa korzystnie na dobrostan drobiu w chowie kur brojlerów.

## **B. SUMMARY**

In the modern agri-food industry, disinfectants are very commonly used and new solutions are constantly being sought to combat microorganisms. Disinfection aim is to remove unwanted microorganisms in order to protect against their dangerous and often fatal effects. In poultry farming, washing and disinfection procedures take place after each completed production cycle, which usually lasts 6 weeks. The agents used must act quickly and effectively, and at the same time be economically available, so that the profitability of breeding is maintained. At the same time, microorganisms are becoming more and more resistant to the agents used, which necessitates the use of increasingly higher doses or combinations of substances with increasingly stronger effects. All disinfectants are classified as hazardous to health and the environment, including carcinogenic or mutagenic effects. This causes problems with application and a constant increase in costs. Despite professionally conducted disinfection procedures, contamination in the breeding cycle is still a problem and in each cycle there is a fight for the lowest possible losses resulting from bird illnesses or deaths. The sources of contamination are the birds themselves, which can enter the hen house as carriers of microorganisms, but there are also external factors, such as the litter, water, food, air, surfaces of the hen house and humans, who are often the vectors of infection. Chicken breeders and employees of companies providing cleaning and disinfection services for hen houses, assume that some contamination may be secondary, i.e. transferred from the completed breeding cycle to the next one, despite disinfection procedures. The reason why the disinfection procedures do not reach all the nooks and crannies, e.g. micro-damages in concrete is the construction of the hen houses and the structure of their surfaces. It becomes a place where microorganisms remain and attack a new batch of chickens.

The fight against microorganisms can also be carried out from the inside, i.e. by stimulating the immune system of the hens to fight infections. In addition to traditional pharmaceuticals, substances that naturally occur in nature can be used for this purpose. Numerous studies on the influence of substances of natural origin are conducted. These studies prove that natural substances, when added to food or water, help building the hens' immunity.

As the core of this industrial doctoral thesis, two research directions, inspired by the above mentioned problems, were combined:

1. Development of a solution enabling the isolation of microorganisms that could remain on the surface of the hen house after the completed breeding cycle despite its cleaning



and disinfection. It would be isolation from microorganisms that can be dangerous to the new broiler breeding cycle;

2. Introduction of active substances from herbal plants during the breeding of hens in a different way than by food or water, so that they could stimulate the immune system of the hens.

As a solution, product in the form of a coating to be applied to the floor and walls of the hen house was proposed, which would contain extracts or oils from plants previously used in poultry feeding and known for their health-promoting properties.

The research was divided into stages:

1. Development of a coating formula which, when applied to the concrete floor and walls of the hen house, will create an isolating layer against pathogens;
2. Obtaining active substances from herbal plants by extraction and distillation, taking into account the technological possibilities for large-scale production;
3. Enrichment of the coating formula with the obtained extracts and/or oils;
4. Conducting experimental breeding of hens in test chambers to observe the effect of using the coating product on environmental conditions and poultry welfare;
5. Breeding in large-scale hen houses using the coating product to compare zootechnical parameters and poultry welfare in usually used conditions.

The research was conducted using the following plants: common thyme (*Thymus vulgaris* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), common sage (*Salvia officinalis* L.), common nettle (*Urtica dioica* L.) and knotweed (*Polygonum aviculare* L.). The active substances were obtained by extraction in a Soxhlet apparatus and water distillation in Clevenger apparatus. The properties of extracts and essential oils were checked by spectrophotometric analyses (Folin-Ciocalteu and ABTS methods) and chromatographic analyses (UPLC, GC-FID).

As a result of the research, a coating product containing rosemary oil was developed and implemented. The product has a positive effect on the welfare of poultry in broiler breeding.

### C. SPIS AKRONIMÓW WYKORZYSTANYCH W PRACY

ABTS – 2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)

ASE – przyspieszona ekstrakcja rozpuszczalnikiem

DMSO – dimetylosulfotlenek

FCR – feed conversion ratio (wskaźnik konwersji paszy)

FPD – foot pad dermatitis (zapalenie podeszwy stopy)

GC - FID – chromatografia gazowa z detekcją płomieniowo-jonizującą

MAE – ekstrakcja rozpuszczalnikiem wspomagana promieniowaniem mikrofalowym

SFE – ekstrakcja przy pomocy płynu w stanie nadkrytycznym

SLE – ekstrakcja prosta

SOE – ekstrakcja w aparacie Soxhleta

SPE – ekstrakcja do fazy stałej (ekstrakcja ciecz-ciało stałe)

UAE – ekstrakcja przy pomocy rozpuszczalnika wspomagana ultradźwiękami

UPLC – ultra-performance liquid chromatography (ultraszybna chromatografia cieczowa)

## I. Cel pracy

Mięso drobiowe jest najczęściej spożywanym gatunkiem mięsa na świecie. Polska jest liderem jego produkcji w skali Unii Europejskiej oraz jest w czołówce państw na świecie. Tak duża gałąź gospodarki jest silnie uzależniona od sytuacji ekonomicznej kraju, kosztów energii, kosztów pracy, zakupu materiałów i wynikającej z tego opłacalności produkcji. Równie ważna jest jakość produktu końcowego, a ze względu na to, że są to organizmy żywe, jakość wynika bezpośrednio z dobrostanu drobiu w trakcie chowu. Celem pracy jest zwiększenie dobrostanu kur brojlerów poprzez ograniczenie możliwości skażeń wtórnych w produkcji, a przez to redukcję zachorowalności i śmiertelności kur. W celu realizacji planu postanowiłam otrzymać powłokę na posadzkę kurnika, wzbogaconą o surowce uzyskane z roślin, która dzięki swoim parametrom ma stanowić barierę dla mikroorganizmów. Niezbędne dla poniższej pracy doktorskiej są następujące działania badawcze i wdrożeniowe:

1. Dobór składników do opracowanie powłoki, która ma być nakładana na posadzkę kurnika. Powłoka ma być łatwa do nałożenia, trwała przez czas chowu, nie naruszać struktury betonu, nie zawierać składników szkodliwych dla zwierząt, a po zakończonym cyklu ma być łatwa do usunięcia przy użyciu środków myjących standardowo używanych do mycia kurnika.
2. Analiza parametrów fizykochemicznych i użytkowych powłoki.
3. Ocena wpływu powłoki na wilgotność ściółki i zapylenie powietrza w pomieszczeniach hodowlanych.
4. Wytypowanie odpowiednich roślin na podstawie informacji o ich składzie i dotychczasowego wykorzystania w produkcji zwierzęcej.
5. Przeprowadzenie ekstrakcji i/lub destylacji materiału roślinnego, którego składniki mogą w sposób skuteczny oddziaływać na drób (metoda Soxhlet'a i destylacja wodna).
6. Wybór najbardziej wydajnego systemu ekstrakcji przy zastosowaniu rozpuszczalników: heksan, eter naftowy, etanol.
7. Analizy jakościowe i ilościowe otrzymanych ekstraktów i olejków: chromatografia, analiza potencjału antyoksydacyjnego. Określanie zawartości substancji wskaźnikowych, takich jak  $\alpha$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol,  $\gamma$ -terpinen, linalol,  $\alpha$ -terpineol, karwakrol i kariofilen oraz kwas rozmarynowy jako reprezentantów dla grupy olejków eterycznych i polifenoli.
8. Wytypowanie ekstraktów lub olejków o najlepszej wydajności i/lub najlepszym profilem związków aktywnych w celu dalszego włączenia do formulacji powłoki.

9. Ponowna analiza parametrów wzbogaconej powłoki, istotnych ze względu na jej sposób otrzymywania, aplikacji i zmywania z powierzchni. Ocena stabilności w czasie i utrzymywania się na odpowiednim poziomie składników wzorcowych (wytypowanych jako reprezentatywne) w mieszaninie jaką będzie powłoka. Ocena kompatybilności ekstraktów/olejków z powłoką.
10. Przeprowadzenie eksperymentalnego chowu kur w obecności wzbogaconej powłoki naniesionej na posadzkę komory hodowlanej. Porównanie parametrów zootechnicznych i dobrostanu kur brojlerów w chowie z powłoką i bez powłoki.
11. Analiza uwalniania się substancji czynnych do ściółki po aplikacji wzbogaconej powłoki na powierzchnie docelowe. Analiza próbek ściółki pod kątem zawartości składników wzorcowych.
12. Przeprowadzenie obserwacji parametrów hodowlanych w kurniku wielkopowierzchniowym, na którym została zastosowana wzbogacona powłoka. Ocena wpływu zastosowania powłoki na dobrostan kur w warunkach rzeczywistego zastosowania.
13. Wdrożenie produktu powłokowego do systemu produkcji (opis technologiczny) oraz oferty handlowej.

## II. Wstęp

Tymianek pospolity (*Thymus vulgaris*), rozmaryn lekarski (*Rosmarinus officinalis*), lebiotka pospolita (*Origanum vulgare*), szalwia lekarska (*Salvia officinalis*), pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica*) i rdest ptasi (*Polygonum aviculare*) to rośliny, które łączą powszechne występowanie w Europie, zarówno na stanowiskach dzikich jak i w uprawach. Wykorzystywane są przede wszystkim jako surowce spożywcze, głównie jako przyprawy kuchni śródziemnomorskiej lub jako susz na herbaty. Spośród nich pokrzywa i rdest traktowane są nawet jako chwasty, przeszkadzające w uprawie innych roślin. Od starożytności wszystkie te rośliny były znane w ziołolecznictwie, które pomimo postępu technologicznego i rozwoju farmakologii jest nadal ważną gałęzią medycyny, docenianą przez wszystkich dbających o swoje zdrowie. W ostatnich dziesięcioleciach następuje coraz bardziej intensywny powrót do badań nad ziołami, w celu poznania ich właściwości, składu preparatów jakie można z nich uzyskać i efektów jakie może przynieść ich stosowanie. Dotyczy to zarówno żywienia, medycyny, kosmetologii jak i zastosowań wykraczających poza użycie dla ludzi. Te same korzystne właściwości, które obserwujemy u ludzi są testowane w przypadku zwierząt. Zwierzętom podaje się leki oparte na substancjach uzyskiwanych z roślin lub dodaje się całe zioła do paszy czy innych preparatów w celu uzupełnienia niedoborów pokarmowych.

Potencjał w roślinach jest ogromny, ponieważ zawierają bogactwo substancji czynnych takich jak olejki eteryczne, polifenole, w tym kwasy fenolowe i flawonoidy, garbniki, saponiny, fitosterole, woski, sole mineralne, witaminy, które działają przeciwbakteryjnie, przeciwgrzybiczo, przeciw pasożytniczo, antyoksydacyjnie, przeciwzapalnie oraz immunostymulacyjnie. Efekty działania preparatów roślinnych można wykorzystać w produkcji powłokowym, który nałożony na posadzkę kurnika pozostanie w kontakcie ze ściółką, a przez to z bezpośrednim środowiskiem, w którym żyją kury. Niektóre substancje czynne obecne w roślinach można wytypować jako wskaźniki i obserwować ich zawartość początkowo w olejkach i ekstraktach, następnie w produkcie powłokowym, a ostatecznie w ściółce w trakcie chowu kurcząt. Wśród olejków eterycznych jako wskaźniki zostały wybrane substancje występujące we wszystkich lub większości badanych roślin i były to:  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -myrcen,  $\alpha$ -terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol, linalol,  $\alpha$ -terpineol,  $\gamma$ -terpinen, karwakrol i kariofilen. Spośród wielu polifenoli na wskaźnik wybrany został jeden z najpowszechniejszych kwasów fenolowych, czyli kwas rozmarynowy.

Ze względu na innowacyjność rozwiązania jakim jest opracowanie produktu powłokowego wzbogaconego o substancje pochodzenia roślinnego, trudno jest określić, która

z substancji będzie możliwa do oznaczenia w powłoce, a następnie w ściółce. Sposób pozyskiwania preparatów roślinnych musi również spełniać wymóg opłacalności wdrożenia, stąd bardzo istotne są takie parametry jak wydajność procesu i bogactwo substancji czynnych, które dają większe szanse na ostateczne oddziaływanie na drób.

### III. Część literaturowa

#### 1. Krótka charakterystyka wybranych ziół

##### 1.1. Tymianek

Tymianek pospolity (*Thymus vulgaris L.*) zwany potocznie macierzanką, należy do rodziny jasnotowatych, inaczej wargowych (Lamiaceae). Dziko występuje w rejonie Morza Śródziemnego, głównie w Hiszpanii, Włoszech, Grecji, Turcji i Maroko oraz w Ameryce Południowej[1]. Natomiast uprawiany jest jako przyprawa i roślina lecznicza w wielu krajach Europy i Ameryce Północnej oraz w Chinach, Indiach i Egipcie[2]. Wśród krajów europejskich Polska znajduje się w czołówce pod względem powierzchni upraw tymianku.

Tymianek to drobny, aromatyczny półkrzew, o silnie rozgałęzionej, zdrewniałej w dolnej części łodydze. Jest ciemnozielony, czasami szarozielony, osiąga wysokość 30-40 cm. Liście są drobne, eliptyczne, całobrzegie, wyrastają parami. Kwiaty również drobne, w kolorze od różowego do jasnofioletowego tworzą groniaste kwiatostany w szczytowej części rośliny. Owocem jest czteronasienna rozłupnia, sucha, zamknięta[3].



Zdj. 1. Tymianek pospolity (forma handlowa)



Zdj. 2. Tymianek pospolity w skupisku

Uprawa tymianku jest możliwa na różnych rodzajach gleb, poczynając od piaszczystych, piaszczysto-gliniastych, po gliniaste, dobrze rośnie na glebach przepuszczalnych, zasobnych w wapń i dobrze odwodnionych. Lubi miejsca słoneczne, ciepłe i nieco suche. Ma wysoką tolerancję na suszę, co czyni go łatwym w uprawie, zarówno

wieloletniej, jak i jednorocznej. W sezonie wegetacyjnym prowadzi się dwukrotny zbiór górnych części pędów zielnych, przed kwitnieniem na cele przyprawowe i w pełni kwitnienia na cele lecznicze (gdy jest najwyższa zawartość olejków)[4].

Tymianek był znany i ceniony już w czasach starożytnych. Wykorzystywali go Grecy, Rzymianie i Egipcjanie, używając m.in. do balsamowania zwłok. W średniowieczu tymianek uważano za roślinę posiadającą moc ochronną przed złymi duchami i czarami[5]. Dziś również ceniony jest w kuchni (jest niezwykle popularnym, a zarazem wszechstronnym ziołem kulinarnym, szczególnie do dań kuchni śródziemnomorskiej), w kosmetyce i medycynie. W kosmetyce wykorzystywane są olejki eteryczne z tymianku, mające działanie antyseptyczne, pobudzające i oczyszczające, dlatego często dodawane są do mydeł, szamponów, olejków do kąpieli oraz kremów do twarzy i ciała. Preparaty kosmetyczne z tymiankiem pomagają w walce z trądzikiem, łojotokiem i innymi stanami zapalnymi skóry. Wspierają również regenerację naskórka. Napar z tymianku może być wykorzystywany jako tonik do twarzy lub do płukania jamy ustnej[6]. W medycynie tymianek wykorzystywany jest w celu wspomagania odporności organizmu, a dodatkowo wykazuje działanie wykrztuśne, rozkurczowe i przeciwzapalne. Właściwości tymianku wykorzystują również osoby z problemami układu oddechowego, pomaga on łagodzić kaszel (składnik syropów na kaszel), katar i zapalenie gardła[7]. Okazuje się także przydatny w leczeniu dolegliwości żołądkowo-jelitowych oraz stanów zapalnych skóry[8]. Ma zastosowanie w aromaterapii, dzięki czemu wspiera terapie antybiotykowe[9].

Swoje wszechstronne działanie tymianek zawdzięcza zawartości substancji czynnych, takich jak olejki eteryczne i polifenole, a wśród nich kwasy fenolowe i flawonoidy. Z ziela tymianku można uzyskać do 2,5% olejku eterycznego (25 mg/g), zawierającego między innymi tymol (stanowiący 45% olejku), karwakol (25-60%), borneol (8- 5%), p-cymen (7-20%), beta-kariofilen (1-3%), linalol (8%)[4]. Łącznie w olejku tymiankowym zidentyfikowano 40 składników[10,11]. Właściwości antyoksydacyjne tymianek zawdzięcza dużej zawartości polifenoli, w tym kwasów fenolowych: kwas kawowy, chlorogenowy, rozmarynowy[12]. Oprócz tego zawiera triterpeny (kwas oleanolowy, ursolowy), garbniki, flawonoidy, witaminy z grupy B (głównie ryboflawinę), witaminy A, C, E i K oraz kompleks składników mineralnych takich jak mangan, selen, żelazo, wapń, potas czy magnez[4].



## 1.2. Rozmaryn

Rozmaryn lekarski (*Rosmarinus officinalis L.*), podobnie jak tymianek należy do rodziny jasnotowatych (Lamiaceae) i podobnie jak on dziko występuje w rejonie Morza Śródziemnego, czyli w Albanii, Algierii, Egipcie, Francji, Grecji, Hiszpanii, Maroko, Portugalii, Tunezji, Turcji i we Włoszech. Uprawa rozmarynu została rozpowszechniona poza tymi krajami między innymi, w Bułgarii, Meksyku, Niemczech, Wielkiej Brytanii i południowych stanach USA. Obecnie do największych producentów rozmarynu na cele spożywcze, farmaceutyczne, kosmetyczne i ozdobne należą Francja, Hiszpania, Włochy, Grecja i Meksyk[13]. Hodowane są różne odmiany, np. płożąca, karłowata (Benenden Blue, Huntigton Carpet, Lockwood de Forest, Majorka Pink, Prostatus). W Polsce uprawiany jest jako roślina doniczkowa.

Rozmaryn to zimozielony krzew dorastający w naturze do 2 m wysokości. Ma obfite, miękkie gałęzie o drewniejącej w drugim roku łodydze. Drobne, przypominające igły, ciemnozielone, równowąskolancetowate liście, brzegiem podwinięte, pod spodem skórzaste, szarosrebrne. Kwiaty w większości niebieskie (jasno lub ciemno niebieskie) o dwuwargowym kielichu. Owocem jest rozłupnia, sucha, zamknięta[14].



Zdj. 3. Rozmaryn lekarski (forma handlowa)



Zdj. 4 Rozmaryn lekarski w skupisku

Rozmaryn jest stosunkowo łatwy w uprawie, wymaga jednak odpowiedniej pielęgnacji. Najlepiej rośnie w ciepłym i słonecznym stanowisku, w dobrze przepuszczalnej glebie. Nie

wymaga obfitego podlewania, toleruje lekko przesuszoną glebę, dzięki mocno rozgałęzionemu systemowi korzeniowemu. Natomiast wymaga przycinania w celu utrzymania zwartego kształtu i pobudzenia wzrostu nowych pędów. Najlepsza dla uprawy jest przepuszczalna, obojętna lub lekko kwaśna gleba, źle toleruje miejsca podmokłe i ujemne temperatury. Kwitnie w okresie od kwietnia do lipca, zbiór możliwy jest przez cały okres uprawy, ale najbardziej aromatyczny jest tuż przed kwitnieniem.

Rozmaryn to niezwykle wszechstronna roślina zielna, która od wieków jest wykorzystywana w kuchni, ziołolecznictwie oraz pielęgnacji skóry i włosów. Uprawiany był już w starożytnym Rzymie, Egipcie i Grecji. W kulturze chrześcijańskiej rozmaryn towarzyszy wizerunkom Matki Boskiej, oznacza czystość i dziewictwo[15]. Rozmaryn od wieków jest ceniony w ziołolecznictwie ze względu na swoje właściwości lecznicze. Znajduje zastosowanie w leczeniu różnorodnych dolegliwości, od bólu mięśni po problemy z pamięcią. Preparaty z rozmarynu mogą być stosowane wewnętrznie, jak i zewnętrznie. Wykazuje on działanie przeciwzapalne (pomocnym w łagodzeniu stanów zapalnych, bólu stawów i mięśni), przeciwbakteryjne, przeciwutleniające (chroni komórki przed szkodliwym działaniem wolnych rodników) oraz poprawia krążenie krwi. Olejki eteryczne zawarte w rozmarynie wpływają korzystnie na funkcjonowanie mózgu, poprawiając pamięć i koncentrację. Pomagają również w walce ze stresem i łagodzą objawy depresji. Rozmaryn wykazuje właściwości oczyszczające i uzdrawiające, dlatego jest ceniony w pielęgnacji cery trądzikowej i problematycznej. Ponadto działa przeciwstarzeniowo, wygładzając i ujędrniając skórę. Rozmaryn stymuluje krążenie krwi w skórze głowy, co wspomaga wzrost zdrowych, silnych włosów. Może być stosowany w szamponach, odżywkach lub olejkach do włosów.

Rozmaryn jest rośliną bogatą w cenne składniki odżywcze i substancje aktywne. Zawiera między innymi olejki eteryczne (w oleju z rozmarynu w zależności od chemotypu występują: 1,8-cyneol – nawet do 50%, borneol – 5-10%, limonen – do 4%,  $\alpha$ -pinen – 14,5%,  $\beta$ -pinen – do 9%, kamfora – do 15% oraz kamfen 6-7%)[16], w ekstraktach natomiast flawonoidy, kwasy fenolowe (przede wszystkim kwas rozmarynowy[17], kawowy, felurowy), kwas chlorogenowy, rozmanol, diterpeny (kwas karnozolowy, karnozol, rozmaridifenol), triterpeny, flawonoidy, fitosterole i wiele innych naturalnych przeciwutleniaczy[13]. Ponadto rozmaryn jest źródłem garbników, saponin oraz witaminy A, C i B<sub>6</sub>, minerałów, takich jak wapń, magnez, żelazo i potas[18]. Olejek eteryczny oraz ekstrakty z rozmarynu, wodne lub tłuszczowe, dzięki zawartości fitoncydów cechują się dużą aktywnością przeciwdrobnoustrojową wobec bakterii zarówno gramododatnich, jak i gramujemnych.

Działanie to odbywa się poprzez zniszczenie ścian komórkowych i błon cytoplazmatycznych, hamowania syntezy DNA, RNA, i protein[19].

### 1.3. Oregano

Lebiodka pospolita (*Origanum vulgare L.*) – kolejna z roślin z rodziny jasnotowatych (Lamiaceae). W większości znana pod nazwą oregano, ale również jako dziki majeranek czy macierzanka wysoka. To wieloletnia roślina, rosnąca w całej Eurazji, Afryce Północnej i Ameryce Północnej. W Polsce pospolicie występuje na terenie całego kraju, najczęściej na skraju lasów, na suchych pagórkach, w widnych lasach[20]. Uprawiana jest głównie w Hiszpanii, Włoszech, Francji, Grecji, Bułgarii, Rumunii, Turcji i w Meksyku[21]. Wśród najpopularniejszych odmian hodowanych można wymienić: Diabolo, Bristol Cross, Variegatum i Aureum.

Lebiodka może osiągać do 80 cm wysokości (choć zwykle jest to 20–50 cm), tworząc stosunkowo duże kępy o łodygach wyrastających z pełzających kłączy. Charakteryzuje się lekko purpurową, czterokanciastą wzniesioną łodygą, prostą i wyczuwalnie owłosioną. Liście są naprzeciwległe, ogonkowe (górne liście siedzące), o jajowatym kształcie, najczęściej całobrzegie. Kwiaty wytwarzane się od czerwca do września, są koloru jasnoróżowego do fioletowego zebrane w szczytowych podbaldachach. Zbudowane z kielicha, wargowej korony oraz niewielkich przykwiatków, jedno lub obupłciowe. Owocem jest czteronasienna rozłupnia[22].



Zdj. 5. Lebiodka pospolita (forma handlowa)



Zdj. 6. Lebiodka pospolita w skupisku

Jest wytrzymałym gatunkiem, dobrze znosi niskie temperatury, czasową suszę, toleruje półcień, choć najlepiej rośnie w mocno nasłonecznionych stanowiskach. W naturze często występuje na zboczach gór, czemu najprawdopodobniej zawdzięcza swoją nazwę, z języka greckiego: oros – góra i ganos – ozdoba[23]. Najlepsza jest dla niej przepuszczalna i żyzna gleba, dobrze udroźniona, o odczynie obojętnym, nie lubi nadmiaru wilgoci. Późną wiosną należy przyciąć roślinę by wyrosła bujniejsza. Oregano należy zbierać dość często by stymulować jego wzrost, najlepiej w okresie kwitnienia.

Oprócz oczywistego zastosowania kulinarnego (samodzielna przyprawa oraz składnik mieszanek np. ziół prowansalskich), oregano ma długą historię użycia w medycynie i kosmetyce. Stosowane już w medycynie ludowej i obecnie jako lek przy dolegliwościach układu oddechowego, takich jak kaszel, zapalenie błony śluzowej oskrzeli, jako środek wykrztuśny oraz przy niestrawności, bolesnych miesiączkach, reumatoidalnym zapaleniu stawów i schorzeniach dróg moczowych[24]. Posiada silne działanie antyoksydacyjne dzięki czemu spowalnia procesy starzenia, ma właściwości przeciwbakteryjne, przeciwpasożytnicze, przeciwgrzybiczne i przeciwzapalne[23,25]. Olejek z oregano stosowany zewnętrznie wykorzystuje się do płukania gardła, wzmacniających kąpeli (aromaterapia) oraz przy trudno gojących się ranach skóry i świądzie. Z kolei napar działa wiatropędnie i stosowany jest przy niedrożności jelit spowodowanej zanikiem skurczu mięśni gładkich, nadmiernej fermentacji w jelitach, chorobie wrzodowej żołądka i dwunastnicy oraz niedoczynności wątroby. Olejek z oregano wchodzi również w skład niektórych kosmetyków, np. płynów do kąpieli i do płukania ust[26].

Podobnie jak z tymianku i rozmarynu, z oregano można uzyskać olejek eteryczny, w ilości do 3%, o ilości i składzie uzależnionych od warunków pogodowych, miejsca wzrostu rośliny, czasu zbiorów[23]. Zawsze jednak głównymi składnikami olejku z oregano są karwakrol (ok. 14%) i tymol (ok. 12,5%)[25], w niektórych przypadkach ich łączna ilość sięga nawet 60%[22]. Pozostałe składniki to p-cymen,  $\gamma$ -terpinen, kariofilen,  $\alpha$ -terpinen,  $\delta$ -terpineol,  $\beta$ -fenchyl alcohol [25]. Oregano zawiera również garbniki, seskwiterpeny, flawonoidy (apigenina, kwercetyna, kemferol, diosmetyna, luteolina), kwasy fenolowe (kawowy, wanilinowy, ferulowy, ursolowy, galusowy, chlorogenowy, rozmarynowy) i fitosterole[27]. Pod względem zawartości kwasu rozmarynowego w ekstrakcie, oregano jest trzecią rośliną (z wymienionych w tej rozprawie) po tymianku i rozmarynie zawierających, odpowiednio 10,9 mg/g suchego suszu (tymianek) i 6,95 mg/g s.s. (rozmaryn) i 5,78 mg/g s.s.(oregano). Kolejna jest szalwia (3,3 mg/g s.s.)[28].

#### 1.4. Szałwia

Szałwia lekarska (*Salvia officinalis* L.) to czwarta z roślin z rodzaju jasnotowatych (Lamiaceae) opisywanych w tej pracy. I podobnie jak trzy poprzednie również pochodzi z obszarów Morza Śródziemnego, przede wszystkim z jego wschodnich wybrzeży: Albanii, Chorwacji, Serbii, Grecji, ale również z Bliskiego Wschodu. Szałwia jest uprawiana w wielu krajach na całym świecie (USA, Kanada, Argentyna), praktycznie w całej Europie, od Hiszpanii, przez Wielką Brytanię, Francję, Niemcy, po Włochy i Turcję, także w Polsce[29]. Nazwa rośliny z języka łacińskiego oznacza „roślinę zbawienie”[30].

Szałwia jest wieloletnim półkrzewem, dorastającym do 60-70 cm wysokości, o zdrewniałych od dołu łodygach, czterokanciastych lub okrągławych, obficie owłosionych. Liście szarawe, naprzeciwległe, ogonkowe, dzięki owłosieniu (białe włoski na spodzie i zielono-szare na wierzchu) są miękkie w dotyku. Kształt podłużny, owalny lub lancetowaty, brzeg lekko karbowany, powierzchnia pomarszczona. Kwitnie od maja do lipca wytwarzając na szczycie krzewów kwiaty dwuwargowe, zebrane w podłużne kwiatostany. Kwiaty są drobne, fioletowo-niebieskie, zebrane w nibyokółki[31].



Zdj. 7. Szałwia lekarska (forma handlowa)



Zdj. 8. Szałwia lekarska w skupisku

Jak większość roślin z rejonu Morza Śródziemnego szalwia lubi nasłonecznione stanowiska, często występuje na zboczach gór, w wilgotnych, ale nie zalewowych glebach. Może być również uprawiana w półcieniu, ale wtedy kwitnienie będzie mniej intensywne.

Podłoże do uprawy powinno być bogate w wapń, o pH obojętnym, przepuszczalne i żyzne, a samo miejsce osłonięte od wiatru. W naszych warunkach klimatycznych szalwia jest mrozoodporna, natomiast przy silniejszych mrozach należy ją okrywać w celu ochrony strefy korzeniowej. Na wiosnę należy ją przyciąć w celu pobudzenia wzrostu. Zbiór szalwii należy przeprowadzić gdy roślina dobrze wykształci liście, ale jeszcze przed kwitnieniem. Ma wtedy najwyższą zawartość olejków eterycznych[30].

Szalwia uprawiana jest dla swoich właściwości aromatycznych i leczniczych wykorzystywanych w kosmetyce i medycynie. Ma działanie odkażające, przeciwzapalne i ściągające[32], dzięki czemu znajduje zastosowanie w produktach do płukania jamy ustnej i gardła[33]. Stosowana była od dawna na dolegliwości wątroby, korzystnie działa na układ pokarmowy, przeciwdziałając nadmiernej fermentacji jelitowej i bolesnym wzdęciom spowodowanym stanem skurczowym w jelitach oraz gromadzeniu się gazów. Wspomaga wydzielanie soków trawiennych[32] oraz żółci, dzięki czemu przyczynia się do prawidłowego trawienia i reguluje pracę układu pokarmowego[34]. Właściwości wykrztuśne i ściągające powodują, że szalwia stosowana jest przy przeziębieniach, infekcjach górnych dróg oddechowych, pomagając usunąć z oskrzeli zalegającą wydzielinę[35]. Osoby zmagające się z nadmierną potliwością mogą stosować preparaty zawierające szalwię, ponieważ hamuje ona wydzielanie potu[36]. Oprócz tego hamuje wydzielanie sebum, dzięki czemu zapobiega powstawaniu zmian trądzikowych[37]. Ekstrakty z szalwii oczyszczają i tonizują skórę, można je stosować również na trudno gojące się rany, w tym po oparzeniach[38]. Odnotowano łagodzące działanie ekstraktu na objawy menopauzy, takie jak uderzenia gorąca, nocne poty, kołatanie serca, bóle mięśni i stawów, depresja, stany lękowe, zaburzenia snu i popędu seksualnego[39]. Szalwia ma pozytywny wpływ na funkcje neurologiczne poprzez poprawę pamięci za pośrednictwem wpływu na receptory nikotynowe i muskarynowe. Prowadzone są nawet badania nad wpływem szalwii na redukcję stanów zapalnych charakterystyczne dla choroby Alzheimera[31].

Szalwia jest bogata w związki biologicznie aktywne. Olejek eteryczny, którego zawartość powinna wynosić od 1,5% do 2,5% lub nawet 3,5%[40] składa się głównie z następujących związków: monoterpeny ( $\alpha$ -tujon,  $\beta$ -tujon, kamfora, 1,8-cyneol),  $\alpha$ -humulen,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -kariofilen, borneol, alkohol seskwiterpenowy wiridiflorol i alkohol diterpenowy manool[29,41]. Oprócz tego szalwia zawiera takie metabolity jak kwas karnozowy, karnozol, kwas oleanolowy, ursolowy, kwasy fenolowe: kawowy, wanilinowy, ferulowy, rozmarynowy i flawonoidy luteolina, apigenina i kwercetyna oraz saponiny i woski[31,42].

## 1.5. Pokrzywa

Pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica* L.), roślina z rodziny pokrzywowatych (Urticaceae). Bardzo rozpowszechniona w stanie dzikim na wszystkich kontynentach, występuje w prawie wszystkich krajach Europy, Azji, Afryki Północnej i Ameryki Północnej. W Europie od Islandii do Morza Śródziemnego, w Azji od Himalajów po Syberię, występuje również na Grenlandii, Alasce, Nowej Zelandii, w Etiopii, Brazylii i Peru[43]. Nazwa pochodzi od łacińskiego słowa uro – parzę, wskazującego na obecność kłująco-parzących włosków powodujących bolesne podrażnienia skóry. Użytkowo pokrzywa znana była już w starożytności, nawet pojawia się w mitologiach poświęcona rzymskiej bogini Wenus i skandynawskiemu Thorowi. Wierzono w jej ochronne działanie przed czarami i złymi mocami. Istniała w medycynie ludowej przez długi czas, aż w XIX w. została zapomniana. Druga połowa XX w. to ponowne rosnące zainteresowanie pokrzywą na cele lecznicze, kosmetyczne i żywieniowe.

Przez cały czas pokrzywa była rośliną towarzyszącą człowiekowi w miejscu zamieszkania i działalności (gatunek synantropijny), stąd można ją spotkać praktycznie wszędzie, w ogrodach, polach uprawnych, przydrożach, torach kolejowych, wysypiskach śmieci. Jest silnie ekspansywna, mogąca stłumić rozwój innych roślin, często traktowana jest jako chwast. Na potrzeby zbiorów pozyskiwana jest ze stanowisk naturalnych, czyli wilgotnych lasów, w większości liściastych, dolin rzecznych, siedlisk podmokłych, wąwozów[44]. Ze względu na coraz większe zanikanie takich siedlisk wynikające z destrukcyjnej działalności człowieka, pojawia się potrzeba uprawy pokrzywy.

Uprawa pokrzywy najlepiej jeżeli jest prowadzona w miejscu, gdzie wcześniej uprawiano rośliny motylkowe, ze względu na duże zapotrzebowanie pokrzywy na azot. Oprócz azotu pokrzywa ma wysokie zapotrzebowanie na fosfor, więc wymaga nawożenia. Pokrzywa lubi gleby żyzne, luźne i wilgotne, o pH obojętnym do łagodnie kwaśnego (min. 5,5). Jest byliną szybko rosnącą, tworzącą liczne, zwarte i rozległe zbiorowiska. Przystosowaniem do przetrwania zimy są pąki tuż przy powierzchni ziemi (hemikryptofit) oraz podziemne kłącza. Kłącza to też rodzaj wegetatywnego rozmnażania obok rozprzestrzeniania się przez nasiona. Z uprawy pokrzywy można uzyskać 2-4 zbiory w ciągu roku, zrywanych przed kwitnieniem[45].

Pokrzywa jest gatunkiem bardzo zmiennym morfologicznie, szczególnie w zależności od stanowiska. Może dorastać nawet do 3 m wysokości, choć najczęściej występują osobniki o wysokości 50-100 cm. Pokrzywa jest ciemnozielona, ma łodygę czterokanciastą, słabo rozgałęzioną, pod ziemią tworzącą rozgałęzione, drewniejące kłącza, z których wyrastają drobne korzenie. Łodygi obumierają jesienią. Liście wyrastają parami w towarzystwie czterech

przylistków, są ogonkowe, nakrzyżległe. Kształt jest zmienny, od jajowatego do lancetowatego, wąskie lub szerokie, z nasadą sercowatą i długim, ostrym końcem. Brzeg liścia jest grubo piłkowany. Zarówno łodyga jak i liście są pokryte jednokomórkowymi włoskami wydzielniczymi, parzącymi, dzięki zawartości drażniącego płynu w wakuolach komórek. Pokrzywa jest rośliną dwupienną. Kwiaty są małe, niepozorne, zielone, tworzące czteropłatkowy okwiat, zebrane w groniaste kwiatostany. Męskie są czteropęcikowe, żeńskie zwieszane po przekwitnięciu. Pokrzywa jest wiatropylna i kwitnie od czerwca do września – października (w zależności od stanowiska). Owocem jest jajowata niełupka, wytwarzana w ogromnej liczbie, nawet do 20 tys. na jednej roślinie. Nasiona mogą zachowywać zdolność kiełkowania przez wiele lat[46].



Zdj. 9. Pokrzywa zwyczajna na stanowisku dzikim



Zdj. 10. Pokrzywa zwyczajna w skupisku

Pokrzywa ma bogate zastosowanie użytkowe – od rośliny leczniczej, jadalnej (w tym paszowej), przez wykorzystanie w kosmetyce, włókiennictwie, ogrodnictwie. Jako roślina lecznicza była stosowana od czasów starożytnych. Ceniono ją przy leczeniu zatruc i oparzeń, obrzęków, tamowaniu krwotoków, stosowano na żółtaczkę, astmę, gruźlicę, zaburzenia układu moczowego[47]. W chorobach reumatycznych zalecano biczowanie pokrzywami. Obecnie pokrzywa ma udowodnione działanie przeciwbakteryjne, hemostatyczne, gojące rany, moczopędne[48] (spowalnia rozrost prostaty[49]). Wpływa na przemianę materii poprzez pobudzenie pracy gruczołów wydzielniczych, również soku żołądkowego i żółci, poprawia perystaltykę jelit. Pokrzywa służy do normalizacji metabolizmu, zawartości cukru we krwi,



dzięki czemu jest pomocna w leczeniu cukrzycy typu 2. Działanie przeciwkrwotoczne zawdzięcza dużej zawartości witaminy K, przez co zwiększa krzepliwość krwi, podnosi również poziom hemoglobiny i zwiększa liczbę czerwonych krwinek. Jej wysoki potencjał antyoksydacyjny może mieć zastosowanie w prewencji nowotworowej[48]. Pokrzywa pomaga w leczeniu chorób zwyrodnieniowych stawów[50] poprzez stymulujące działanie kwasu mrówkowego zawartego w drażniącym płynie z parzących włosków na poprawę krążenia oraz hamowanie produkcji cytokin prozapalnych[48]. W kosmetyce pokrzywa wchodzi w skład produktów do pielęgnacji skóry (kremy, maseczki, toniki) i włosów, szczególnie przetłuszczających się i z łupieżem. Dzięki zawartości krzemionki poprawia jędrność i ukrwienie skóry, jest bogata w witaminy B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> i C[44]. Reguluje pracę gruczołów łojowych[51], hamuje procesy starzenia poprzez działanie antyoksydacyjne (kwercetyna) i hamujące pracę enzymów degradacyjnych (kwas ursulowy)[49]. Historycznie pokrzywa traktowana była jako pożywienie głodowe, w czasie wojen i klęsk żywiołowych. Spożywano wtedy młode rośliny lub młode liście po wcześniejszym sparzeniu. Obecnie często pojawia się w dietach opartych na zdrowej żywności ze względu na duże bogactwo soli mineralnych, witamin i łatwo strawnych białek (ok. 20% zawartości). Chlorofil z pokrzyw to popularny zielony barwnik zarówno w żywności, jak i w farmacji i kosmetyce (barwnik E140). Zwierzęta inwentarskie karmi się kiszoną z pokrzywy lub świeżymi roślinami po ich zwiędnięciu (w mieszankach z innymi roślinami pastewnymi). W tradycyjnym ogrodnictwie stosuje się tzw. gnojówkę z pokrzyw w celu ochrony przed owadami. Z ciekawych zastosowań pokrzywy wymienić jeszcze można pozyskiwanie z niej włókien, kiedyś służących do wyrobu mundurów i sprzętów rybackich, obecnie tkanin przyjaznych środowisku[52].

Pokrzywa jest bogata w substancje organiczne i mineralne oraz pierwiastki śladowe. Są to flawonoidy (amentoflawon, apigenina, katechina, epikatechina, chryzoeriol, kemferol, luteolina, myrecetyna, kwercetyna, rutyna, witeksyna), kwasy fenolowe (pochodne kwasu hydroksybenzoesowego i cynamonowego, kwas galusowy, wanilinowy, syryngowy, protokatechowy, gentyzynowy, cynamonowy, kawowy, p-kumarowy, ferulowy, chlorogenowy, synapinowy)[53], sole żelaza, manganu, miedzi, potasu, wapnia i baru, również pierwiastki rzadkie jak tytan[47]. Jest rośliną multiwitaminową, zawiera witaminę K, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, C, a także chlorofile i karotenoidy[45] (karoten, ksantofil, likopen, luteina[54]). Uczucie pieczenia włosków parzących pokrzywy jest spowodowane obecnością w nich kwasu mrówkowego, histaminy, serotoniny i acetylocholino, uwalnianych w trakcie wbijania się włosków w skórę[55]. Kwas ursulowy, gromadzący się głównie w korzeniach pokrzywy, jest dobrze znanym inhibitorem elastazy[56], natomiast kwercetyna, gromadząca się głównie w liściach,

jest jednym z najważniejszych przeciwutleniaczy[57]. W liściach znajduje się także dużo garbników o działaniu dezynfekującym, nawilżające fitosterole i flawonoidy. W liściach obecne są oprócz tego kwasy fenolowe,  $\beta$ -karoten, ksantofile, protoporfiryny, poza tym: triterpeny, oksylipiny, glikokininy[58]. Z pokrzywy można uzyskać olejek eteryczny zawierający przede wszystkim: kwas benzenodikarboksyłowy (14,5%),  $\beta$ -linalool (9,5%), fitol (9,5%), mentol (6,5%), borneol (6,5%), 3-eikozen (E) (6%), 1,8-cyneol (5,5%) i kamforę (5%)[59]. Z kolei w ekstraktach oznaczono duże ilości pochodnych kwasu kawowego, w szczególności kwasu chlorogenowego i kwasu 2-O-kawoilomalinowego. Flawonoidy są reprezentowane przez glikozydy, w szczególności 3-O-glukozyd kwercetyny i 3-O-rutynozydy kwercetyny, kemferolu i izorhamnetyny. Głównym flawonolem jest rutyna[46].

### 1.6. Rdest

Rdest ptasi (*Polygonum aviculare*) roślina z rodziny rdestowatych, znana pod zwyczajową, ludową nazwą świńska trawa. To pospolity chwast występujący na zbiorowiskach pól uprawnych, terenach gruntownie zmienionych przez człowieka (ruderalnych), takich jak wysypiska gruzu, śmieci, hałdy, zbiorowiskach roślin towarzyszących uprawom roślin okopowych i ogrodowych, zbożowych. Rośnie przy polnych drogach, na poboczach, wiejskich podwórkach[60]. Jest bardzo rozprzestrzeniony na całym świecie. Jest rośliną jednoroczną lub dwuletnią. Jako chwast najczęściej atakuje uprawy kukurydzy, rzepaku, zbóż jarych, ziemniaków, buraków, roślin strączkowych, dla których stanowi zagrożenie z powodu szybkiego rozrastania się.



Zdj. 11. Rdest ptasi na stanowisku dzikim



Zdj. 12. Rdest ptasi w skupisku

Rdest nie jest wysoką rośliną, rozrasta się bardziej w postaci płózających łodyg, dorastających do 70 cm. Łodygi są płzące, silnie rozgałęzione sinozielone, nieliczne wzniesione sięgają do 15 cm i mogą mieć zabarwienie czerwone. Korzeń jest głęboko sięgający, rozgałęziony. Liście są dość zmienne morfologicznie, podłużne lub owalne, wąskie, lekko skręcone, ostro zakończone lub łopatkowate, krótkoogonkowe z pochewką obejmującą łodygę. Kwiaty białozielone, czasami różowe, drobne, niepozorne, wyrastające z kątów liści. Okwiat jest 5-krotny, w dole zwężony. Rdest kwitnie w okresie od czerwca do października, jest samopylny. Owocem są trójkanciaste, ciemnobrązowe orzeszki, których jedna roślina może wytworzyć nawet 200. Rozsiewane są przez zwierzęta i zachowują zdolność kiełkowania nawet przez 60 lat.

Rdest ptasi będzie rozwijał się na różnego rodzaju glebach, jednak najlepiej rozwija się na stanowiskach wilgotnych i dobrze nasłonecznionych. Źle rośnie jedynie na terenach podmokłych. Dobrze znosi zdeptywanie przez zwierzęta i inne uszkodzenia mechaniczne. Jest również odporny na suszę i okresowe podtopienia. Ma duże zdolności adaptacyjne, dzięki czemu dobrze rozwija się nawet na stanowiskach ubogich w składniki pokarmowe, zasolonych czy skażonych metalami ciężkimi i mimo to bardzo szybko się na nich rozrasta. Zbiór na potrzeby zielarskie odbywa się od początku kwitnienia do czerwca, ścina się ulistnione i kwitnące pędy[61].

Choć rdest jest doskonale znany w Polsce jako chwast, to jego zastosowanie jako rośliny leczniczej nie jest jeszcze dokładnie poznawane. Natomiast jego właściwości prozdrowotne zostały docenione już w starożytnych Chinach. Do dziś jest stosowany w tradycyjnej medycynie orientalnej i należy do kategorii leków „Li-Shui-Shen-Shih”[62]. W teorii Tradycyjnej Chińskiej Medycyny (TCM) zioła przeciwwilgociowe dzieli się na następujące: leczącą poprzez diurezę i przenikanie wilgoci (Li-Shui-Shen-Shi), leczące przez wiatr i rozpraszanie wilgoci (Qu-Feng-Chu-Shi) oraz leczące przez usuwanie zmętnienia (Qu-Shi-Hua-Zhuo). „Wilgoć”, wg tej teorii powoduje zaburzenia krążenia, niedotlenienie tkanki tłuszczowej i jelita cienkiego, co prowadzi do wzrostu czynników zapalnych, zaburzenia metabolizmu glukozy, zaburzenia równowagi flory jelitowej i wzrostu ilości lipopolisacharydów[63]. Przekładając to na język medycyny konwencjonalnej, chodzi o niezatrzymywanie wody w organizmie i zwiększenie efektu moczopędnego. Rzeczywiście wyciąg z rdestu zwiększa wydalanie moczu, stosowany jest w kamicy nerkowej, jako środek moczopędny, a poza tym przy schorzeniach płucnych, dolegliwościach układu pokarmowego, anemii, cukrzycy, zewnątrznie przy krwawiących, źle gojących się ranach[61]. Liczne badania wykazały działanie przeciwpalne, przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze rdestu dzięki

zawartości flawonoidów, chinonów, antrachinonów, fenylopropanoidów i terpenoidów. Wszystkie mają zdolności wychwytywania wolnych rodników, a oprócz tego działają ochronie na komórki w stosunku do antybiotyków i środków chemioterapeutycznych w trakcie podawania leków[64].

Z rdestu ptasiego można uzyskać olejek eteryczny z wydajnością do 0,9%. Zawiera on przede wszystkim seskwiterpeny  $\beta$ -farnezen (19,5%) i  $\beta$ -kariofilen (13%) oraz dodekanal (16%). Oprócz tego w mniejszych ilościach obecne są  $\alpha$ -terpinen, 4-karen, p-cymen,  $\beta$ -bisabolen, undekan, dekanal[61]. Ekstrakty z rdestu zawierają flawonoidy (kwercetynę, katechinę, hyperozyd i awikularynę), garbniki, kwasy polifenolowe (w tym kwas rozmarynowy, kawowy, chlorogenowy, elagowy, galusowy, trans-p-kumarowy)[64], cukry, sole mineralne. Katechina i kwercetyna działają hamująco na enzymy elastazy i kolagenazy, co znajduje zastosowanie w kosmetyce[61]. Ważnym składnikiem jest również rozpuszczalna krzemionka, która wydalana z moczem działa hamująco na krystalizację soli mineralnych, zapobiegając w ten sposób powstawaniu kamieni moczowych. Oprócz układu moczowego krzemionka wpływa korzystnie na elastyczność oraz przyspiesza rozwój tkanki łącznej, co znajduje zastosowanie w leczeniu jej ubytków. Odpowiedzialna jest także za dobrą kondycję skóry, włosów i paznokci. Ekstrakt z rdestu ma też zdolność inhibicji enzymu hydrolizującego acetylocholinę, co ma ogromne znaczenie w poszukiwaniu metod leczenia choroby Alzheimera[65].

## 2. Główne związki chemiczne występujące w roślinach i ich właściwości

### 2.1. Olejki eteryczne

Olejki eteryczne to jednorodne mieszaniny związków chemicznych, o właściwościach zapachowych, wytwarzane przez rośliny określane jako olejkodajne. Do takich roślin kwalifikuje się każdą roślinę, z której można pozyskać min. 0,01% olejku eterycznego[66]. Najczęściej olejki pozyskuje się z roślin należących do rodzin sosnowatych (*Pinaceae*), cyprysowatych (*Cupressaceae*), wawrzynowatych (*Lauraceae*), imbirowatych (*Zingiberaceae*), różowatych (*Rosaceae*), jasnotowatych (*Lamiaceae*), mirtowatych (*Myrtaceae*), oliwnikowatych (*Elaeagnaceae*), rutowatych (*Rutaceae*), baldaszkowatych (*Apiaceae*) i astrowatych (*Asteraceae*), choć znane są gatunki roślin z innych rodzin, które również są źródłem cennych olejków eterycznych.

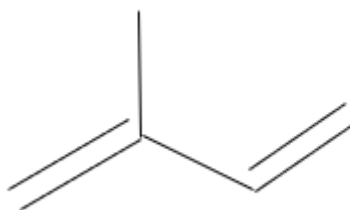
Rośliny wytwarzają olejki w celu zwabienia zapyłaczy, ochrony przed roślinożercami (zniechęcenie do spożywania) oraz w celu negatywnego wpływu na inne grupy roślin (organizmy konkurencyjne), czyli oddziaływania allopatycznego. Człowiek wykorzystuje olejki eteryczne w medycynie oraz kosmetyce już od starożytnych czasów. Znane są informacje mówiące o wykorzystywaniu roślin i pozyskanych z nich olejków przez starożytnych Egipcjan, Sumerów czy w kulturach azjatyckich (Indie, Chiny)[66]. W medycynie ludowej wiedza o roślinach była przekazywana przez wieki, ale dopiero ostatnie dziesięciolecia to zwrot w stronę dokładnego zbadania składów, komponentów olejków i analiza potencjału ich wykorzystania.

Właściwości i skład olejków eterycznych, podobnie jak wszystkich mieszanin naturalnych, podlega dużej zmienności. Mnogość związków organicznych tworzących olejki, takich jak aldehydy, ketony, alkohole, estry, etery, charakterystyczne właściwości tych związków oraz proporcje w jakich występują w danym olejku wpływa na uzyskanie unikalnych cech olejku, które jednak mogą różnić się w ramach tej samej rośliny. Część zmienności zależna jest od czynników wewnętrznych, tzn. etapu rozwoju rośliny, części, z której chcemy pozyskać olejek, zmienności genetycznej w ramach danej grupy osobników. Do tego dochodzi wpływ czynników zewnętrznych jakie oddziałują na „naturalną fabrykę” jaką w tej sytuacji jest roślina. Wpływ klimatu, zmienność warunków pogodowych, wpływ stanowiska, na którym roślina się znajduje, substancje znajdujące się lub dostające się do gleby, obecność innych roślin lub zwierząt, nawet wpływ człowieka, wszystko to ma odzwierciedlenie w składzie olejku eterycznego jaki w danym momencie otrzymujemy. Nawet w obrębie tej samej rośliny, olejek pozyskany o różnej porze dnia może mieć innych skład. Na końcu jest jeszcze wpływ technologii zbiorów i obróbki materiału roślinnego po zbiorze oraz oczywiście sposób

pozyskania samego olejku, czyli technika wyodrębnienia olejku z materiału roślinnego, gdzie dostępnych jest przynajmniej kilka metod.

Niezależnie od zmienności można wskazać pewne cechy wspólne jakie mają wszystkie olejki eteryczne. Mają płynną konsystencję, są dobrze rozpuszczalne w alkoholach i tłuszczach, a nierozpuszczalne w wodzie. Cechami charakterystycznymi są lotność i czynność optyczna. Zabarwienie jest najczęściej jasnożółte lub zielonkawe, czasami są bezbarwne, rzadziej w innych kolorach. Charakterystyczny jest zapach, pochodzący najczęściej od dominującego składnika. W zależności od gatunku rośliny mogą być pozyskane z różnych elementów, najczęściej z całego ziela, ale również z poszczególnych części rośliny: kwiatów, liści, korzenia, nasion, owoców, łodygi, w tym przekształconej w kłącza czy cebule. Olejki powstają w tkankach wydzielniczych, w ich różnych formach jakimi są gruczoły, włoski, przewody, kanały i komórki olejkowe.

Pod względem składu chemicznego olejki dzielimy na terpenowe i nieterpenowe (na bazie fenylopropanu). Terpeny to węglowodory o ogólnym wzorze  $(C_5H_8)_n$ , czyli oligomery izoprenu. Struktura izoprenu przedstawiona na rys. 1.

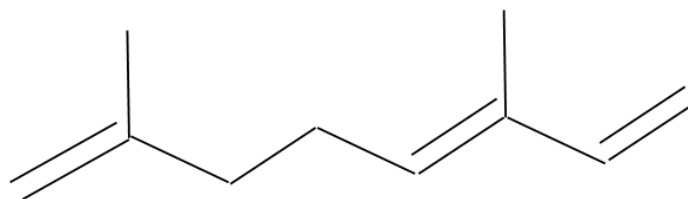


Rys. 1. Struktura izoprenu

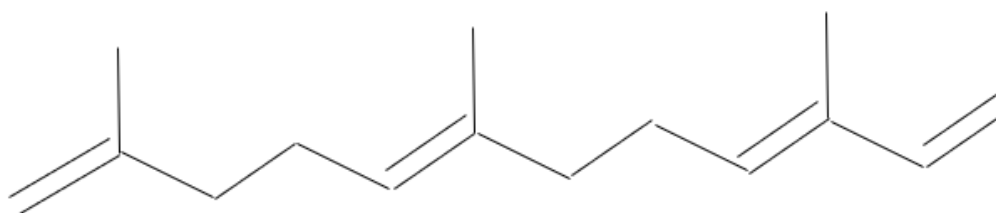
Pochodnymi terpenów z dodatkowymi grupami funkcyjnymi, np. hydroksylowymi lub karboksylowymi, są terpenoidy. W zależności od liczny jednostek izoprenowych (n) wyróżnia się grupy przedstawione w tabeli 1. Ogólna struktura dwóch pierwszych grup została przedstawiona na rys. 2 i 3.

Tabela 1. Podział terpenów

Grupa związków	Liczba jednostek [n]	Wzór ogólny	Przykłady
monoterpeny	2	$C_{10}H_{16}$	linalol, citronelol, borneol, mentol, kamfora, limonen, geraniol[67], $\alpha$ -pinen
seskwiterpeny	3	$C_{15}H_{24}$	kariofilen, $\alpha$ -bisabolol, chamazulen, sativene, germacrene C, farnesol[68]
diterpeny	4	$C_{20}H_{32}$	taksol, daphnane, tigiliane, kaurane, abietane, pimarane, labdane, dollabelane, jatrophone, dolastane, casbane[69]
sesterterpeny	5	$C_{25}H_{40}$	manoalide, secomanoalide[70]
triterpeny	6	$C_{30}H_{48}$	betulina, cycloartenol, parkeol, $\alpha$ -amyrin, $\beta$ -amyrin, lupeol, marneral, glutinol, taraxerol[71]
tetraterpeny	8	$C_{40}H_{64}$	Karoteny
politerpeny	> 8	-	Kauczuk



Rys. 2. Ogólna struktura monoterpenów



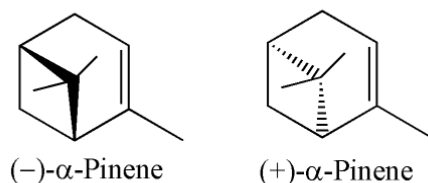
Rys. 3. Ogólna struktura seskwiterpenów

Druga główna grupa, fenylopropanoidy, syntetyzowana z aminokwasów fenyloalaniny i tyrozyny na szlaku kwasu szikimowego, obejmuje związki aromatyczne podstawione nierozgałęzionym łańcuchem w pozycji C3 pierścienia[72]. Oprócz związków terpenowych i

pochodnych fenylpropanu, w olejkach eterycznych spotyka się również substancje siarkowe, azotowe, pochodne acetyleny, kumaryny, kwasy organiczne i inne.

W ostatnich latach wyizolowano i przebadano na całym świecie ponad 1500 różnych związków wchodzących w skład olejków eterycznych, wyizolowanych z ok. 20 tys. roślin olejkodajnych[73]. Poniżej krótka charakterystyka wybranych składników olejków eterycznych:

- **$\alpha$ -pinen** należy do grupy bicyklicznych monoterpenu, jest bardzo rozpowszechniony w roślinach. To metabolit wtórny, najczęściej pozyskiwany z drzew iglastych, charakteryzuje się sosnowym zapachem. Występuje w formie dwóch enancjomerów: (+) i (-), z których (+) wykazuje większą aktywność przeciwdrobnoustrojową[74]. Stosowany również jako insektycyd. Może być prekursorem do syntezy innych składników olejków eterycznych[75].



Rys. 4. Struktura enancjomerów  $\alpha$ -pinen

- **$\beta$ -pinen** izomer  $\alpha$ -pinenu, różnią się między sobą położeniem wiązania podwójnego, również występuje w formie enancjomerów (+) i (-) i podobnie jak w przypadku  $\alpha$ -pinenu to enancjomer (+) ma lepsze właściwości antybakteryjne i antygrzybiczne[74].



Rys. 5. Struktura  $\beta$ -pinen

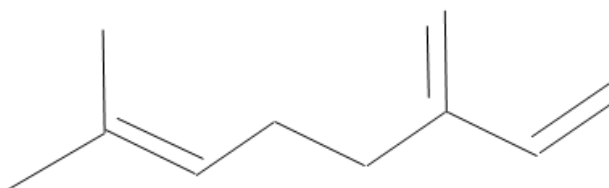
- **sabinen** - bicykliczny monoterpenu. Wyodrębniony został z olejku jałowcowego, ale występuje w wielu roślinach (drzewa iglaste, liściaste, zioła). Zawiera w swoim składzie pierścienie: cykloheksanowy i cyklopropanowy. Sabinen nadaje ostrego smaku czarnemu pieprzowi i jest głównym składnikiem olejków eterycznych z nasion marchwi i olejku z drzewa herbacianego[76].





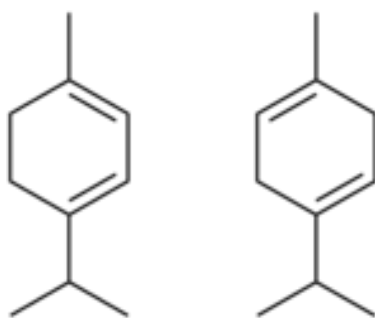
Rys. 6. Struktura sabinen

- **$\beta$ -myrcen** należy do niecyklicznych monoterenów i stanowi składnik wielu olejków eterycznych. Posiada silne własności zapachowe, identyfikowane jako żywiczne, zielne, balsamiczne, podobny do geranium. Występuje często u roślin takich jak sosna, kminek, wawrzyn, koper, konopie, szalwia, estragon, imbir. Występuje zdecydowanie częściej niż jego izomer  $\alpha$ . Stosowany jako dodatek do żywności, również w produkcji kosmetyków i detergentów. Jest też surowcem do produkcji takich substancji jak mentol, linalol, geraniol i nerol[77].



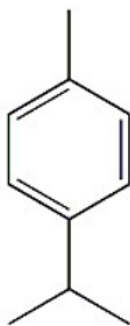
Rys. 7. Struktura  $\beta$ -myrcen

- **$\alpha$ -terpinen** (1-izopropyl-4-metylocykloheksa-1,3-dien) i  **$\gamma$ -terpinen** (4-metylo-1-(1-metyloetylo)-1,4-cykloheksadien) to terpeny jednopierścieniowe, występujące głównie w postaci mieszaniny przynajmniej dwóch izomerów strukturalnych, najczęściej właśnie  $\alpha$  i  $\gamma$ [78]. Występują m.in. w olejku kolendrowym i majerankowym.



Rys. 8. Struktura  $\alpha$ -terpinen i  $\gamma$ -terpinen

- **p-cymen** monoterypen monocykliczny (1-metylo-4-(1-metyloetylo)-benzen). Prekursor karwakrolu i tymolu. Występuje powszechnie w żywności: cynamon, marchew, sok pomarańczowy, owoce winogron, mandarynka, maliny, gałka muskatołowa[79]. Znany z właściwości przeciwbakteryjnych, przeciwutleniających, przeciwzapalnych, przeciw pasożytniczych, przeciw cukrzycowych, przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych[80].



Rys. 9. Struktura p-cymen

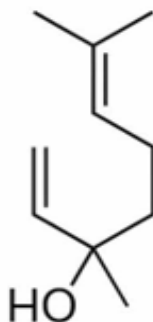
- **1,8 – cyneol** = eukaliptol – epoksyd monoterypenu cyklicznego (mostek tlenowy wiąże łańcuch boczny z pierścieniem) otrzymywany przede wszystkim z olejku z eukaliptusa gałkowego (*Eucalyptus globulus*). Występuje również w olejkach z rozmarynu, cynamonowca kamforowego, liści laurowych, drzewa herbacianego, liści bazylii i szałwii. Jest bezbarwną cieczą o zapachu kamfory lub mięty i ostrym chłodzącym smaku. Wykazuje wielokierunkowe działanie biologiczne[81].



Rys. 10. Struktura 1,8-cyneol

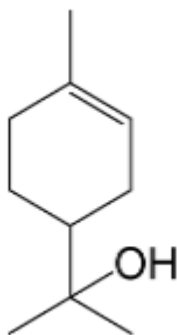
- **linalol** (3,7-dimetylooktadi-1,6-en-3-ol) – alkohol monoterypenowy. Obecny w wielu olejkach m.in. z mięty zielonej, róży, cyprysu, cytryny i cynamonu. Ma słodki zapach podobny do olejku bergamotowego lub lawendowego. Jest mieszaniną dwóch stereoizomerów: koriandrolu (S-(+)-linalolu) i likareolu (R-(-)-linalolu). Stosowany

jest jako zapach w środkach czyszczących, piorących, a także w produktach do higieny osobistej oraz środek owadobójczy[82].



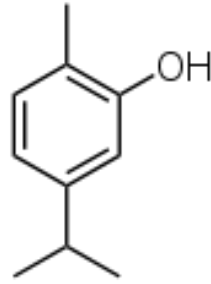
Rys. 11. Struktura linalol

- **$\alpha$ -terpineol** to monocykliczny monoterpenny alkohol trzeciorzędowy. Terpeneole wyizolowano z różnych źródeł, takich jak narcyz i frezja, w ziołach takich jak majeranek, oregano, rozmaryn i olejek ze skórki cytryny. Istnieją cztery izomery:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -terpineol i terpinen-4-ol. Terpeneol jest zwykle mieszaniną tych izomerów z  $\alpha$ -terpineolem jako głównym składnikiem. Ma przyjemny zapach podobny do bzu i jest powszechnym składnikiem perfum, kosmetyków i produktów aromatycznych[83].



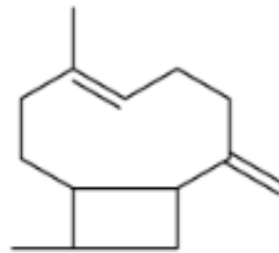
Rys. 12. Struktura  $\alpha$ -terpineol

- **karwakrol** (2-methyl-5-(1-methylethyl)-phenol), monoterpenny fenol, o ostrym, gryzącym zapachu, izomer tymolu. Podobnie jak tymol wykazuje właściwości przeciwgrzybicze i antybakteryjne[84]. Występuje w dużych ilościach w macierzance, lebidce, tymianku i kminku. Działanie: pobudzające ośrodki naczynioruchowe, przyspieszające oddychanie, moczopędne, przeciwskurczowe, przeciwbólowe, przeciwwrobacze, napotne, żółciopędne, przeciwdepresyjne, neurologiczne i hepatochronne[81].



Rys. 13. Struktura karwakrol

- **kariofilen** najczęściej występujący izomer to  $\beta$ -kariofilen, bicykliczny seskwiterpen, Składnik olejków z pieprzu czarnego, rozmarynu, cynamonu, oregano, bazylii, tymianku, szalwii, mięty pieprzowej, imbiru i goździka. Wykazuje działanie neuroprotekcyjne, przeciwzapalne, przeciwutleniające, zwiotczające mięśnie, przeciwdepresyjne, przeciwnowotworowe, bakteriobójcze[85].



Rys. 14 . Struktura kariofilen

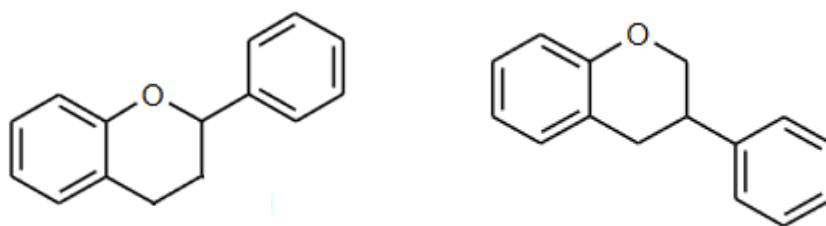
Działanie olejków eterycznych jest wielostronne, najważniejsze właściwości to aktywność:

- Przeciwbakteryjna, przeciwgrzybicza i przeciwwirusowa
- Antyoksydacyjna
- Są promotorami przejścia transepidermalnego w kosmetyce
- Są naturalnymi repelentami i biopestycydami, działają przeciworobacznie
- Konserwująca
- Przeciwzapalna
- Przeciwnowotworowa
- Aromaterapeutyczna, uspokajająca, nawet nasenna
- Pobudzają pracę układu pokarmowego, wydzielanie soków trawiennych
- Moczopędna, żółciopędna, wykrztuśna.

## 2.2. Polifenole

Drugą istotną grupą związków występujących w roślinach o dużym znaczeniu fizjologicznym dla roślin oraz użytkowym dla człowieka są polifenole. Związki fenolowe zawierają grupę hydroksylową przyłączoną bezpośrednio do pierścienia aromatycznego. Oprócz grupy hydroksylowej mogą być również inne podstawniki, np. grupa karboksylowa, metylowa, łańcuch alkilowy. Podstawowym monomerem w polifenolach jest pierścień fenolowy. Jest to bardzo złożona grupa związków i można podzielić ją na wiele klas, ale najlepiej poznanymi są kwasy fenolowe i flawonoidy[86].

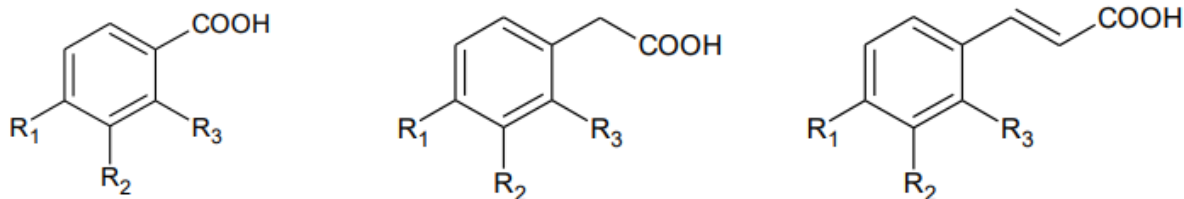
Flawonoidy oparte są na szkielecie 2-fenylochromanu (flawanu) lub 3-fenylochromanu (izoflawanu), różnią się między sobą liczbą i rodzajem podstawników.



Rys. 15. Struktura flawanu i izoflawanu

Powstają na drodze przemian kwasu szikimowego, z aminokwasów fenyloalaniny i tyrozyny, lub na drodze przemian kwasu malonowego. Tworzą je dwa pierścienie aromatyczne, połączone trójwęglowym mostkiem dając układ węglowy C6-C3-C6. Flawonoidy mogą występować w połączeniu z resztami cukrowymi tworząc glikozydy (rozpuszczalne w wodzie i etanolu) lub jako wolne cząsteczki, czyli aglikony (rozpuszczalne w rozpuszczalnikach niepolarnych)[87]. Wyróżniamy następujące podgrupy flawonoidów: flawany, izoflawany, flawonole, flawony, izoflawony, dihydroflawonole, flawanony, antocyjanidyny i chalkony. W roślinie spełniają funkcję barwników nadających częściom rośliny intensywne kolory, repelentów odstrasżających owady i inne szkodniki, przeciwdrobnoustrojową, antyoksydacyjną i ochronną przed promieniowaniem UV. Dla ludzi najważniejsze cechy flawonoidów to: zdolność zmiatania wolnych rodników, a w związku z tym działanie antynowotworowe, działanie uspokajające na układ nerwowy (aksjolityczne), protekcyjne dla wątroby. Przykłady flawonoidów: kwercetyna, rutyna, luteolina, hesperydyna, glicyteina, katechina, epikatechina, cyjanidyna[24,88].

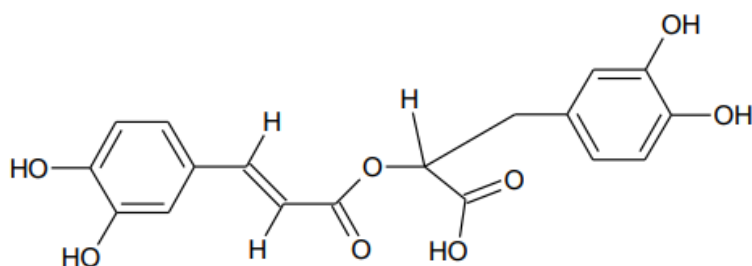
Kwasy fenolowe zbudowane są z pierścienia fenolowego i reszty kwasu karboksylowego.



Rys. 16. Struktura kwasu benzoesowego, fenyllooctowego i cynamonowego

Kiedy sama grupa karboksylowa przyłączona jest do pierścienia (kwas hydroksybenzoesowy), ilość grup hydroksylowych wskazuje na podział na kwasy monohydroksybenzoesowe (np. kwas salicylowy), dihydroksybenzoesowe (kwas protokatechowy) i trihydroksybenzoesowe (kwas galusowy). Z kolei liczba atomów węgla w łańcuchu bocznym wskazuje na podział na kwasy benzoesowe (grupa COOH), fenyllooctowe ( $\text{CH}_2\text{-COOH}$ ) i cynamonowe ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{-COOH}$ ). Najpowszechniejszymi wśród roślin grupami są kwasy benzoesowe i cynamonowe oraz ich pochodne. Kwasy fenolowe występują w roślinach w formie wolnej, związanej jako składowe lignin i tanin, w postaci estrów (depsydy z wiązaniem estrowym i depsydony z wiązaniem estrowym i eterowym) oraz glikozydów (połączenia z cukrami). Powstają w procesie deaminacji (odszczępienia grupy aminowej) z tyrozyny lub fenyloalaniny[89]. Przykłady kwasów fenolowych z grupy hydroksybenzoesowych: kwas protokatecholowy, wanilinowy, galusowy, gentyzynowy, syryngowy, z grupy hydroksycynamonowych: kwasy cynamonowy, kawowy, ferulowy, p-kumarowy, synapinowy, z kolei z grupy depsydów często występujące przykłady to: kwas chlorogenowy, rozmarynowy i elagowy[90]. Dla roślin najważniejszymi funkcjami fenolokwasów są zabezpieczanie przed mikroorganizmami i owadami, usuwanie wolnych rodników (działanie antyoksydacyjne), chelatowanie jonów metali, zmiana aktywności enzymów[91]. Istnieje możliwość wykorzystania fenolokwasów w medycynie dzięki ich właściwościom przeciwbakteryjnym, przeciwwirusowym, uodparniającym, przeciwzapalnym, wspomagającym procesy regeneracyjne, leczenie nowotworów, hepatoprotekcyjnym, zapobiegającym wielu chorobom, m.in. wieńcowej, cukrzycy[92].

Spośród kwasów fenolowych szczegółowo scharakteryzowany zostanie kwas rozmarynowy. Jest depsydem, czyli estrem kwasu kawowego oraz kwasu 3,4-dihydroksyfenylomlekowego. Zawiera dwie polifenolowe reszty pirokatechiny połączone 6-członowym łańcuchem, w którym obecne jest wiązanie estrowe, wiązanie podwójne i boczna grupa karboksylowa. Obecność 4 grup hydroksylowych nadaje mu silne właściwości antyoksydacyjne i charakter bardziej hydrofilowy[93].



Rys. 17. Struktura kwasu rozmarynowego

Głównym naturalnym źródłem kwasu rozmarynowego są liście rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*), z których został po raz pierwszy wyizolowany i od tej rośliny otrzymał nazwę. Z rozmarynu można wyizolować nawet do 13g kwasu /kg suchej masy rośliny[90]. Można go również znaleźć w mniejszych ilościach w innych ziołach, takich jak szałwia, tymianek, bazylika, mięta czy oregano. Poza tym, kwas rozmarynowy jest syntetyzowany w celu wykorzystania w różnych produktach spożywczych, kosmetycznych i farmaceutycznych. Działanie kwasu rozmarynowego związane jest z jego budową, obecność 4 grup hydroksylowych czyni go silnym przeciwutleniaczem, silniejszym niż inne kwasy fenolowe, np. kwas kawowy czy inne popularne antyoksydanty jak kwas askorbinowy czy tokoferol[93]. Znajduje zastosowanie przeciwnowotworowe, ponieważ hamuje enzymy odpowiedzialne za transformację mutagenną, zapobiega przyłączaniu się mutagenów do cząsteczki DNA, a w przypadku jej uszkodzenia uczestniczy w procesach naprawczych[90]. Wykazuje również działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i uspokajające na układ nerwowy[94].

### 3. Metody pozyskiwania substancji czynnych

Pozyskiwanie substancji czynnych z roślin to skomplikowany, często kosztowny i długotrwały proces. Za każdym razem konieczne jest odpowiednie przygotowanie materiału do obróbki by była jak najbardziej efektywna. Równie ważne co przygotowanie do obróbki jest zadbanie o odpowiednie przechowywanie już pozyskanych substancji lub ich mieszanin. Materiał roślinny można zebrać z upraw lub z naturalnych stanowisk, ale za każdym razem na taki proces składa się zbiór, sortowanie i rozdrabnianie. Część roślin poddawana jest obróbce bezpośrednio po zbiorze (np. jaśmin), natomiast część może być przechowywana przez dłuższy czas od zbiorów, wtedy konieczne jest wysuszenie materiału roślinnego. Pomimo postępu technologicznego zbiór często wykonywany jest nadal ręcznie, bo tylko taka technika zapewnia odpowiednio delikatne obchodzenie się z wrażliwym materiałem. Podobnie sortowanie

materiału, często również wykonywane ręcznie, jeżeli wspomagane maszynami to takimi jak sita, tryjery czy sortowniki[95]. Rozdrabnianie jest często niezbędne w celu wydobycie substancji czynnych znajdujących się w głębszych warstwach materiału, dodatkowo zwiększa powierzchnię penetracji w procesach wspomaganych rozpuszczalnikami (ekstrakcja). Wszystko zależy od gatunku rośliny, części, z której pozyskujemy substancję oraz od samej substancji, którą chcemy uzyskać.

### **3.1. Pozyskiwanie olejków eterycznych**

Olejki eteryczne pozyskuje się ze świeżego lub suszonego materiału roślinnego różnymi metodami:

- Destylacja z parą wodną
- Destylacja na sucho
- Wytłaczanie
- Absorpcja
- Ekstrakcja z rozpuszczalnikiem[96].

#### **Destylacja z parą wodną**

Olejek eteryczny otrzymywany w procesie destylacji z parą wodną to olejek otrzymywany z dodatkiem wody do destylowanego materiału (hydrodestylacja) lub bez dodatku wody do materiału (bezpośrednio za pomocą pary). To najstarszy i najczęściej spotykany sposób pozyskiwania olejków eterycznych. Dzięki różnicy prężności par następuje odparowanie, a następnie skroplenie mieszaniny w postaci dwufazowego kondensatu.

Hydrodestylacja polega umieszczeniu materiału roślinnego w naczyniu ekstrakcyjnym (kolbie) dodaniu wody i podłączeniu układu do elementu grzewczego. Składniki olejku unoszone są z parą wodną, która po przejściu przez chłodnicę, skrapla się w odbieralniku, tworząc układ dwufazowy olej/woda (olejek jako lżejszy unoszony jest na powierzchni). Podstawowymi, najczęściej stosowanymi aparatami do otrzymywania olejków eterycznych w skali laboratoryjnej są szklane urządzenia typu Clevengera lub Derynga.

Destylacja bezpośrednio za pomocą pary różni się od powyższej tym, że zamiast umieszczać materiał roślinny w wodzie i podgrzewać taki układ, podłączona jest wytwornica pary, z której strumień pary kierowany jest na dno naczynia z materiałem roślinnym, skąd para niosąca już oddestylowane związki trafia do chłodnicy.



Destylacja przeznaczona jest wyłącznie dla substancji niemieszających się z wodą, które przechodzą w stan pary bez rozkładu, najczęściej dla substancji, których temperatura wrzenia nie jest bardzo wysoka, max. 200°C.

### **Destylacja na sucho**

Proces przeznaczona do wydzielania olejków z materiałów takich jak łądygi lub kora poprzez ogrzewanie materiału roślinnego bez udziału wody czy innego rozpuszczalnika w piecach retortowych ze stopniowym wzrostem temperatury i przy ograniczonym dostępie powietrza[97]. Proces uwzględnia również przefiltrowanie, często odwirowanie.

### **Wytłaczanie**

Proces odbywający się na zimno poprzez wyciskanie olejku z miąższu, owocni lub skórki owocu lub nasion przy użyciu prasy. Odbywa się wyłącznie mechanicznie, jest najprostszą i najbardziej bezpośrednią metodą produkcji olejków eterycznych. Stosowana głównie w przypadku roślin cytrusowych[98].

### **Absorbacja (maceracja i enfleurage)**

Maceracja odbywa się poprzez zanurzenie elementów roślinnych w płynnym tłuszczu, podgrzanie układu do max. 70°C przez 48 godzin, a następnie otrzymany w ten sposób konkret rozpuszcza się w alkoholu. Metoda ta ma zastosowanie do delikatnych części rośliny, takich jak kwiaty. Enfleurage jest procesem podobnym do maceracji, ale zamiast zanurzania elementów roślinnych w tłuszczu układa się je na płytach pokrytych tłuszczem. Olejek przenika do tłuszczu, a następnie jest również rozpuszczany w alkoholu. Ta metoda dotyczy przede wszystkim olejków pozyskiwanych z pyłków kwiatowych.

### **Ekstrakcja**

Aby wyekstrahować olejki eteryczne konieczne jest zastosowanie rozpuszczalników lotnych, takich jak heksan, etanol, metanol, chloroform czy eter naftowy. Po zakończeniu procesu rozpuszczalnik musi być usunięty. Jest to metoda rzadziej stosowana w tym celu niż wyżej opisane.

### 3.2. Pozyskiwanie polifenoli

Polifenole są bardzo zróżnicowaną grupą związków chemicznych, jednak podstawową metodą ich pozyskiwania jest ekstrakcja, we wszystkich swoich technicznych odsłonach. Ekstraktem najpowszechniej nazywa się produkt otrzymany poprzez wymywanie pożądaných składników z surowca roślinnego przy pomocy rozpuszczalnika, na ogół organicznego lub wody, a następnie usunięciu rozpuszczalnika poprzez jego odparowanie. W przypadku materiału roślinnego jest to rodzaj układu ekstrakcyjnego ciało stałe-ciecz, kiedy z elementów roślinnych (korzenie, liście, kora, nasiona, kwiaty, owoce) ekstrahowany jest związek organiczny / mieszanina związków, przy pomocy odpowiednio dobranego rozpuszczalnika. Dobór rozpuszczalnika jest uzależniony od substancji, które chcemy pozyskać, na zasadzie „podobne rozpuszcza się w podobnym”. Cechy idealnego rozpuszczalnika do prowadzenia ekstrakcji:

- niewielka wzajemna rozpuszczalność obu faz – ekstrahowanej i ekstrahującej,
- duża rozpuszczalność ekstrahowanej substancji, pożądana niewielka rozpuszczalność innych składników mieszaniny,
- duża wartość stałej podziału,
- duża różnica ciężarów właściwych obu faz,
- trwałość substancji w roztworze,
- łatwość rozwarstwiania się faz,
- duża czystość i trwałość,
- mała skłonność do tworzenia emulsji,
- mała lepkość,
- łatwość i bezpieczeństwo manipulacji,
- łatwość usunięcia z roztworu,
- niskie koszty[99].

Związki hydrofobowe mają tendencję do rozpuszczania się w rozpuszczalnikach niepolarnych, natomiast związki hydrofilowe są łatwo rozpuszczalne w polarnych rozpuszczalnikach.

Wyróżnić można kilka rodzajów ekstrakcji:

- Ekstrakcja prosta
- Ekstrakcja połączona z hydrolizą
- Ekstrakcja przy użyciu aparatu Soxhleta
- Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami

- Ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym
- Przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
- Ekstrakcja w stanie nadkrytycznym[100].

**Ekstrakcja prosta** (SLE) odbywa się z użyciem rozdzielnika, przez wytrząsanie materiału roślinnego w rozpuszczalniku, najczęściej metanolu, etanolu, acetonie, octanie etylu, aż do wytworzenia się faz niemieszających się ze sobą i rozdzielenia przez wypływ dolnej fazy. Czynność można powtarzać świeżą porcją rozpuszczalnika. Jest to metoda głównie laboratoryjna.

**Ekstrakcja połączona z hydrolizą** stosowana jest wtedy, gdy związki fenolowe tworząc połączenie estrowe lub glikozydowe, nie są dostępne przez prostą penetrację rozpuszczalnika do tkanek. Konieczne jest najpierw rozbicie tych połączeń i uwolnienie związków fenolowych. Można to zrobić przy zastosowaniu hydrolizy zasadowej (wodorotlenkiem sodu, baru), hydrolizy kwaśnej (kwasem solnym) lub hydrolizy enzymatycznej (przy zastosowaniu enzymów takich jak peptydazy, proteinazy, glikozydazy). Tą metodą uzyskuje się wcześniej związane kwasy fenolowe.

**Ekstrakcja przy użyciu aparatu Soxhleta** (SOE) jest to ekstrakcja ciągła. Aparat Soxhleta składa się z: kolby podgrzewanej za pomocą płaszcza grzejnego, w której wrze lotny rozpuszczalnik, ekstraktora, w którym umieszczona jest gilza (najczęściej celulozowa) zawierająca materiał poddawany ekstrakcji, i chłodnicy zwrotnej, do której przechodzą pary wrzącego rozpuszczalnika. Dzięki zamkniętemu obiegowi próbkę można ekstrahować wielokrotnie, przy stosunkowo niewielkiej ilości użytego rozpuszczalnika[101]. Zastosowanie automatycznych zestawów do prowadzenia ekstrakcji przyspiesza jej przebieg oraz umożliwia zmniejszenie zużycia rozpuszczalników[99]. Ogranicza to również energochłonność procesu. Po zakończeniu procesu ekstrakcji konieczne jest odparowanie rozpuszczalnika na wyparce próżniowej, w celu uzyskania końcowego ekstraktu.

**Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami** (UAE) polega na umieszczeniu naczynia z materiałem roślinnym i rozpuszczalnikiem (ekstrahentem) w łaźni ultradźwiękowej. Emitowane przez łaźnię fale ultradźwiękowe powodują rozbijanie ścian komórkowych w materiale roślinnym, a przez to ułatwione jest uwalnianie się związków obecnych w komórce lub związanych ze ścianą komórkową. Zjawisko to polega na kawitacji akustycznej i

związany z nią punktowym wzrostem ciśnienia i temperatury, które doprowadzają do rozerwania komórek i lepszej penetracji rozpuszczalnika[102]. Można wykorzystywać do tego łaźnię lub sondy ultradźwiękowe.

**Ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym (MAE)** to proces, w którym materiał roślinny umieszczany jest w naczyniu teflonowym, tzw. bombie teflonowej razem z rozpuszczalnikiem. Proces przeprowadzany jest w piecu mikrofalowym. W wyniku działania pieca i powstania promieniowania mikrofalowego, w naczyniu wytwarzane jest ciśnienie i wysoka temperatura, prowadzące do rozkładu materiału roślinnego i uwolnieniu substancji czynnych. Warunkiem prowadzenia procesu w piecu mikrofalowym jest użycie rozpuszczalnika, który ma niezerowy moment dipolowy (rozpuszczalniki polarne).

W **przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika (ASE)** stosuje się podwyższoną temperaturę (do 100-200°C) oraz ciśnienie (nawet do 20MPa), co ułatwia penetrację rozpuszczalnika. Proces prowadzi się w naczyniach zwanych celkami ekstrakcyjnymi, które muszą być bardzo szczelne i wytrzymałe, najczęściej wykonane ze stali kwasoodpornej. Tak wysoka temperatura zmniejsza lepkość rozpuszczalnika, co znacznie skraca czas ekstrakcji[103].

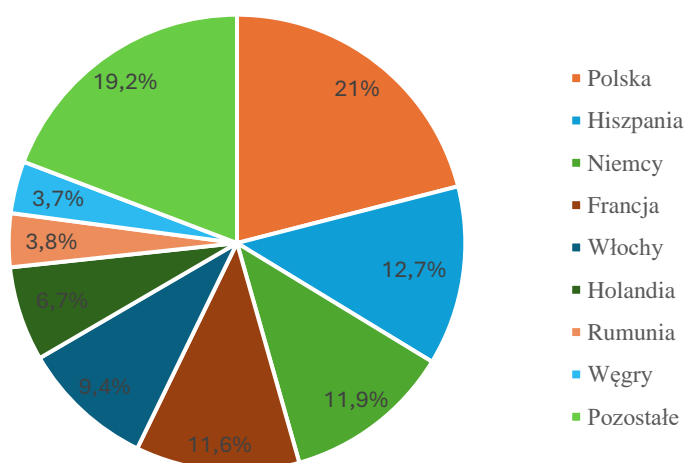
**Ekstrakcja w stanie nadkrytycznym (SFE)** – ekstrahentami są płyny w stanie nadkrytycznym, najczęściej jest to dwutlenek węgla. Stan krytyczny substancji osiąga się przy przekroczeniu jej punktów krytycznych temperatury i ciśnienia, gdzie zanika różnica między gazem a cieczą, a właściwości stają się pośrednie. Gęstość jest zbliżona do cieczy, lepkość do gazu, a współczynnik dyfuzji jest pomiędzy gazem i cieczą. Takie parametry powodują, że materiał roślinny jest łatwo penetrowany przez płyn w stanie nadkrytycznym. W przypadku stosowania dwutlenku węgla jako ekstrahenta, proces przeznaczony jest do ekstrakcji związków niepolarnych i średnio polarnych[104]. W przypadku pozyskiwania fenolokwasów tą metodą uzyskano wyższą wydajność procesu oraz wyższą aktywność antyoksydacyjną samych ekstraktów niż w metodzie Soxhleta[100], ale koniecznym warunkiem było zastosowanie dodatkowo substancji polarnych jako modyfikatorów, np. metanolu[103].

#### 4. Charakterystyka chowu kur i ich problemów zdrowotnych

Drobiarstwo to branża gospodarki, obejmująca hodowlę i użytkowanie różnych gatunków ptaków gospodarskich oraz obróbkę i przetwórstwo uzyskiwanych od nich surowców. Chów zwierząt oznacza utrzymanie zwierząt do czasu uzyskania przez nie oczekiwanych cech użytkowych, czyli zapewnienie zwierzętom użytkowym i hodowlanym prawidłowych warunków bytowania i rozwoju, dzięki którym możliwy jest pełny rozwój pożądanых cech. Chów obejmuje m.in. karmienie i pielęgnację, związane z utrzymaniem zwierząt od czasu ich nabycia lub urodzenia do czasu uzyskania przez nie oczekiwanych cech użytkowych. W przypadku drobiu odchowane zwierzęta mogą być użytkowane jako surowiec do produkcji mięsa, jaj, pierza, skóry i piór ozdobnych, natomiast podstawowe kierunki użytkowania to kierunek nieśny i mięsny.

Spożycie mięsa drobiowego na świecie od lat systematycznie rośnie. W 2021 roku mięso drobiowe było najczęściej spożywanym gatunkiem mięsa na świecie. Polska jest od lat liderem wśród producentów mięsa drobiowego w Unii Europejskiej (ok. 20% unijnej produkcji), wyprzedzając Niemcy i Hiszpanię oraz drugim eksporterem mięsa drobiowego w handlu wewnątrzunijnym, co oznacza ponad 1,6 mln ton eksportu mięsa i podrobów drobiowych (blisko 3,2 mld euro to wartość eksportu mięsa i podrobów drobiowych z Polski)[105]. Dane o strukturze produkcji mięsa drobiowego zostały przedstawione na wykresie[106] – Rys. 18.

Struktura produkcji mięsa drobiowego w krajach UE w 2022r.



Rys. 18. Struktura produkcji mięsa drobiowego w krajach Unii Europejskiej w 2022r.[106]

Współczesne kury mięsne wywodzą się od dwóch ras: White Rock (komponent żeński krzyżowania) oraz Dominant White Cornish (komponent męski)[107]. Na polskim rynku popularne są dwa zestawy handlowe kurcząt brojlerów pochodzące z firm Aviagen – Ross 308 i Cobb-Vantress – Cobb 500, z których zdecydowanym liderem brojlera są pisklęta rasy Ross 308[108]. Nazwa brojler pochodzi od angielskiego „broil”, co oznacza opiekać i wskazuje na pierwszy sposób przygotowywania posiłków z tego mięsa. Brojlery charakteryzują się masywną budową mięśni piersiowych i ud, szybkim tempem wzrostu i niskim zużyciem paszy w przeliczeniu na kilogram przyrostu masy ciała. Chów brojlerów trwa od 35 do 45 dni, najczęściej 6 tygodni, w czasie których kurczęta są odchowywane do 2,0 – 2,5 kg masy ciała, uzyskując wydajność rzeźną ok. 60-70% (stosunek wagi tuszy mięsnej z częściami wewnętrznymi do masy żywca)[109].

Dobrostan zwierząt i bezpieczeństwo zdrowotne produkowanej żywności jest dziś priorytetem zgodnie w obowiązującymi wymogami prawnymi, w tym zgodnie z Ustawą o ochronie praw zwierząt z 21 sierpnia 1997r. (Dz. U. 1997, nr 111, poz. 724). Każdy kto utrzymuje zwierzęta gospodarskie powinien im zapewnić opiekę i właściwe warunki bytowania, wykluczające głód i pragnienie, niewygody związane z dyskomfortem, bólem, urazami i chorobami. Warunki utrzymywania drobiu muszą być nieszkodliwe dla zdrowia, uniemożliwiające powstawanie urazów, uszkodzeń ciała czy innego rodzaju cierpienia. Ptaki powinny mieć swobodę ruchu i możliwość kontaktu z innymi zwierzętami, co przedstawia się przez odpowiednią obsadę zwierząt na jednostkę powierzchni. W zależności od spełniania wymogów maksymalna obsada to 33 kg/m<sup>2</sup>, 39 kg/m<sup>2</sup> przy spełnianiu dodatkowych wymogów i 42 kg/m<sup>2</sup> przy wysokich standardach dobrostanu. Bardzo ważne są takie elementy utrzymania jak warunki termiczno-wilgotnościowe, odpowiednia wentylacja i oświetlenie, niski poziom hałasu. Opiekunowie powinni zapewnić dobre warunki chowu, nie tylko ze względu na humanitarne podejście do zwierząt, ale dlatego, że dobry stan zdrowia kur bezpośredniego przekłada się na wyniki produkcyjne i opłacalność produkcji żywności.

Ogólne wymagania dla chowu brojlerów na podstawie Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 15 lutego 2010 r. w sprawie wymagań i sposobu postępowania przy utrzymywaniu gatunków zwierząt gospodarskich, są następujące:

- Kurnik musi być wyposażony w urządzenia do karmienia, do pojenia i w ściółkę.
- W pomieszczeniu, w którym przebywają brojlery minimalizuje się poziom hałasu.
- Kurnik, jego wyposażenie i sprzęt należy czyścić i odkażać, a ściółkę wymieniać przed każdym umieszczeniem w nim nowego stada kurcząt.

- Kurczętom brojlerom należy zapewnić stały dostęp do paszy. Karmienie przeprowadza się w okresach oświetlenia, a w przypadku kurcząt przeznaczonych do uboju ostatnie karmienie przeprowadza się nie później niż na 12 godzin przed ich ubojem.
- Kurczętom brojlerom należy zapewnić stały dostęp do wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.
- Kurczęta brojlery dogląda się co najmniej 2 razy dziennie, ze szczególnym zwróceniem uwagi na objawy wskazujące na obniżony poziom dobrostanu lub zdrowia.
- Kurczęta brojlery, które mają poważne urazy, uszkodzenia ciała lub wykazują wyraźne objawy zaburzeń stanu zdrowia, tj. trudności w chodzeniu, poważne puchliny brzuszne lub wady rozwojowe mogące być przyczyną cierpień, poddaje się leczeniu lub natychmiastowemu ubojowi, o czym należy poinformować powiatowego lekarza weterynarii.

Pomieszczenia do prowadzenia chowu powinny być zbudowane i wyposażone w elementy umożliwiające utrzymanie czystości, zabezpieczone przed negatywnym wpływem warunków zewnętrznych, umożliwiające nadzór i regulowanie warunków mikroklimatycznych. Do najważniejszych czynników kształtujących mikroklimat wewnątrz pomieszczeń należą:

- temperatura i wilgotność względna powietrza,
- koncentracja szkodliwych gazów i zapylenie powietrza,
- natężenie światła,
- wentylacja i prędkość ruchu powietrza,
- jakość ściółki[110].

Temperatura musi być regulowana w zależności od tygodnia chowu. W pierwszym tygodniu, kiedy mamy do czynienia z pisklętami, temperatura musi być wysoka (ok. 33°C w pomieszczeniach bez dodatkowego źródła ciepła), by w kolejnych tygodniach obniżyć ją do 16-18°C[111]. Zbyt wysoka temperatura wywołuje stres cieplny zwierząt, zmniejszone spożycie paszy, a tym samym spadek masy ciała. Przy wysokiej temperaturze wzrasta stężenie szkodliwych gazów w powietrzu, obniża się wilgotność, a jednocześnie wzrasta zapylenie, co powoduje infekcje dróg oddechowych. Z kolei zbyt niska temperatura prowadzi do utraty energii na ogrzanie się, wzrost wilgotności, co sprzyja rozwojowi szkodliwych mikroorganizmów.

Zalecana wilgotność względna powietrza w kurniku powinna wynosić 60-70%. Zalecana prędkość ruchu powietrza w pomieszczeniu jest zmienna w zależności od pory roku i

warunków termiczno-wilgotnościowych i powinna być ustawiana w zakresie 0,1 – 0,3 m/s (miesiące zimowe) i do 1,0 m/s (miesiące letnie). Zbyt wysoka prędkość powoduje przeciągi i szczególnie przy podwyższonej wilgotności szybko wyziębia organizmy ptaków. Zbyt niska prowadzi do zawilgocenia.

Stosuje się oświetlenie sztuczne o natężeniu min. 20 lux, zapewniające min. 80% oświetlenia powierzchni, ustawione w cyklach światła i zaciemnienia zależnych od tygodnia chowu[110]. Z wyjątkiem pierwszych dni chowu, kiedy stosuje się praktycznie 24-godzinny okres światła, cykle są ustawione na 16-20h światła / 4-8h ciemności. W trakcie godzin jasnych drób pobiera pokarm, co wpływa na jego przyrost, łatwiej utrzymywana jest ciepłota ciała, natomiast sen jest równie konieczny, bo pozwala na utrzymanie aktywności i kondycji oraz redukcję stresu u kur.

Wśród szkodliwych gazów monitorowane powinno być stężenie amoniaku, dwutlenku węgla, siarkowodoru oraz ogólny poziom zapylenia. Amoniak pochodzący z odchodów ptaków powoduje podrażnienia błon śluzowych, dolnych i górnych dróg oddechowych, stany zapalne oczu, zwiększa podatność na choroby wirusowe i bakteryjne, wpływa na zaburzenia rozwoju. Jego stężenie nie może przekroczyć 20 ppm. Dwutlenek węgla wytwarzany w procesie oddychania nie może przekroczyć 3000 ppm. Jego ilość zależy od wieku i stanu fizjologicznego ptaków. Podwyższony poziom jest wskaźnikiem niewydolnej wentylacji w pomieszczeniu i powoduje zaburzenia w oddychaniu, zmniejszone pobieranie paszy, apatię osobników. Siarkowodor pochodzi z rozkładu białek, powoduje podrażnienia błon śluzowych, skrajnie nawet porażenie centralnego układu nerwowego, a jego stężenie nie może przekroczyć 10 ppm[112]. Pyły to cząstki ciała stałego o różnej wielkości i różnym pochodzeniu, przez pewien czas pozostające w zawieszeniu w gazie (w powietrzu). Ze względu na wielkość cząstek i największe znaczenie ma pył PM<sub>2,5</sub> (średnica  $\leq 2,5\mu\text{m}$ ), który ma możliwość przejścia przez pęcherzyki płucne do krwi oraz pył PM<sub>10</sub> ( $\leq 10\mu\text{m}$ ), który może docierać do górnych dróg oddechowych i płuc. Oprócz tego można wyróżnić TSP (Total Suspended Particulates), czyli pył całkowity, wszystkie pyły o średnicy  $>10\mu\text{m}$ . Pył pochodzi przede wszystkim z procesu pylenia ściółki lub paszy, a jego ilość jest ściśle powiązana z wilgotnością, temperaturą i ruchem powietrza. Ma duże znaczenie, ponieważ pyły mogą być przyczyną chorób górnych i dolnych dróg oddechowych, oczu oraz skóry ptaków. Zmniejsza się tym samym ich produktywność, a zwiększa ilość upadków w stadzie. Ilość pyłów nie powinna przekraczać 200 cząstek / $\text{cm}^3$ [113].

Ściółka jest bardzo istotnym elementem wpływającym na wszystkie parametry chowu, przede wszystkim na mikroklimat, a przez bezpośredni kontakt ze zwierzętami również na



odczucie komfortu. Najczęściej jako ściółkę wykorzystuje się słomę ciętą zbożową (w szczególności pszeniczną) lub w formie pelletu, wióry i trociny drzewne, czasami również torf. Grubość zaścielenia to najczęściej 5-8 cm na start, w trakcie chowu należy kontrolować grubość i jakość ściółki i w razie potrzeby dościelać[114]. Na start wilgotność ściółki ma bardzo duże znaczenie ze względu na namnażanie się mikroorganizmów i pasożytów atakujących pisklęta w zbyt wilgotnej ściółce, natomiast zbyt sucha ściółka oznacza podwyższone zapylenie. Oprócz wilgotności pożądane cechy ściółki to:

- ciepłochronność,
- higroskopijność,
- zdolność wchłaniania amoniaku,
- nietoksyczność,
- biodegradowalność,
- łatwość usuwania podczas czyszczenia,
- brak wpływu na mobilność ptaków,
- czystość mikrobiologiczna i mechaniczna,
- niska pylistość.

Wszystkie parametry chowu mają wpływ na dobrostan drobiu. Nie można wśród tych elementów pominąć jednostek chorobowych, które oprócz zmniejszenia wydajności produkcyjnej, mogą nawet zdziesiątkować cały wsad kur i doprowadzić do likwidowania całych stad. Choroby drobiu można podzielić na niezakaźne, zakaźne i inwazyjne. Podłoża niezakaźnych są zróżnicowane, od patologii łęgu (zamieranie zarodków, zapalenie pępka i woreczka żółtkowego, śmierć głodowa), przez choroby niedoborowe (hipowitaminozy, niedobory składników mineralnych), metaboliczne (skaza moczanowa, wodobrzusze, syndrom nagłej śmierci sercowej, deformacja kończyn) po zatrucia amoniakiem, solą, kokcydiostatykami. Choroby zakaźne wywoływane są przez cały przekrój mikroorganizmów: bakterie (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Pasteurella multocida*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*), grzyby (*Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus neoformans*), wirusy (pomór drobiu, rzekomy pomór drobiu (Newcastle), zakaźne zapalenie oskrzeli kur, zakaźne zapalenie tchawicy, zakaźna anemia kurcząt, choroba Gumboro, choroba Mareka). Choroby inwazyjne, czyli wywoływane przez pasożyty zarówno wewnętrzne jak kokcydioza i histomonozą oraz zewnętrzne – ptaszyniec kurzy[115]. W celu redukcji zachorowań i możliwości przeniesienia do kolejnego wsadu kurcząt należy stosować skuteczne zabiegi bioasekuracyjne.

## 5. Mycie, dezynfekcja i zabiegi profilaktyczne w chowie kur

W celu ograniczenia występowania chorób drobiu i wynikających z nich strat w produkcji należy wdrożyć działania bioasekuracyjne. Zgodnie z wytycznymi Głównego Inspektoratu Weterynaryjnego dotyczącymi warunków utrzymania drobiu oraz zasad zarządzania gospodarstwem, spełnione powinny być następujące zasady:

- stosowanie zasady „cały kurnik pełen lub cały kurnik pusty”;
- zapewnienie odpowiednich warunków utrzymania w zakresie temperatury, wilgotności, wymiany powietrza, dostępu światła;
- stosowanie prawidłowej obsady kurnika;
- utrzymywanie w jednym kurniku, w obrębie jednego stada, drobiu w jednakowym wieku;
- izolacja poszczególnych kurników przez zapewnienie osobnej obsługi, żywienia, narzędzi;
- zabezpieczenie paszy przed dostępem gryzoni i dzikich ptaków;
- rejestrowanie wejść osób postronnych na teren gospodarstwa;
- odkażanie kół pojazdów wjeżdżających na teren gospodarstwa;
- regularne aktualizowanie planu zabezpieczenia gospodarstwa przed gryzoniami;
- rejestrowanie prowadzonych regularnie czynności odkażania, dezynsekcji i deratyzacji.

Pomieszczenia, w których utrzymuje się drób, ich wyposażenie oraz sprzęt powinny być:

- wykonane z materiałów nieszkodliwych dla zdrowia drobiu oraz nadających się do oczyszczania i odkażania;
- zabezpieczone przed dostępem zwierząt innych niż utrzymywane w gospodarstwie;
- utrzymywane w czystości;
- oznakowane tablicą z napisem „Osobom nieupoważnionym wstęp wzbroniony”.

Odchody oraz niezjedzone resztki paszy powinny być usuwane z pomieszczeń tak często, aby uniknąć zanieczyszczenia paszy lub wody.

Osoby zatrudnione do wykonywania czynności związanych z utrzymywaniem drobiu powinny:

- stosować odzież ochroną, oddzielną do pracy przy każdym stadzie w kurniku;
- posiadać aktualne badania na nosicielstwo pałeczek Salmonella;
- zostać przeszkolone w zakresie higieny osobistej oraz możliwych dróg przenoszenia zakażenia za pośrednictwem odzieży oraz sprzętu[116].

Istotne jest wprowadzenie ograniczenia wstępu osób postronnych na fermę, w celu wyeliminowania transmisji czynników zakaźnych oraz przygotowanie śluz dezynfekcyjnych,

gdzie pracownicy i osoby wchodzące na fermę będą mogły przebrać się w ubrania robocze lub jednorazowe. Dezynfekcja rąk oraz obuwia przy każdym wejściu i wyjściu z budynku jest obowiązkowa. Można w tym celu stosować maty dezynfekcyjne nasączone środkiem dezynfekcyjnym umieszczone we wszystkich przejściach lub brodziki, gdzie można zanurzyć obuwie. Oprócz higieny osobistej osób znajdujących się na terenie fermy, bardzo ważnym elementem jest mycie i dezynfekcja środków transportu. Każdy pojazd wjeżdżający na teren fermy powinien przejechać przez bramki dezynfekcyjne, gdzie następuje jego oprysk, a koła dezynfekowane są na przejazdowych matach dezynfekcyjnych lub nieckach dezynfekcyjnych. Samochody przewożące zwierzęta po każdym transporcie powinny być dokładnie umyte i zdezynfekowane.

Istotnym elementem bioasekuracji jest też zabezpieczenie fermy przed gryzoniami, które są częstym wektorem przenoszenia chorób bakteryjnych, wirusowych czy pasożytniczych. Należy szczelnie przechowywać pasze, przestrzegać porządku, w szczególności w okolicach magazynów z paszą, pamiętać o okresowym wycinaniu zarośli (mogą stanowić kryjówki dla gryzoni), systematycznie sprzątać ściółkę czy resztki paszy oraz o zapewnić szczelność budynków[117].

Po zakończonym chowie kurnik musi być umyty, zdezynfekowany i przygotowany do kolejnego rzutu kurcząt. Wszelkie prace prowadzone są w pustych pomieszczeniach, już po wywiezieniu ptaków z obiektu. Zanim rozpocznie się właściwy proces czyszczenia, przeprowadzana jest wstępna dezynsekcja. Opróżnione z kur pomieszczenie opryskuje się insektycydem, który ma za zadanie unieszkodliwić owady, przede wszystkim pleśniakowca lśniącego, które rozwinęły się w trakcie chowu i nadal są obecne w ściółce i oborniku. Usunięcie ich form dorosłych oraz larw jest kluczowe w celu zapobiegania dalszemu rozwojowi kolejnych licznych pokoleń owadów na fermie oraz zapobieganiu chorobom przenoszonym przez insekty. Wstępna dezynsekcja powinna być wykonana niezwłocznie po wywiezieniu ptaków. Po tym zabiegu przeprowadza się wstępne zabiegi oczyszczania polegające na usunięciu ściółki, obornika oraz pozostałości materii organicznej (zabiegi mechaniczne). Usuwane są także takie zabrudzenia mechaniczne jak pajęczyny czy kurz z wentylatorów. Dalsze zabiegi podzielone są na mycie budynków inwentarskich i ich wyposażenia oraz odkażania systemów pojenia i pomieszczeń.

Mycie odbywa się przy pomocy urządzeń pianotwórczych (myjki ciśnieniowe, wytwornice piany, pistolety pianowe), z użyciem silnie alkalicznych produktów pieniących. Roztwór produktu w postaci piany nanoszony jest na ściany, posadzkę, ruszta, sufit oraz wszystkie elementy znajdujące się wewnątrz pomieszczenia inwentarskiego (karmniki, poidła,

wentylatory, elementy grzewcze, lampy). Jest to tzw. zapianowanie kurnika. Elementy ruchome są na czas pianowania wyniesione, myte i dezynfekowane poza pomieszczeniem inwentarskim. Pianę nanosi się na powierzchnie pionowe od dołu do góry, późniejsze spłukiwanie odbywa się w kierunku odwrotnym, czyli z góry na dół. Poprawna kolejność nanoszenia piany jak i kolejność mycia elementów od najwyższych, czyli wentylatorów oraz wlotów powietrza (najpierw mycie od zewnątrz), sufitu, przez linie pojenia i karmienia, dalej ściany i na końcu posadzkę jest bardzo istotne dla prawidłowego i skutecznego procesu mycia. Zabieg pianowania powinien trwać ok. 30 minut, tzn. piana powinna utrzymać się przez ten czas na powierzchniach, nie spływając, co zapewni skuteczne namoczenie zabrudzeń i zadziałanie środków powierzchniowo-czynnych obecnych w produkcie. Środki alkaliczne do mycia kurników często są jednocześnie środkami dezynfekcyjnymi, zawierającymi podchloryn sodu lub czwartorzędowe sole amoniowe jako biobójcze substancje czynne. Oprócz ścian i podłogi dodatkowe czynności należy wykonać dla linii pojenia. Powinna być wewnętrznie oczyszczona najpierw roztworem produktu usuwającego biofilm, a następnie produktu odkamieniającego, opartego na kwasach mineralnych (kwas siarkowy, kwas azotowy) lub kwasach organicznych (kwas nadoctowy, kwas sulfaminowy). Mycie kończy proces spłukania wszystkich powierzchni gorącą wodą pod wysokim ciśnieniem, a następnie pozostawieniem wszystkich powierzchni do wyschnięcia.

Na tak przygotowaną powierzchnię nanosi się roztwór produktu do dezynfekcji właściwej. Może to być oprysk lub pianowanie (oprysk jest bardziej popularny). Konieczne jest użycie środka dezynfekcyjnego o szerokim spektrum działania bakteriobójczego, grzybobójczego i wirusobójczego. Najczęściej są to środki na bazie czwartorzędowych soli amoniowych i aldehydów glutarowego lub mrówkowego. Naprzemiennie można stosować środki na bazie kwasu nadoctowego i nadtlenu wodoru. Zabieg dezynfekcji trwa 10-15 minut. Kończy go dokładne spłukanie wodą. Linia pojenia jest również dezynfekowana poprzez zalanie jej na 24h roztworem środka dezynfekcyjnego dedykowanego do tego zastosowania (na bazie kwasu nadoctowego lub mononadsiarczanu potasu). Filtry wody należy wymienić, a po całym zabiegu przepłukać linie pojenia wodą. Ponownie całe pomieszczenie i jego wyposażenie pozostawia się do wyschnięcia. Często stosowany jest jeszcze drugi etap dezynfekcji w celu zwalczanie pasożytów, które mogły pozostać po zakażonych osobnikach z poprzedniego chowu. Odbywa się to przy użyciu silnie działających produktów do walki z kokcydiozą opartych na chlorokrezolu (czas zabiegu to 2h). Są to bardzo silne środki, bardzo toksyczne dla osób wykonujących zabieg dezynfekcji. Przez cały proces mycia i dezynfekcji konieczne jest

zachowanie środków ochrony indywidualnej takich jak odzież robocza, rękawice ochronne, ochronę oczu i twarzy, a często maski z pochłaniaczem.

Po dezynfekcji następuje zaścielenie kurnika świeżą ściółką. Ściółka powinna być sucha, pozbawiona wilgoci, niezagrzybiona wolna od próchna, a także domieszki traw, roślin trujących, ziemi czy innych nieczystości. Przed wstawieniem nowego wsadu kurcząt wykonuje się jeszcze zabieg zamgławiania termicznego przy użyciu zamgławiacza wyposażonego w spalinowy silnik. Umożliwia on podgrzanie do wysokiej temperatury (ok. 70 – 80°C) roztworu produktu biobójczego, w wyniku czego powstaje gęsta mgła, wyrzucana przez dyszę urządzenia, dzięki czemu w krótkim czasie można pokryć mgłą nawet duże pomieszczenie. W czasie zamgławiania wloty wentylacyjne muszą być zamknięte. Mgła utrzymuje się w powietrzu oraz ma zdolność dotarcia do najmniejszych zakamarków pomieszczenia i pomiędzy drobne elementy. Minimalny czas w jakim powinna utrzymać się prawidłowo wytworzona mgła to 2h, ale im dłuższy czas tym lepsza dezynfekcja. Stosuje się nośniki na bazie gliceryny i glikolu propylenowego, pozwalające dłużej utrzymać się zawieszanej mgle. Po opadnięciu mgły należy jeszcze dobrze wywietrzyć pomieszczenie i kurnik jest gotowy do wprowadzenia kurcząt.

Pomimo zachowania wszystkich powyższych zasad występowanie chorób oraz upadki drobiu mogą często występować na fermie drobiu. Stąd potrzeba poszukiwania innowacyjnych rozwiązań mogących poprawić warunki hodowlane i dobrostan drobiu.

## IV. Część doświadczalna

### 1. Aparatura i odczynniki

W trakcie wykonywania badań wykorzystywano następujący sprzęt laboratoryjny:

- szkło laboratoryjne,
- waga laboratoryjna model VIBRA AJ-2200CE (RADWAG),
- wagosuszarka model ATS60 (AXIS),
- pHmetr model CP511 z elektrodą IJ-44A (Elmetron),
- wiskozymetr rotacyjny VR-3000 typ V2-R (Conbest),
- kubek Forda 4 mm,
- nóż Petersa do badania przyczepności powłoki metodą siatki nacięć (Anticorr),
- pipety automatyczne z zakresem od 10 do 5000  $\mu$ l (HTL),
- komora starzeniowa model Q-LAB: QUV/spray/RP (Spectro-Lab)
- elektryczny młynek laboratoryjny model FW 100 (ChemLand),
- aparat Clevengera do destylacji z parą wodną (LAB-SZKŁO S.C.),
- płaszcz grzewczy z regulacją mocy SXXW-981B (ChemLand),
- automatyczny ekstraktor Soxhleta model SOX606 (Labinde s.c.),
- rotacyjna wyparka próżniowa model R-100 z pompą próżniową model V-100 i kontrolerem próżni model I-100 (Buchi),
- schładzacz Recirculating chiller F-100 (Buchi),
- fiołki szklane 4 ml ze szkła bursztynowego z zakrętką, gwint ND13 (J.G. Finneran),
- spektrofotometr UV-VIS model V-630 (Jasco),
- cieplarka seria BD 115 (BINDER),
- suszarka laboratoryjna model ED-115 (BINDER),
- mieszadło mechaniczne model Ministar 20 control (IKA),
- mieszadło mechaniczne Eurostar 60 control (IKA).

W trakcie wykonywania badań wykorzystywano następujące odczynniki, o stopniu czystości cz.d.a.:

- eter naftowy t.w. 40-60°C (Chempur),
- metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (POCH),
- acetonitryl ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ )\*,
- węgiel sodu (20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Chempur),

- etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) (Chempur),
- kwas mrówkowy (CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)\*,
- heksan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) (Chempur),
- 2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian), ABTS (POL-AURA),
- odczynnik Folina – Ciocalteau (Merck),
- nadsiarazan potasu K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 7mM (Sigma - Aldrich),
- gaz nośny: hel\*.

Do wszystkich procesów używano wody demineralizowanej otrzymanej w zestawie do uzdatniania wody Ekoidea 7/001 typ EI4W (filtr odwróconej osmozy, sterylizator, demineralizator).

Jako substancje wzorcowe wykorzystano:

- kwas rozmarynowy (LGC Standards)\*,
- Trolox (Sigma - Aldrich),
- kwas galusowy (Sigma - Aldrich),
- wzorce do oznaczeń chromatograficznych GC-FID\*: α-pinen, sabinen, β-myrcen, β-pinen, α-terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol, γ-terpinen, linalol, α-terpineol, karwakrol i kariofilen (LGC Standards lub Merck- Sigma Aldrich)

\* odczynniki i wzorce wykorzystywane w czasie oznaczeń zleconych

Zlecono wykonanie oznaczeń chromatograficznych, które wykonano przy użyciu następujących sprzętów i materiałów:

- chromatograf gazowy model SCION 436-GC, wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny FID (Bruker),
- filtry strzykawkowe 0,22μm (LGC, Witko) i 0,45μm (Waters),
- kolumna kapilarna: BR-624ms, 20 m x 0,18 mm, df =1 μm (Bruker),
- fiołki z brązowego szkła typu "headspace" (La-Pha-Pack),
- chromatograf cieczowy UPLC z detektorem PDA model Acquity H-Class (Waters),
- kolumna chromatograficzna do UPLC model HSS T3 C18; 1,8 μm; 2,1 x 100 mm (Waters).

Zlecono wykonanie oznaczeń wilgotności ściółki i zapylenia w komorach hodowlanych drobiu oraz chów testowy porównawczy (kontrola / powłoka), które wykonano przy użyciu następujących sprzętów:

- przenośny masowy analizator/profiler pyłów PM1, PM2.5, PM4, PM 10 i TSP z konwersją liczby cząstek na ich masę, model 831 (Aerocet)
- termohigrometr model LB-520 (LAB-EL)
- komora klimatyczna (kurnik testowy) z możliwością zaprogramowania warunków termiczno-wilgotnościowych symulujących warunki w kurniku na różnych etapach cyklu produkcyjnego (obiekt doświadczalny Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie),
- cyfrowy tester wilgotności ściółki do pomiaru metodą stykową (sonda) (DRAMIŃSKI HMM – Hay Moisture Meter),
- cyfrowy tester wilgotności ściółki do pomiaru metodą kontaktową (stopa) (DRAMIŃSKI),
- wagosuszarka model MA50/1.R (RADWAG),
- szkło laboratoryjne, pipety automatyczne, waga laboratoryjna, pHmetr,
- miernik natężenia światła model LX1010BS (CEM),
- przenośny spektrometr na podczerwień z transformatą Fouriera FTIR Gasmeter DX 4030 (Gasmeter Technologies),
- próbnik powietrza / aspirator model MAS-100 Eco (Merck),
- mikroskop świetlny MN800 + kamera + program OptaView Version 6.1.3.0 (OPTA-TECH).

Materiały dodatkowe:

- płytki ze szkła akrylowego (plexiglasu),
- zaprawa klejowa typ uniwersalny (Atlas C1TE),
- płyty cementowo włóknowe (Fermacell Powerpanel),
- 2 rodzaje materiałów ściółkowych: siewczka ze słomy pszennej i trociny sosnowe (PRO EQUI – RSŚCIÓŁKI).



## 2. Materiał roślinny

Do badań wybrane zostały następujące rośliny: rozmaryn lekarski (*Rosmarinus officinalis*), pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica*), rdest ptasi (*Polygonum aviculare*), tymianek pospolity (*Thymus vulgaris*), szalwia lekarska (*Salvia officinalis*) i lebiotka pospolita (*Origanum vulgare*), dalej określana jako oregano. Wybór roślin oparty był na analizie danych literaturowych, w których prezentowano badania nad wpływem preparatów roślinnych lub substancji czynnych pozyskanych z roślin na produkcję zwierzęcą. Główna droga oddziaływania polegała na zastosowaniu preparatów roślinnych jako dodatków paszowych, o właściwościach pobudzających apetyt, działających osłonowo, przeciwzapalnie i dezynfekująco[118,119]. Stosowano zioła lub ich mieszanki w profilaktyce chorób oraz w leczeniu zaburzeń żołądkowo-jelitowych, ograniczeniu liczby pasożytów, również zewnętrznym przy leczeniu problemów dermatologicznych[120]. Odnotowywano nawet tak szczegółowe dane jak wpływ ziół w wodzie pitnej u kur na zawartość w ich krwi glukozy, cholesterolu czy hormonów stresu[121,122]. Roślin badanych i stosowanych w produkcji drobiu było bardzo dużo. Grupa została zawężona do 6 gatunków, mając na uwadze również dostępność suszy roślin i związaną z tym możliwość łatwego wykorzystywania wyników wdrożenia.

Susze poszczególnych gatunków zostały zakupione w firmie dostarczającej zioła i przyprawy dla celów spożywczych (firma Rafex.eu) w formie mocno rozdrobnionego suszu lub w formie zmielonej. Charakterystyka suszy:

- Tymianek suszony – kraj pochodzenia Polska, okres zbiorów 05.2021,
- Rozmaryn suszony – kraj pochodzenia Maroko, okres zbiorów 09.2021,
- Oregano suszone – kraj pochodzenia Turcja, okres zbiorów 05.2021,
- Szalwia suszona – kraj pochodzenia Polska, okres zbiorów 04.2021,
- Rdest ptasi suszony – kraj pochodzenia Polska, okres zbiorów 05.2021,
- Pokrzywa suszona – kraj pochodzenia Polska, okres zbiorów 04.2021

Wszystkie susze poddano procesowi dodatkowego suszenia w suszarce o temperaturze 40°C przez 3 godziny (powtarzane serie do niezmiennych 3 wyników ważenia), w celu usunięcia ewentualnego zawilgocenia powstałego w trakcie transportu i przechowywania. Rośliny, które były w formie rozdrobnionego suszu poddano mieleniu w elektrycznym młynku laboratoryjnym. Na zdjęciach 13 – 18 przedstawiono uzyskany materiał roślinny przekazany do dalszej części badań. Zmielony materiał roślinny był przechowywany w szczelnych pojemnikach, bez dostępu wilgoci, w temperaturze pokojowej.



Zdj. 13. Tymianek zmielony



Zdj.14. Rozmaryn zmielony



Zdj. 15. Oregano zmielone



Zdj.16. Szałwia zmielona



Zdj. 17. Rdest zmielony



Zdj.18. Pokrzywa zmielona

### 3. Opracowanie składu powłoki na posadzkę kurnika

Założeniem tego etapu było opracowanie formułacji (mieszanki) produktu powłokowego na bazie wysokohydrofobowych spoiw, który pozwoliłby na izolację ściółki od betonu w okresie chowu kurcząt. Powłoka miała być nakładana na wcześniej umytą i zdezynfekowaną podłogę i ściany do wysokości ok. 50 cm w kurniku, przez malowanie lub oprysk, a po sześciu tygodniach (czas cyklu hodowlanego brojlerów) być łatwa do usunięcia i pozostawiać podłoże bez uszkodzeń. W przypadku niedokładnej lub nieskutecznej dezynfekcji, czynniki zakaźne, które mogły pozostać, szczególnie w mikrouszkodzeniach betonu, zostałyby odcięte od świeżej ściółki i nie doszłyby do skażenia wtórnego.



Zdj. 19. Przykładowy kurnik 2000 m<sup>2</sup> po myciu i dezynfekcji.

Na podstawie informacji o zastosowaniu i oczekiwanych parametrach produktu docelowego, dostawcy i producenci dyspersji zaproponowali szereg surowców do testów. Na podstawie dokumentacji technicznej wytypowanych zostało 7 dyspersji polimerowych alkidowych i siloksanowych modyfikowanych uretanem. Parametry produktu zostały określone na podstawie wcześniejszych doświadczeń z podobnymi produktami realizowanymi w innych projektach. Założone parametry początkowe to: lepkość Brookfield max. 600 mPa·s i kubek Forda 4 max. 20s, pH w zakresie 7,0 - 9,0, gęstość min. 1,0 g/cm<sup>3</sup>, brak rozwarstwienia, a po

czasie przechowywania (test po 7, 14 i 28 dniach w temperaturze 40°C oraz w temperaturze pokojowej po 28 dniach i 3 miesiącach) stabilność parametrów – odchylenie nie większe niż 10% od parametrów początkowych. Wszystkie próby wykonywano w trzykrotnych powtórzeniach. Wskazane parametry fizykochemiczne umożliwiły wytypowanie 4 potencjalnych składów powłoki i przekazanie ich do dalszych testów.

Równolegle próbki powłoki, które spełniały wymogi początkowe były nakładane na płytki ze szkła akrylowego, tzw. plexiglasu, o wymiarach 8 x 20 cm, pokryte zaprawą klejową, w celu oceny łatwości nakładania, szybkości schnięcia, obliczenia wydajności nakładania i wykonania testów w komorze starzeniowej.



Zdj. 20. Płytki plexiglas pokryta zaprawą klejową



Zdj. 21. Płytki pomalowana próbką powłoki

Wydajność nakładania wynosiła dla wszystkich próbek ok. 60g/m<sup>2</sup>, natomiast czas schnięcia był zróżnicowany od 30 min do kilku godzin. Badanie w komorze starzeniowej było prowadzone zgodnie z własną metodyką opracowaną na podstawie normy PN-EN ISO 16474 „Farby i lakiery - Metody ekspozycji na laboratoryjne źródła światła”. W PN-EN ISO 16474 przedstawiono metody ekspozycji powłok na promieniowanie fluorescencyjne UV, ciepło i wodę w aparaturze zaprojektowanej do odtworzenia działania warunków podczas ekspozycji w rzeczywistych warunkach końcowych. Badanie to odtwarza uszkodzenia powłok spowodowane przez działanie oświetlenia, wilgoci czy wody. W ciągu kilku tygodni, można odtworzyć uszkodzenia materiału, które powstają w ciągu miesięcy lub lat w warunkach użytkowych, pozwala stwierdzić czy zachodzi odbarwienia, wypłukiwanie się powłoki lub czy wpływ czynników zewnętrznych spowoduje np. złuszczenie się lub pękanie powłoki. Próbki

poddano działaniu światła lamp fluorescencyjnych UV (długość fali 340nm), w warunkach podwyższonej temperatury i wilgotności wynikającej z kondensacji wody.



Zdj.22. Komora starzeniowa model Q-LAB: QUV/spray/RP (zamknięta i otwarta).

Wpływ światła słonecznego nie jest istotny w przypadku powłoki stosowanej wewnątrz budynku, przy sztucznym oświetleniu i dodatkowo pokrytej przez cały czas cyklu ściółką, jednak były to parametry najbardziej zbliżone do rzeczywistych występujących w trakcie chowu kur. Zastosowano podwyższoną temperaturę do 45°C, w celu przyspieszenia ewentualnych procesów, które mogłyby zachodzić na płytce i kondensację wody, co miało symulować warunki chowu drobiu – wilgotność wynikająca z obecności zwierząt, ich karmienia, pojenia oraz fizjologii. Próby były utrzymywane w komorze w powtarzanych cyklach dobowych o następujących ustawieniach: 8h oświetlenia o natężeniu 1,25 W/m<sup>2</sup> w temperaturze 45°C / 2h kondensacji wody w temperaturze 40°C / 6h oświetlenia o natężeniu 1,25 W/m<sup>2</sup> w temperaturze 45°C / 8h ciemności w temperaturze 30°C. Całe badanie trwało 6 tygodni, który to czas odpowiada hodowli kur brojlerów. W testowanych próbach nie zaszedł żaden zauważalny efekt, jedynie przestrzeń wystawiona na działanie światła była jaśniejsza od części zaciemnionej, ale kolor powłoki nie jest istotny z punktu widzenia jej zastosowania. Powłoka jest cały czas obecna, co jest widoczne i wyczuwalne dotykiem (gładka powierzchnia). Zaobserwowano również, że waga płytek po badaniu jest większa niż przed, prawdopodobnie ze względu na naciąganie wilgocią przez materiał zaprawy klejowej. Korzystny był jednak fakt, że podczas gdy płytki kontrolne (bez powłoki) naciągnęły wilgoci na poziomie 1,21 - 1,45%, to płytki z powłoką jedynie na poziomie 0,23 - 0,72%, co oznacza od 40 do 80% mniej wilgoci w warstwie pod powłoką.



Zdj. 23. Płytki po teście w komorze starzeniowej (pierwsza kontrola bez powłoki, pozostałe próbki z powłoką)

Testy starzeniowe produktu (ocena parametrów fizykochemicznych po czasie przechowywania) pozwoliły zawęzić liczbę próbek produktu z 4 do 2, a wśród nich szybszy czas schnięcia był wskaźnikiem do wytypowania 1 receptury do dalszych badań.

W wyniku powyższych testów został wytypowany skład powłoki oparty na dyspersji alkidowej modyfikowanej uretanem o średniej tłuści (olej lniany 57%), z dodatkiem mieszanki żywicy polisiloksanowej z silanem, która ma wzmacniać działanie hydrofobowe, sykatywy (sól magnezowa, biorąca udział w naturalnej polimeryzacji rodnikowej, która powoduje sieciowanie oleju i przyspiesza wysychanie powłoki), dodatku reologicznego, w postaci modyfikowanego poliuretanu, konserwantu stosowanego do produktów budowlanych (mieszanina 5-chloro-2-metylo-3(2H)-izotiazolonu i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu) oraz 2-butoksyetanolu, w którym dzięki jego polarno-niepolarnej budowie cząsteczki, rozpuszczają się zarówno substancje rozpuszczalne i nierozpuszczalne w wodzie, co pozwoli na wprowadzenie do układu powłoki składników pochodzenia roślinnego uzyskanych na dalszym etapie projektu. Parametry uzyskanego produktu przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Parametry fizykochemiczne produktu powłokowego

Lp.	Parametr	Wynik
1.	Wygląd	jednorodna, biała mieszanina
2.	Lepkość dynamiczna (Brookfield 2/200)	215 mPa·s
3.	Lepkość kinematyczne (kubek Forda 4)	13,55 mm <sup>2</sup> /s
4.	pH	7,8
5.	Gęstość	1,05 g/cm <sup>3</sup>
6.	Stabilność 28 dni / 40°C	Stabilny
7.	Stabilność 3 miesiące / RT	Stabilny
8.	Wydajność nakładania	50 g/m <sup>2</sup>

Receptura powłoki, oprócz płytek plexiglasu z zaprawą klejową, była również nanoszona na płyty cementowo włóknowe, o wymiarach 40 x 40 x 1,25 cm, o gładziej powierzchni, bardziej zbliżonej do charakterystyki betonu występującego na posadzkach kurnika. Na płytach była ponownie oceniana wydajność nakładania, trwałość powłoki i jej zmywalność. Wydajność nakładania wynosiła ok. 50 g/m<sup>2</sup> i była niższa niż w przypadku płytek z zaprawą klejową, ze względu na mniejszą chłonność podłoża. Do oceny trwałości wykorzystano nóż Petersa (krążkowy z ostrzem z 6 krawędziami tnącymi z rozstawem noży 2 mm) do wykonania siatki nacięć zgodnie z PN-EN ISO 2409 „Farby i lakiery - Badanie metodą siatki nacięć”. Norma określa metodę oceny odporności powłok z farb i lakierów na odwarstwienie od podłoża w wyniku nacięcia powłoki. Wycina się wzór kraty (linie przecinające się pod kątem prostym), omiata szczoteczką i obserwuje powleczony panel testowy przy dobrym oświetleniu używając widzenia normalnego lub przy użyciu soczewki / lupy. Klasyfikacja wyniku zawiera się w przedziale 0 – 5, gdzie 0 jest najlepszą klasyfikacją przyczepności, a 5 najgorszą. Przygotowana i wybrana docelowo powłoka wykazała ocenę 2, co oznacza, że powłoka złuszczyła się wzdłuż brzegów nacięć i/lub w skrzyżowaniach nacięć, a uszkodzone jest między 5 a 15% powierzchni siatki nacięć, czyli 85 – 95% powłoki skutecznie przywiera do pokrytej powierzchni. Jest to wynik zadowalający, zakładając, że >95% przywierania wymaga się przy farbach kryjących i ozdobnych. Określano również możliwość zmycia powłoki z podłoża przy zastosowaniu powszechnie dostępnych środków myjących wykorzystywanych w sektorze rolno-spożywczym. Powłoka ulega zmyciu przy użyciu produktów zasadowych, opartych na wodorotlenku sodu lub potasu, dostępnych na rynku i wykorzystywanych do mycia kurników po zakończonym chowie brojlerów.

Ustalony skład powłoki został przekazany do sprawdzenia jego wpływu na ściółkę poprzez badanie wilgotności względnej ściółki i zapylenia w komorze klimatycznej. Badania zostały zlecone na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie, na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt, Katedrze Higieny Zwierząt i Środowiska. Powłoka została naniesiona ponownie na płyty cementowo włóknowe, a próbę kontrolną stanowiła płyta bez powłoki. Badania przeprowadzono w 3 seriach pomiarowych z użyciem komory klimatycznej w celu symulacji w warunkach laboratoryjnych warunków termiczno-wilgotnościowych oddających rzeczywiste warunki panujące w kurnikach do odchowu kurcząt brojlerów na fermach:

1. seria 1 (symulująca 1 dzień odchowu):
  - temperatura powietrza 30°C,
  - wilgotność powietrza 50%,
  - wyjściowa wilgotność ściółki 10%;
2. seria 2 (symulująca 3 tydzień odchowu):
  - temperatura powietrza 25°C,
  - wilgotność powietrza 60%,
  - wilgotność ściółki 50%;
3. seria 3 (symulująca 6 tydzień odchowu):
  - temperatura powietrza 20°C,
  - wilgotność powietrza 60%,
  - wilgotność ściółki 60%.

Przed każdą serią pomiarową komorę klimatyczną programowano by uzyskać zakładaną temperaturę i wilgotność względną powietrza, natomiast właściwą wilgotność ściółki uzyskiwano poprzez dodanie odpowiedniej ilości wody dejonizowanej (w zależności od rodzaju materiału ściółkowego) i dokładne wymieszanie. Po osiągnięciu odpowiednich parametrów w komorze umieszczano szklane naczynia o jednakowej pojemności, wypełnione taką samą ilością ściółek i przykrywano je podłożami cementowo włóknowymi (K - kontrolną i P – pokrytą powłoką), a następnie inkubowano przez 24h. Po inkubacji dokonywano pomiarów wilgotności względnej i zapylenia, przyjmując jednakową procedurę dla wszystkich pomiarów.

Wilgotność względna ściółki w kurnikach może kształtować się na poziomie od kilkunastu procent do nawet 70%, w zależności od wieku ptaków, warunków klimatycznych, systemu i wydajności wentylacji oraz głębokości i rodzaju materiału ściółkowego. Różnice pomiędzy uzyskanymi w badaniach wilgotności ściółki wartościami mogą wynikać również z



rodzaju zastosowanych metod pomiarowych, dlatego też szybkie metody z użyciem cyfrowych testerów (stykowa i kontaktowa) należy weryfikować metodą wagowo-suszarkową, dla potwierdzenia otrzymanych różnic. Badania wilgotności względnej (%) zostały wykonane trzema różnymi metodami: stykową, kontaktową i wagowo-suszarkową na 2 różnych materiałach ściółkowych: siewka ze słomy pszennej oraz trociny sosnowe, w 3 seriach pomiarowych z symulacją warunków środowiska bytowego kurcząt brojlerów w 1, 3 i 6 tygodniu ich odchowu. Badanie wilgotności względnej ściółki metodą kontaktową wykonano za pomocą cyfrowego testera wilgotności, natomiast metodą stykową oraz metodą suszarkową, według normy PN ISO 6496: 1999(E). Wyniki przedstawiono w tabelach 3 – 5.

Tabela 3. Wilgotność ściółki (%) – symulacja warunków 1 dnia chowu piskląt kurcząt brojlerów

Wilgotność względna RH [%]	Siewka ze słomy pszennej		Trociny sosnowe	
	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki
<b>metoda wagowo-suszarkowa</b>	12,63	11,23	14,07	11,77
<b>metoda stykowa</b>	13	12	15	13
<b>metoda kontaktowa</b>	14	13	16	14

Tabela 4. Wilgotność ściółki (%) – symulacja warunków 3 tygodnia chowu kurcząt brojlerów

Wilgotność względna RH [%]	Siewka ze słomy pszennej		Trociny sosnowe	
	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki
<b>metoda wagowo-suszarkowa</b>	56,93	52,50	59,93	55,87
<b>metoda stykowa</b>	57	53	60	56
<b>metoda kontaktowa</b>	58	54	61	56

Tabela 5. Wilgotność ściółki (%) – symulacja warunków 6 tygodnia chowu kurcząt brojlerów

Wilgotność względna RH [%]	Sieczka ze słomy pszennej		Trociny sosnowe	
	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki
<b>metoda wagowo-suszarkowa</b>	61,02	56,14	53,64	46,80
<b>metoda stykowa</b>	61	57	53	45
<b>metoda kontaktowa</b>	62	57	54	46

We wszystkich seriach pomiarowych, niezależnie od zastosowanej metody i rodzaju materiału ściółkowego, wilgotność względna ściółki była niższa przy zastosowaniu powłoki. Stwierdzono tendencję zwiększania się różnicy pomiędzy badaniem kontrolnym a badaniem z zastosowaniem powłoki wraz ze zmianami parametrów termiczno-wilgotnościowych. W przypadku ściółki trocinowej różnice pomiędzy grupami były wyraźniejsze niż przy zastosowaniu sieczki ze słomy. Przy zastosowaniu metody wagowo-suszarkowej w warunkach symulujących 1 dzień odchowu w badaniu z zastosowaniem powłoki ściółka była o 1,4% (sieczka ze słomy) i 2,3% (trociny sosnowe) mniej wilgotna niż w badaniu kontrolnym. W warunkach odwzorowujących 3 tygodnie różnice były jeszcze większe 4,43% (sieczka ze słomy) i 4,06% (trociny sosnowe). W warunkach zbliżonych do 6 tygodnia cyklu produkcyjnego wilgotność względna sieczki ze słomy była o 4,88% niższa przy zastosowaniu powłoki, a wilgotność względna trocin o 6,84% niższa w porównaniu z badaniem kontrolnym. Szybkie, a zarazem mniej czułe metody z wykorzystaniem cyfrowych testerów również zarejestrowały te różnice.

Poziom zapylenia w dużym stopniu zależy od wilgotności powietrza i ściółki. Przy wyższej wilgotności zapylenie powietrza z reguły obniża się, jednak dotyczy to głównie całkowitego pyłu zawieszonego (total suspended particulates) TSP o wielkości cząstek >10 µm. Dlatego wykonano badania różnych frakcji pyłowych: PM1, PM2.5, PM4, PM10 i TSP w warunkach identycznych jak badanie wilgotności. Badanie zapylenia w komorze wykonano przy użyciu przenośnego masowego profilera pyłów PM1, PM2.5, PM4, PM10 i TSP z konwersją liczby cząstek na ich masę (µg/m<sup>3</sup>). Wyniki przedstawiono w tabelach 6 – 8.

Tabela 6. Poziom zapylenia ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) – symulacja warunków 1 dnia chowu piskląt kurcząt brojlerów

Frakcje pyłów ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Sieczka ze słomy pszennej		Trocinny sosnowe	
	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki
<b>PM1 (<math>\leq 1\mu\text{m}</math>)</b>	1,4	1,55	3,25	1,1
<b>PM2.5 (<math>\leq 2,5\ \mu\text{m}</math>)</b>	7,6	7,9	7,35	4,45
<b>PM4 (<math>\leq 4\mu\text{m}</math>)</b>	20,5	20,1	10,8	7,4
<b>PM10 (<math>\leq 10\mu\text{m}</math>)</b>	52,4	45,25	22,35	13,85
<b>TSP (<math>&gt;10\ \mu\text{m}</math>)</b>	62,9	59,7	36,55	24,6

Tabela 7. Poziom zapylenia ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) – symulacja warunków 3 tygodnia chowu kurcząt brojlerów

Frakcje pyłów ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Sieczka ze słomy pszennej		Trocinny sosnowe	
	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki
<b>PM1 (<math>\leq 1\mu\text{m}</math>)</b>	0,8	0,85	0,75	0,5
<b>PM2.5 (<math>\leq 2,5\ \mu\text{m}</math>)</b>	2,75	2,3	2,25	1,45
<b>PM4 (<math>\leq 4\mu\text{m}</math>)</b>	5,6	4,9	5,1	3,15
<b>PM10 (<math>\leq 10\mu\text{m}</math>)</b>	15,35	13,85	18,4	12,9
<b>TSP (<math>&gt;10\ \mu\text{m}</math>)</b>	23,65	24,65	43,65	28,6

Tabela 8. Poziom zapylenia ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) – symulacja warunków 6 tygodnia chowu kurcząt brojlerów

Frakcje pyłów ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Sieczka ze słomy pszennej		Trocinny sosnowe	
	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki	Badanie kontrolne	Badanie wpływu powłoki
<b>PM1 (<math>\leq 1\mu\text{m}</math>)</b>	1,2	1,3	1,2	1,1
<b>PM2.5 (<math>\leq 2,5\ \mu\text{m}</math>)</b>	3,3	3,0	3,2	3,1
<b>PM4 (<math>\leq 4\mu\text{m}</math>)</b>	6,4	6,1	6,5	5,8
<b>PM10 (<math>\leq 10\mu\text{m}</math>)</b>	13,6	12,6	15,0	10,1
<b>TSP (<math>&gt;10\ \mu\text{m}</math>)</b>	21,6	20	20,5	13,8

We wszystkich seriach pomiarowych zanieczyszczenie pyłowe strefy nadściółkowej w przeważającej liczbie pomiarów było mniejsze w badaniu z zastosowaniem powłoki. Wyjątek stanowiły badania przy użyciu sieczki ze słomy w serii 1, gdzie zapylenie frakcjami PM1 i PM2,5 było nieco niższe w badaniu kontrolnym, podobnie w serii 2 (w przypadku frakcji PM1 i TSP) oraz w serii 3 (PM1). Należy jednak dodać, że w warunkach laboratoryjnych nawet przy symulacji warunków termiczno-wilgotnościowych zbliżonych do tych w kurniku, nie jest możliwa symulacja podobnego zapylenia, gdyż nie występują czynniki wpływające na ten parametr takie jak wentylacja, ruch ptaków, pasza, kurz i inne źródła pyłów. Zarejestrowane wartości były wielokrotnie niższe niż w warunkach rzeczywistego chowu kurcząt brojlerów. Z

reguły wyższa wilgotność powietrza wpływa na obniżenie zapylenia przy występowaniu jednakowych źródeł pyłów, wydaje się jednak, że lepkość powłoki mogła mieć wpływ na niższe zapylenie przy jej zastosowaniu, mimo, że w tym badaniu wilgotność też była niższa.

Dodatkowym spostrzeżeniem było to, że zastosowanie powłoki pozwala na znacznie łatwiejsze utrzymanie w czystości powierzchni kontaktowej ze ściółką (brak mokrych nacieków i przebarwień).

Kamienie milowe tego etapu zostały osiągnięte, ponieważ udało się opracować bazę produktu powłokowego o odpowiednich parametrach fizykochemicznych (pH, lepkość, gęstość) oraz użytkowych (nakładanie, wydajność, przyczepność do podłoża, zmywalność). Po czasie (testy stabilności) parametry produktu nie różniły się od wyjściowych o więcej niż 10%. Produkt miał korzystny wpływ na wilgotność ściółki i zapylenia w komorach testowych.

## **4. Pozyskiwanie substancji czynnych**

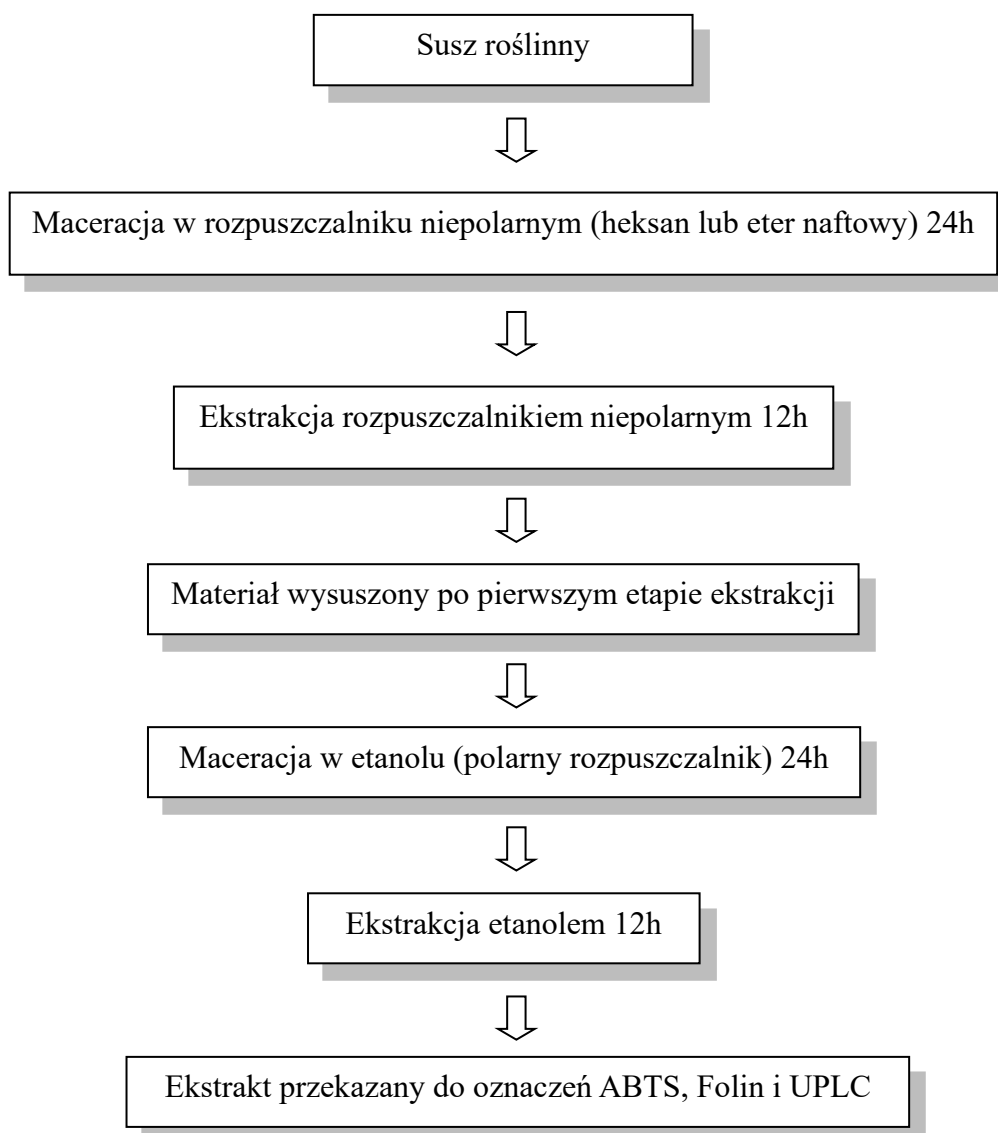
### **4.1. Ekstrakcja**

Przeprowadzono procesy ekstrakcji wybierając jako wzorcowy materiał do badań susz tymianku pospolitego. Tymianek jest popularnych, łatwo dostępnym i dobrze zbadanym ziołem, często stosowanym jako fitobiotyk w produkcji zwierzęcej, o właściwościach biochemicznych spełniających wymagania projektu, tzn. zawierającym substancje czynne, które miały być wskaźnikiem aktywności poprawiającej dobrostan drobiu. Wykonana została ekstrakcja w automatycznym aparacie Soxhleta (automatyczny ekstraktor SOX606 firmy Labindex s.c.), z użyciem etanolu jako rozpuszczalnika. Wybór techniki i sprzętu został oparty na możliwościach uzyskania jak najwyższych wydajności oraz możliwości prowadzenia procesu w kilku naczyniach równolegle, co miało jeszcze zwiększyć opłacalność procesu przy jego dalszym zastosowaniu na etapie produkcyjnym. Automatyczny ekstraktor wyposażony jest w 6 naczyń ekstrakcyjnych, umożliwiającą jednoczesną ekstrakcję. Warunki ekstrakcji: naważka suszu roślinnego do jednej gilzy celulozowej (sączki filtracyjne typ 3m) w ilości średnio 8g na gilzę (czyli ok. 48g suszu na jeden cykl) do tego 100 ml rozpuszczalnika – etanolu na każde naczynie ekstrakcyjne. Czas cyklu 12h, temp. ekstrakcji 110°C.



Zdj. 24. Automatyczny aparat Soxhleta

Uzyskane ekstrakty nie były na zadowalającym poziomie, tzn. wydajność ekstrakcji była niska, a sam ekstrakt był kilkuwarstwowy. Początkowe problemy mogły wynikać z dużego udziału części olejowej w uzyskanych ekstraktach, stąd konieczność zmiany podejścia i prowadzenie etapowej ekstrakcji. Materiał był macerowany przez 24h przed ekstrakcją w porcji rozpuszczalnika, którym prowadzono następnie ekstrakcję. Pierwszy etap zakładał uzyskanie fazy olejowej, więc wykonywany został przy użyciu rozpuszczalników niepolarnych, takich jak eter naftowy i heksan. Warunki ekstrakcji: czas 12h, temperatura dla heksanu 90°C, dla eteru naftowego 80°C. Ten sam materiał roślinny po wysuszeniu poddawany był kolejnemu etapowi maceracji i ekstrakcji, z wykorzystaniem rozpuszczalnika polarnego (etanolu). Warunki ekstrakcji: czas 12h, temperatura 110°C. Podane temperatury ekstrakcji są wartościami ustawionymi na sterowniku automatycznego ekstraktora, co umożliwiło utrzymanie odpowiednich rozpuszczalników w stanie wrzenia, czyli 60°C dla eteru, 69°C dla heksanu i 78°C dla etanolu. Schemat procedury dwuetapowej ekstrakcji przedstawiono na Rysunku 19.



Rys. 19. Schemat ekstrakcji dwuetapowej

Wyniki dwuetapowej ekstrakcji dały bardzo dobre rezultaty pod względem wydajności. Taką samą technikę zastosowano do kolejnych gatunków roślin, czyli oregano i rozmarynu. Wszystkie czynniki procesu wpływają na wydajność ekstrakcji: wybór rozpuszczalnika, jego ilość, czas i temperatura procesu. Wybrane warunki ekstrakcji zostały ustalone na podstawie analizy szeregu testów przeprowadzonych dla poszczególnych roślin. Przy określaniu czasu procesu uwzględniliśmy możliwy rozkład substancji termolabilnych i związaną z tym utratę wydajności, jednak obserwuje się to dopiero po przekroczeniu 24 h ekstrakcji.

We wszystkich przypadkach, kiedy w pierwszym etapie był wykorzystywany jako rozpuszczalnik heksan wydajność ekstrakcji była wyższa niż dla eteru naftowego. W Tabeli 9 przedstawiono wyniki wydajności ekstrakcji metodą dwuetapową.

Tab. 9. Wydajność ekstrakcji dwuetapowej w automatycznym aparacie Soxhleta.

Lp.	Roślina	Ekstrakcja dwustopniowa	Wydajność [%]	±SD*
1	tymianek	eter/etanol	24,84	0,84
		<b>heksan/etanol</b>	<b>26,35</b>	1,66
2	oregano	eter/etanol	17,39	0,37
		<b>heksan/etanol</b>	<b>22,9</b>	0,59
3	Rozmaryn	eter/etanol	28,91	0,15
		<b>heksan/etanol</b>	<b>30,7</b>	0,47
4	Rdest	heksan/etanol	15,73	1,07
5	Szałwia	heksan/etanol	28,53	0,47
6	Pokrzywa	heksan/etanol	16,06	1,39

\*SD – odchylenie standardowe wyznaczone na podstawie 3 uzyskanych wyników

W uzyskanych ekstraktach wykonano oznaczenia zawartości polifenoli i przeciwutleniaczy metodą Folina-Ciocalteu oraz ABTS (metody spektrofotometryczne). Wyniki te miały wskazać, którą technikę usuwania fazy olejowej w dwuetapowej ekstrakcji stosować do pozostałych gatunków roślin, czyli z heksanem czy z eterem naftowym. Wstępna ocena wskazała na wyższe wydajności dla ekstrakcji prowadzonych w układzie heksan/etanol niż eter/etanol. Również wyniki oznaczeń polifenoli wskazały na korzystniejszą ekstrakcję w układzie heksan/etanol. Pozostałe rośliny, czyli pokrzywa, rdest i szalwia ekstrahowane były już tylko techniką heksan/etanol. Wszystkie uzyskane ekstrakty zostały poddane analizie chromatograficznej - chromatografia cieczowa z detekcją w zakresie UV (UPLC) w celu oznaczenia jednego z polifenoli – kwasu rozmarynowego oraz metodom spektrofotometrycznym, tzn. oznaczenie związków fenolowych metodą Folina – Ciocalteu i oznaczenia zdolności przeciwrodnikowej metodą ABTS.

#### 4.2. Destylacja

Ze względu na znaczny udział fazy hydrofobowej w pierwszych ekstraktach, przeprowadzono proces destylacji olejków eterycznych zawartych w suszach wybranych roślin. Z 4 gatunków roślin, tzn. tymianku, oregano, rozmarynu i szalwii udało się uzyskać zadowalające ilości olejków eterycznych w drodze destylacji z parą wodną (hydrodestylacji) w aparacie Clevengera. Warunki destylacji: 25 g suszu roślinnego, 300 ml wody, czas cyklu grzania 3,5h.

Destylacja prowadzona była w aparacie Clevengera.



Zdj. 25. Aparat Clevengera w trakcie procesu destylacji olejku z tymianku

W tabeli 10 przedstawiono ilości olejków jakie udało się uzyskać w porównaniu do danych literaturowych (Farmakopea Polska XII) mówiących o tym jakie są średnie ilości możliwe do osiągnięcia. Ilości olejku eterycznego mogą znacznie różnić się w zależności od miejsca zbioru, warunków atmosferycznych, sposobu i czasu przechowywania materiału roślinnego po zbiorze. Dla pokrzywy oraz rdestu nie udało się uzyskać olejku, stąd rośliny te nie były brane pod uwagę do dalszych prac. Zdecydowały o tym również niskie wyniki zawartości kwasu rozmarynowego w ekstraktach oraz w przypadku pokrzywy niższa zdolność inhibicji wolnych rodników.

Tab. 10. Ilość olejku uzyskanego w procesie destylacji z parą wodną w stosunku do danych literaturowych [mg olejku/g suszu]

	Ilość olejku [mg/g suszu]	±SD*	dane z Farmakopea [mg/g suszu]
Tymianek	0,79	0,36	2
Szałwia	0,61	0,13	0,30
Oregano	1,40	0,49	1
Rozmaryn	1,24	0,56	1,50

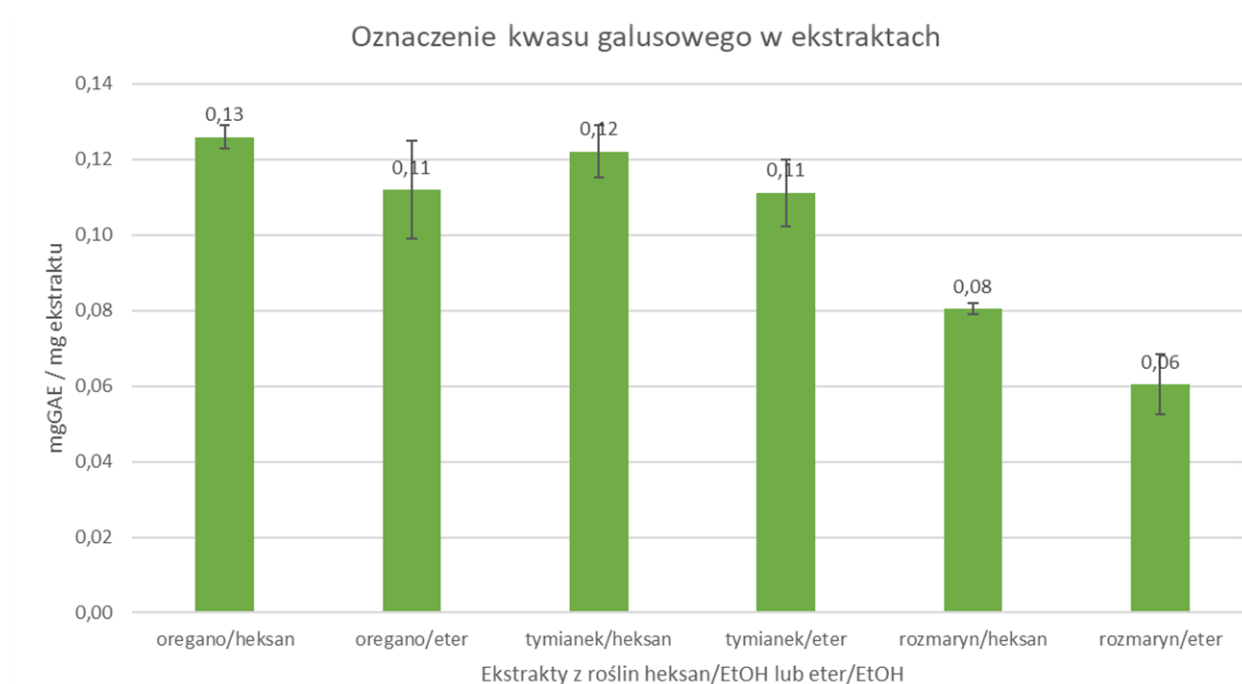


Najmniejsza ilość olejku została uzyskana z 1 kg suszu tymianku – niespełna 40% teoretycznie zakładanej ilości. Natomiast dla szałwii uzyskano 2 razy więcej olejku niż zakładano. Dla wszystkich olejków wykonano chromatografię gazową z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID). Oznaczono substancje charakterystyczne dla olejków eterycznych, czyli  $\alpha$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol,  $\gamma$ -terpinen, linalol,  $\alpha$ -terpineol, karwakrol i kariofilen.

## 5. Oznaczenie związków organicznych

### 5.1. Metoda Folina – Ciocalteau

W trakcie reakcji odczynnika Folina – Ciocalteau z metanolowym roztworem ekstraktu roślinnego następuje utlenienie związków fenolowych w nim zawartych. W zasadowym środowisku reakcji powstały produkt daje niebieskie zabarwienie. Przy pomocy spektrofotometru przeprowadza się pomiar absorbancji przy długości fali 760 nm. Absorbancja jest proporcjonalna do całkowitej zawartości związków fenolowych w badanej próbce. Krzywą kalibracyjną sporządza się dla kwasu galusowego.



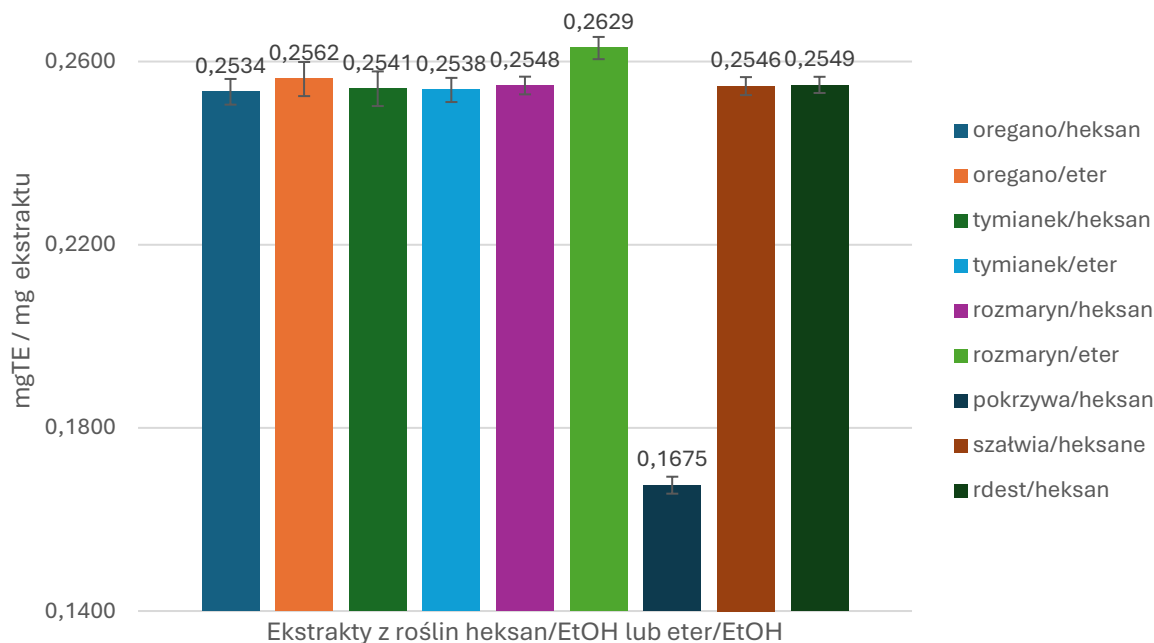
Rys. 20. Ilość polifenoli wyekstrahowana (heksan/EtOH lub eter naftowy/EtOH) z poszczególnych roślin przedstawiona jako miligramorównoważnik kwasu galusowego (mgGAE) w 1 mg ekstraktu.

Początkowo badanie miało wskazać, który z rozpuszczalników niepolarnych stosowanych w ekstrakcji dwustopniowej (heksan czy eter naftowy) da lepsze rezultaty pod względem zawartości polifenoli. Podobnie jak dla wydajności ekstrakcji, oznaczenie polifenoli wskazuje dla heksanu wyższe wartości niż dla eteru jako pierwszego rozpuszczalnika. Dla każdej pary ekstraktów z danej rośliny, uzyskanej w procesie ekstrakcji dwustopniowej, przy użyciu raz heksanu, drugi raz eteru naftowego jako rozpuszczalnika pierwszej fazy, ekstrakty uzyskane z heksanem miały wyższą zawartość polifenoli. Było to odpowiednio o 18,18% więcej w przypadku oregano, o 9,09% więcej w przypadku tymianku i największa różnica, czyli o 33,33% w przypadku rozmarynu.

## **5.2. ABTS**

Metoda ABTS oznaczania aktywności antyoksydacyjnej polega na określeniu stopnia zmiatania rodników ABTS + wytworzonych podczas reakcji chemicznej z nadsiarczanem potasu. Wytworzone rodniki mają barwę niebieskozieloną, antyoksydanty zawarte w metanolowych roztworach ekstraktów roślinnych, redukując kationorodnik ABTS, powodują zanik barwy roztworu, przy czym spadek intensywności zabarwienia zależy od zawartości przeciwutleniaczy w roztworze. Przy pomocy spektrofotometru przeprowadza się pomiar absorbancji przy długości fali 734 nm. Porównanie właściwości przeciwrodnikowych w stosunku do standardu (Trolox) wykonuje się przez odczytanie mgTE (miligramorównoważników Troloxu) z wykresu krzywej wzorcowej.

## Oznaczenie mgTE w ekstraktach



Rys. 21 Ilość związków przeciwrodnikowych wyekstrahowana (heksan/EtOH lub eter naftowy/EtOH) z poszczególnych roślin przedstawiona jako miligramorównoważnik Troloxu (mgTE) na 1 mg ekstraktu.

Wyniki dla oregano, tymianku i rozmarynu, których ekstrakty były uzyskane dwoma różnymi rozpuszczalnikami niepolarnymi (heksan i eter naftowy) nie różnią się znacząco od siebie. W przypadku oregano wynik wyższy dla eteru o 1,1%, w przypadku rozmarynu o 3,18%, natomiast w przypadku tymianku wynik wyższy dla heksanu o 0,12%. Wszystkie rośliny (niezależnie od rozpuszczalnika użytego na pierwszym etapie ekstrakcji) wykazały bardzo wysokie poziom zdolności przeciwrodnikowej. Niewielkie różnice uzyskane w tym badaniu oraz korzystniejsze wyniki wydajności ekstrakcji oraz zawartości polifenoli w ekstraktach w przypadku heksanu zdecydowały o użyciu już tylko tego rozpuszczalnika w przypadku ekstrakcji pozostałych roślin, czyli pokrzywy, szalwii i rdestu, których zdolność przeciwrodnikowa została również uwzględniona na wykresie 19.

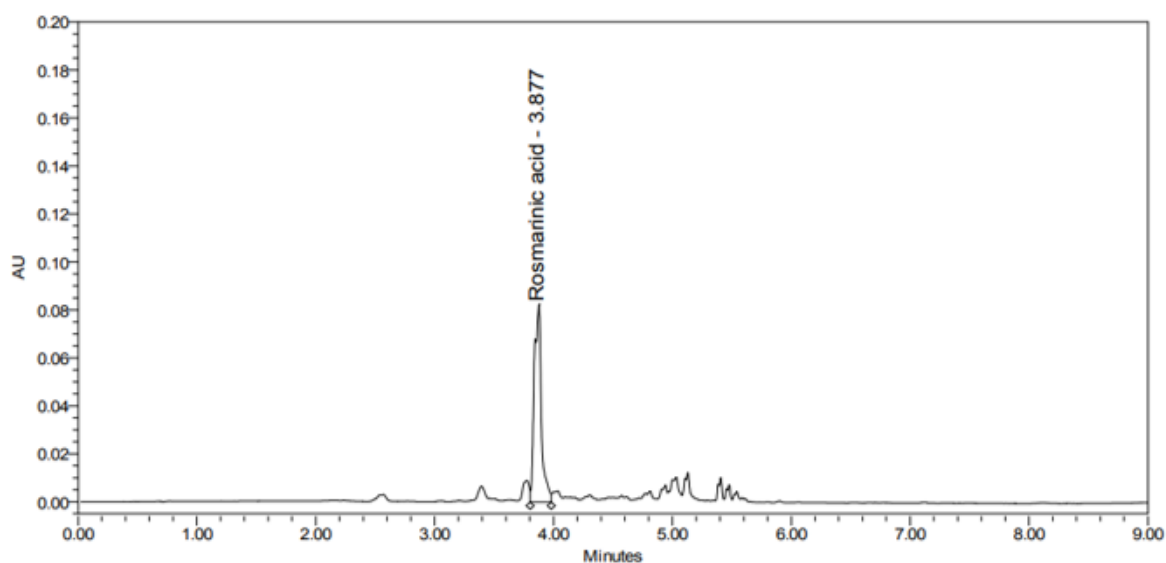
### 5.3. UPLC

Ultrasprawa chromatografia cieczowa (UPLC) – analizowana próbka ekstraktu roślinnego została rozpuszczona w acetonitrylu, jako fazę stacjonarną wykorzystano kolumnę C18 (Waters HSS T3 C18). Fazą ruchomą A była woda z kwasem mrówkowym, a fazą B

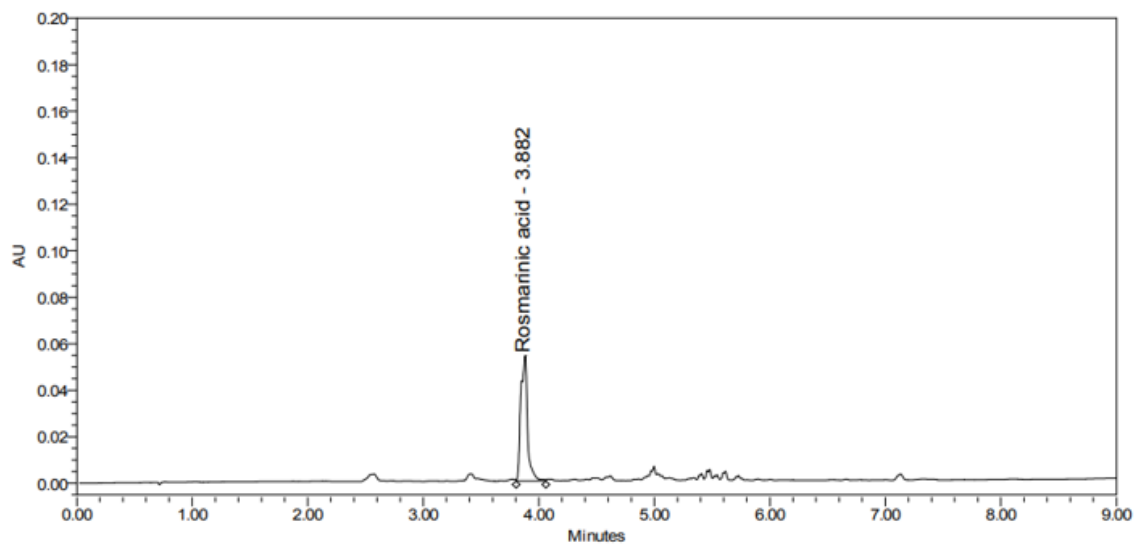
acetonitryl z kwasem mrówkowym, rozdział był gradientowy. Detekcja kwasu rozmarynowego obecnego w rozdzielonych ekstraktach prowadzono z wykorzystaniem detektora UV przy długości fali 330 nm. Przygotowanie prób do badań: znaną masę próby do badań (50-200 mg) rozpuszczono w 5 mL acetonitrylu. Roztwory rozcieńczono następnie 4-krotnie acetonitrylem. Otrzymane serie roztworów przefiltrowano przez filtr strzykawkowy 0,45  $\mu\text{m}$  i analizowano. Wyniki obliczono zgodnie z metodą krzywej kalibracyjnej. Warunki analizy:

- kolumna: Waters HSS T3 C18; 1,8  $\mu\text{m}$ ; 2,1 x 100 mm,
- temperatura kolumny: 45  $^{\circ}\text{C}$ ,
- detekcja przy  $\lambda = 330 \text{ nm}$ ,
- objętość nastrzyku: 1  $\mu\text{L}$ ,
- faza ruchoma A: woda + 0,1% kw. mrówkowy,
- faza ruchoma B: acetonitryl + 0,1% kw. mrówkowy,
- przepływ fazy ruchomej: 0,4 mL/min,
- program gradientowy:
  - - 0,0 min – A-90%, B-10%
  - - 0,3 min - A-90%, B-10%
  - - 3,5 min – A-62%, B-38%
  - - 5,0 min – A-1%, B-99%
  - - 6,0 min - A-1%, B-99%
  - - 8,0 min - A-90%, B-10%
- całkowity czas programu: 9 min.

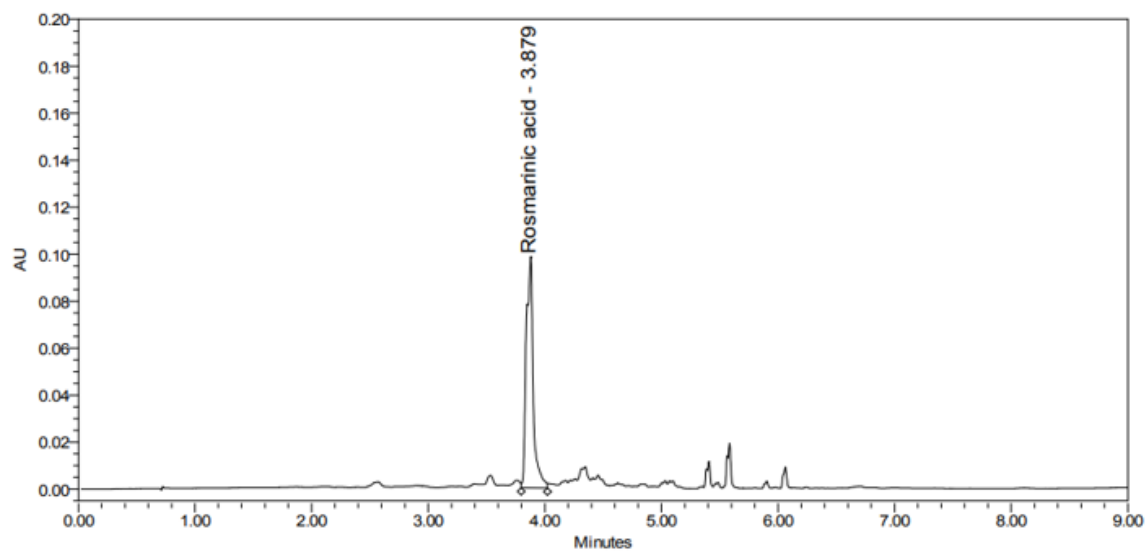
Wyniki przedstawiono w postaci chromatogramów (Rys. 22 – 27).



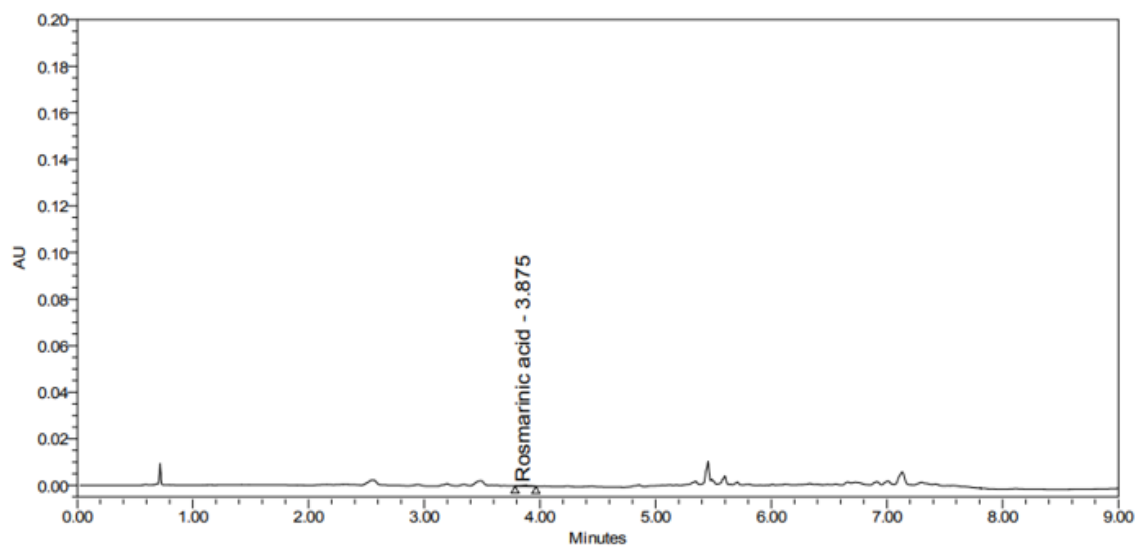
Rys. 22. Chromatogram UPLC ekstraktu z oregano.



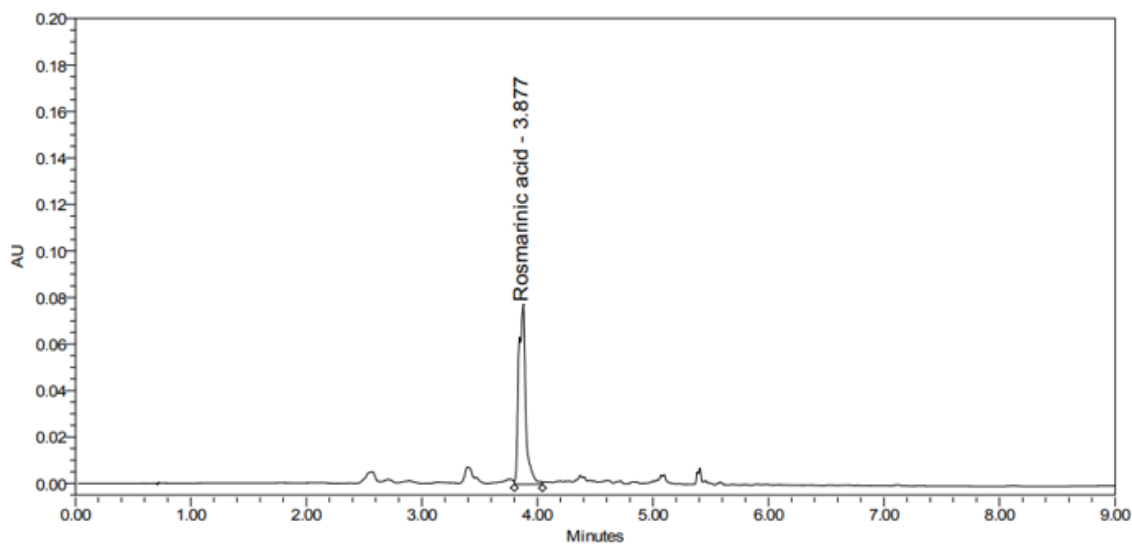
Rys. 23. Chromatogram UPLC ekstraktu z tymianku.



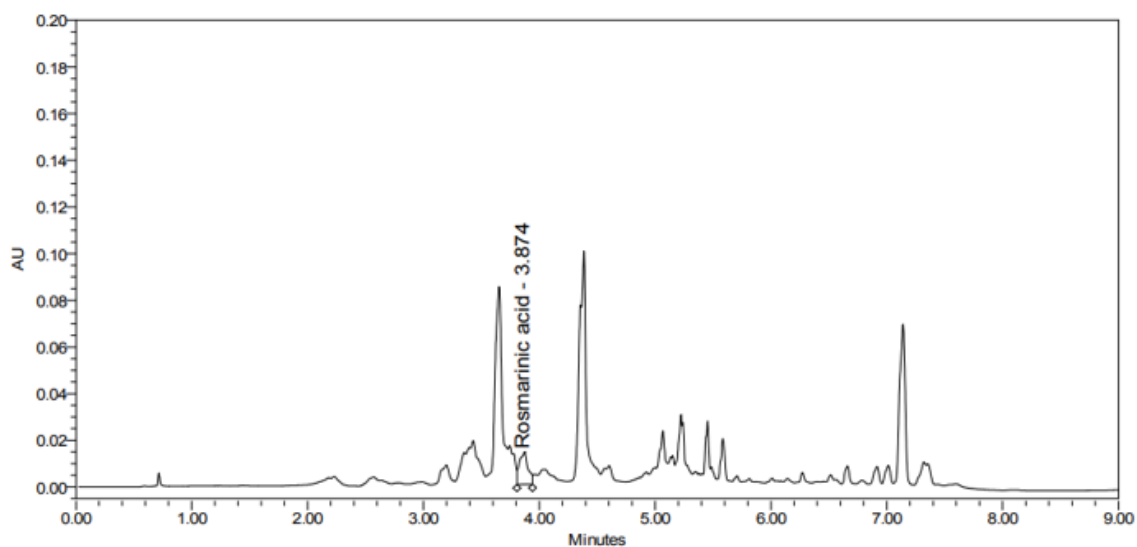
Rys. 24. Chromatogram UPLC ekstraktu z rozmarynu.



Rys. 25. Chromatogram UPLC ekstraktu z pokrzywy.

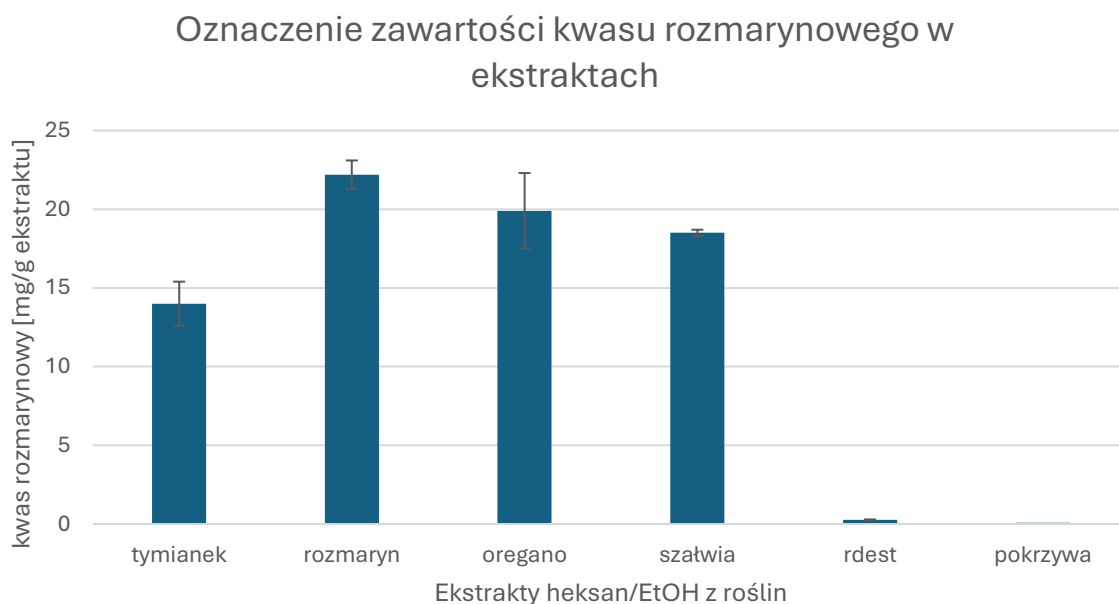


Rys. 26. Chromatogram UPLC ekstraktu z szałwi.



Rys. 27. Chromatogram UPLC ekstraktu z rdestu.

Wyniki z poszczególnych oznaczeń przeliczono na gramy kwasu rozmarynowego w kg ekstraktu i przedstawiono na wykresie 28. Z 6 badanych ekstraktów 4, tj. tymianek, rozmaryn, oregano i szałwia wykazały wysoki poziom kwasu rozmarynowego, natomiast pokrzywa i rdest ptasi nie, co w konsekwencji zdecydowało o nie braniu ich pod uwagę w dalszych pracach.



Rys. 28. Zawartość kwasu rozmarynowego w ekstraktach z poszczególnych roślin uzyskanych na drodze ekstrakcji dwuetapowej (heksan/etanol) w automatycznym aparacie Soxhleta. Metoda oznaczania UPLC [mg kwasu rozmarynowego / g ekstraktu].

Tab. 11. Zawartość kwasu rozmarynowego w ekstraktach z poszczególnych roślin uzyskanych na drodze ekstrakcji dwuetapowej (heksan/etanol) w automatycznym aparacie Soxhleta. Metoda oznaczania UPLC [mg kwasu rozmarynowego / g ekstraktu].

Lp.	Roślina	Ilość kwasu rozmarynowego w ekstrakcie [mg/g]	±SD*
1	Tymianek	14	1,4
2	Rozmaryn	22,2	0,9
3	Oregano	19,9	2,4
4	Szałwia	18,5	0,2
5	Rdest	0,274	0,003
6	Pokrzywa	0,079	-**

\*\*wynik poniżej zakresu krzywej kalibracyjnej

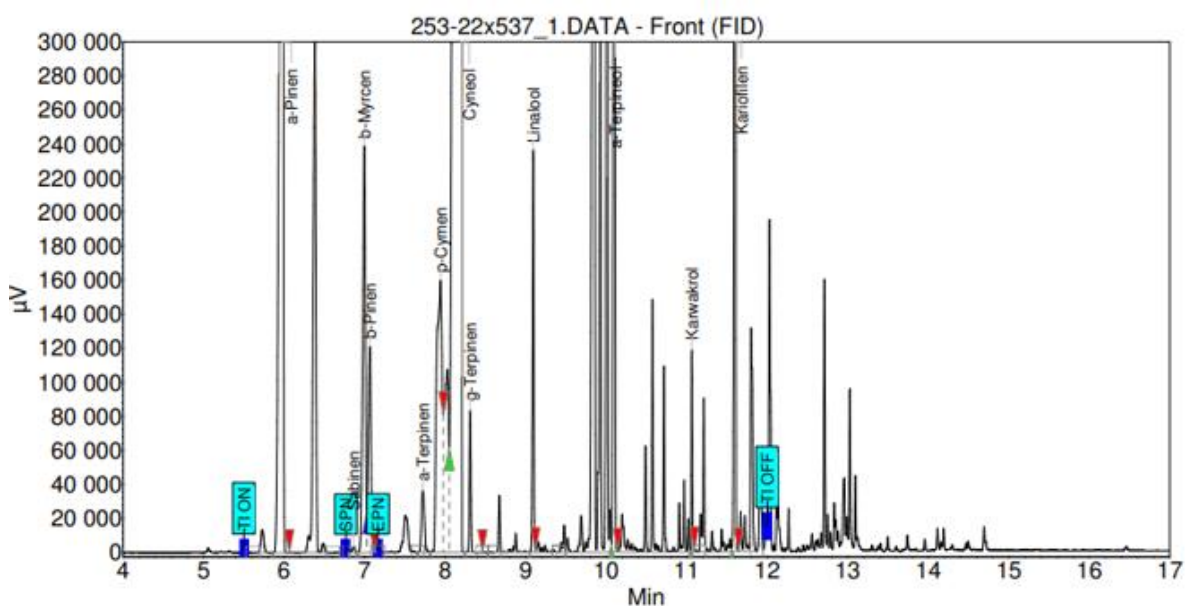
## 5.4. GC-FID

Olejki były analizowane z wykorzystaniem chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID) w celu określenia zawartości następujących związków:  $\alpha$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol,  $\gamma$ -terpinen, linalol,  $\alpha$ -terpineol, karwakrol i kariofilen. Wyniki przedstawiono w postaci chromatogramów (Rys. 29-32).

Przygotowanie prób do badań: znaną masę próby do badań (~200 mg) rozpuszczono w 1 ml heksanu. Otrzymany roztwór rozcieńczono następnie 5, 25 i 125-krotnie heksanem. Otrzymane serie roztworów przefiltrowano przez filtr strzykawkowy 0,22  $\mu$ m i analizowano. Wyniki obliczono zgodnie z metodą krzywej kalibracyjnej.

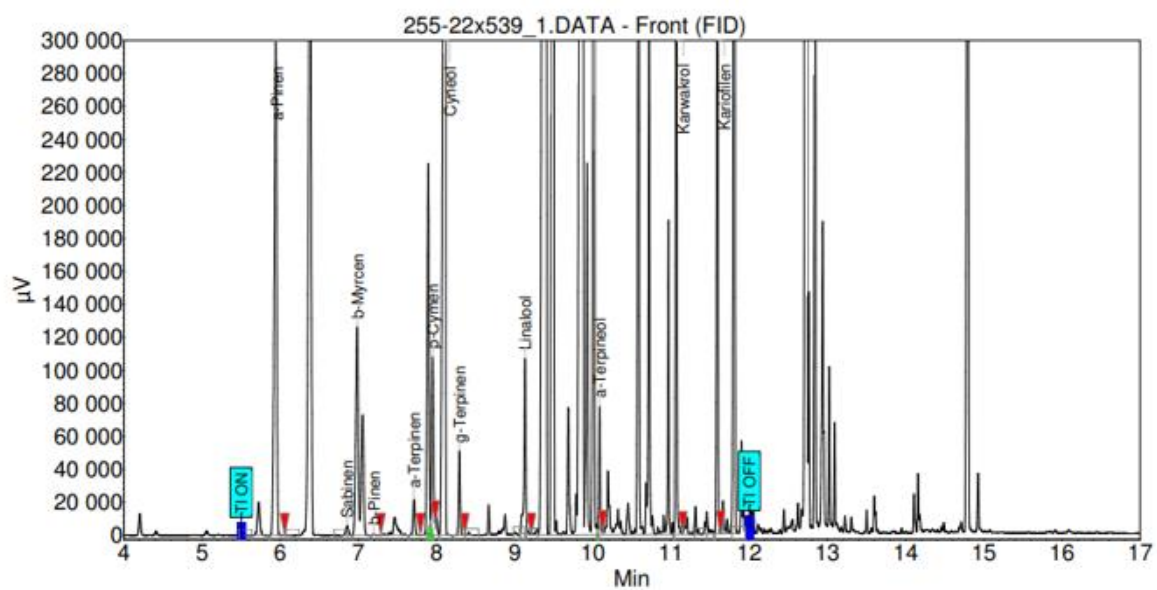
Warunki analizy:

- kolumna kapilarna: BR-624ms, 20 m x 0,18 mm, df = 1  $\mu$ m,
- temperatura dozownika: 300°C,
- temperatura detektora: 330°C,
- objętość nastrzyku: 1  $\mu$ L,
- gaz nośny: hel,
- przepływ fazy mobilnej: 1 mL/min,
- program temperaturowy: 80°C (0,45 min) przy 6°C/min do 120°C (0 min); przy 25°C/min do 300°C (2,68 min)
- całkowity czas programu: 17 min.

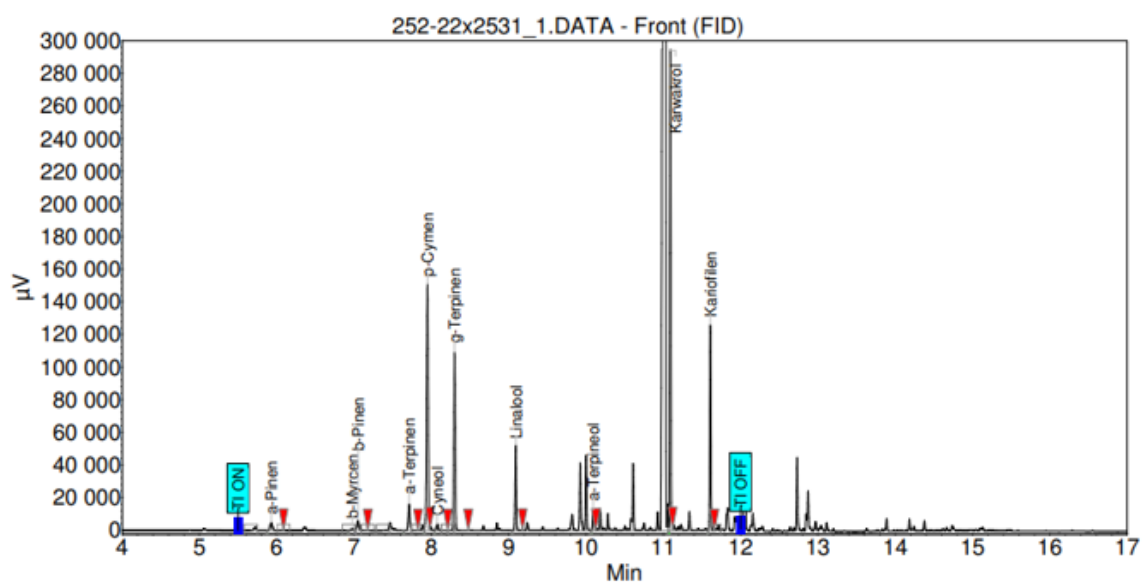


Rys. 29. Chromatogram GC-FID olejku z rozmarynu.

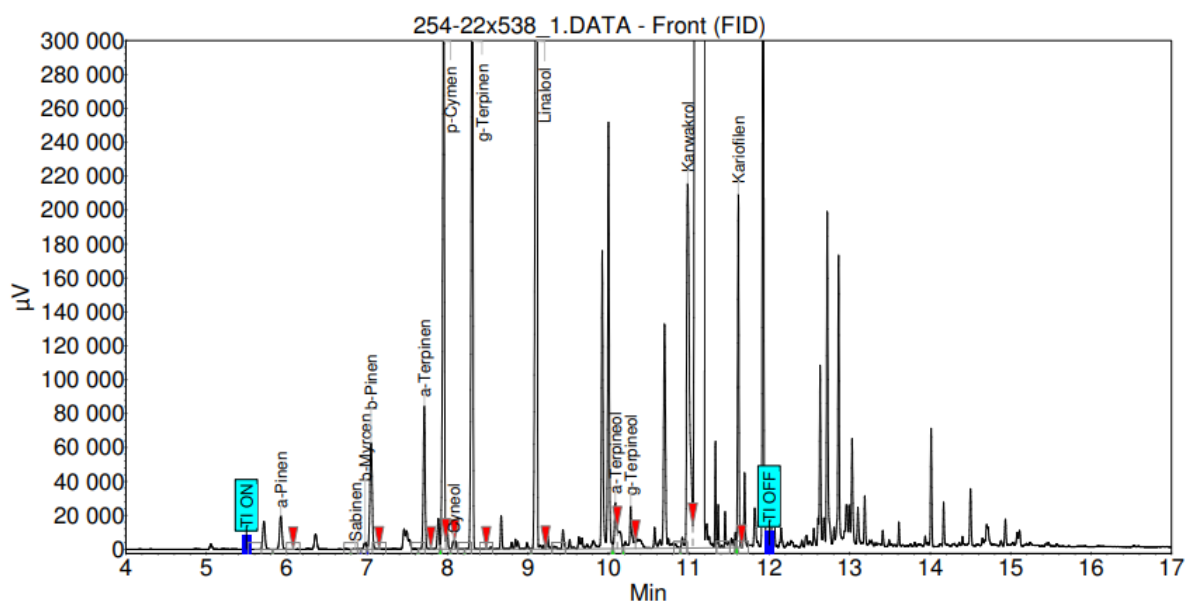




Rys. 30. Chromatogram GC-FID olejku z szałwii.



Rys. 31. Chromatogram GC-FID olejku z tymianku.



Rys. 32. Chromatogram GC olejku z oregano.

Średnie wartości uzyskane w analizie chromatograficznej zebrano w Tabeli 12.

Tab. 12. Zawartość poszczególnych substancji w olejkach uzyskanych z suszów roślin na drodze destylacji wodnej w aparacie Clevengera [mg substancji /g olejku]

	tymianek [mg/g olejku]	±SD	rozmaryn [mg/g olejku]	±SD	oregano [mg/g olejku]	±SD	szalwia [mg/g olejku]	±SD
<b>α-pinen</b>	1,38	0,04	<b>62,2</b>	0,3	1,02	**	19,6	0,1
<b>Sabinen</b>	0,01	**	0,22	0,01	0,01	**	0,35	0,01
<b>β-myrcen</b>	0,33	0,01	12,5	0,1	0,18	**	6,44	0,2
<b>β-pinen</b>	1,98	0,07	9,27	0,03	3,76	0,11	5,06	0,16
<b>α-terpinen</b>	4,93	0,15	3,61	0,02	4,69	0,13	1,38	0,05
<b>p-cymen</b>	<b>21,8</b>	0,1	12,1	0,1	<b>10,6</b>	0,5	4,3	0,14
<b>1,8-cyneol</b>	1,07	0,04	<b>595</b>	3	0,22	**	<b>61,7</b>	0,2
<b>γ-terpinen</b>	<b>16,8</b>	0,1	2,95	0,1	<b>16,3</b>	0,3	1,72	0,07
<b>linalol</b>	7,93	0,03	8,28	0,27	<b>28,2</b>	0,2	4,83	0,16
<b>α-terpineol</b>	1,14	0,02	<b>31,7</b>	0,2	1,46	0,07	2,9	0,1
<b>karwakrol</b>	<b>34</b>	0,1	3,45	0,01	<b>798</b>	13	<b>23,9</b>	0,1
<b>kariofilen</b>	<b>15,5</b>	0,1	<b>22,7</b>	0,1	5,74	0,07	<b>21,6</b>	0,3
Suma	106,87		763,98		870,18		153,78	

Wyraźnie odznaczają się oregano oraz rozmaryn, gdzie łączna zawartość substancji wskaźnikowych w olejku eterycznym jest bardzo wysoka. Dla oregano jest to 870,18 mg oznaczonych w tym badaniu substancji czynnych zawartych w 1 g olejku. Najwięcej jest karwakrolu, który stanowi aż 91,71% wszystkich substancji. Kolejne substancje pod względem ilościowym to linalol, γ-terpinen i p-cymen. Z kolei dla rozmarynu łączna zawartość substancji

to 763,98 mg oznaczanych w tym badaniu, zawartych w 1 g olejku. Najwyższa zawartość jest substancji 1,8-cyneol, która stanowi 77,88% wszystkich oznaczonych substancji. Wysoka jest w tym olejku również zawartość  $\alpha$ -pinenu,  $\alpha$ -terpineolu i kariofilenu. Wartości dla olejków z szałwii i tymianku wypadły na tle oregano i rozmarynu dużo niżej, z zawartością substancji czynnych odpowiednio 153,78 mg i 106,87 mg. Prawdopodobnie w olejkach tych obecne są, w dużej ilości inne substancje niż te, które były oznaczane w bieżącym badaniu.

Na podstawie powyższych wyników najkorzystniejsze do dalszego wykorzystania są olejki z oregano i rozmarynu.

W wyniku przeprowadzonych badań ustalono procedurę ekstrakcji cechującą się najwyższą wydajnością otrzymanych ekstraktów. Najskuteczniejszą procedurą okazał się proces dwustopniowy z użyciem jako pierwszego rozpuszczalnika niepolarnego – heksanu i jako drugiego polarnego – etanolu. Najwyższe wydajności uzyskano dla suszu z następujących gatunków roślin: oregano, rozmaryn, szałwia i tymianek pospolity. Dla rozmarynu wydajność wyniosła aż 30,7%. Otrzymane ekstrakty ze względu na wysoką zdolność antyoksydacyjną, wysokie stężenie polifenoli, w tym szczególnie kwasu rozmarynowego są najkorzystniejsze dla dalszego wykorzystania w projekcie. W dalszym etapie prac z wybranych suszy roślinnych izolowano olejki eteryczne z wykorzystaniem destylacji z parą wodną w aparacie Clevengera. Na podstawie analizy wydajności otrzymanych olejków oraz zawartości w nich oznaczanych substancji czynnych jako najbardziej obiecujące do praktycznego wykorzystania, wskazano produkty otrzymane z oregano i rozmarynu.

## **6. Procedura wzbogacenia powłoki ekstraktami i olejkami z roślin**

Powłoka opracowana na pierwszym etapie ma być wzbogacona o składniki naturalne uzyskane w drugim etapie. Do wytypowanego składu powłoki za pośrednictwem 2-butoksyetanol wprowadzono początkowo olejek i ekstrakt z rozmarynu, testując różne ilości wprowadzanych składników. Przygotowano roztwory olejku z rozmarynu w 2-butoksyetanolu o stężeniu 10% oraz ekstraktu z rozmarynu w 2-butoksyetanolu o stężeniu 10%, dodawano je w osobnych próbkach do składu powłoki, tak aby uzyskać w niej zawartość olejku lub ekstraktu w ilościach 0,1% (1 g/100 g), 0,2% (2 g/100 g), 0,5% (5 g/100 g). Stabilne okazały się jedynie próbki z 0,1% olejku lub ekstraktu. W pozostałych próbkach obserwowane było wypływanie wprowadzonej mieszanki na powierzchnię (brak jednorodności).

Następnie sprawdzano olejki i ekstrakty z pozostałych roślin wprowadzając 0,1% olejku lub ekstraktu z oregano, z tymianku, z rozmarynu, z szałwii. Wszystkie próbki były stabilne w

czasie i nie odbiegały parametrami od wyznaczonych dla powłoki bez dodatków. Sprawdzono wydajność nakładania na płytki z plexiglasu pokryte zaprawą klejową wszystkich powłok z dodatkami. Wyniki wydajności przedstawiono w tabeli 13.

Tab. 13. Wydajność nakładania powłoki [g/m<sup>2</sup>]

<b>powłoka z dodatkiem 0,1%</b>	<b>średnia wydajność nakładania [g/m<sup>2</sup>]</b>	<b>średnia dla grupy olejki lub ekstrakty [g/m<sup>2</sup>]</b>
olejek z tymianku	37,725	40,56
olejek z rozmarynu	38,7	
olejek z szalwii	42,15	
olejek z oregano	43,65	
ekstrakt z tymianku	48,025	48,11
ekstrakt z rozmarynu	45,2	
ekstrakt z szalwii	42,125	
ekstrakt z oregano	57,075	
powłoka bez dodatków	58,533	58,53

Zarówno powłoki z ekstraktami, jak i z olejkami wykazały lepszą wydajność nakładania niż powłoka bez dodatków, co oznacza mniejszą ilość zużytego produktu koniecznego na pokrycie tej samej powierzchni. Z punktu widzenia opłacalności produktowej jest to istotny parametr. Różnica ponad 10 g/m<sup>2</sup> w przypadku powłoki z ekstraktami a powłoką bez dodatku oznacza 20 kg różnicy na produkcie koniecznym do zastosowania w kurniku o powierzchni 2000 m<sup>2</sup>. Różnica prawie 18 g/m<sup>2</sup> dla powłoki z olejkami to aż 36 kg produktu mniej. Z tego powodu powłoka wzbogacona olejkami jest bardziej opłacalna.

Równoległe z oznaczeniami wydajności nakładania prowadzone były prace z oznaczeniami chromatograficznymi.

Próbki powłoki wzbogaconej o ekstrakty zostały przekazane do oznaczeń chromatograficznych (UPLC) na obecność kwasu rozmarynowego. Pomimo podjęcia szeregu prób oznaczenia kwasu rozmarynowego w płynnych powłokach, nie udało się osiągnąć celu analizy. Powłoka jest mieszaniną polimerów, która może absorbować się trwale na elementach układu chromatograficznego, a w szczególności kolumnie chromatograficznej. Zjawisko to może doprowadzić do uszkodzenia układu chromatograficznego. W związku z tym należy unikać bezpośredniego dozowania polimerów na kolumnę chromatograficzną. W celu odseparowania matrycy (polimeru) z powłoki od kwasu rozmarynowego wykonano kilkanaście eksperymentów wg poniższych schematów:

- wysalanie w celu koagulacji polimerów
- hydroliza zasadowa

- ekstrakcja ciecz-ciecz polimeru cieczami organicznymi, a następnie oczyszczenie na kolumnie SPE (ekstrakcja ciecz-ciało stałe).

Żadna z zastosowanych metod nie sprawdziła się. Wyniki eksperymentów sugerują, że kwas rozmarynowy ze względu na swój polarny charakter silnie wiąże się z matrycą polimerową i wytrąca się z roztworu wraz ze skoagulowanym polimerem. Druga ewentualność jest taka, że kwas ulega rozkładowi w procesie przygotowania próbek. Oba zjawiska uniemożliwiają oznaczenie zawartości kwasu rozmarynowego w powłokach.

Drugi zestaw próbek powłoki z olejkami uzyskanymi w procesie destylacji został przekazany do analiz z wykorzystaniem chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID) w celu określenia zawartości związków oznaczonych wcześniej w samych olejkach:  $\alpha$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol,  $\gamma$ -terpinen, linalol,  $\alpha$ -terpineol, karwakrol i kariofilen. Przygotowanie prób do badań: odważkę 1,00+/- 0,05 g próby płynnej powłoki przeniesiono do fiolki z brązowego szkła typu "headspace", dodano 100  $\mu$ l metanolu i wymieszano. Roztwory kalibracyjne przygotowano przez dodatek roztworu wzorcowego kariofilenu w metanolu do serii prób powłoki tzw. placebo. Wykonano analizę roztworów kalibracyjnych oraz prób zgodnie z warunkami podanymi poniżej. Stężenie kariofilenu wyznaczono w oparciu o metodę zewnętrznej krzywej kalibracyjnej. Stężenie pozostałych terpenoidów zostało obliczone na podstawie wyników analiz składu terpenoidów dla próbek samych olejków (przedstawione w Tabeli 12).

Warunki analizy:

- kolumna kapilarna: BR-624ms, 20 m x 0,18 mm,  $df = 1 \mu$ m,
- temperatura dozownika: 300°C,
- temperatura detektora: 300°C,
- temperatura kondycjonowania: 80°C,
- czas kondycjonowania: 20 min,
- temperatura linii transferowej: 180°C,
- podział próby: 1:20,
- gaz nośny: hel,
- przepływ fazy mobilnej: 1 ml/min,
- program temperaturowy: 80°C (0,45 min) przy 6°C/min do 120°C (0 min); przy 25°C/min do 300°C (2,68 min)
- całkowity czas programu: 17 min.

W tabeli 14 przedstawione zostały wyniki oznaczeń w powłoce w porównaniu do samych olejków.

Tab. 14. Porównanie zawartości poszczególnych substancji w powłokach z olejkami i w samych olejkach [mg substancji /kg próbki]

	tymianek		rozmaryn		oregano		szałwia	
	olejek	powłoka z olejkiem	olejek	powłoka z olejkiem	olejek	powłoka z olejkiem	olejek	powłoka z olejkiem
<b><math>\alpha</math>-pinen</b>	1380	0,91	62200	23,81	1020	0,61	19600	7,55
<b>sabinen</b>	10	0,01	220	0,08	10	0,01	350	0,13
<b><math>\beta</math>-myrcen</b>	330	0,22	12500	4,79	180	0,11	6440	2,48
<b><math>\beta</math>-pinen</b>	1980	1,31	9270	3,55	3760	2,27	5060	1,95
<b><math>\alpha</math>-terpinen</b>	4930	3,25	3610	1,38	4690	2,83	1380	0,53
<b>p-cymen</b>	21800	14,39	12100	4,63	10600	6,39	4300	1,66
<b>1,8-cyneol</b>	1070	0,71	595000	227,78	220	0,13	61700	23,77
<b><math>\gamma</math>-terpinen</b>	16800	11,09	2950	1,13	16300	9,83	1720	0,66
<b>linalool</b>	7930	5,23	8280	3,17	28200	17,0	4830	1,86
<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	1140	0,75	31700	12,14	1460	0,88	2900	1,12
<b>karwakrol</b>	34000	22,44	3450	1,32	798000	481,02	23900	9,21
<b>kariofilen</b>	15500	10,23	22700	8,69	5740	3,46	21600	8,32
<b>Suma</b>	106870	<b>70,54</b>	763980	<b>292,47</b>	870180	<b>524,54</b>	153780	<b>59,24</b>
<b>% efektywności wprowadzenia substancji do powłoki*</b>		<b>66%</b>		<b>38,3%</b>		<b>60,28%</b>		<b>38,52%</b>

\*uwzględniając stężenie olejku w powłoce 0,1%

W mieszaninach powłoki z olejkami udało się oznaczyć substancje wskazane jako wskaźnikowe w olejkach. Ze względu na to, że olejki były dodane w ilości 0,1 g na 100 g powłoki, ilość substancji w powłoce była porównana do 0,1% zawartości z czystych olejków. Najwyższa zawartość w porównaniu do samych olejków była obecna w powłoce z olejkiem z tymianku – zawartość substancji stanowiła 66% oczekiwanej zawartości. Wysoka była również zawartość w powłoce z olejkiem z oregano – 60,28% teoretycznej maksymalnej zawartości. Powłoki z olejkami z rozmarynu i szaławii miały niższą zawartość – odpowiednio 38,3% i 38,52%.

Na podstawie wyników z testów wydajności nakładania oraz oznaczeń chromatograficznych do dalszych badań brane pod uwagę są tylko powłoki z olejkami. Powłoki z ekstraktami z powodu gorszej wydajności nakładania oraz braku możliwości oznaczenia w nich substancji wzorcowej (kwasu rozmarynowego) zostały odrzucone.

Ostatecznie o wyborze, który z olejków będzie testowany dalej zdecydowała wydajność procesu destylacji przedstawiona w tabeli 10. Ze względu na dwukrotnie wyższą wydajność destylacji dla olejku z rozmarynu i oregano, niż dla olejków z szaławii lub z tymianku, korzystną wydajność nakładania powłoki z olejkiem z rozmarynu oraz wysoką

zawartość substancji czynnych oznaczonych w powłoce z olejkiem z oregano, to właśnie te dwa olejki zostały wytypowane do testów aplikacyjnych w obecności kur.

## **7. Eksperymentalny chów kur**

Sprawdzenie oddziaływania powłoki wzbogaconej dodatkiem olejku z rozmarynu lub olejku z oregano na dobrostan kur podzielono na dwa etapy: pierwszy w komorach hodowlanych Katedry Higieny Zwierząt i Środowiska na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (dwa rodzaje powłoki) i drugi w kurniku wielkopowierzchniowym w Gospodarstwie Specjalistycznym Fermie Drobiu firmy Gallus Sp. z o.o. w Uniszkach Zawadzkich (jeden rodzaj powłoki wybrany po pierwszym etapie).

### **7.1. Komory hodowlane**

Obiekt doświadczalny, w którym przeprowadzone były badania testowe wybudowano zgodnie z zaleceniami zootechnicznymi. Skierowany jest osią długą w kierunku północ-południe, co umożliwia równomierne oświetlenie oraz zapobiega nadmiernemu ochładzaniu obiektu. W budynku znajdują się 3 kurniki testowe do chowu drobiu, pomieszczenie socjalne z toaletą, część laboratoryjna z zapleczem, dwa magazynki paszowe oraz izolatka dla ptaków.

Kurniki testowe są trzema jednakowej wielkości komorami klimatycznymi, zupełnie izolowanymi od siebie, tak samo wyposażonymi. Ich powierzchnia wynosi 9,3 m<sup>2</sup>, a kubatura 26,2 m<sup>3</sup>, co umożliwia obsadę 120 sztuk kurcząt brojlerów w każdej komorze, spełniając tym samym wymagania prawne o odsadzie kur maksymalnie 33 kg/m<sup>2</sup>. Ściany pomieszczeń doświadczalnych do wysokości 1 m są gładkie i łatwo zmywalne, co pozwala na skuteczną sanityzację i dezynfekcję. W każdej brojlerni znajduje się okno drewniane, z podwójną szybą pełniącą rolę termoizolacyjną, o wysokości 1,26 m i szerokości 0,92 m, z możliwością zasłonięcia, by umożliwić zastosowanie wybranego programu świetlnego. Posadzki pomieszczeń doświadczalnych są betonowe. Kurniki wyposażone są w regulowaną wentylację mechaniczną typu podciśnieniowego. Pojedyncze kanały nawiewne o wymiarach 0,5 × 0,09 m znajdują się w ścianach pomieszczeń, na wysokości 1,4 m i są zabezpieczone metalową siatką. Wentylatory wyciągowe o mocy 0,25 kW umieszczone są w środkowej części dachu. W każdym pomieszczeniu znajduje się grzejnik centralnego ogrzewania, a także cztery lampy żarowe o mocy 60 W, z regulacją natężenia światła. Kurniki są wyposażone w dwa promienniki podczerwieni o mocy 100W, które są stosowane w pierwszych tygodniach odchowu kurcząt.

Podczas badań we wszystkich 3 kurnikach testowych zastosowane zostały po dwa wiszące poidła dzwonekowe o obwodzie 106 cm oraz po cztery plastikowe karmidła półautomatyczne o obwodzie 125 cm, przy czym na jednego ptaka przypadnie 1,77 cm linii brzegowej poidła i 2,08 cm obwodu karmidła. Wyposażenie było zgodne z zaleceniami technologicznymi, które wskazują na dostęp do 1 cm poidła okrągłego oraz 1,3-1,8 cm krawędzi karmidła na każdego ptaka. Monitorowane było zużycie paszy i wody. W trakcie badań testowych kurczęta brojlery pojone były wodą z ujęcia w Kortowie (UWM w Olsztynie), przeznaczonego także dla ludzi, a więc regularnie badanego przez Stację Sanitarno-Epidemiologiczną zgodnie z wymaganiami prawnymi (Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 7 grudnia 2017 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, Dz.U. 2017, poz. 2294), w związku z czym można wykluczyć ją jako potencjalne zagrożenie. Ptaki były utrzymywane na ok. 10 cm warstwie ściółki (standaryzowany, sprzedawany w opakowaniach gotowy pelet ze słomy), bez dościelania oraz żywione standardowo, mieszankami pełnoporcjowymi.

Reasumując, kurczęta brojlery odchowywane były zgodnie z obowiązującymi normami technologicznymi, a wyposażenie wszystkich pomieszczeń doświadczalnych było jednakowe.



Zdj. 26. Komora klimatyczna na początku chowu



W badaniach testowych były odchowywane kurczęta Ross 308 (kogutki), po 120 sztuk w każdym kurniku, w pełnym 6-tygodniowym cyklu produkcyjnym. Pierwszym kurniku nie zastosowano powłoki – było to pomieszczenie z chowem kontrolnym (oznaczone jako K), w drugim pomieszczeniu zastosowano powłokę wzbogaconą o olejek z oregano (O), a w trzecim powłokę wzbogaconą o olejek z rozmarynu (R). Posadzka pomieszczenia oraz ściany do wysokości 50 cm były pokryte powłoką za pomocą wałka malarskiego, nakładaną z wydajnością ok. 50 g/m<sup>2</sup>. Czas schnięcia powłoki został ustalony na 1 godzinę, jednak dla uzyskania całkowitej pewności wyschnięcia, ściółkę wyłożono dopiero następnego dnia po malowaniu.

W trakcie chowu oceniano następujące parametry:

- Właściwości fizykochemiczne ściółki. Oceniane były takie parametry, których wartości mają wpływ na rozwój mikroorganizmów w ściółce oraz procesy fermentacyjne, które prowadzą do emisji gazów (amoniaku i innych lotnych związków). Większość bakterii najlepiej rozwija się przy obojętnej lub słabo zasadowej reakcji podłoża, a rozwojowi bakterii nitryfikacyjnych, rozkładających mocznik, sprzyja lekko alkaliczny odczyn. Zbyt wilgotna ściółka traci korzystne właściwości pochłaniania szkodliwych gazów, a w wyniku zachodzących w niej procesów fermentacyjnych i gnilnych zaczyna emitować dwutlenek węgla i amoniak. Zbyt sucha ściółka również może wykazywać niekorzystne właściwości ze względu na większą pylistość. Oceniane zatem były: temperatura, wilgotność względna i pH ściółki. Pomiary temperatury (°C) i wilgotności względnej (%) zostały wykonane cyfrowym testerem wilgotności – metodą stykową. Dodatkowo wilgotność względna była oznaczana metodą podsuszania z użyciem suszarki laboratoryjnej, wagi i eksykatorów.
- Warunki środowiskowe standardowo określane w trakcie chowu kurcząt, tzn. temperatura i wilgotność względna powietrza (mierzone w sposób ciągły przy użyciu termohigrometru elektronicznego), pomiary momentalne, czyli ruch powietrza (anemometry), ochładzanie bioklimatyczne (katatermometry), temperatura ekwiwalentno-efektywna (odczuwalna – obliczanie wykorzystując wzór Missenarda). Parametry te są monitorowane i regulowane tak, aby były utrzymane na optymalnym dla kurcząt poziomie, jednak zastosowanie lub brak powłoki nie wpływa na nie, więc mają wartość informacyjną, ale nie badawczą.
- Stężenie pyłów (zapylenie). Pyły są stale obecne w pomieszczeniach dla drobiu. Mają charakter głównie organiczny, a ich częstym źródłem jest ściółka (także pasza, kał oraz pióra i naskórek ptaków). Ich szkodliwe oddziaływanie wpływa na skórę, spojówki oczu

i układ oddechowy nie tylko ptaków, ale także ludzi przy nich pracujących. Szczególnie groźne są bardzo drobne pyły, tzw. frakcje respirabilne, dlatego analizowane były różne frakcje. Pomiar był wykonany przenośnym masowym analizatorem pyłów opisanym w wykazie sprzętów.

- Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza i powierzchni. Oznaczane przy użyciu aspiratora do pobierania określonej ilości prób powietrza o ukierunkowanym przepływie na płytkę Petriego z podłożem do wykrywania mikroorganizmów w powietrzu. Wykonywano badania ilościowe w kierunku bakterii i grzybów w powietrzu metodą sedymentacyjną i/lub aspiracyjną w oparciu o wzory Omeliańskiego i Feller, w ściółce wg metodyki opisanej w normie PN-ISO 21528-2:2005 oraz na powierzchniach płaskich metodą szablonowo-wymazową i wymazową dla powierzchni niewymiarowych wg PN-ISO 18593:2005 i PN-ISO 21528-2:2005. Badania jakościowe prowadzono przez identyfikację gatunkową drobnoustrojów za pomocą testów biochemicznych.
- Stężenie amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) i dwutlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ) oraz lotnych związków organicznych przy użyciu przenośnego spektrometru na podczerwień z transformatą Fouriera do analizy domieszek gazowych w powietrzu z oprogramowaniem umożliwiającym wieloskładnikową analizę widmową. Wysoka wilgotność ściółki przyspiesza wydzielanie amoniaku z pomiotu, a dodatkowo amoniak wiążący się z wodą tworzy wodorotlenek amonu przenikający do tkanek i powodujący stan zapalny. Oprócz podrażnień błon śluzowych, układu oddechowego i oczu, podwyższone stężenie amoniaku prowadzi do nerwowości ptaków i zmniejszonego przyrostu wagi. Nadmiar dwutlenku węgla, idący w parze z obniżeniem zawartości tlenu, może doprowadzić do niedotlenienia ptaków, ich ospałości, a w konsekwencji osłabienia reakcji obronnych, zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej i zmniejszonego pobierania wody i paszy.
- Zapalenie skóry poduszki stopy. Inaczej nazywane zapaleniem podeszwy stopy (FPD – food pad dermatitis) u ptaków rzeźnych to jeden z największych problemów hodowców drobiu, który narasta wraz z postępem genetycznym, dążącym do uzyskiwania jak największych przyrostów masy ciała. Jest powodem dużych strat, wynikających z utrudnienia lokomocji ptaków, zmniejszenia pobierania paszy i wody, a w konsekwencji gorszych przyrostów masy ciała i niższej wartości rzeźnej tuszek. Stan podeszwy u kurcząt brojlerów jest miarą ich dobrostanu, dzięki temu, że jest to wartość mierzalna. Znowelizowana ustawa o ochronie zwierząt (Dz. U. 1997, nr 111, poz. 724) zobowiązuje urzędowego lekarza weterynarii do kontrolowania poziomu dobrostanu

kurcząt brojlerów na podstawie badania poubojowego, które polega na określeniu częstości występowania przypadków zapalenia skóry u ptaków oraz stopnia ich nasilenia (wg określonej skali). Na podstawie badania hodowca może uzyskać pozwolenie na zwiększenie maksymalnej obsady ptaków z 33 kg/m<sup>2</sup> do 39 kg/m<sup>2</sup>. W przypadku kurcząt brojlerów schorzenie może dotknąć nawet 70% stada. Jednym z ważniejszych czynników decydujących o podatności ptaków na zapadalność na FPD jest podłoże, z którym podeszwy stóp mają stały i bezpośredni kontakt. Ściółka wilgotna zdecydowanie sprzyja występowaniu wyższego współczynnika FPD u kurcząt.

- Liczba oocyst kokcydiów w ściółce i odchodach oznaczana metodą flotacji z nasyconym roztworem NaCl przy użyciu mikroskopu świetlnego z możliwością przechwyty i pomiaru obrazu oraz komory McMastera do zliczania oocyst kokcydiów. Obecność oocyst w chowie wielkopowierzchniowym jest powszechna. Stada kur standardowo zabezpieczane są przed kokcydiozą przez dodawanie kokcydiostatyków do paszy lub zabiegi szczepień. Mimo to kokcydioza jest nadal poważnym problemem ze względu na koszty jakie generuje profilaktyka, coraz powszechniejsze procesy uodparniania się pasożytów, a przede wszystkim poważną zachorowalność i dużą liczbę upadków. Oocyta to jedna z form w cyklu rozwojowym pierwotniaków pasożytniczych z rodzaju *Eimeria*, która wydzielana jest z przewodu pokarmowego gospodarza do środowiska, gdzie po uzyskaniu formy ze sporocystami jest gotowa do zarażenia kolejnego osobnika i przeprowadzenia pełnego cyklu w jego przewodzie pokarmowym, doprowadzając do poważnych zniszczeń[123].
- Śmiertelność (liczba padłych osobników). Wskaźnik śmiertelności dziennej i skumulowany wskaźnik śmiertelności dziennej to parametry niezbędne w dokumentacji prowadzonej przez opiekunów kurnika o zwiększonej obsadzie podczas wysyłania kurcząt brojlerów do ubojni. Wskaźnik śmiertelności dziennej to procent padłych kurcząt brojlerów tego samego dnia, w tym uśmierconych z powodu choroby lub z innych przyczyn w stosunku do całkowitej liczbę kurcząt brojlerów znajdujących się w kurniku w tym dniu, a skumulowany wskaźnik śmiertelności dziennej to suma wskaźników śmiertelności dziennej[124]. Chów w komorach testowych nie był prowadzony ze zwiększoną obsadą, ale procent padłych osobników zostanie odnotowany, jeżeli takie przypadki wystąpią.
- Zachorowalność (liczba chorych osobników). Odnotowane zostanie wystąpienie każdej jednostki chorobowej.

- Wyniki odchowu (końcowa masa ciała, zużycie paszy, spożycie wody)
- Poubojowa ocena wartości rzeźnej ptaków, ocena wartości rzeźnej ptaków metodą dysekcji szczegółowej.

Poniżej przedstawiono wyniki z doświadczalnego chowu kurcząt w komorach doświadczalnych:

### Wskaźniki mikroklimatu w pomieszczeniach

Wskaźniki mikroklimatu w pomieszczeniach dla kurcząt przedstawiono w tabeli 15.

Tabela 15. Warunki termiczno-wilgotnościowe w komorach testowych podczas pomiarów i pobierania prób (średnia  $\pm$  SEM\*)

Tydzień cyklu	Parametr	6 tygodniowy cykl doświadczalny			Na zewnątrz
		Kontrola „K”	Cykl doświadczalny „O”	Cykl doświadczalny „R”	
I	Temperatura powietrza (°C)	30,21 $\pm$ 0,50	30,57 $\pm$ 0,29	30,32 $\pm$ 0,48	4,62 $\pm$ 3,45
	Wilgotność względna powietrza (%)	38,25 $\pm$ 2,75	37,85 $\pm$ 2,05	37,65 $\pm$ 2,55	75,43 $\pm$ 9,15
	Ruch powietrza (m/s)	0,002 $\pm$ 0,00	0,002 $\pm$ 0,00	0,002 $\pm$ 0,00	0,63 $\pm$ 0,12
	Ochładzanie (mW/cm <sup>2</sup> )	5,91 $\pm$ 0,52	5,86 $\pm$ 0,44	5,89 $\pm$ 0,34	58,32 $\pm$ 0,64
	Temperatura odczuwalna (°C)	26,32 $\pm$ 0,01	26,43 $\pm$ 0,02	26,42 $\pm$ 0,02	2,30 $\pm$ 0,54
II	Temperatura powietrza (°C)	29,85 $\pm$ 0,45	29,95 $\pm$ 0,25	29,83 $\pm$ 0,30	9,60 $\pm$ 1,10
	Wilgotność względna powietrza (%)	41,25 $\pm$ 4,75	42,85 $\pm$ 3,05	42,25 $\pm$ 4,55	76,85 $\pm$ 10,95
	Ruch powietrza (m/s)	0,09 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,12
	Ochładzanie (mW/cm <sup>2</sup> )	8,42 $\pm$ 1,46	8,87 $\pm$ 0,39	8,84 $\pm$ 2,45	51,88 $\pm$ 6,21

	Temperatura odczuwalna (°C)	25,62 ±0,07	25,47 ±0,55	25,59 ±0,58	8,28 ±10,77
III	Temperatura powietrza (°C)	24,70 ±0,40	25,10 ±0,10	24,40 ±0,30	5,10 ±3,10
	Wilgotność względna powietrza (%)	55,35 ±3,65	55,80 ±3,70	55,10 ±2,90	86,50 ±9,70
	Ruch powietrza (m/s)	0,09 ±0,00	0,09 ±0,00	0,09 ±0,00	0,58 ±0,12
	Ochładzanie (mW/cm <sup>2</sup> )	15,83 ±1,49	15,20 ±1,00	15,65 ±1,88	64,74 ±0,20
	Temperatura odczuwalna (°C)	23,88 ±0,83	23,92 ±0,53	23,75 ±0,59	2,96 ±1,45
IV	Temperatura powietrza (°C)	22,45 ±0,35	22,10 ±0,90	22,30 ±0,30	2,50 ±1,00
	Wilgotność względna powietrza (%)	50,30 ±1,40	49,85 ±2,35	49,25 ±1,05	67,30 ±6,40
	Ruch powietrza (m/s)	0,11±0,00	0,12 ±0,00	0,11 ±0,00	0,29 ± 0,00
	Ochładzanie (mW/cm <sup>2</sup> )	17,94 ±0,85	18,85 ±0,78	17,97 ±0,55	59,28 ±2,38
	Temperatura odczuwalna (°C)	20,23 ±0,35	21,27 ±0,25	20,54 ±0,34	2,78 ±1,05
V	Temperatura powietrza (°C)	22,40 ±0,20	22,70 ±0,30	22,80 ±0,60	10,00 ±0,70
	Wilgotność względna powietrza (%)	61,15 ±0,45	60,50 ±5,40	60,60 ±2,20	85,85 ±10,65
	Ruch powietrza (m/s)	0,175 ±0,00	0,168 ±0,00	0,164 ±0,00	0,524 ±0,25
	Ochładzanie (mW/cm <sup>2</sup> )	19,51 ±0,81	19,17 ±0,90	19,45 ±0,75	52,77 ±3,67
	Temperatura odczuwalna (°C)	21,81 ±0,15	21,71 ±0,15	21,82 ±0,65	8,13 ±0,24

VI	Temperatura powietrza (°C)	20,85 ±0,25	21,10 ±1,30	20,20 ±1,30	9,10 ±0,40
	Wilgotność względna powietrza (%)	65,55 ±3,15	64,00 ±4,50	65,90 ±4,25	84,35 ±7,85
	Ruch powietrza (m/s)	0,2 ±0,00	0,2 ±0,01	0,2 ±0,00	0,38 ±0,02
	Ochładzanie (mW/cm <sup>2</sup> )	29,20 ±0,12	30,19 ±0,65	29,04 ±0,56	9,77 ±1,42
	Temperatura odczuwalna (°C)	19,74 ±0,19	21,60 ±0,76	19,36 ±0,84	10,44±0,07
Ogółem	Temperatura powietrza (°C)	25,07 ±1,08	25,21 ±0,89	24,99 ±1,09	7,26 ±1,23
	Wilgotność względna powietrza (%)	51,72 ±3,62	51,68 ±3,14	51,57 ±3,56	80,17 ±4,32
	Ruch powietrza (m/s)	0,115 ±0,01	0,113 ±0,01	0,111 ±0,01	0,384 ±0,08
	Ochładzanie (mW/cm <sup>2</sup> )	16,32 ±2,20	16,38 ±1,99	16,16 ±2,11	47,69 ±6,66
	Temperatura odczuwalna (°C)	22,94 ±0,72	23,39 ±0,58	22,91 ±0,71	6,52 ±1,16

\*SEM (standard error of mean) – błąd standardowy średniej arytmetycznej

Odnosząc się do instrukcji chowu kurcząt Ross 308 firmy Aviagen [125], można stwierdzić, że parametry mikroklimatu panującego w pomieszczeniach dla kurcząt, w których testowano powłokę, były optymalne i nie różniły się pomiędzy pomieszczeniami, co pozwoliło na określenie wpływu czynnika testowego, czyli powłoki wzbogaconej olejkiem z rozmarynu lub olejkiem z oregano na dobrostan utrzymywanego drobiu.

### Właściwości fizyko-chemiczne ściółki

Temperatura ściółki w momencie wstawienia piskląt powinna wynosić 28-30°C. Kurnik musi być nagrany na min. dobę przed wstawieniem. Należy pamiętać, że temperatura przy samej ściółce, czyli ta właściwie odczuwana przez ptaki może być inna od temperatury powietrza, na co wpływa m.in. wilgotność ściółki i ciepłota ciała ptaków (szczególnie w skupiskach). Temperaturę ściółki można regulować przez źródła ciepła (gdy temperatura na

zewnątrz jest niska) lub zapewnienie przepływu powietrza czy zamgławianie wodą (gdy temperatura jest za wysoka). W miarę wzrostu kurcząt temperatura powinna być obniżana, bowiem za wysoka doprowadza do pogorszenia wykorzystania paszy i do zmniejszenia tempa wzrostu.

W dostępnej literaturze naukowej i wytycznych do odchowu nie znajdziemy informacji na temat optymalnych wartości pH ściółki. Wiadomo jednak, że większość bakterii najlepiej rozwija się przy obojętnym lub słabo zasadowym odczynie podłoża, a bakterie chorobotwórcze oraz grzyby potrzebują do optymalnego rozwoju bardziej zasadowego pH niż saprofity. W związku z powyższym obniżanie odczynu pH jest pośrednim czynnikiem higienizacji ściółki.

Wilgotność względna ściółki w kurnikach może kształtować się na poziomie od kilkunastu procent do nawet 70%, w zależności od wieku ptaków, warunków klimatycznych, systemu i wydajności wentylacji oraz głębokości i rodzaju materiału ściółkowego. Różnice pomiędzy uzyskanymi w badaniach wilgotności ściółki wartościami wynikają również z rodzaju zastosowanych metod pomiarowych, dlatego też szybkie metody z użyciem cyfrowych testerów (stykową i kontaktową) należy weryfikować metodą wagowo-suszarkową, dla potwierdzenia otrzymanych różnic. W związku z powyższym badania wilgotności względnej (%) zostały wykonane trzema różnymi metodami (1. stykową; 2. kontaktową; 3. wagowo-suszarkową). Specyfika chowu drobiu powoduje, że parametr ten ulega dużym wahaniom, może dojść do wylania wody z poidła, oddania kałomoczu bezpośrednio przed pomiarem, dlatego też mimo wykonywania badań w wielu punktach i z dużą precyzją należy mieć na uwadze, że zmienność tego parametru jest duża.

Wyniki pomiarów właściwości fizykochemicznych ściółki w trakcie chowu przedstawiono w tabeli 16.

Tabela 16. Właściwości fizyko-chemiczne ściółki (średnia  $\pm$  SEM\*, N=6 dla każdego tygodnia)

Tydzień cyklu	Parametr		6 tygodniowy cykl doświadczalny		
			Kontrola „K”	Cykl doświadczalny „O”	Cykl doświadczalny „R”
I	Odczyn (pH)		7,35 $\pm$ 0,08	7,27 $\pm$ 0,07	7,28 $\pm$ 0,09
	Temperatura (°C)		31,01 $\pm$ 0,03	29,90 $\pm$ 0,03	31,08 $\pm$ 0,03
	Wilgotność względna (%)	metoda wagowo-suszarkowa	6,52 $\pm$ 0,08	6,57 $\pm$ 0,11	6,62 $\pm$ 0,13

		metoda stykowa	<10	<10	<10
		metoda kontaktowa	<10	<10	<10
II	Odczyn (pH)		7,37 ± 0,08	7,12 ± 0,04	7,14 ± 0,06
	Temperatura (°C)		28,50 ± 1,50	28,00 ± 1,00	29,50 ± 0,50
	Wilgotność względna (%)	metoda wagowo-suszarkowa	8,97 ± 0,13	9,40 ± 0,29	8,86 ± 0,90
		metoda stykowa	15,55 <sup>a</sup> ± 3,27	14,65 ± 2,32	10,80 <sup>b</sup> ± 1,40
metoda kontaktowa		22,07 ± 4,82	17,65 ± 3,82	14,05 ± 3,02	
III	Odczyn (pH)		7,48 ± 0,73	7,29 ± 0,60	7,41 ± 0,57
	Temperatura (°C)		28,00 ± 0,00	28,00 ± 0,00	27,00 ± 0,02
	Wilgotność względna (%)	metoda wagowo-suszarkowa	11,37 ± 1,08	10,86 ± 0,88	11,99 ± 1,44
		metoda stykowa	18,65 ± 1,55	17,95 ± 2,32	16,315 ± 1,96
metoda kontaktowa		40,65 ± 1,66	29,45 ± 8,80	25,34 ± 6,29	
IV	Odczyn (pH)		6,99 ± 0,04	6,92 ± 0,12	6,69 ± 0,14
	Temperatura (°C)		27,50 ± 0,50	28,00 ± 0,02	27,00 ± 0,03
	Wilgotność względna (%)	metoda wagowo-suszarkowa	15,69 ± 1,65	13,44 ± 0,51	16,99 ± 2,50
		metoda stykowa	30,11 ± 1,75	39,71 ± 1,42	25,69 ± 2,44
metoda kontaktowa		42,81 ± 0,06	47,00 ± 0,50	34,94 ± 0,81	
V	Odczyn (pH)		7,52 ± 0,07	7,62 ± 0,40	7,76 ± 0,07
	Temperatura (°C)		27,00 ± 0,00	27,50 ± 0,50	26,00 ± 0,00



	Wilgotność względna (%)	metoda wagowo-suszarkowa	21,87 ±2,50	22,75 ±1,61	22,22 ± 1,40
		metoda stykowa	43,69 ±2,56	48,32 ±1,18	38,87 ±2,37
		metoda kontaktowa	56,62 ±6,12	63,37 ±6,12	53,00 ±4,25
VI	Odczyn (pH)		7,56 ±0,12	7,50 ±0,77	7,53 ±0,313
	Temperatura (°C)		25,75 ±1,25	27,00 ±00	26,00 ±00
	Wilgotność względna (%)	metoda wagowo-suszarkowa	21,18 ±1,95	20,94 ±1,10	23,03 ±4,10
		metoda stykowa	55,125 ±2,62	59,25 <sup>a</sup> ±0,50	45,37 <sup>b</sup> ±2,37
		metoda kontaktowa	61,87 ±1,12	65,75 ±4,75	54,75 ±3,50
Ogółem	Odczyn (pH)		7,38 ±0,37	7,29 ±0,43	7,27 ±0,39
	Temperatura (°C)		27,35 ±0,43	27,70 ±0,21	27,10 ±0,43
	Wilgotność względna (%)	metoda wagowo-suszarkowa	14,97 ±1,83	14,67 ±1,83	15,71 ±2,03
		metoda stykowa	31,96 ±5,31	35,50 <sup>a</sup> ±5,97	27,13 <sup>b</sup> ±4,53
		metoda kontaktowa	44,72 ±5,13	43,88 ±6,88	35,81 ±5,69

\*SEM (standard error of mean) – błąd standardowy średniej arytmetycznej

a-b – średnie wartości w wierszu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ; test Dunkana)

Wartość temperatury ściółki była optymalna dla kurcząt brojlerów i nie różniła się statystycznie między pomieszczeniami. Pomiedzy średnimi wartościami pH ściółki w 3 badanych pomieszczeniach nie stwierdzono statystycznych różnic, jednak we wszystkich tygodniach można było zauważyć tendencję występowania nieco wyższego pH w grupie kontrolnej. Wyjątek stanowił tydzień V, kiedy to w grupach doświadczalnych pH ściółki było nieznacznie wyższe (najwyższe w grupie R). We wszystkich seriach pomiarowych, niezależnie od zastosowanej metody i tygodnia cyklu można było zauważyć bardzo dużą zmienność w

kształtowaniu się wartości wilgotności ściółki. Różnice pomiędzy wynikami uzyskanymi z różnych metod pomiaru wynikały przede wszystkim z głębokości warstwy ściółki. W metodzie kontaktowej urządzenie imituje ucisk stopy, w związku z tym czujnik ma kontakt z głęboką warstwą, która jest najbardziej wilgotna. W metodzie stykowej monitorowana jest warstwa środkowa (tak by czujnik z każdej strony stykał się ze ściółką), natomiast w metodzie wagowo-suszarkowej pobierane są próbki warstwy powierzchniowej, z którą ptaki mają bezpośrednią styczność, więc jest najbardziej sucha. Po weryfikacji statystycznej stwierdzono, że przy metodzie stykowej w II tygodniu wilgotność środkowej warstwy ściółki była statystycznie istotnie niższa w cyklu doświadczalnym R. Również w VI (ostatnim tygodniu cyklu) w grupie R zarejestrowano najniższy wynik, statystycznie istotnie różniący się od pomieszczenia z powłoką O. Po obliczeniu średniej z całego cyklu tendencja ta się powtórzyła.

### Jakość powietrza

Poziom zapylenia w kurniku ze względu na stałą obecność źródeł (pasza, ściółka, pióra, odchody, ruch ptaków, wentylacja) jest zawsze wysoki i w dużym stopniu zależy od wilgotności powietrza i ściółki. Przy wyższej wilgotności zapylenie powietrza z reguły obniża się, jednak dotyczy to głównie całkowitego pyłu zawieszonego (total suspended particulates (TSP) o wielkości  $>10 \mu\text{m}$ . Najbardziej szkodliwe mniejsze frakcje to pyły inhalabilne (od  $\leq 10 \mu\text{m}$  do  $\geq 2,5 \mu\text{m}$ ), które mogą docierać do dróg oddechowych oraz frakcje najmniejsze respirabilne ( $\leq 2,5 \mu\text{m}$ ), które wnikają nawet do pęcherzyków płucnych i przedostają się do krwioobiegu, mogą być zawieszone w powietrzu znacznie dłużej, gdyż sedimentują znacznie wolniej.

Wyniki pomiarów jakości powietrza w trakcie chowu przedstawiono w tabeli 17 (poziom zapylenia), tabeli 18 (mikrobiologia powietrza) i tabeli 19 (stężenie amoniaku i dwutlenku węgla).

Tabela 17. Poziom zapylenia (średnia  $\pm$  SEM\*, N = 6 dla każdego tygodnia)

Tydzień cyklu	Fracje pyłów ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	6 tygodniowy cykl doświadczalny			Na zewnątrz
		Kontrola „K”	Cykl doświadczalny „O”	Cykl doświadczalny „R”	
I	PM1 ( $\leq 1 \mu\text{m}$ )	3,2 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11	2,66 <sup>b</sup> $\pm$ 0,12	2,66 <sup>b</sup> $\pm$ 0,08	7,30 $\pm$ 0,03
	PM2.5 ( $\leq 2,5 \mu\text{m}$ )	16,73 $\pm$ 1,78	14,23 $\pm$ 3,72	10,40 $\pm$ 0,85	14,70 $\pm$ 0,06
	PM4 ( $\leq 4 \mu\text{m}$ )	101,20 $\pm$ 23,27	64,63 $\pm$ 7,91	67,73 $\pm$ 10,80	20,60 $\pm$ 0,04

	PM10 ( $\leq 10\mu\text{m}$ )	920,83 $\pm 335,59$	515,83 $\pm 39,77$	573,26 $\pm 103,28$	23,60 $\pm 0,07$
	TSP ( $> 10\mu\text{m}$ )	1659,43 $\pm 678,89$	853,20 $\pm 60,93$	967,26 $\pm 165,97$	25,50 $\pm 1,09$
II	PM1 ( $\leq 1\mu\text{m}$ )	4,43 $\pm 1,15/0,47$	4,13 $\pm 0,82/0,33$	4,38 $\pm 1,11/0,45$	9,55 $\pm 1,35$
	PM2.5 ( $\leq 2,5\mu\text{m}$ )	29,25 $\pm 4,85$	36,71 $\pm 3,23$	35,71 $\pm 6,06$	15,00 $\pm 1,50$
	PM4 ( $\leq 4\mu\text{m}$ )	152,06 $\pm 15,59$	154,05 $\pm 8,22$	132,90 $\pm 13,11$	19,55 $\pm 2,55$
	PM10 ( $\leq 10\mu\text{m}$ )	1056,88 $\pm 92,26$	1042,48 $\pm 57,11$	825,60 $\pm 65,62$	25,50 $\pm 4,10$
	TSP ( $> 10\mu\text{m}$ )	1811,01 <sup>a</sup> $\pm 164,14$	1599,35 $\pm 137,43$	1249,60 <sup>b</sup> $\pm 129,74$	26,40 $\pm 3,80$
III	PM1 ( $\leq 1\mu\text{m}$ )	7,60 <sup>a</sup> $\pm 0,37$	7,43 $\pm 0,08$	6,70 <sup>b</sup> $\pm 0,05$	10,40 $\pm 0,01$
	PM2.5 ( $\leq 2,5\mu\text{m}$ )	42,13 $\pm 8,79$	35,10 $\pm 1,25$	31,43 $\pm 0,86$	14,50 $\pm 0,02$
	PM4 ( $\leq 4\mu\text{m}$ )	288,33 <sup>A</sup> $\pm 19,64$	252,56 <sup>A</sup> $\pm 5,81$	183,13 <sup>B</sup> $\pm 2,77$	18,90 $\pm 0,04$
	PM10 ( $\leq 10\mu\text{m}$ )	2047,86 <sup>Ab</sup> $\pm 5,30$	2105,40 <sup>Aa</sup> $\pm 18,52$	1352,46 <sup>B</sup> $\pm 12,49$	22,30 $\pm 0,11$
	TSP ( $> 10\mu\text{m}$ )	3752,13 <sup>A</sup> $\pm 162,42$	4015,53 <sup>A</sup> $\pm 87,81$	2642,63 <sup>B</sup> $\pm 63,05$	23,40 $\pm 1,08$
IV	PM1 ( $\leq 1\mu\text{m}$ )	11,42 $\pm 0,39$	12,2 <sup>A</sup> $\pm 0,29$	10,90 <sup>B</sup> $\pm 0,13$	19,20 $\pm 0,06$
	PM2.5 ( $\leq 2,5\mu\text{m}$ )	72,28 <sup>a</sup> $\pm 11,58$	84,56 <sup>A</sup> $\pm 7,23$	44,40 <sup>B</sup> $\pm 7,97$	26,20 $\pm 1,12$
	PM4 ( $\leq 4\mu\text{m}$ )	554,00 <sup>B</sup> $\pm 19,00$	686,64 <sup>A</sup> $\pm 21,99$	364,04 <sup>C</sup> $\pm 13,24$	38,00 $\pm 3,98$
	PM10 ( $\leq 10\mu\text{m}$ )	4963,68 <sup>B</sup> $\pm 163,42$	5781,92 <sup>A</sup> $\pm 60,00$	3181,10 <sup>C</sup> $\pm 77,13$	68,60 $\pm 4,78$
	TSP ( $> 10\mu\text{m}$ )	8585,20 <sup>B</sup> $\pm 342,95$	10285,78 <sup>A</sup> $\pm 126,99$	6002,44 <sup>C</sup> $\pm 139,25$	83,40 $\pm 3,14$
V	PM1 ( $\leq 1\mu\text{m}$ )	12,53 <sup>a</sup> $\pm 0,31$	12,20 $\pm 0,25$	11,33 <sup>b</sup> $\pm 0,20$	17,80 $\pm 0,36$
	PM2.5 ( $\leq 2,5\mu\text{m}$ )	96,76 $\pm 0,73$	82,70 $\pm 0,56$	102,70 $\pm 1,60$	23,70 $\pm 0,12$
	PM4 ( $\leq 4\mu\text{m}$ )	622,90 <sup>A</sup> $\pm 17,02$	428,36 <sup>B</sup> $\pm 11,63$	273,93 <sup>C</sup> $\pm 3,69$	30,90 $\pm 0,98$

	PM10 ( $\leq 10\mu\text{m}$ )	4638,93 <sup>A</sup> $\pm 336,40$	3213,23 <sup>B</sup> $\pm 95,03$	1350,00 <sup>C</sup> $\pm 29,59$	45,40 $\pm 1,87$
	TSP ( $> 10\mu\text{m}$ )	8075,20 <sup>A</sup> $\pm 302,16$	5312,93 <sup>B</sup> $\pm 262,86$	2140,93 <sup>C</sup> $\pm 59,16$	49,10 $\pm 1,09$
VI	PM1 ( $\leq 1\mu\text{m}$ )	8,47 $\pm 0,37$	8,60 $\pm 0,05$	8,73 $\pm 0,46$	6,90 $\pm 0,03$
	PM2.5 ( $\leq 2,5\mu\text{m}$ )	86,00 $\pm 4,52$	77,13 $\pm 3,67$	58,93 $\pm 18,19$	10,40 $\pm 0,09$
	PM4 ( $\leq 4\mu\text{m}$ )	384,10 $\pm 62,77$	405,00 $\pm 11,00$	252,53 $\pm 46,33$	15,40 $\pm 0,11$
	PM10 ( $\leq 10\mu\text{m}$ )	2684,03 <sup>a</sup> $\pm 243,68$	2781,16 <sup>a</sup> $\pm 31,66$	1580,46 <sup>b</sup> $\pm 333,54$	32,00 $\pm 0,24$
	TSP ( $> 10\mu\text{m}$ )	4461,36 <sup>a</sup> $\pm 453,03$	4542,50 <sup>a</sup> $\pm 153,46$	2739,36 <sup>b</sup> $\pm 609,50$	46,20 $\pm 0,65$
Ogółem	PM1 ( $\leq 1\mu\text{m}$ )	7,79 $\pm 0,74$	7,76 $\pm 0,79$	7,35 $\pm 0,69$	11,52 $\pm 1,89$
	PM2.5 ( $\leq 2,5\mu\text{m}$ )	54,96 $\pm 7,63$	55,24 $\pm 5,70$	45,50 $\pm 6,22$	17,07 $\pm 2,16$
	PM4 ( $\leq 4\mu\text{m}$ )	342,26 $\pm 42,43$	339,53 $\pm 46,80$	215,18 $\pm 22,52$	23,27 $\pm 3,10$
	PM10 ( $\leq 10\mu\text{m}$ )	2697,16 $\pm 362,17$	2652,67 $\pm 398,48$	1540,33 $\pm 366,16$	34,70 $\pm 6,45$
	TSP ( $> 10\mu\text{m}$ )	4679,84 $\pm 625,83$	4573,80 $\pm 719,34$	2738,27 $\pm 398,63$	40,05 $\pm 8,29$

\*SEM (standard error of mean) – błąd standardowy średniej arytmetycznej

A-B – średnie wartości w wierszu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,01$ ; test Duncana)

a-b – średnie wartości w wierszu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ; test Duncana)

Zauważono wyraźną tendencję występowania niższego stężenia wszystkich frakcji pyłowych w pomieszczeniu doświadczalnym z zastosowaniem powłoki R. W większości przypadków w pomieszczeniu z powłoką O wartość stężenia pyłów również była niższa niż w grupie kontrolnej. Przyczynę takiej reakcji upatruję w tym, że być może lepkość powłoki mogła spowodować lepsze przywieranie materiału ściółkowego i przez to miała wpływ na niższe zapylenie przy jej zastosowaniu.

Tabela 18. Badanie mikrobiologiczne powietrza (średnia ± SEM\*, N=12 dla każdego tygodnia)

Tydzień cyklu	Parametr (log <sub>10</sub> jtk/m <sup>3</sup> )	6 tygodniowy cykl doświadczalny			Na zewnątrz
		Kontrola „K”	Cykl doświadczalny „O”	Cykl doświadczalny „R”	
I	Ogólna liczba bakterii tlenowych	0,76 <sup>a</sup> ±0,01	0,79 <sup>a</sup> ±0,15	0,50 <sup>b</sup> ±0,10	0,00 ±0,00
	Ogólna liczba grzybów	0,77 <sup>a</sup> ±0,07	0,60 ±0,01	0,56 <sup>b</sup> ±0,14	2,47 ±0,01
	Ogólna liczba <i>Enterobacteriaceae</i>	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
	Ogólna liczba gronkowców M+	0,40 ±0,10	0,40 ±0,08	0,39 ±0,10	0,00 ±0,00
II	Ogólna liczba bakterii tlenowych	4,97 <sup>Aa</sup> ±0,01	4,32 <sup>b</sup> ±0,01	4,13 <sup>B</sup> ±0,01	0,77 ±0,06
	Ogólna liczba grzybów	2,66 <sup>a</sup> ±0,20	1,97 <sup>b</sup> ±0,19	2,00 <sup>b</sup> ±0,17	2,17 ±0,218
	Ogólna liczba <i>Enterobacteriaceae</i>	2,15 <sup>a</sup> ±0,11	1,88 ±0,09	1,79 <sup>b</sup> ±0,05	0,00 ±0,00
	Ogólna liczba gronkowców M+	4,39 <sup>a</sup> ±0,09	4,21 ±0,07	4,01 <sup>b</sup> ±0,01	1,30 ±0,01
III	Ogólna liczba bakterii tlenowych	6,16 <sup>A</sup> ±0,01	5,57 <sup>Ba</sup> ±0,01	5,41 <sup>Bb</sup> ±0,01	0,92 ±0,02
	Ogólna liczba grzybów	4,42 <sup>a</sup> ±0,06	4,19 <sup>b</sup> ±0,01	4,17 <sup>b</sup> ±0,03	4,30 ±0,32
	Ogólna liczba <i>Enterobacteriaceae</i>	2,98 <sup>A</sup> ±0,02	2,16 <sup>B</sup> ±0,2	2,12 <sup>B</sup> ±0,02	0,00 ±0,00
	Ogólna liczba gronkowców M+	5,25 <sup>A</sup> ±0,02	4,96 <sup>Ba</sup> ±0,05	4,81 <sup>Bb</sup> ±0,01	1,69 ±0,01
IV	Ogólna liczba bakterii tlenowych	6,64 <sup>A</sup> ±0,01	6,29 <sup>B</sup> ±0,02	6,32 <sup>B</sup> ±0,01	2,30 ±0,12
	Ogólna liczba grzybów	3,97 ±0,027	4,15 ±0,087	4,12 ±0,115	2,47 ±0,05

	Ogólna liczba <i>Enterobacteriaceae</i>	2,29 <sup>A</sup> ±0,06	2,06 ±0,04	1,63 <sup>B</sup> ±0,03	0,50 ±0,01
	Ogólna liczba gronkowców M+	5,62 <sup>Aa</sup> ±0,020	4,75 <sup>B</sup> ±0,038	5,15 <sup>b</sup> ±0,004	2,60 ±0,27
V	Ogólna liczba bakterii tlenowych	6,70 <sup>A</sup> ±0,01	6,49 ±0,01	6,28 <sup>B</sup> ±0,05	2,44 ±0,18
	Ogólna liczba grzybów	4,50 ±0,02	4,24 ±0,01	4,30 ±0,01	2,17 ±0,02
	Ogólna liczba <i>Enterobacteriaceae</i>	3,24 <sup>Aa</sup> ±0,08	2,03 <sup>b</sup> ±0,13	1,84 <sup>B</sup> ±0,04	0,00 ±0,00
	Ogólna liczba gronkowców M+	5,73 <sup>Aa</sup> ±0,01	5,09 <sup>b</sup> ±0,01	4,91 <sup>B</sup> ±0,03	3,30 ±0,25
VI	Ogólna liczba bakterii tlenowych	6,15 <sup>a</sup> ±0,01	5,79 <sup>b</sup> ±0,01	5,69 <sup>b</sup> ±0,03	3,44 ±0,37
	Ogólna liczba grzybów	4,36 <sup>a</sup> ±0,01	4,28 ±0,01	4,18 <sup>b</sup> ±0,01	3,30 ±0,00
	Ogólna liczba <i>Enterobacteriaceae</i>	1,20 <sup>A</sup> ±0,10	0,58 <sup>Ba</sup> ±0,00	0,33 <sup>Bb</sup> ±0,00	0,00 ±0,00
	Ogólna liczba gronkowców M+	5,71 <sup>Aa</sup> ±0,057	5,08 <sup>b</sup> ±0,125	4,66 <sup>B</sup> ±0,075	2,87 ±0,12
Ogółem	Ogólna liczba bakterii tlenowych	5,23 <sup>Aa</sup> ±0,52	4,87 <sup>b</sup> ±0,31	4,72 <sup>B</sup> ±0,32	2,16 ±0,69
	Ogólna liczba grzybów	3,44 <sup>a</sup> ±0,34	3,14 <sup>b</sup> ±0,18	3,22 <sup>b</sup> ±0,19	2,81 ±0,34
	Ogólna liczba <i>Enterobacteriaceae</i>	1,94 ±0,26	1,41 ±0,22	1,22 ±0,23	0,166±0,32
	Ogólna liczba gronkowców M+	4,51 <sup>A</sup> ±0,39	4,08 <sup>B</sup> ±0,34	3,98 <sup>B</sup> ±0,33	2,29 ±0,56

\*SEM (standard error of mean) – błąd standardowy średniej arytmetycznej

A-B – średnie wartości w wierszu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,01$ ; test Duncana)

a-b – średnie wartości w wierszu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ; test Duncana)

Podobnie jak w przypadku zapylenia, korzystne tendencje stwierdzono w badaniach mikrobiologicznych powietrza w pomieszczeniach z zastosowaną powłoką. We wszystkich

tygodniach cyklu ogólna liczba bakterii tlenowych, grzybów bakterii *Enterobacteriaceae* oraz gronkowców mannitolo dodatnich (M<sup>+</sup>) była najwyższa w pomieszczeniu kontrolnym, a przy zastosowaniu powłok zawierających olejki eteryczne o lotnym charakterze można było zaobserwować redukcję mikroorganizmów w powietrzu. Najkorzystniejsze wyniki zaobserwowano w grupie doświadczalnej R.

Tabela 19. Stężenie amoniaku i dwutlenku węgla w powietrzu (średnia ± SEM\*, N=12)

Tydzień cyklu	Fracje gazu (ppm)	6 tygodniowy cykl doświadczalny			Na zewnątrz
		Kontrola „K”	Cykl doświadczalny „O”	Cykl doświadczalny „R”	
I	Dwutlenek węgla (CO <sub>2</sub> )	900,35 ±25,12	889,92 ±27,63	905,99 ±47,63	423,23 ±7,63
	Amoniak (NH <sub>3</sub> )	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
II	Dwutlenek węgla (CO <sub>2</sub> )	1271,08 ±91,21	1265,28 ±129,86	1264,43 ±84,80	411,04 ±7,60
	Amoniak (NH <sub>3</sub> )	0,39 <sup>a</sup> ±0,06	0,25 <sup>b</sup> ±0,05	0,21 <sup>b</sup> ±0,01	0,00 ±0,00
III	Dwutlenek węgla (CO <sub>2</sub> )	1936,00 ±165,43	1974,12 ±139,86	1940,65 ±151,22	454,50 ±31,08
	Amoniak (NH <sub>3</sub> )	2,19 <sup>A</sup> ±0,04	2,14 <sup>A</sup> ±0,05	0,23 <sup>B</sup> ±0,02	0,00 ±0,00
IV	Dwutlenek węgla (CO <sub>2</sub> )	1718,50 ±115,43	1784,10 ±144,00	1724,96 ±156,32	407,00 ±13,65
	Amoniak (NH <sub>3</sub> )	3,85 <sup>Aa</sup> ±0,89	3,47 <sup>a</sup> ±0,75	3,15 <sup>Bb</sup> ±0,85	0,00 ±0,00
V	Dwutlenek węgla (CO <sub>2</sub> )	1910,23 ±120,11	1904,13 ±136,53	1979,79 ±122,50	320,68 ±5,67
	Amoniak (NH <sub>3</sub> )	4,02 <sup>A</sup> ±0,11	3,97 <sup>A</sup> ±0,57	3,34 <sup>B</sup> ±0,36	0,00 ±0,00
VI	Dwutlenek węgla (CO <sub>2</sub> )	1489,87 ±91,22	1498,72 ±142,55	1515,11 ±149,12	421 ±75,90
	Amoniak (NH <sub>3</sub> )	2,89 <sup>A</sup> ±0,56	2,44 <sup>a</sup> ±0,48	2,02 <sup>Bb</sup> ±0,21	0,00 ±0,00

Ogółem	Dwutlenek węgla (CO <sub>2</sub> )	1537 ±131,02	1545,83 ±153,42	1521,56 ±165,98	374,70 ±19,78
	Amoniak (NH <sub>3</sub> )	2,22 <sup>A</sup> ±0,02	2,05 <sup>a</sup> ±0,02	1,49 <sup>Bb</sup> ±0,02	0,00 ±0,00

\*SEM (standard error of mean) – błąd standardowy średniej arytmetycznej

A-B – średnie wartości w wierszu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,01$ ; test Duncana)

a-b – średnie wartości w wierszu oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ; test Duncana)

Oprócz amoniaku i dwutlenku węgla oznaczono jakościowo inne związki nieorganiczne: podtlenek azotu (N<sub>2</sub>O), tlenek azotu (NO) i fosforowodor (PH<sub>3</sub>) obecne we wszystkich trzech pomieszczeniach oraz związki organiczne: metan (CH<sub>4</sub>), metanol (CH<sub>3</sub>OH), aceton (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O), metyloamina (CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>), acetaldehyd (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O), etylen (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>), toluen (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), akroleina (C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O), mercaptan metylowy (CH<sub>4</sub>S) wspólne dla 3 pomieszczeń i wybiórczo występujące heksan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) – kontrola i rozmaryn, 1-propanol (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O) – oregano i rozmaryn, etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) – rozmaryn.

Nie stwierdzono wpływu zastosowania powłoki na stężenie CO<sub>2</sub>, natomiast brak różnic między pomieszczeniami w kształtowaniu się tego parametru świadczy o jednakowej wielkości wentylacyjnej, gdyż poziom tego gazu w pomieszczeniach wskazuje na intensywność wymiany powietrza. Zaobserwowano natomiast redukcję amoniaku w pomieszczeniach z zastosowaniem powłok, największą w grupie R, co zostało potwierdzone statystycznie w każdym tygodniu cyklu, począwszy od II, kiedy to pojawiła się już śladowa ilość tego gazu. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu innych lotnych domieszek gazowych.

### Liczba oocyst kokcydiów

Badania w kierunku kokcydiozy wykonywano 2 razy w każdym tygodniu. Nie stwierdzono oocyst kokcydiów w żadnym z badań, stąd ten czynnik porównawczy nie może być oceniany. Przy okazji pobierania próbek kału i ściółki na potrzeby badań parazytologicznych, wykonane zostały również oznaczenia jakościowe mikroflory występującej w tych materiałach. Oznaczone gatunki przedstawiono w tabeli 20.



Tabela 20. Badanie mikrobiologiczne i parazytologiczne kału i ściółki – ocena jakościowa

Tydzień cyklu	Kontrola „K”	Cykl doświadczalny „O”	Cykl doświadczalny „R”
I	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Candida spp.</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Candida spp.</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Candida spp.</i>
II	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Trichoderma spp.</i> <i>Candida spp.</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Trichoderma spp.</i> <i>Scopulariopsis spp.</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Candida spp.</i> <i>Trichoderma spp.</i>
IV	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Trichoderma spp.</i> <i>Mucor spp.</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Candida spp.</i> <i>Scopulariopsis spp.</i> <i>Trichoderma spp.</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Trichoderma spp.</i> <i>Candida spp.</i> <i>Scopulariopsis spp.</i>
V	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus xylosum</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus xylosum</i>
VI	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus xylosum</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Escherichia fergusonii</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i>

	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Penicillium spp.</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Scopulariopsis spp.</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Scopulariopsis spp.</i> <i>Candida spp.</i>
--	---	---	--

Mikrobiologiczna identyfikacja jakościowa w próbkach kału i ściółki w kolejnych tygodniach chowu nie wykazała znaczących różnic pomiędzy pomieszczeniami. Rodzaje i gatunki bakterii i grzybów były typowe dla odchowu drobiu.

### **Food Pad Dermatitis**

Bieżąca ocena stanu zdrowia nie wykazała występowania kontaktowego zapalenia skóry poduszki stopy (FPD) – ważnego wskaźnika dobrostanu kurcząt brojlerów. Ten wskaźnik nie może być brany pod uwagę jako czynnik porównawczy między pomieszczeniami hodowlanymi.

### **Zachorowalność**

Przez cały okres doświadczenia prowadzono kontrolę upadków i ogólnego stanu zdrowia ptaków. Jak wykazała analiza wyników produkcyjnych (omówienie poniżej) przyrosty ptaków we wszystkich grupach były wysokie, w związku z czym zdarzały się (we wszystkich grupach jednakowo) problemy ze zwyrodnieniami kończyn (takie ptaki były na bieżąco brakowane – usuwane ze stada zgodnie ze sztuką) lub pod koniec odchowu wystąpiły pojedyncze upadki z powodu nagłej śmierci sercowej, której przyczyną jest szybki wzrost i niedorozwój narządów układu krążenia i oddychania. Liczba występowania takich przypadków była taka sama we wszystkich trzech pomieszczeniach doświadczalnych, dlatego ponownie ten wskaźnik nie może posłużyć do oceny porównawczej.

### **Śmiertelność**

Ogółem śmiertelność w każdej grupie wynosiła ok. 3%, a po brakowaniu ptaków z chorobami kończyn lub skrzywionym dziobem 4,5%. Pod tym względem nie było różnic między pomieszczeniami.

## Wyniki odchowu

Ocenę wyników produkcyjnych przeprowadzono w oparciu o zebrane dane liczbowe dotyczące spożycia paszy w poszczególnych grupach, rejestrowanej co tydzień masy ciała. Dzielne zużycie wody w każdej grupie było jednakowe i wynosiło od 20 ml/szt. w 1 dniu odchowu do 300 ml/szt. w 42 dniu (1 dzień = 20 ml/szt.; 8 dzień = 60 ml/szt.; 15 dzień = 120 ml/szt.; 22 dzień = 170 ml/szt.; 29 dzień = 210 ml/szt.; 36 dzień = 260 ml/szt.; 42 dzień = 300 ml/szt.).

Zebrane dane liczbowe przedstawiono w postaci wartości średnich (średnia arytmetyczna  $\pm$  SEM). Dane liczbowe analizowano w układzie jednoczynnikowej analizy wariancji. Różnice między średnimi z grup określono z wykorzystaniem testu Duncana. Istotność różnic przyjęto na poziomie  $\alpha=0,05$ . Do obliczeń wykorzystano program STATISTICA.

W 2019 roku firma Aviagen opublikowała dane do oceny wskaźników produkcyjnych dla każdego dnia chowu, z podziałem na kogutki i kury. W tabeli 21 przedstawiono wycinek z danych, dotyczący 7, 14, 21, 28, 35 i 42-ego dnia chowu, w celu porównania z pomiarami wykonywanymi w tych dniach w doświadczeniu[126].

Tab. 20. Rekomendowane wartości masy ciała [g] i FCR dla kogutków Ross 308 wg instrukcji firmy Aviagen

Dzień chowu	Masa ciała	FCR
7	207	0,799
14	572	1,053
21	1018	1,2
28	1651	1,332
35	2376	1,463
42	3136	1,596

Wyniki średniej masy ciała ptaków w kolejnych tygodniach, z każdego pomieszczenia oznaczonego jako „K” = kontrola, „O” = oregano i „R” – rozmaryn, zostały przedstawione na wykresie 33 (dane do wykresu w tabeli 21).



Rys.

33. Masa ciała

ptaków w poszczególnych grupach wiekowych (kg, średnia arytmetyczna)

Tab. 21. Średnia masa ciała ptaków [kg]

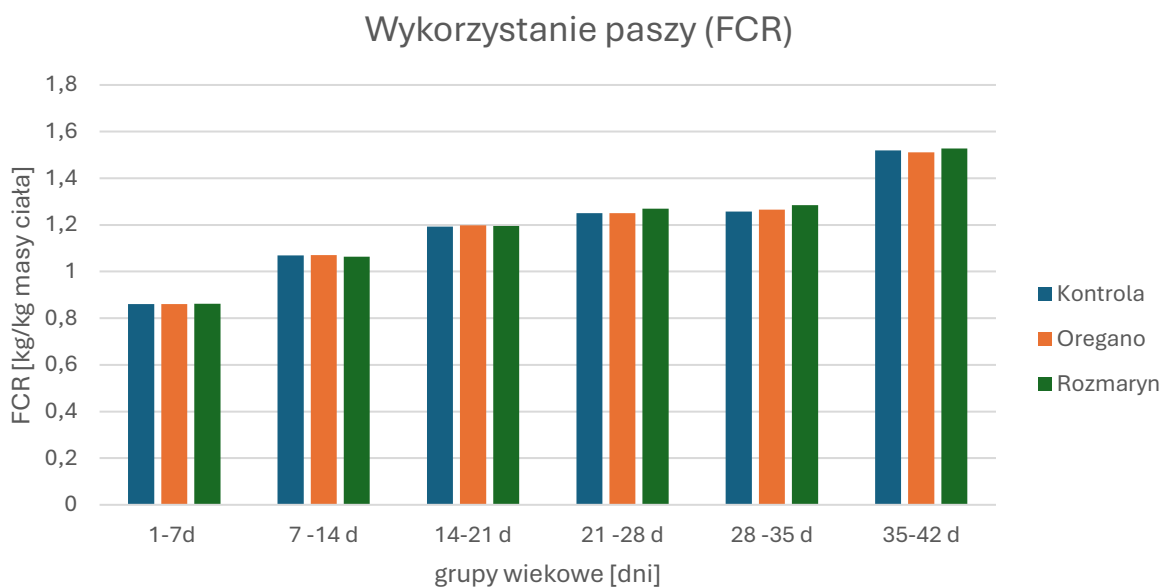
	1-dzień	7 dni	14 dni	21 dni	28 dni	35 dni
<b>kontrola</b>	0,044	0,202	0,599	1,239	2,004	2,960
SD	0,003	0,024	0,028	0,093	0,047	0,279
<b>oregano</b>	0,048	0,197	0,584	1,208	2,018	2,935
SD	0,002	0,022	0,018	0,105	0,035	0,202
<b>rozmaryn</b>	0,045	0,215	0,595	1,269	2,015	2,910
SD	0,002	0,023	0,031	0,088	0,037	0,222

Analiza wyników wzrostu, w oparciu o rejestrowaną co tydzień masę ciała ptaków wskazuje, że przebieg wzrostu ptaków odbywał się zgodnie z zaleceniami i instrukcją chowu kurcząt Ross 308 firmy Aviagen [125].

Jednym z parametrów produkcji drobiu, który jest monitorowany przez każdego hodowcę ze względu na bezpośrednie przełożenia na opłacalność produkcji, jest współczynnik FCR. Skrót od angielskiego oznaczenia „Feed Conversion Ratio” oznacza konwersję paszy, czyli ilość zużytej paszy na przyrost kilograma masy ciała zwierzęcia. Im niższa wartość FCR tym większa opłacalność produkcji (niższy koszt zakupu paszy, a większy zysk ze sprzedaży masy). Wyliczenie FCR następuje wg wzoru:

$$\text{FCR} = \text{pobrana pasza (kg)} / \text{przyrost masy ciała (kg)}$$

Na wykresach 34 i 35 przedstawiono dane współczynnika FCR w poszczególnych tygodniach chowu we wszystkich trzech pomieszczeniach doświadczalnych oraz porównanie wartości FCR przez cały okres chowu. Dane do wykresu 34 w tabeli 22.

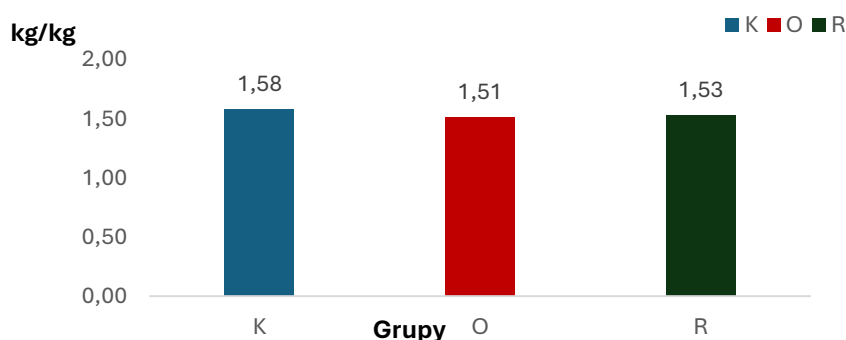


Rys. 34. Wykorzystanie paszy (FCR), w poszczególnych okresach odchowu (kg/kg masy ciała, średnia arytmetyczna)

Tab. 22. Wykorzystanie paszy (FCR)

	1-7d	7-14 d	14-21 d	21-28 d	28-35 d	35-42 d	SEM
<b>kontrola</b>	0,861	1,069	1,193	1,250	1,257	1,520	0,089
<b>oregano</b>	0,861	1,070	1,198	1,251	1,266	1,511	0,089
<b>rozmaryn</b>	0,862	1,064	1,196	1,269	1,285	1,527	0,092

W okresie 1-7 dni życia ptaków, FCR we wszystkich grupach było nieznacznie większe w stosunku do rekomendacji Aviagen (rekomendacja 0,799 w siódmym dniu życia ptaków), w okresach 7-14 dni oraz 14-21 dni było podobne, natomiast w pozostałych okresach nieco mniejsze.



Rys. 35. Wykorzystanie paszy (FCR) przez cały okres doświadczenia (1-42 dni, kg/kg, średnia arytmetyczna)

Uzyskane wyniki FCR za cały okres odchowu (1-42 dni), we wszystkich grupach było podobne i zbliżone do rekomendowanych przez Aviagen. Różnice między grupami wskazały na minimalnie wyższą opłacalność w obu testowanych pomieszczeniach z powłoką w stosunku do pomieszczenia kontrolnego.

### Wartość rzeźna

Ocenę wartości rzeźnej przeprowadzono na podstawie danych liczbowych uzyskanych po przeprowadzeniu dysekcji szczegółowej losowo wybranych osobników (10 ptaków losowo wybranych z każdej grupy). Ptaki po uboju poddano obróbce poubojowej. Podczas obróbki, rejestrowano masę podrobów (serce, żołądek mięśniowy, wątroba), a następnie tuszki chłodzono w temperaturze 4°C przez około 18 h. Następnie wychłodzone tuszki poddano dysekcji.

Zebrane dane liczbowe przedstawiono w postaci wartości średnich (średnia arytmetyczna  $\pm$  SEM). Dane liczbowe analizowano w układzie jednoczynnikowej analizy wariancji. Różnice między średnimi z grup określono z wykorzystaniem testu Duncana. Istotność różnic przyjęto na poziomie  $\alpha$  0,05. Do obliczeń wykorzystano program STATISTICA.

Wyniki przedstawiono w postaci pomiarów masy tuszki i poszczególnych jej elementów (Tabela 23) oraz ich procentowego udziału w masie ciała (Tabela 24).

Tab. 23. Masa ciała, tuszki, wybranych mięśni oraz podrobów kurcząt [g]

Cecha	Pomieszczenie			SEM	P-value
	„K”	„O”	„R”		
Masa (g)					
- ciała (g)	2500,00 <sup>a</sup>	2688,89 <sup>b</sup>	2590,00 <sup>ab</sup>	28,25	0,021
- tuszki (schłodzonej)	1793,99 <sup>a</sup>	1952,72 <sup>b</sup>	1901,09 <sup>b</sup>	23,29	0,014
- mięsa	1042,84	1126,756	1081,86	14,87	0,072
- mięśni piersiowych	635,22	702,33	672,96	12,27	0,085
- mięśni nóg	407,62	424,42	408,90	5,58	0,416
- masa pozostałej części tuszki	631,26 <sup>a</sup>	696,79 <sup>b</sup>	694,65 <sup>b</sup>	9,81	0,005
- serce	12,21	12,16	12,28	0,37	0,991
- wątroba	39,16 <sup>ab</sup>	43,10 <sup>a</sup>	36,62 <sup>b</sup>	0,94	0,011
- żołądek	27,54	27,84	25,16	0,62	0,145
- podroby razem	78,91 <sup>ab</sup>	83,10 <sup>a</sup>	74,06 <sup>b</sup>	1,36	0,017

<sup>a-b</sup> średnie oznaczone różnymi literami różnią się od siebie na poziomie  $\alpha$  0,05

SEM – błąd standardowy średniej arytmetycznej

P-value – wartość prawdopodobieństwa statystyki testowej

W pomieszczeniu z powłoką z olejkiem z oregano masa ciała ptaków była największa, przy czym zbliżona do wartości cechy w pomieszczeniu z powłoką z olejkiem z rozmarynu. Wartość cechy w pomieszczeniu kontrolnym i z powłoką z olejkiem z rozmarynu nie różniła się statycznie. Z kolei masa tuszki, zarówno w pomieszczeniu „O” jak i „R” była większa w porównaniu do pomieszczenia „K”. Nie stwierdzono różnic między pomieszczeniami w odniesieniu do masy mięśni piersiowych oraz masy mięsa razem (mięśnie piersiowe i mięśnie nóg). Największą masą wątroby jak i podrobów łącznie cechowały się ptaki z pomieszczenia „O”, przy czym nie różniła się ona statystycznie od wartości tych cech w pomieszczeniu „K”.

Tab. 24. Udział procentowy w masie ciała wybranych mięśni oraz podrobów kurcząt [%]

Cecha	Pomieszczenie			SEM	P-value
	„K”	„O”	„R”		
<b>Udział w masie ciała (%)</b>					
- tuszki (wydajność rzeźna)	75,70	76,12	76,66	0,28	0,390
- mięsa	41,66	41,91	41,77	0,28	0,944
- mięśni piersiowych	25,35	26,14	25,97	0,32	0,596
- mięśni nóg	16,32	15,77	15,80	0,91	0,370
- masa pozostałej części tuszki	25,26 <sup>a</sup>	25,89 <sup>ab</sup>	26,83 <sup>b</sup>	0,23	0,011
- serce	0,49	0,45	0,48	0,01	0,584
- wątroba	1,57 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,42 <sup>b</sup>	0,03	0,028
- żołądek	1,11	1,04	0,97	0,03	0,072
- podroby razem	3,16 <sup>a</sup>	3,09 <sup>a</sup>	2,86 <sup>b</sup>	0,05	0,012

<sup>a-b</sup> średnie oznaczone różnymi literami różnią się od siebie na poziomie  $\alpha$  0,05

SEM – błąd standardowy średniej arytmetycznej

P-value – wartość prawdopodobieństwa statystyki testowej

Wydajność rzeźna ptaków we wszystkich pomieszczeniach była podobna (nie różniła się statystycznie). Również w przypadku udziału w masie ciała mięsa (mięśnie piersiowe + mięso z nóg), mięśni piersiowych oraz mięśni nóg nie stwierdzono różnic. Udział w masie pozostałości tuszki, wątroby oraz podrobów razem był najmniejszy u ptaków z pomieszczenia z powłoką z olejkiem z rozmarynu.

Podsumowując wyniki chowu kur w komorach doświadczalnych, praktycznie we wszystkich ocenianych parametrach uzyskano wyniki korzystniejsze dla pomieszczeń z powłoką w porównaniu do pomieszczenia bez powłoki. Spośród pomieszczeń z powłokami, więcej wskazań na korzystniejszy wynik odnotowano dla powłoki wzbogaconej o olejek z rozmarynu, dlatego taka powłoka została dalej przekazana do testów na kurnikach wielkopowierzchniowych.

## Oznaczanie substancji czynnych w ściółce

W celu sprawdzenia czy substancje czynne z dodatków wzbogacających recepturę powłoki, czyli z olejków eterycznych przechodzą do ściółki, skąd mogą oddziaływać na kury, podjęto próby oznaczenia zawartość substancji aktywnych w ściółce. Na zakończenie chowu ze ściółki z powłoką, zarówno z pomieszczenia „O” i „R” zostały pobrane próbki (po 50 g ściółki) z 5 miejsc w każdym pomieszczeniu, a następnie po ich wymieszaniu została utworzona próba zbiorcza (250 g) dla każdego pomieszczenia. Założenie było takie, że próby zbiorcze zostaną przekazane do oznaczeń chromatograficznych, analogicznych jak dla samych olejków, czyli chromatografii gazowej (GC-FID).

Eksperyment rozpoczęto od próbek z pomieszczenia „oregano”. Test odbywał się przed uzyskaniem wyników chowu, stąd nie było jeszcze decyzji o wyborze powłoki z olejkiem z rozmarynu jako docelowej. W eksperymencie przygotowano cztery rodzaje próbek wg następujących wytycznych:

- próbka fabrycznie nowej ściółki oznaczona jako blank (B), będąca próbą podłoża bez dodatku substancji wzorcowych (olejków) oraz nie mająca kontaktu z drobiem i z powłoką,
- próbka fabrycznie nowej ściółki z dodatkiem odpowiedniej ilości olejku z oregano oznaczona jako B\_spike,
- próbka ściółki po hodowli drobiu mająca kontakt z powłoką, w skład której wchodził olejek z oregano (ŚO),
- próbka ściółki po hodowli drobiu, z dodatkiem odpowiedniej ilości olejku z oregano, mająca kontakt z powłoką, w skład której wchodził olejek z oregano (ŚO\_Spike).

Do fiolek z ciemnego szkła wsypano ok. 2g każdej z prób. Następnie, tam gdzie to konieczne dodano odpowiednią objętość olejku z oregano jako wzorcowej mieszaniny terpenoidów. Próbki termostatowane były w temp. 100°C przez 30 minut. Po upływie tego czasu, zgromadzony nad powierzchnią próbki gaz analizowany był chromatograficznie. Wszystkie próby badane były z wykorzystaniem chromatografu gazowego z detekcją płomieniowo-jonizującą (GC-FID) wyposażonego w przystawkę umożliwiającą analizę składu gazowej fazy nadpowierzchniowej tzw. headspace. Próbki ściółki analizowane były pod kątem obecności wybranych terpenoidów:  $\alpha$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol,  $\gamma$ -terpinen, linalol,  $\alpha$ -terpineol, karwakrol i kariofilen.

Sygnały pochodzące od związków terpenowych w analizowanych próbach były na poziomie szumu, co uniemożliwiło oznaczenie ich ilościowo. Sygnały możliwe do oznaczenia



były tylko dla  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen oraz p-cymen. Częściowe wnioski można wyciągać na podstawie wysokości pików sygnałów przedstawionych w tabeli 25.

Tab. 25. Wysokość pików w chromatografii GC-FID próbek ściółki [ $\mu$ V]

Substancja	B	B_spike	ŚO	ŚO_spike
$\beta$ -pinen	10,7	72,5	9,9	54,3
$\alpha$ -terpinen	4,9	56,6	13,7	57,5
p-cymen	16,1	285,7	0,6	256,7

Sygnały dla badanych związków były wyższe w próbkach ściółki oznaczonej jako ŚO\_spike oraz B\_spike, a bardzo niskie w próbkach ściółki oznaczonej jako B oraz ŚO. Pewna wysokość sygnału w próbkach ściółki, która nie miała kontaktu z olejkami może wynikać z faktu, że ściółka jest również materiałem roślinnym (pelet ze słomy) i być może w tym materiale są obecne śladowe ilości substancji, które dają sygnał. Gdyby potraktować sygnał dla samej ściółki jako tło, to wynik ściółki po chowie w obecności kur (ŚO) miałby jeszcze niższe wyniki, nawet niższe niż czystej ściółki, co może świadczyć, że w czasie chowu uwalniały się substancje z olejku oraz ze ściółki. Na podstawie powyższego eksperymentu pojawiło się założenie, że substancje czynne są nieobecne w ściółce ze względu na swoją lotność i uwolniły się już w trakcie trwania chowu. Dlatego zaprojektowano kolejny eksperyment, który miał na celu wykonanie oznaczenia obecności terpenoidów w próbkach ściółki w czasie T0 – niezwłocznie po dodaniu olejku eterycznego do ściółki oraz T6 – po upływie 6 tygodni (czas trwania chowu). W tym celu przygotowano próbki:

- próbka fabrycznie nowej ściółki oznaczona jako blank (B), będąca próbką podłoża bez dodatku substancji wzorcowych (olejków) oraz nie mająca kontaktu z drobiem i z powłoką,
- próbka ściółki z dodatkiem odpowiedniej ilości olejku eterycznego oznaczona jako T0,
- próbka ściółki z dodatkiem odpowiedniej ilości olejku eterycznego po upływie 6 tygodni przechowywania w pomieszczeniu o powierzchni 30 m<sup>2</sup>, w stałej temperaturze i wilgotności oznaczona jako T6.

Materiał do badań został przeanalizowany z wykorzystaniem chromatografu gazowego z detekcją płomieniowo-jonizującą (FID) wyposażonego w przystawkę umożliwiającą analizę składu gazowej fazy nadpowierzchniowej tzw. headspace. Ściółka w formie brykietu została zmielona do wielkości ziaren ok. 0,5 mm. Odważkę 100 g świeżo zmielonej ściółki

umieszczono w szklanym pojemniku, o lekko podwyższonych ściankach w taki sposób aby warstwa materiału wynosiła nie mniej niż 5 cm i nie więcej niż 10 cm. Do próby dodano równomiernie 0,5 mg olejku z oregano w postaci 5  $\mu$ l-wych kropli roztworu roboczego w DMSO o znanym stężeniu 1 mg/ml. Była to ilość wynikająca z przeliczeń zawartości olejku w powłoce i wydajności nakładania powłoki na powierzchnię oraz ilości ściółki rozłożonej na tej powierzchni (ok. 15 kg/m<sup>2</sup>). Tak przygotowaną próbkę umieszczono na płaskiej powierzchni, w pomieszczeniu o powierzchni 30 m<sup>2</sup>, w stałej temperaturze (23°C) i wilgotności nieprzekraczającej 50%.

Do fiolek z ciemnego szkła wsypano ok. 2 g każdej z prób. Próbki termostatowane były w temp. 100°C przez 30 minut. Po upływie tego czasu zgromadzony nad powierzchnią próbki gaz analizowany był chromatograficznie. Wszystkie próby badane były z wykorzystaniem chromatografu gazowego z detekcją płomieniowo-jonizującą (FID) wyposażonego w przystawkę umożliwiającą analizę składu gazowej fazy nadpowierzchniowej tzw. headspace. Próbki ściółki analizowane były pod kątem obecności wybranych terpenoidów:  $\alpha$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -myrcen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol,  $\gamma$ -terpinen, linalol,  $\alpha$ -terpineol, karwakrol i kariofilen.

Sygnały pochodzące od związków terpenowych w analizowanych próbach zarejestrowane zostały ponownie na poziomie szumu aparaturowego, co uniemożliwia oznaczenie ich ilościowo. Tym razem oznaczono sygnały dla 7 substancji:  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen,  $\beta$ -myrcen, p-cymen, i kariofilen. Częściowe wnioski można wyciągać na podstawie wysokości pików sygnałów przedstawionych w tabeli 26.

Tab. 26. Wysokość pików w chromatografii GC-FID próbek ściółki (analiza w czasie T0 i T6) [ $\mu$ V]

<b>Substancja</b>	<b>B</b>	<b>T0</b>	<b>T6</b>
<b><math>\alpha</math>-pinen</b>	14,2	1205,3	10,4
<b><math>\beta</math>-pinen</b>	19,0	13,2	3,1
<b><math>\beta</math>-myrcen</b>	33,5	627,5	13,9
<b><math>\alpha</math>-terpinen</b>	10,6	117,4	9,5
<b>p-cymen</b>	14,8	168,5	0,4
<b>sabinen</b>	13,4	118,5	brak sygnału
<b>kariofilen</b>	42,4	26,0	9,8

Podobnie jak w poprzednim eksperymencie, wymienione powyżej związki dawały sygnał w próbkach ściółki oznaczonej jako B, czyli samej ściółce. Siła sygnałów była różna w tym i w poprzednim eksperymencie, co wskazuje na duże zróżnicowanie parametrów w samej ściółce. By móc rzetelnie ocenić stężenia substancji aktywnych, tym bardziej obecnych na niskim poziomie konieczne by były badania nad ściółką, co nie jest celem projektu. Sygnały dla próbki ściółki analizowanej po czasie 6 tygodni (oznaczonej jako T6) są ponownie niższe nawet niż w samej ściółce, tym razem oceniane bez udziału obecności drobiu, co może potwierdzać założenie o desorpcji tych związków z powierzchni ściółki bezpośrednio do powietrza. Obecność w powietrzu może pozwolić na oddziaływanie drogą inhalacyjną i choć nie zostało to wykazane liczbowo, nie można wykluczyć takiej możliwości.

## **7.2. Ferma drobiu**

Ostateczny test powłoki wzbogaconej olejkami z rozmarynu i jej wpływu na dobrostan drobiu został przeprowadzony na przemysłowej fermie drobiu, podczas standardowego chowu produkcyjnego, w czasie którego jedyną zmienną było zastosowanie w jednym z budynków hodowlanych powłoki na posadzce kurnika. Firma specjalizująca się w zabiegach mycia i dezynfekcji kurników nałożyła powłokę na umytą i zdezynfekowaną posadzkę metodą oprysku bezpośrednio przed zaścieleniem.

Ferma drobiu składa się z 8 budynków inwentarskich przeznaczonych do ściółkowego chowu brojlera o obsadzie max. 54000 szt. ptaków na jeden budynek, wraz z infrastrukturą towarzyszącą, w tym silosów do magazynowania paszy oraz zamkniętego konfiskatora do magazynowania sztuk padłych. Budynki kurników są obiektami wolnostojącymi, parterowymi, o powierzchni 1930m<sup>2</sup>, z wrotami wjazdowymi w szczytowej ścianie o rozmiarze umożliwiającym wjazd sprzętu do mechanicznego opróżniania kurników z obornika i prowadzenia zabiegów mycia i dezynfekcji. Podłoga kurnika jest szczelnie wybetonowana, wytrzymywała na obciążenia sprzętu mechanicznego.

Głównym źródłem zaopatrzenia fermy w wodę używaną do celów technologicznych, socjalno-bytowych oraz utrzymania czystości w kurniku, jest własne ujęcie wód podziemnych. Ścieki gromadzone są w szczelnych zbiornikach bezodpływowych, a następnie za pośrednictwem uprawnionego odbiorcy dostarczane do oczyszczalni ścieków. Do ogrzewania kurników w pierwszej fazie cyklu chowu stosowany jest gaz płynny propan doprowadzany do instalacji grzewczych w kurnikach, a samo ogrzewanie hali odbywa się za pomocą nagrzewnic. Spaliny odprowadzane są wraz z powietrzem wentylacyjnym wentylatorami dachowymi.

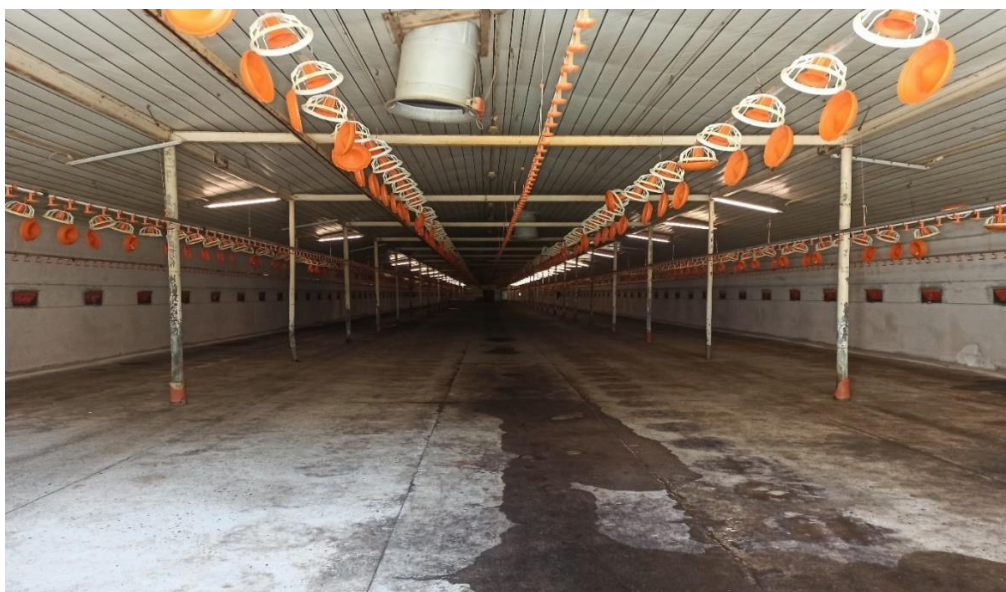
W czasie prowadzenia chowu ferma może być źródłem emisji amoniaku, siarkowodoru, dwutlenku siarki, dwutlenku azotu, tlenku węgla i pyłu zawieszono PM10, których emisja musi być monitorowana, aby nie przekroczyć dopuszczalnych poziomów substancji w powietrzu.

Procesy i czynności związane z chowem sterowane są komputerowo. Dotyczy to systemów podawania paszy, kontroli środowiska wewnątrz kurnika (chłodzenie, wilgotność, temperatura, w zależności od warunków wewnątrz, jak i na zewnątrz kurników), elektrycznego, alarmowego, reagującego na zanik napięcia, temperaturę minimalną i maksymalną, brak wody w poidłkach, złe funkcjonowanie systemu karmienia.

W każdym kurniku podawanie paszy odbywa się za pomocą 4 linii paszociągu z karmidłami automatycznymi, przeznaczonymi do karmienia brojlerów, z regulacją ilości dozowanej paszy. Odległość pomiędzy poszczególnymi karmidłami wynosi 75 cm, a pasza podawana jest z silosu na zewnątrz budynku za pomocą przenośnika spiralnego. Żywienie kurcząt oparte jest na gotowych mieszankach paszowych pełnoporcjowych w postaci granulatu, odpowiednich dla etapu chowu (wieku ptaków). Pojenie odbywa się za pomocą 5 linii poidel miskowych jednoramiennych w każdym kurniku. Poidła ustawione są w odległości 25 cm.

Cykle hodowlane w kurnikach wynoszą średnio 39 – 42 dni, a czas zakończenia zależy przede wszystkim od uzyskanej wagi i kondycji zdrowotnej kurcząt.

Chów testowy odbywał się w budynkach nr 7 (kontrola bez zastosowania powłoki) i nr 8 (posadzka pokryta powłoką). Po opróżnieniu kurników z poprzedniego wsadu hodowlanego, pomieszczenia i ich wyposażenie zostały umyte, zdezynfekowane, a po wyschnięciu powłoka wzbogacona olejkami z rozmarynu została nałożona techniką oprysku z wydajnością 75 ml/m<sup>2</sup>.



Zdj. 27. Kurnik nr 8 po nałożeniu powłoki.

Powłokę pozostawiono do wyschnięcia i kolejnego dnia oba pomieszczenia zaścielono. Materiałem na ściółkę w trakcie chowu była sieczka ze słomy pszennej. Ściółka miała grubość od 5 do 7 cm, co stanowiło ok. 4,5 kg ściółki/m<sup>2</sup>. Po 5 dniach od zaścielenia wstawiono stado w ilości 46000 piskląt na każdy budynek. Pisklęta dostarczone zostały przez zakład wylęgu drobiu w ilości 46 000 szt./każdy kurnik, tj. ok. 24 szt./m<sup>2</sup> powierzchni kurnika. Budynki ogrzewano przez 24 godziny przed wstawieniem piskląt do temperatury 33°C (w dniu rozpoczęcia procesu panowała na zewnątrz temperatura 28°C w dzień i 18°C w nocy).



Zdj. 28. Kurczęta po wstawieniu w kurniku nr 8.

Elementy procesu produkcyjnego były następujące:

- obsadzenie kurników pisklętami jednodniowymi (zapewniona temperatura ok. 35°C),
- po trzecim tygodniu życia zapewniona w pomieszczeniu temperatury 22°C,
- regularne dostarczanie paszy – zużycie paszy: Mg/kurnik 306,85 (razem nr 7 i 8), FCR = 1,637
- regularne pojenie wodą – zużycie w m<sup>3</sup>/ kurnik: 305 (nr 7) i 304 (nr 8),
- opieka weterynaryjna.

Po 4 tygodniach chowu zdjęto 27% kurcząt z kurnika nr 7 (12425 szt.) i 26,6% z kurnika nr 8 (12223 szt.), tzw. selekcja. Po zakończeniu cyklu chowu brojlery zostały oddane do ubojni w Uniszkach Cegielni (Zakład Przetwórczy Rolno-Spożywczy Ubojnia Drobiu S.J. M. Kujawski, A. Merchel). Powstały obornik został wywieziony i zagospodarowany, a kurnik był ponownie umyty i zdezynfekowany.

W tabeli 27 zebrano dane z chowu testowego, zestawiając wyniki dla kurnika nr 7 (kontrola) i kurnika nr 8 (test z powłoką).

Tab. 27. Dane techniczne (warunki chowu) – porównanie kurników 7 (kontrola) i 8 (test)

<b>Parametr</b>	<b>Kontrola</b>	<b>Powłoka</b>
<b>Temperatura w pomieszczeniu na wstawienie</b>		35°C
<b>Temperatura w pomieszczeniu na koniec chowu</b>		20°C
<b>Wilgotność względna powietrza na wstawienie</b>		65%
<b>Wilgotność względna powietrza na koniec chowu</b>		80%
<b>Ilość osobników w budynku – wstawienie [szt.]</b>	46000	46000
<b>Ilość osobników w budynku – koniec chowu [szt.]</b>	44294	44604
<b>Ilość padłych osobników [szt.]</b>	1706	1396
<b>% upadków</b>	3,71	3,03
<b>Waga sprzedanych sztuk [kg]</b>	93276	94212
<b>Średnia waga kur [kg]</b>	2,11	2,11
<b>Ilość zużytej wody [L]</b>	305	304
<b>Zużycie gazu [L]</b>	2782	2611

W czasie trwania chowu pobierano próbki przekazywane do badań mikrobiologicznych oraz parazytologicznych. Mikrobiologia w kierunku ogólnej liczby drobnoustrojów była badana w 32 dobie chowu poprzez pobranie wymazu z powierzchni posadzki, natomiast liczba oocyst została oznaczona w próbkach kału metodą McMastera w 27 i 32 dobie chowu. Po uboju oceniono stan podeszwy stopy kurcząt (częstotliwość wystąpienia FPD) oraz wartość rzeźną ptaków. Dodatkowo firma zajmująca się myciem i dezynfekcją kurnika miała ocenić ewentualny wpływ powłoki na łatwość mycia pomieszczenia. W tabeli 28 zebrano wyniki oceny dobrostanu kur (wskaźniki chowu), porównane między kurnikiem nr 7 (kontrola) i kurnikiem nr 8 (test z powłoką).

Tab. 28. Parametry dobrostanu drobiu podczas chowu oraz wskazania zootechniczne – porównanie kurników 7 (kontrola) i 8 (test z powłoką)

<b>Parametr</b>	<b>Kontrola</b>	<b>Powłoka</b>
<b>Skażenie mikrobiologiczne powierzchni [jtk/cm<sup>2</sup>]</b>	3,4 x 10 <sup>6</sup>	> 3 x 10 <sup>8</sup>
<b>Zawartość oocyst w kale w 27 dobie [opg]</b>	14800	5200
<b>Zawartość oocyst w kale w 32 dobie [opg]</b>	10300	5600
<b>Stan podszwy stopy u kurcząt (częstotliwość wystąpienia FPD)</b>	Brak zmian wskazujących na uszkodzenie podszwy oraz brak konfisantów wynikających z wystąpienia FPD	
<b>Ocena wartości rzeźnej ptaków</b>	Standardowa	
<b>Łatwość mycia kurnika po przeprowadzonej hodowli</b>	Warstwa obornika mocna przywiera do posadzki co znacznie utrudnia i wydłuża czas mycia	Obornik łatwiej odchodzi od posadzki, co wpłynęło w niepoliczalny stopniu na czas mycia budynku. Wg osób myjących warstwa powłoki chroniła powierzchnie posadzki przed przywieraniem pomiotu.

Wyniki chowu testowego na kurnikach wielkopowierzchniowych wykazały korzystny wpływ powłoki na posadzkę kurnika wzbogaconą o olejek z rozmarynu. Liczba padłych osobników w kurniku z powłoką była o 18% niższa niż w kurniku bez powłoki, co dało 310 osobników padłych mniej. Ma to wpływ na łączną wagę sprzedanych do ubojni osobników, która była o prawie 1 tonę wyższa dla kurnika z powłoką. Tona masy więcej oznacza realny zysk dla hodowcy, przy cenach skupu średnio 5,78 zł/kg (dane za okres 15.07-21.07.2024)[127], to 5410,00 zł netto zarobku tylko na jednym kurniku, a fermy składają się najczęściej z kilku kurników. Mikrobiologia wymazów nie była korzystniejsza w pomieszczeniu z powłoką, ale był to tylko jeden pobór prób pod koniec chowu, gdzie poziom skażenia jest zawsze bardzo wysoki. Natomiast bardzo istotnym czynnikiem jest liczba oocyst w kale, których było ponad 3-krotnie mniej w 27 dobie chowu i prawie 2 razy mniej w 32 dobie

w pomieszczeniu z powłoką. Hodowcy zwracają na tą wartość szczególną uwagę, bo problem zakażenia pasożytami z rodzaju *Eimeria spp.* jest obok zakażeń bakterią *Salmonella spp.* jednym z największych problemów na wielkopowierzchniowych chowach kurcząt brojlerów. Prawdopodobnie to właśnie ten parametr spowodował różnicę w ilości padłych osobników. Oprócz wskazań dobrostanu drobiu ważnym argumentem na korzyść stosowania powłoki była łatwość umycia kurnika po zakończonym chowie. Zanieczyszczenia odchodziły łatwiej od powierzchni, nie przywierały, co znacznie skróciło czas mycia kurnika i pozwoliło na redukcję ilości użytych środków myjących. Jest to kolejny punkt, w którym hodowca drobiu może ograniczyć koszty chowu, a dodatkowo jest to rozwiązanie korzystniejsze dla środowiska (redukcja środków myjących odprowadzanych do oczyszczalni ścieków). Dodatkowo środki myjące w przemyśle rolno-spożywczym często powodują podrażnienia skóry, oczu, układu oddechowego użytkowników, niektóre są nawet podejrzewane o działanie rakotwórcze i wymagają stosowania środków ochrony indywidualnej takich jak maski oddechowe czy kombinezony chemiczne, więc możliwość zredukowania czasu kontaktu personelu myjącego kurnik jest ważnym argumentem. Obsługa kurnika zgłaszała również fakt, który określili jako „przyjemniejsze powietrze” w pomieszczeniu z zastosowaną powłoką. Wpłynęło na to pewnie obniżenie zapylenia, które nie było mierzone w kurniku, ale mogło skutkować również zmniejszoną koncentracją szkodliwych gazów, jak amoniak czy siarkowodór.



## D. PODSUMOWANIE

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że:

1. Został opracowany skład powłoki przeznaczonej do nakładania na powierzchnię posadzki kurnika. Powłoka jest łatwa do nałożenia na drodze malowania lub oprysku, pozostaje związana z powierzchnią przez cały okres trwania chowu kur brojlerów (6 tygodni), a po zakończeniu chowu możliwe jest zmycie powłoki przy użyciu zasadowych środków myjących, standardowo stosowanych do mycia kurnika. Powłoka nie wpływa negatywnie na strukturę posadzki, nie zawiera również substancji niebezpiecznych dla zdrowia kur.
2. Parametry fizykochemiczne produktu powłokowego są stabilne w czasie.
3. Zastosowanie powłoki na powierzchniach, w obecności ściółki powoduje obniżenie jej wilgotności oraz poziomu zapylenia powietrza w pomieszczeniu, w warunkach termiczno-wilgotnościowych symulujących warunki w kurniku na różnych etapach cyklu produkcyjnego kur (test w komorach klimatycznych).
4. Jako metodę otrzymywania ekstraktów z materiału roślinnego (susze tymianku pospolitego, rozmarynu lekarskiego, lebiotki pospolitej, szałwii lekarskiej, pokrzywy zwyczajnej i rdestu ptasiego) wytypowano ekstrakcję dwuetapową. Najwyższą wydajność uzyskano dla ekstraktu z rozmarynu, a następnie dla tymianku i oregano.
5. Wykonane zostały oznaczenia spektrofotometryczne polifenoli (metoda Folin-Ciocalteu) i potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów (metoda ABTS). Zawartość polifenoli była najwyższa dla ekstraktu z oregano, następnie dla ekstraktu z tymianku i rozmarynu. Potencjał antyoksydacyjny był bardzo wyrównany dla ekstraktów ze wszystkich roślin, z wyjątkiem ekstraktu z pokrzywy, który miał niższy wynik niż pozostałe.
6. Na podstawie wydajności ekstrakcji i wyników analiz spektrofotometrycznych ekstraktów stwierdzono, że heksan jest korzystniejszy do dalszego wykorzystania niż eter naftowy jako rozpuszczalnik w pierwszym etapie dwuetapowej ekstrakcji.
7. Ustalono warunki ekstrakcji w automatycznym aparacie Soxhleta, przy użyciu heksanu jako pierwszego rozpuszczalnika (niepolarnego) i etanolu jako drugiego rozpuszczalnika (polarnego).
8. Przeprowadzono badanie chromatograficzne uzyskanych ekstraktów metodą UPLC na obecność jednego z polifenoli – kwasu rozmarynowego. Kwas rozmarynowy był substancją wzorcową (wskaźnikową) do kolejnego etapu badań. Najwyższą zawartość

- kwasy rozmarynowego oznaczono w ekstrakcie z rozmarynu, następnie w ekstrakcie z oregano i szałwii. Niską zawartość wykazano w ekstraktach z rdestu i pokrzywy.
9. Na drodze hydrodestylacji w aparacie Clevengera uzyskano olejki z 4 spośród 6 badanych roślin, tj. tymianku, rozmarynu, oregano i szałwii. Najwyższą wydajność uzyskano dla olejku z oregano, a następnie dla olejku z rozmarynu.
  10. Przeprowadzono badanie chromatograficzne olejków metodą GC-FID na obecność 12 substancji wskaźnikowych olejków eterycznych:  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -myrcen,  $\alpha$ -terpinen,  $\gamma$ -terpinen, p-cymen, 1,8-cyneol, linalol,  $\alpha$ -terpineol, karwakrol i kariofilen. Najwyższą zawartość tych substancji miały olejki z oregano i rozmarynu.
  11. Ustalono skład powłoki wzbogaconej o ekstrakty lub olejki z tymianku, rozmarynu, oregano i szałwii. Wydajność nakładania wzbogaconej powłoki na powierzchnię płytek w komorze starzeniowej była korzystniejsza dla powłoki z olejkami niż z ekstraktami. Przekłada się to na opłacalność stosowania produktu powłokowego.
  12. Podjęto próby analiz chromatograficznych UPLC powłok z ekstraktami na obecność kwasu rozmarynowego, jednak struktura polimerowa powłoki uniemożliwiła to oznaczenie. Z tego względu dalsze prace kontynuowano tylko dla powłok z olejkami.
  13. Wykonano oznaczenie chromatograficzne GC-FID powłok z olejkami na obecność substancji wskaźnikowych dla olejków. Najwyższe stężenie uzyskano dla powłoki z olejkiem z tymianku, dalej z oregano i z szałwii.
  14. Przeprowadzono eksperymentalne chowy kur w komorach hodowlanych, w których testowano powłoki wzbogacone olejkiem z rozmarynu lub olejkiem z oregano w porównaniu do chowu bez powłoki. Dla następujących parametrów stwierdzono korzystny wpływ powłok wzbogaconych olejkami: wilgotność ściółki, poziom zapylenia powietrza, jakość mikrobiologiczna powietrza, stężenia amoniaku w powietrzu, wyniki odchowu (FCR). Parametry, które pozostały bez wpływu powłoki lub nie było możliwości oceny tego wpływu to: liczba oocyst, częstotliwość FDP, zachorowalność, śmiertelność, wydajność rzeźna. Żaden parametr nie był niekorzystny w porównaniu do chowu kontrolnego (bez powłoki). Spośród komór hodowlanych z powłokami więcej wskazań na korzystniejsze wyniki odnotowano dla powłoki z olejkiem z rozmarynu.
  15. Podjęto próby oznaczeń substancji wskaźnikowych dla olejków eterycznych w ściółce po chowie kur, jednak ze względu na zakłócające sygnały z samej ściółki nie było to możliwe. Stwierdzono natomiast uwalnianie się olejków podanych bezpośrednio do ściółki.

16. Przeprowadzono chów kur brojlerów w kurniku wielkopowierzchniowym z wykorzystaniem powłoki z olejkiem z rozmarynu. Porównano parametry dobrostanu kur, warunki chowu oraz wskazania zootechniczne w stosunku do kurnika bez zastosowanej powłoki. Stwierdzono niekorzystny wpływ powłoki na czystość mikrobiologiczną powierzchni, korzystny wpływ na zawartość oocyst w kale, poziom śmiertelności kur i łatwość umycia kurnika po zakończonym chowie. Bez wpływu pozostały takie parametry jak wartość rzeźna i częstotliwość FPD.
17. Technologia produkcji powłoki z olejkiem z rozmarynu została wdrożona w zakładzie produkcyjnym Przedsiębiorstwa Badawczo-Wdrożeniowego Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o.o., a produkt o handlowej nazwie HERBAL PROTECT COATING został włączony do oferty produktowej dla hodowców drobiu i firm zajmujących się myciem i dezynfekcją kurników.

## E. LITERATURA

- [1] M. Rejewski, Rośliny przyprawowe i użytki roślinne, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 1992, s. 162-164
- [2] R. Sieroń, Uprawa ziół - dobry pomysł na biznes, <https://www.sodr.pl/swietokrzyski-portal-rolny/aktualnosci/Uprawa-ziol-dobry-pomysl-na-biznes/idn:543> , dostęp 13 sierpnia 2024r.
- [3] M. Blamey, Wild flowers of the Mediterranean, London: A & C Black, 2004, s. 398
- [4] M. Ambroziak, M. Stanowska, K. Sikorska-Zimny, Tymianek – roślina o wielu zastosowaniach, Innowacje w Pielęgniarstwie i Naukach o Zdrowiu 1 (4)/2020
- [5] M. J. Kawałko, Historie ziołowe. Krajowa Agencja Wydawnicza, Lublin 1986
- [6] A. Ożarowski, W. Jaroniewski, Rośliny lecznicze i ich praktyczne zastosowanie, Instytut Wydawniczy Związków Zawodowych, Warszawa 1987
- [7] G. Nowak, J. Nawrot, Surowce roślinne i związki naturalne stosowane w chorobach układu oddechowego. Herba Polonica, 2009;55(4):178-213
- [8] A. William, Medical medium: secrets behind chronic and mystery illness and how to finally heal. Hay House Uk Ltd., 2015
- [9] Z. Zdrojewicz, K. Minczakowska, K. Klepacki, Rola aromaterapii w medycynie, Family Medicine & Primary Care Review 2014;16,4: 387–391
- [10] A. Kędzia, Evaluation of the susceptibility anaerobic bacteria to thyme oil, Postępy Fitoterapii 3 (2006) 131-135
- [11] G. Sacchetti, S. Maietti, M. Muzzoli, M. Scaglianti, S. Manfredini, M. Radice, R. Bruni, Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods, Food Chemistry 91 (2005) 621-632
- [12] M. Kozłowska, I. Ścibisz, Badanie zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z roślin przyprawowych podczas ich przechowywania, Bromat. Chem. Toksykol. 2012;(45),3:358–363
- [13] M. R. Al-Sereiti, K. M. Abu-Amer, P. Sen, Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials, Indian Journal of Experimental Biology Vol. 37, February 1999, pp . 124-130
- [14] A. Kędzia, E. Hołderna-Kędzia, Oddziaływanie olejku rozmarynowego (*Rosmarini aetheroleum*) na grzyby drożdżopodobne, Postępy Fitoterapii 2/2021, s. 83-88
- [15] M. Will, R. Classen-Bockhoff, Time to split *Salvia* s.l. (Lamiaceae) – New insights from Old World *Salvia* phylogeny, Molecular Phylogenetics and Evolution 109, s. 33-58, 2017
- [16] A. Rumińska, A. Ożarowski, Leksykon roślin leczniczych, Państwowe Wydawnictwo

Rolnicze i Leśne, Warszawa 1990, ISBN: 8309012616

- [17] K. Kowalska, A. Olejnik, Rozmaryn – roślina zielarska o potencjale terapeutycznym, *Postępy Fitoterapii* 2/2010, s. 114-122
- [18] S. Milewski, J. Fabjanowska, B. Kiczorowska, W. Samolińska, R. Klebaniuk, E. Kowalczyk-Vasilev, Bioaktywny potencjał wybranych krajowych ziół oraz ich wpływ na efektywność produkcji zwierzęcej, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie 2024
- [19] E. Hać-Szymańczuk, J. Roman, K. Bednarczyk, 2009. Badanie aktywności przeciwbakteryjnej rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*). *Nauka Przyr. Technol.* 3, 4, 128
- [20] M. Gruszczyk, Lebiodka pospolita, w: *Uprawa ziół*. B.Kołodziej (red.) 2010, PWRiL, Poznań
- [21] V. Schlegel, T. Astatkie, V. D. Zheljajzkov, Distillation Time Changes Oregano Essential Oil Yields and Composition but Not the Antioxidant or Antimicrobial Activities, *HORTSCIENCE* 47(6):777–784. 2012
- [22] A. Mścisz, E. Czosnowska Oregano – fascynująca przyprawa, ale czy tylko? Możliwe zastosowania, substancje aktywne, właściwości terapeutyczne, *Postępy Fitoterapii* 4/2008, s. 233-239
- [23] M. Przeor, E. Flaczyk, Porównanie aktywności przeciwutleniającej przypraw ziołowych stosowanych w kuchni polskiej i suszu liści morwy białej. *Postępy techniki przetwórstwa spożywczego* 1/2014
- [24] D. Modnicki, M. Balcerek, Estimation of total polyphenols contents in *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. commercial samples estimation of polyphenols, *Herba Polonica* Vol. 55 No 1 2009
- [25] B. Teixeira, A. Marques, C. Ramos, C. Serrano, O. Matos, N.R. Neng, J.M.F. Nogueira, J.A. Saraiva, M.L. Nunes, Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *J Sci Food Agric* 2013; 93: 2707–2714
- [26] O. Suska, O. Turkot, K. Sikorska – Zimny, Oregano – właściwości i wykorzystanie przez ludzi, *Innowacje w Pielęgniarstwie i Naukach o Zdrowiu* 2 (4)/2020
- [27] G. J. Khorsand, M. R. Morshedloo, H. Mumivand, Z.E. Bistgani, F. Maggi, A. Khademi, Natural diversity in phenolic components and antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) accessions, grown under the same conditions, *Scientific Reports* (2022) 12:5813
- [28] M. Śledź, D. Witrowa-Rajchert, Składniki biologicznie czynne w suszonych ziołach – czy

- ciągle aktywne? Kosmos Problemy nauk biologicznych 2012, 2(295), 319-329
- [29] Y. Sharma, J. Fagan, J. Schaefer Ethnobotany, phytochemistry, cultivation and medicinal properties of Garden sage (*Salvia officinalis* L.) Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2019; 8(3): 3139-3148
- [30] A. Kamienik, A. Bielińska, Ł. Tomaszewska, M. Dmitruk, Szałwia lekarska – cenny surowiec wykorzystywany w przemyśle kosmetycznym i w medycynie. Wybrane zagadnienia z zakresu produkcji surowców, żywności i kosmetyków. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie; <https://doi.org/10.24326/mon.2023.3>
- [31] M. Jakovljević, S. Jokić, M. Molnar, M. Jašić, J. Babić, H. Jukić, I. Banjari; Bioactive Profile of Various *Salvia officinalis* L. Preparations. Plants 2019, 8, 55
- [32] T. Wolski, E. Hołderna-Kędzia, A. Ludwiczuk, Ocena składu chemicznego oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych i preparatów galenowych otrzymywanych z liści rozmarynu i szalwii lekarskiej, Postępy Fitoterapii 4/2001, s. 6-11
- [33] Instytut Nauk Biologicznych / Katalog Roślin Leczniczych UMCS  
<https://www.umcs.pl/pl/szalwia-lekarska.22725.htm> dostęp 13 sierpień 2024r.
- [34] S. Jedidi, K. Rtibi, H. Selmi, F. Aloui, H. Sebai, *Salvia officinalis* flowers extract ameliorates liver and kidney injuries induced by simultaneous intoxication with ethanol/castor oil. Physiological Reports. 2023;11:e15854.
- [35] S. F. Vieira, H. Ferreira, N. M. Neves, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Cytocompatible *Salvia officinalis* Extracts: A Comparison between Traditional and Soxhlet Extractions; Antioxidants 2020, 9, 1157
- [36] A. Ghorbani, M. Esmailzadeh, Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. Journal of Traditional and Complementary Medicine 7 (2017) 433-440
- [37] H. Nasri, M. Bahmani, N. Shahinfard, A. Moradi Nafchi, S. Saberianpour, M. Rafieian Kopaei, Medicinal Plants for the Treatment of Acne Vulgaris: A Review of Recent Evidences, Jundishapur J Microbiol. 2015 November; 8(11)
- [38] S. Karimzadeh, M. R. Farahpou; Topical application of *Salvia officinalis* hydroethanolic leaf extract improves wound healing proces. Indian Journal of Experimental Biology Vol. 55, February 2017, pp. 98-106
- [39] A. Zeidabadi, Z. Yazdanpanahi, M. Hossain Dabbaghmanesh, M. Resa Sasani, M. Emamghoreishi, M. Akbarzadeh; The effect of *Salvia officinalis* extract on symptoms of flushing, night sweat, sleep disorders, and score of forgetfulness in postmenopausal women. J Family Med Prim Care. 2020 Feb; 9(2): 1086–1092.
- [40] A. Raal, A. Orav, E. Arak; Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from

- various European countries. 2007 Natural Product Research 21(5):406-11
- [41] T. Baj, A. Ludwiczuk, E. Sieniawska, K. Skalicka-Woźniak, J. Widelski, K. Zięba, K. Główniak; GC-MS analysis of essential oils from *Salvia officinalis* L.: comparison of extraction methods of the volatile components. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, Vol. 70 No.1 pp. 35-40, 2013
- [42] E. Ovidi, V. Laghezza Masci, M. Zambelli, A. Tiezzi, S. Vitalini, S. Garzoli; *Laurus nobilis*, *Salvia sclarea* and *Salvia officinalis* Essential Oils and Hydrolates: Evaluation of Liquid and Vapor Phase Chemical Composition and Biological Activities. *Plants* 2021, 10, 707
- [43] European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) database.  
<https://gd.eppo.int/taxon/URTDI> , dostęp 13 sierpnia 2024r.
- [44] A. Kowalczyk, A. Adamska-Szewczyk, Medicinal plants in a seborrheic scalp care. *Aesth Cosmetol Med.* 2022;11(4):117-121
- [45] A. Ilyina, R. Ramos-González, E.P. Segura-Ceniceros, A. Vargas-Segura, J.L. Martínez-Hernández, R. Zaynullin, R. Kunakova, T. Korotina; Alimentary and medicinal plants in functional nutrition. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA ISBN: 978-607-506-313-3
- [46] P. Pinelli, F. Ieri, P. Vignolini, L. Bacci, S. Baronti, A. Roman, Extraction and HPLC Analysis of Phenolic Compounds in Leaves, Stalks, and Textile Fibers of *Urtica dioica* L. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 9127–9132
- [47] H.P. Devkota, K.R. Paudel, S. Khanal, A. Baral, N. Panth, A. Adhikari-Devkota, N.K. Jha, N. Das, S.K. Singh, D.K. Chellapan, et al., Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.): Nutritional Composition, Bioactive Compounds, and Food Functional Properties. *Molecules* 2022, 27, 5219
- [48] F. Gendron, S. Nilson, V. Ziffle, S. Johnny, D. Louie, P. Diamente, Antimicrobial Effectiveness on Selected Bacterial Species and Alkaloid and Saponin Content of *Rosa nutkana* C. Presl (Nootka Rose) and *Urtica dioica* L. (Stinging Nettle) Extracts. *American Journal of Plant Sciences* 2021, 12, 720-733
- [49] C. Bourgeois, E. A. Leclerc, C. Corbin, J. Doussot, V. Serrano, J.R. Vanier, J.M. Seigneuret, D. Auguin, C. Pichon, E. Lain, C. Hano; Nettle (*Urtica dioica* L.) as a source of antioxidant and anti-aging phytochemicals for cosmetic applications. *C.R. Chimie* 19 (2016), 1090-1100
- [50] K. Riehemanna, B. Behnke, K. Schulze-Ostho; Plant extracts from stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF- $\kappa$ B. *FEBS Letters* 442 (1999) 89-94

- [51] J. Wisz, A. Mikulska, J. Powężka, A. Kamienik; Fitoterapeutyczne metody redukcji łupieżu. Wybrane zagadnienia z zakresu produkcji surowców, żywności i kosmetyków. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie 2023, ISBN 978-83-7259-403-7
- [52] C.R. Vogl, A. Hartl; Production and processing of organically grown fiber nettle (*Urtica dioica* L.) and its potential use in the natural textile industry: A review. *American Journal of Alternative Agriculture* 2003, vol.18, no. 3
- [53] S. Otles, B. Yalcin, Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk, and Leaves of Nettle. *Sci. World J.* 2012, 2012, 12
- [54] K. Jakubczyk, K. Janda, S. Szkyrpan, I. Gutowska, J. Wolska; Pokrzywa zwyczajna (*Urtica dioica* L.) – charakterystyka botaniczna, biochemiczna i właściwości prozdrowotne. *Pom J Life Sci* 2015, 61, 2, 191–198
- [55] A.J. Cummings, M. Olsen, Mechanism of Action of Stinging Nettles, *Wilderness and Environmental Medicine* 2011, 22, 136-139
- [56] D. Kashyap, H. S. Tuli, A. K. Sharma; Ursolic acid (UA): A metabolite with promising therapeutic potential, *Life Sciences* 1 February 2016
- [57] A.W. Boots, L.C. Wilms, E.L.R. Swennen, J.C.S. Kleinjans, A. Bast, G.R.M.M. Haenen, In vitro and ex vivo anti-inflammatory activity of quercetin in healthy volunteers; *Nutrition* 24 (2008) 703-710
- [58] B. Domagała, J. Gospodarek; Odpowiedź olfaktometryczna wybranych szkodników roślin uprawnych na zapach pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica* L.) oraz wpływ wodnych ekstraktów roślinnych na ich zachowanie. *Progress in Plant Protection* 64 (1): 43–52, 2024
- [59] A. Chira, I. Rekik, F. Rahmouni, I. B. Amor, B. Gargouri, C. Kallel, K. Jamoussi, N. Allouche, A.E. Feki, Y. Kadmi, M. Saoudi, Phytochemical composition of *Urtica dioica* essential oil with antioxidant and anti-inflammatory properties: In vitro and in vivo studies, *Curr Pharm Biotechnol.* 2022, 08, 1-11
- [60] [https://www.atlas-roslin.pl/gatunki/Polygonum\\_aviculare.html](https://www.atlas-roslin.pl/gatunki/Polygonum_aviculare.html) , dostęp 13 sierpnia 2024r.
- [61] A. Demirpolat, Chemical Composition of Essential Oils of Seven *Polygonum* Species from Turkey: A Chemotaxonomic Approach. *Molecules* 2022, 27, 9053
- [62] C-Y. Hsu, Antioxidant activity of extract from *Polygonum aviculare* L. *Biol Res* 39, 2006, 281-288
- [63] Z. Zhou, J. Zhang, L. You, T. Wang, K. Wang, L. Wang, X. Kong, Y. Gao, X. Sun; Application of herbs and active ingredients ameliorate non-alcoholic fatty liver disease under the guidance of traditional Chinese medicine. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022; 13: 1000727



- [64] M. Muresan, D. Olteanu, G.A. Filip, S. Clichici, I. Baldea, T. Jurca, A. Pallag, E. Marian, A. Frum, F.G. Gligor, et al., Comparative Study of the Pharmacological Properties and Biological Effects of Polygonum aviculare L. herba Extract-Entrapped Liposomes versus Quercetin-Entrapped Liposomes on Doxorubicin-Induced Toxicity on HUVECs, *Pharmaceutics* 2021, 13, 1418
- [65] T. Yilmaz-Ozden, N.T. Nasabi, G. Hasbal-Celikok, M. Kocyigit, G. Özhan, Antioxidant, anti-acetylcholinesterase, and anticancer activities of four Polygonum species from Istanbul. *International Food Research Journal* 28(6): 1298 – 1309
- [66] W. Rząd, M. Lewkowicz, A. Hanaka; Rośliny jako źródło olejków eterycznych wykorzystywanych w medycynie i innych gałęziach przemysłu. Wybrane zagadnienia z zakresu produkcji surowców, żywności i kosmetyków, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
- [67] B. Kędzia, E. Hołderna-Kędzia, Działanie terpenów roślinnych na drobnoustroje. *Postępy Fitoterapii* 4/2012, s. 226-229
- [68] G.A. Cordell, Biosynthesis of Sesquiterpenes. *Chemical reviews*, 1976, vol. 76, No. 4
- [69] A. P. Wardana, N. S. Aminah, M. Rosyda, M. I. Abdjan, A. N. Kristanti, Khun Nay Win Tun, M. I. Choudhary, Y. Takaya, Potential of diterpene compounds as antivirals, a review, *Heliyon* 7 (2021) e07777
- [70] S.S. Ebada, W.H. Lin, P. Proksch, Bioactive Sesterterpenes and Triterpenes from Marine Sponges: Occurrence and Pharmacological Significance, *Mar. Drugs* 2010, 8, 313-346
- [71] R. Thimmappa, K. Geisler, T. Louveau, P. O'Maille, A. Osbourn; Triterpene Biosynthesis in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2014. 65:225–57
- [72] R.L. Smith, S.M. Cohen, J. Doull, V.J. Feron, J.I. Goodman, L.J. Marnett, P.S. Portoghese, W.J. Waddell, B.M. Wagner, R.L. Hall, N.A. Higley, C. Lucas-Gavin, T.B. Adams; A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food and Chemical Toxicology* 43 (2005) 345–363
- [73] R. Nurzyńska – Wierdak, Terapeutyczne właściwości olejków eterycznych. *Annales UMCS Sectio EEE Horticultura* 2015, vol. XXV (1)
- [74] A. C. Rivas da Silva, P. Monteiro Lopes, M. M. Barros de Azevedo, D. C. Machado Costa, C. Sales Alviano, D. S. Alviano; Biological Activities of  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene Enantiomers. *Molecules* 2012, 17, 6305-6316
- [75] M. Allenspach, C. Steuer;  $\alpha$ -Pinene: A never-ending story. *Phytochemistry* 190 (2021) 112857
- [76] H. Zhang , Q. Liu, Y. Cao, X. Feng, Y. Zheng, H. Zou, H. Liu, J. Yang, M. Xian; Microbial

- production of sabinene—a new terpene-based precursor of advanced biofuel. *Microbial Cell Factories* 2014, 13:20
- [77] S. Surendran, F. Qassadi, G. Surendran, D. Lilley, M. Heinrich; Myrcene—What Are the Potential Health Benefits of This Flavouring and Aroma Agent? *Front. Nutr.* 8:699666.
- [78] J. Rudbäck, M. A. Bergström, A. Börje, U. Nilsson, A.T. Karlberg;  $\alpha$ -Terpinene, an Antioxidant in Tea Tree Oil, Autoxidizes Rapidly to Skin Allergens on Air Exposure, *Chem. Res. Toxicol.* 2012, 25, 3, 713–721
- [79] T. Mendes de Oliveira, R. B. Fonseca de Carvalho, I. H. Fernandes da Costa, G. A. Lopes de Oliveira, A. Araujo de Souza, S. Gonçalo de Lima, R. Mendes de Freitas, Evaluation of p-cymene, a natural antioxidant, *Pharmaceutical Biology*, 53:3, 423-428 (2015)
- [80] A. Balahbib, N. el Omari, N. el Hachlafi, F. Lakhdar; Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. *Food and Chemical Toxicology* Volume 153, July 2021, 112259
- [81] K. Antoniak, W. Bylka, Aktywność biologiczna wybranych składników olejków eterycznych, *Cz. 1 Postępy Fitoterapii* 1/2020, s. 35-41
- [82] A. Sarkic, I. Stappen; Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics—A Critical Review. *Cosmetics* 2018, 5, 11
- [83] C. Khaleel, N. Tabanca, G. Buchbauer;  $\alpha$ -Terpineol, a natural monoterpene: A review of its biological properties. *Open Chem.*, 2018; 16: 349–361
- [84] Z. E. Suntres, J. Coccimiglio, M. Alipour; The Bioactivity and Toxicological Actions of Carvacrol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55:304–318 (2015)
- [85] F. Francomano, A. Caruso, A. Barbarossa, A. Fazio, C. La Torre, J. Ceramella, R. Mallamaci, C. Saturnino, D. Iacopetta, M. S. Sinicrop;  $\beta$ -Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. *Appl. Sci.* 2019, 9, 5420 2 -19
- [86] M. Abbas, F. Saeed, F. M. Anjum, M. Afzaal, T. Tufail, M. S. Bashir, A. Ishtiaq, S. Hussain, H. A. R. Suleria; (2017) Natural polyphenols: An overview, *International Journal of Food Properties*, 20:8, 1689-1699
- [87] M. Jasiński, E. Mazurkiewicz, P. Rodziewicz, M. Figlerowicz; Flawonoidy – budowa, właściwości i funkcja ze szczególnym uwzględnieniem roślin motylkowych. *Biotechnologia* 2 (85) 81-94, 2009
- [88] A. Sadowska, F. Świdorski, R. Kromołowska, Polifenole – Źródło Naturalnych Przeciwtleniaczy, *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego* 1/2011
- [89] U. Gawlik-Dziki, Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności, *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, 4 (41) S, 29 – 40

- [90] R. Figat, A. Świątek, G. Nałęcz-Jawecki, Kwasy Fenolowe jako Związki o Potencjale Antygeno-toksycznym Występujące w Roślinach Leczniczych i Jadalnych, Biul. Wydz. Farm. WUM, 2021, 4, 28-41
- [91] G. Budryn, E. Nebesny, Fenolokwasy – ich właściwości, występowanie w surowcach roślinnych, wchłanianie i przemiany metaboliczne, BROMAT. CHEM. TOKSYKOL. – XXXIX, 2006, 2, str. 103 – 110
- [92] A. Arceusz, M. Wesołowski, Wybrane kwasy fenolowe i biopierwiastki w roślinnych surowcach leczniczych, Ann. Acad. Med. Siles. 2011, 65, 4, 7–13
- [93] J. Kołodziejczyk-Czepas, M. Szejka, A. Pawlak, H.M. Żbikowska, Właściwości Przeciwtleniające Kwasu Kawowego i jego Pochodnych, ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2015, 3 (100), 5 – 17
- [94] K. Nowak, M. Jaworska, J. Ogonowski, Rozmaryn – roślina bogata w związki biologicznie czynne, CHEMIK 2013, 67, 2.
- [95] N. Marks, Maszyny do czyszczenia i sortowania owoców rolnych, Skrypt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie 2012
- [96] M. Kleiber, M. Dziecioł, M. Urbala, Izolacja Olejku Eteryicznego z Rozmarynu (*Rosmarinus officinalis*) Metodą Hydrodestylacji Wspomaganej Promieniowaniem Mikrofalowym, POSTĘPY W TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ 2022
- [97] G. Lewandowski, E. Milchert, Współczesna technologia suchej destylacji drewna, CHEMIK 2011, 65, 12, 1301-1306
- [98] M. Biniecka, M. Wrześniak, Ewolucja pojęcia jakości i metod otrzymywania olejków eterycznych; znaczenie w historii nauk medycznych wybranych olejków eterycznych z obszaru Morza Śródziemnego, MEDYCYNA NOWOŻYTNA Tom 29 – Zeszyt 1 (2023 r.)
- [99] Nowe technologie i techniki produkcji dodatków funkcjonalnych do żywności. Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa, Skrypt Ćwiczeń z zajęć Ekstrakcja
- [100] P. Mróz, K. Wilczek, M. Żak, M. Zielińska–Pisklak, Chromatograficzne Metody Izolacji i Identyfikacji Fenolokwasów, Biul. Wydz. Farm. WUM, 2012, 6, 40-48
- [101] J. Redfern, M. Kinninmonth, D. Burdass, J. Verran, Using Soxhlet Ethanol Extraction to Produce and Test Plant Material (Essential Oils) for Their Antimicrobial Properties, Journal of Microbiology & Biology Education 2014 Vol. 15, No. 1
- [102] Z.J. Dolatowski, J. Stadnik, D. Stasiak, Applications of ultrasound in food technology, Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 6(3) 2007, 89-99
- [103] P. Stepnowski, E. Synak, B. Szafranek, Z. Kaczyński, Techniki separacyjne,

Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, ISBN 978-83-7326-712-1

- [104] E. Rój, Ekstrakcja surowców roślinnych w warunkach nadkrytycznych z użyciem CO<sub>2</sub>. CHEMIK 2011, 65, 9, 827-836
- [105] <https://krd-ig.com.pl/rynek-drobieu/rynek-drobieu-w-polsce-w-liczbach/> , dostęp 10 sierpnia 2024
- [106] red. K. Markowska, Aktualności branżowe, Hodowca drobiu 12/2023. ISSN 1425-963X
- [107] E. Sosnówka-Czajka, Rasy kur wykorzystywane w rolnictwie ekologicznym, Podstawy chowu i hodowli zwierząt w gospodarstwach ekologicznych, Wydawnictwo Naukowe Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego, Kraków 2022
- [108] S. Domagała, M. Trela, R. Kędzia, M.W. Lis, Wpływ przebiegu odchowu stada reprodukcyjnego kur mięsnych na wybrane wskaźniki reprodukcyjne; Sci, Tech. Innov., 2018, 3 (2), 43-47
- [109] W. Migdał, Ł. Migdał, Od pola do stołu – wymagania konsumentów w stosunku do rolników, ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2021, 28, 4 (129), 24 – 46
- [110] I. Kajdan-Zysnarska, Warunki utrzymania drobiu w świetle obowiązujących przepisów. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie, Poznań 2013
- [111] R. Muchacka, Wpływ opóźnionego zasiedlenia budynków pisklętami i zróżnicowanej temperatury odchowu na reakcję fizjologiczną, produkcyjną i behawioralną kurcząt brojlerów. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie. Prace Monograficzne 717, 2015
- [112] I. Skomorucha, E. Sosnówka-Czajka; Wpływ różnych technologii chowu na produktywność i dobrostan kurcząt brojlerów. Chów i hodowla zwierząt gospodarskich na przestrzeni 70 lat - problemy i wyzwania. Zakład Hodowli Drobiu, Zakład Hodowli Drobnej Inwentarza, Instytutu Zootechniki PIB, Monografia Kraków 2020
- [113] B. Korytkowski; Pył w pomieszczeniach dla drobiu. Ogólnopolski Informator Drobiarski, Higiena i żywienie, lis 26, 2021
- [114] S. Ishchenko, D. Ziobro, S. Grzejszczak, D. Krakowiak, K. Wengerska, J. Batkowska; Ściółka a mikroklimat kurnika i efekty produkcyjne drobiu. Wybrane zagadnienia produkcji zwierzęcej. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie 2023
- [115] M. Mazurkiewicz, Choroby drobiu oraz ptaków ozdobnych, Materiały szkoleniowe dla studium podyplomowego dla lekarzy weterynarii, Wrocław 2009
- [116] <https://www.wetgiw.gov.pl/nadzor-weterynaryjny/zasady-ochrony-drobieu-przed-choroba-bioasekuracja> , dostęp 10 sierpnia 2024
- [117] B. Korytkowski; Ochrona ferm przed gryzoniami, dostęp 10 sierpnia 2024

- [https://www.portalhodowcy.pl/czasopisma/indyk-polski/indyk-polski-archiwum/114-  
indyk-polski-52-3-2015/1816-ochrona-ferm-przed-gryzoniami](https://www.portalhodowcy.pl/czasopisma/indyk-polski/indyk-polski-archiwum/114-indyk-polski-52-3-2015/1816-ochrona-ferm-przed-gryzoniami)
- [118] E.R. Grela, R. Klebaniuk, M. Kwiecień, k. Pietrzak, Fitobiotyki w produkcji zwierzęcej; Przegląd hodowlany nr 3/2013
- [119] I. Skomorucha, E. Sosnówka-Czajka, Wpływ dodatków ziołowych do diety na produktywność i zdrowotność drobiu; Wiadomości Zootechniczne, R.L (2012), 4: 51-55
- [120] E. Studzińska-Sroka, M. Dudek-Makuch, I. Czapska; Zastosowanie roślin w profilaktyce i leczeniu zwierząt hodowlanych; Wiadomości Zootechniczne, R.L (2018), 3: 66-78
- [121] I. Skomorucha, E. Sosnówka-Czajka; Wpływ dodatku ekstraktów z mieszanek ziół do wody pitnej na poziom hormonów stresu we krwi kurcząt brojlerów; Wiadomości Zootechniczne, R.L (2013), 4: 14-18
- [122] I. Skomorucha, E. Sosnówka-Czajka; Wpływ dodatku do wody ekstraktów z mieszanek ziół na wyniki produkcyjne i wybrane parametry biochemiczne krwi kurcząt brojlerów; Wiadomości Zootechniczne, R.LII (2014), 2: 17-24
- [123] S. Doner, P. Szeleszczuk, A. Żbikowski, Kokcydioza kur, Życie Weterynaryjne 2019, 94(7)
- [124] Instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii w sprawie postępowania przy przeprowadzaniu kontroli dobrostanu brojlerów w gospodarstwie na podstawie badania poubojowego. Opracowano w: Główny Inspektorat Weterynarii, Biuro Zdrowia i Ochrony Zwierząt, wersja scalona 30.01.2023r.
- [125] Kieszonkowy podręcznik chowu brojlerów ROSS, Aviagen 2015. Dostęp 10 sierpnia 2024 [https://aviagen.com/assets/Tech\\_Center/BB\\_Foreign\\_Language\\_Docs/Polish/Ross-Broiler-Pocket-Guide-2015-PL.pdf](https://aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Polish/Ross-Broiler-Pocket-Guide-2015-PL.pdf)
- [126] Wskaźniki produkcyjne oraz specyfikacja paszy dla Ross 308, Aviagen 2019. Dostęp 10 sierpnia 2024, <https://modernhatch.eu/wp-content/uploads/2021/01/Ross-308-broiler-PO-AND-NS-2019-PL.pdf>
- [127] <https://www.cenyrolnicze.pl/drob/kurczaki-kury> dostęp 10 sierpnia 2024

## F. DOROBEK NAUKOWY

### Wykształcenie

- 2020 – 2024 Doktorat wdrożeniowy w Szkole Doktorskiej Nauk Ścisłych na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem prof. UAM dr hab. Radosława Pankiewicza, temat pracy: Opracowanie środków poprawiających dobrostan drobiu opartych o ekstrakty z biomasy roślinnej.
- 2004 – 2006 Studia drugiego stopnia (kontynuacja). Praca magisterska wykonywana w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej pod kierunkiem prof. dr hab. Włodzimierza Grajka, temat pracy: Optymalizacja pożywki dla biosyntezy streptokinazy przez *Streptococcus equisimilis* H46A metodą powierzchni odpowiedzi.
- 2001 – 2004 Studia pierwszego stopnia - Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Kierunek Biotechnologia, temat pracy: Probiotyki: Nowe spojrzenie na mikroflorę jelitową.

### Doświadczenie zawodowe

- Od 2024 Członek Zarządu Przedsiębiorstwa Badawczo-Wdrożeniowego Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o. o.
- Od 2019 Dyrektor ds. Badań i Rozwoju w Przedsiębiorstwie Badawczo-Wdrożeniowym Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o. o.
- 2014 – 2019 Kierownik Laboratorium Badawczego – w wyniku fuzji Laboratorium Mikrobiologicznego oraz Laboratorium Technologicznego w Przedsiębiorstwie Badawczo-Wdrożeniowym Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o. o.
- 2009 – 2014 Kierownik Laboratorium Mikrobiologicznego w Przedsiębiorstwie Badawczo-Wdrożeniowym Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o. o.
- 2006 – 2009 Specjalista ds. Mikrobiologii w Przedsiębiorstwie Badawczo-Wdrożeniowym Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o. o.
- 2005 – 2006 Praktyka studencka, a następnie wolontariat w Zakładzie Diagnostyki i Immunologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii w Poznaniu

## Projekty

- 07/2018 – 09/2020    Udział, a następnie kierowanie projektem pt. Nowoczesne, ekologiczne środki pielęgnacyjne dla zwierząt oparte o surowce naturalne, finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu Projekty B+R przedsiębiorstw, 1/1.1.1/2018 Szybka ścieżka dla MŚP (POIR.01.01.01-00-0215/18)
- 02/2021 – 12/2023    Kierowanie projektem pt. Opracowanie środków poprawiających dobrostan drobiu opartych o ekstrakty z biomasy roślinnej, finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu Projekty B+R przedsiębiorstw, 7/1.1.1/2020 Szybka ścieżka – Agrotech (POIR.01.01.01-00-2176/20).

## Publikacje naukowe

1. J. Adamska, R. Pankiewicz, Nowy rodzaj powłoki podłogowej w kurnikach, zaprojektowany w celu optymalizacji wskaźników fizykochemicznych podczas chowu drobiu, *Przemysł Chemiczny*, 103/9 (2024) 764-767.
2. Artykuły popularnonaukowe w *Kwartalniku Chemicznym Prawo i Wiedza* wydawanym przez Doradztwo Techniczne THETA:
  - J. Adamska, Czystość mikrobiologiczna produkcji = czysty zysk, 01/2018
  - J. Adamska, Francuski sposób oceny skuteczności biobójczej zamgławiania, 02/2018
  - J. Adamska, ISO/ICE 17025 – plusy i minusy posiadania laboratorium z normą, 01/2019
  - J. Adamska, Wirusów nie można zabić, 04/2020

## Patenty

1. J. Adamska, E. Depczyńska, M. Szymańska, K. Własińska, Środek izolujący dla skażeń pochodzących z poprzedniego cyklu hodowli drobiu i zwierząt oraz sposób otrzymywania środka izolującego dla skażeń pochodzących z poprzedniego cyklu hodowli drobiu i zwierząt, Zgłoszenie patentowe nr P.444029.
2. J. Adamska, A. Błaszczuk, E. Depczyńska, K. Własińska, Środek o właściwościach ochronnych i kondycjonujących, przeznaczony do pielęgnacji sierści zwierząt, w szczególności psów, Patent nr 245303.

## Wystąpienia ustne

1. Witkowska, J. Adamska, R. Pankiewicz, J. Żebrowska, D. Murawska, The effectiveness of plant biomass extract coating preparation on the air quality in poultry houses, The 21st International Society for Animal Hygiene (ISAH) Conference, Chiang Mai (Tajlandia) 18-20 września 2024.
2. J. Adamska, R. Pankiewicz, Development of a polymer coating for the surface of the chicken coops enriched with herbal oils and extracts, X Międzynarodowa Konferencja: 10th Polish-Kazakh meeting: Relationship between chemistry and biology, Poznań 26 czerwca 2024.
3. J. Adamska, R. Pankiewicz, Usage of plant extracts in development of eco-friendly systems for poultry farms, VII Międzynarodowa Konferencja: 7th Polish-Kazakh Meeting, Poznań 6 lipca 2021.
4. J. Adamska, A. Błaszczuk, B. Messyasz, R. Pankiewicz, B. Łęska, Algae extracts in animal care cosmetics, V Międzynarodowa Konferencja: 5th Polish-Kazakh Meeting Relationship between Chemistry and Biology, Poznań 26 czerwca 2019.

## Plakaty

1. J. Adamska, A. Błaszczuk, Wykorzystanie substancji naturalnych pozyskanych w procesie ekstrakcji glonów w kosmetykach nowej generacji, Ogólnopolska Konferencja Naukowa X Forum Młodych Naukowców „Nauki przyrodnicze i medyczne”, Lublin 1 – 2 grudnia 2023.
2. J. Adamska, R. Pankiewicz, Analiza wydajności destylacji olejków eterycznych z roślin zielarskich ze wstępną obróbką ultradźwiękami, 46 Międzynarodowe Seminarium Naukowo-Techniczne Chemistry of Agriculture, Karpacz 20 – 23 listopada 2022.
3. J. Adamska, Opracowanie środków poprawiających dobrostan drobiu opartych o ekstrakty z biomasy roślinnej, Ogólnopolska Konferencja Naukowa IX Forum Młodych Naukowców Nauki przyrodnicze i medyczne, Lublin 10 września 2022. Plakat otrzymał II miejsce w konkursie organizowanym podczas Konferencji.
4. J. Adamska, R. Pankiewicz, Opracowanie środków poprawiających dobrostan drobiu opartych o ekstrakty z biomasy roślinnej, 45. Międzynarodowe Seminarium Naukowo – Techniczne Chemistry for Agriculture, Karpacz 21 – 24 listopada 2021.
5. B. Łęska, J. Adamska, A. Błaszczuk, Ł. Tabisz, R. Pankiewicz, B. Messyasz, Zastosowanie ekstraktów glonowych w kosmetykach pielęgnacyjnych dla zwierząt, 44.



Międzynarodowe Seminarium Naukowo – Techniczne Chemistry for Agriculture,  
Karpacz 24 – 27 listopad 2019.

**Inna działalność**

Od 2021      Członkostwo w Polskim Towarzystwie Chemicznym

Od 2018      Jako przedstawiciel Acrylmed Sp. z o.o. założycielstwo i członkostwo w  
European Association for Active Substances

## G. OPIS WDROŻENIA

Wdrożenie wyników pracy doktorskiej zostało zrealizowane w Przedsiębiorstwie Badawczo-Wdrożeniowym Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o.o. z siedzibą w Śremie, gdzie jestem zatrudniona na stanowisku Dyrektora ds. Badań i Rozwoju.

Praca spełniła wymagania wybranej Krajowej Inteligentnej Specjalizacji (KIS) tj. postęp biologiczny w produkcji roślinnej i zwierzęcej, podkategoria innowacyjne technologie, procesy i produkty sektora rolno-spożywczego i leśno-drzewnego, ponieważ obejmuje innowacyjne metody pozwalające na poprawę dobrostanu i ochronę zdrowia zwierząt hodowlanych. W ramach projektu dobrostan wyrażony jest takimi parametrami jak zmniejszona śmiertelność drobiu, przyrost masy ciała poszczególnych osobników, zmniejszenie występowania chorób takich jak kokcydioza czy choroby podszwy stóp drobiu. Przedsiębiorstwo Badawczo-Wdrożeniowe Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o.o. jest firmą badawczo produkcyjną, istniejącą od 1991r. Swoim odbiorcom oferuje szeroki asortyment produktów dla różnych branż przemysłu oraz produktów codziennego użytku: preparaty dla cukrowni, do mycia i dezynfekcji basenów, do uzdatniania wody, dla rolnictwa i ogrodnictwa, dla motoryzacji, preparaty weterynaryjne, owadobójcze, do pielęgnacji zwierząt domowych, preparaty do mycia i dezynfekcji powierzchni i urządzeń, produkty chemii gospodarczej. Podstawą działalności jest opracowywanie własnych receptur w odpowiedzi na wymagania rynku, ich wdrażanie w cyklu produkcyjnym oraz wprowadzanie do oferty handlowej.

Wdrożenie odbywa się na poziomie produkcyjnym i handlowym. Po stronie produkcyjnej została przygotowana dokumentacja jakościowa opisująca produkt, surowce wchodzące w jego skład oraz opis technologiczny produkcji. Została wyprodukowana pierwsza partia produkcyjna w ilości 100 kg produktu, w celu potwierdzenia parametrów przy powiększaniu skali. Wszystkie parametry z kontroli jakości były zgodne z założeniami, produkt otrzymał certyfikat jakości i został przeznaczony do rozlewu. Opakowania docelowe to kanistry 10 L.

Działania w dziale handlowym skupione są na rozpowszechnianiu informacji o projekcie i produkcie będącym jego wynikiem. Są to m.in. działania marketingowe, reklamowe, demonstracje i testy u większej ilości klientów. Produkt otrzymał nazwę handlową HERBAL PROTECT COATING i dystrybuowany jest bezpośrednio do hodowców drobiu oraz do profesjonalnych usługodawców sprawujących pieczę nad fermami kurzymi. We współpracy z jednym z dystrybutorów została zaprojektowana etykieta produktu (Rys. 35), ulotka informacyjna oraz strona internetowa reklamująca produkt <https://herbalprotect.pl/>.

**HERBAL PROTECT COATING**

ACRYLMED®

**SKUTECZNOŚĆ W PROFILAKTYCE KOKCYDIOZY W HODOWLI DROBIU**

Preparat powłokowy przeznaczony do malowania i oprysku posadzek i ścian w kurnikach lub innych pomieszczeniach hodowlanych, mający na celu odcięcie skażeń jakie mogły pozostać w mikrouszkodzeniach podłoża po poprzednim cyklu hodowlanym. Wpływa korzystnie na wilgotność i zapalenie w kurniku, blokuje wtórne skażenia ściółki, w tym oocystami. Zawiera roślinne olejki eteryczne mające właściwości immunostymulacyjne, przez co wpływa na ogólny dobrostan drobiu.

**Sposób użycia:**  
Stosować bezpośrednio przed zaścienieniem kurnika, na czystą i zdezynfekowaną powierzchnię. Zmieszać produkt z wodą w stosunku 1:9 (10L produktu + 90L wody) i uzyskanym roztworem wymalować lub opryskać posadzkę i ściany kurnika (do wysokości 50cm). Wydajność nakładania to ok. 50ml/m<sup>2</sup>. Pozostawić do wyschnięcia (min. 1h). Po wyschnięciu rozłożyć ściółkę i prowadzić standardowe czynności przygotowujące do obsady kurnika. W razie potrzeby można zastosować wyższe stężenie produktu – 30L produktu do 70L wody.

Przechowywać w oryginalnym opakowaniu, w temp. 5-30C, z dala od źródeł ciepła. Chronić przed dziećmi.

Najlepiej użyć przed: na opakowaniu  
Nr partii: na opakowaniu

**PRODUCENT:**  
Przedsiębiorstwo Badawczo - Wdrożeniowe Acrylmed dr Ludwika Własińska Sp. z o.o.  
ul. Mickiewicza 33, 63-100 Śrem , tel. 61 28 35 541 [www.acrylmed.com.pl](http://www.acrylmed.com.pl)

**DYSTRYBUTOR:**  
Centrum DDD Sp. z o.o.  
ul. Jarzębinowa 24, 11-036 Stawiguda [www.centrumddd.pl](http://www.centrumddd.pl)  
[www.herbalprotect.pl](http://www.herbalprotect.pl)

**10L**



Rys. 35. Etykieta produktu HERBAL PROTECT COATING.

Do końca sierpnia 2024r. zostało wyprodukowane i sprzedane 900 kg produktu. Kolejne działania reklamowe przewidują szereg szkoleń dla handlowców i użytkowników, w tym przy udziale Polskiego Stowarzyszenia Pracowników Dezynfekcji, Dezynsekcji i Deratyzacji.