

Mgr inż. Kinga Śpitalniak

- **Dziedzina:** Nauki rolnicze
- **Dyscyplina:** Zootechnika
- **Data otwarcia przewodu doktorskiego:** 23.09.2014
- **Temat:** Wpływ wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na wskaźniki fizjologiczne i efektywność odchowu cieląt
- **Promotor:** dr hab. inż. Robert Kupczyński, prof. nadzw.
- **Recenzenci:** 1) prof. dr hab. inż. Zygmunt Kowalski
2) dr hab. Tomasz Mituniewicz

STRESZCZENIE

Celem badań była ocena wpływu oleju lnianego oraz mieszaniny estrów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych otrzymanych z oleju lnianego dodawanych do preparatu mlekozastępczego na parametry biochemiczne, immunologiczne, status antyoksydacyjny krwi oraz parametry produkcyjne i zdrowie cieląt. W badaniach *in vitro* określono wpływ polifenoli zawartych w liofilizowanych jabłkach na stabilność oleju lnianego i estrów etylowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych uzyskanych z oleju lnianego.

Doświadczenie przeprowadzono w dwóch etapach. W etapie I opracowano preparaty zawierające olej lniany lub estry etylowe z dodatkiem liofilizowanych jabłek. Preparaty poddano testom przechowalniczym podczas, których oznaczono całkowitą zawartość polifenoli, aktywność przeciwutleniającą, liczbę nadtlenkową, liczbę kwasową oraz liczbę jodową. Badania te wykonano w dniu rozpoczęcia testu oraz po 7, 14, 28, 56 oraz 84 dniach. Oznaczono również profil kwasów tłuszczowych, zawartość kwasu C 18:3 *n*-3 oraz ilość wiązań podwójnych metodą GC-MS oraz NMR. Etap II obejmował zastosowanie preparatów tłuszczowych w żywieniu cieląt. Badania wykonano na 27 cielętach rasy holsztyńsko-fryzyjskiej przydzielonych do trzech grup (n=9): Kontrola – bez dodatku tłuszczowego, Estrы - otrzymująca estry etylowe (10g/d) + liofilizowane jabłka (25g), oraz Olej lniany – otrzymująca olej lniany (10g/d) + liofilizowane jabłka (25g). Doświadczenie trwało od 14 do 42 dnia życia cieląt. Badania laboratoryjne krwi wykonano w 14, 21, 28, 35 i 42. dniu życia cieląt. W krwi oznaczono parametry hematologiczne, biochemiczne, immunologiczne, status antyoksydacyjny oraz profil kwasów tłuszczowych. W okresie badań prowadzono obserwacje kliniczne, oceniono żywotność, odwodnienie, konsystencję kału oraz rejestrowano masę ciała i pobranie paszy.

Estry etylowe charakteryzowały się wyższą zawartością C 18:0 oraz C 18:2 *n*-6, natomiast niższą C 16:0, C 16:1, C 18:1 *n*-9, C 18:3 *n*-3 w porównaniu do oleju lnianego. Bez względu na dodatek liofilizowanych jabłek, stwierdzono niewielkie obniżenie zawartości kwasu ALA w estrach oraz w oleju lnianym w okresie przechowywania. Stwierdzono redukcję ogólnej zawartości polifenoli, która w dniu zakończenia badań wynosiła 71,75% w próbkach liofilizowanych jabłek zawierających olej lniany i 70,91% w przypadku próbek z udziałem estrów. Współczynnik korelacji między stężeniem polifenoli a aktywnością przeciwutleniającą oznaczoną różnymi metodami wynosił 0,72 (DPPH), 0,42 (FRAP) i 0,69 (ABTS). Dodatek liofilizowanych jabłek spowolnił wzrost liczby nadtlenkowej w estrach etylowych. W próbkach zawierających estry etylowe wykazano nieznaczne zmiany poziomu liczby jodowej podczas trwania testu, podobne zmiany odnotowano w próbkach zawierających dodatek liofilizowanych jabłek. W próbkach oleju lnianego z dodatkiem liofilizowanych jabłek obniżenie liczby jodowej było większe niż w czystym oleju lnianym.

Zastosowanie preparatu z dodatkiem estrów etylowych miało korzystny wpływ na wzrost dobowych przyrostów masy ciała, tempo wzrostu (GR), wskaźnik efektywności wykorzystania paszy FE. Cielęta otrzymujące dodatek preparatu z olejem lnianym pobierały mniejszą ilość paszy starterowej. W badaniu klinicznym stwierdzono dobry stan zdrowia wszystkich cieląt podczas całego doświadczenia. Zaobserwowano niższy poziom RBC, HTC HGB oraz wyższy PLT w grupach doświadczalnych. W grupach otrzymujących preparaty stwierdzono niższy ($P \leq 0,01$) poziom glukozy i NEFA. Zastosowanie preparatu z dodatkiem estrów etylowych istotnie ($P \leq 0,01$) obniżyło stężenie triglicerydów, cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL w surowicy cieląt. Zmiany aktywności ALT, AST i ALP związane były z wiekiem cieląt oraz z zastosowaną suplementacją. Preparaty z dodatkiem oleju lnianego oraz estrów etylowych obniżyły średnią aktywność ALT i AST, natomiast spowodowały wzrost aktywności ALP. Stwierdzono istotny ($P \leq 0,01$) spadek poziomu Ca i P w surowicy krwi cieląt otrzymujących preparat z olejem lnianym. Odnotowano spadek poziomu TAS, SOD i GPx w wyniku zastosowania preparatu z estrami etylowymi. Dodatek preparatu z udziałem oleju lnianego spowodowało wzrost poziomu TAS i GPx w surowicy krwi cieląt. Preparat z estrami etylowymi miał pozytywny wpływ na obniżenie TNF- α . Zastosowane dodatki nie miały wyraźnego wpływu na koncentrację immunoglobulin w surowicy krwi oraz parametry równowagi kwasowo-zasadowej. Preparaty z udziałem oleju lnianego lub estrów etylowych obniżyły koncentrację nasyconych kwasów tłuszczowych (C 16:0, C 18:0, C 18:1) w surowicy krwi cieląt. Estry etylowe spowodowały istotny wzrost koncentracji kwasu α -linolenowego.

Uzyskane dane wskazują na możliwość szerszego wykorzystania liofilizowanych jabłek do poprawy stabilności produktów zawierających wielonienasycone kwasy tłuszczowe (olejów, estrów), a tym samym istnieją realne możliwości wytworzenia tego rodzaju preparatów dla przemysłu paszowego. Zastosowane w żywieniu cieląt preparaty, miały korzystny wpływ na parametry produkcyjne oraz fizjologiczne. Konieczne są badania szczegółowe i długoterminowe, pozwalające określić wpływ preparatów zawierających kwasy *n-3* oraz polifenole na przemiany metaboliczne i rozwój cieląt w tym np. rozwój tkanki gruczołowej i tłuszczowej wymienia jałówek.

ABSTRACT

The aim of the study was estimation of influence of linseed oil and the mixture of esters of polyunsaturated fatty acids received from linseed oil, added to milk replacer formulation, on biochemical, immunological and anti-oxidation status of the blood, production parameters and health of the calves. In the in vitro survey, there was described the influence of polyphenols from lyophilized apples on stability of linseed oil and esters of polyunsaturated fatty acids obtained from the linseed oil.

The survey was conducted in two stages. At the first stage there was elaborated formulations that include the linseed oil and/or ethyl esters with addition of lyophilized apples. In formulations, during simulated storage conditions, were marked the total phenolic content, antioxidant activity, peroxide value, acid value and iodine value. The survey were executed at the date of commencement of the test and then after 7th, 14th, 28th, 56 and 84th day. There was also provided the profile of fatty acids content of C 18:3 *n-3 acid* (by GC-MS and NMR methods) and the number of bilateral connections. Stage II has however embraced application of fat-based preparations in breeding of Holstein-Frisian breed submitted to three following groups: control group without fat-adding (n=9), (n=9) Esters – receiving ethyl esters (10g/d) with lyophilized apples (25g), and Linseed oil (n=9) – receiving linseed oil (10g/d) with lyophilized apples (25g). The survey lasted from 14th to 42nd day of life of the calves. Laboratory tests of the blood were conducted in 14th, 21st, 28th, 35th i 42nd. Day of life of the calves. In the blood there were marked haematological, biochemical, immunological parameters, antioxidant status and fatty acids profile. During the survey there were conducted the clinical observations, there was estimated vitality, dehydration, consistency of faeces, registered body mass and the feed intake.

Ethyl esters were characterized by higher content of C 18:0 and C 18:2 *n-6*, however lower content of C 16:0, C 16:1, C 18:1 *n-9*, C 18:3 *n-3* in compare to linseed oil. Regardless addition of lyophilized apples, there was confirmed, a marginal decrease of ALA acid in esters and linseed oil in duration of storage. There was confirmed reduction of the general content of polyphenols, which at the day of completion of the survey was 71,75% in lyophilized apples samples including linseed oil and 70,91% in case of samples that include esters. The coefficient of correlation between concentration of polyphenols and antioxidant activity marked by different methods was 0,72 (DPPH), 0,42 (FRAP) i 0,69 (ABTS). Addition of lyophilized apples slowed down increase of peroxide value in ethyl esters. In the

samples including ethyl esters there was indicated the marginal changes of the level of iodine value in the course of the survey, alike in the samples including addition of lyophilized apples. In the samples of linseed oil with addition of lyophilized apples decrease of iodine value was higher than in pure linseed oil.

Supplementation with formulation with ethyl esters had a positive influence on average daily gain of body, growth rate (GR) and feed efficiency (FE). Intakes of starter feed was lower in case of calves receiving formulation with linseed oil. In clinical survey there were found a good status of health in case of all calves during the experiment. In experimental groups, there was observed the lower level of RBC, HTC, HGB and higher in case of PLT. In case of groups receiving experimental formulations, there was found a lower concentration of glucose and NEFA. Applications the formulations with ethyl esters had a significant influence ($P \leq 0,01$) on lower concentration of triglycerides, total cholesterols and LDL fraction in blood serum of calves. The changes of ALT, AST and ALP activity were associated with the age of calves and with the kind of supplementation. Formulations with linseed oil or ethyl esters had an influence on decreased of ALT and AST activity, however increased of ALP activity. There was found a significant ($P \leq 0,01$) decreased concentration of the Ca and P in blood serum of calves receiving formulations with linseed oil. There were noted decrease the level of TAS, SOD and GPx after supplementation formulation with ethyl esters. Formulations including linseed oil had an influence on decreased of TAS and GPx in blood serum. Formulations including ethyl esters had a positive influence on decrease of TNF- α . The applied supplementation there had no significant influence on concentration of immunoglobulins in blood serum and acid – base balanced parameters. Preparations with addition of linseed oil and/or ethyl esters have lowered concentration of saturated fatty acids (C 16:0, C 18:0, C 18:1) in serum o the blood of calves. Ethyl esters caused the relevant increase of α -linolenic acid.

Obtained data show the possibility of wider usage of lyophilized apples for improvement of stability of the products that include polyunsaturated fatty acids (of the oils and esters) and at the same time there are the real possibilities of development of such kind of preparations for feeding industry. Preparations used in feeding of calves had a beneficial influence on production and physiological parameters. There are however necessary a long-term and detailed surveys allowing to estimate the influence of preparation including *n-3* acids and polyphenols on metabolic transformations and development of calves, among others development of adipose and gland tissue of udders of heifers.

Kinga Spitelnick