Oddziaływanie przemysłu miedziowego na kształtowanie się wybranych metali ciężkich i wskaźników biochemicznych we krwi krów mlecznych*)

ROMAN KOŁACZ, ZBIGNIEW DOBRZAŃSKI, ROBERT KUPCZYŃSKI,
PRZEMYSŁAW CWYNAR, SEBASTIAN OPALIŃSKI, KRYSZYNA POGODA-SEWERNIAK

Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Chelmońskiego 38C, 51-630 Wrocław

Otrzymano 16.06.2016

Zaakceptowano 13.12.2016

Kołacz R., Dobrzański Z., Kupczyński R., Cwynar P., Opaliński S., Pogoda-Sewerniak K.

Impact of the copper industry on the content of selected heavy metals and biochemical indicators in the blood of dairy cows

Summary

The aim of the study was to compare the levels of selected blood parameters of dairy cattle in an area with copper industry (LGOM, area I, $n = 21$) and the Wrocław agricultural suburban area (area II, $n = 20$). The concentration of heavy metals Cd, Cu, Pb and Zn (atomic absorption spectrometry method) and Hg (spectrometric method) was analysed in full blood. However, other parameters were determined in the blood serum: Ca, P (inorganic), Mg and Fe (photometric method), aspartate aminotransferase (AST) – an enzyme test in accordance with the recommendations of the IFCC, lactate dehydrogenase (LDH) – the test optimized according to the guidelines DGKC, gamma-glutamyl transferase (GGT) – kinetic photometric test. Biochemical parameters in blood serum were determined with the use of an automatic biochemical analyser type Pentra 400 and reagents of Horiba ABX (France). Furthermore, the analysis covered: the total antioxidant capacity (TAS) – colorimetric assay based on the ABTS and peroxidase reaction as well as the activity of glutathione reductase (GR) – colorimetric test based on the reduction of glutathione (GSSG) in the presence of NADPH. These parameters were determined with the use of the same analyser and commercial assays kit of Randox company. The Cd concentration in both areas was very low and did not exceed $1.65 \mu\text{g/l}$, while the Pb concentration in the LGOM region was 0.021 mg/l and 0.031 mg/l in area II. The level of mercury in area I in both regions was similar (about $0.03 \mu\text{g/l}$). The copper content was significantly higher in area I than in region II (1.67 mg/l and 0.72 mg/l respectively), which indicates the possibility of industry impact on copper accumulation in cows. The Zn concentration was significantly lower in the LGOM region than in area II (2.50 mg/l) in contrast to Cu. The AST activity was significantly lower in area I (66.56 U/l) than in area II (75.49 U/l). Similar findings were reported with GGT activity (lower concentration in area I – 21.42 U/l). The LDH levels in animals were similar in both areas (2015.0 and 1976.2 U/l respectively), as were TAS (1.12 and 1.16 mmol/l) and GR (422.4 and 429.3 U/l). Mean activity of AST and GGT in cows were present in both areas, reaching ranges of the reference values, but the activity of LDH was significantly higher. There are no reference values for TAS and GR. Similar concentrations of Ca, Mg and Fe were noticed in both regions during the study, while the content of P was significantly higher in area I. The mean concentration of detected macroelements were in the reference ranges. The analysis proved that the copper industry does not negatively affect the content of biochemical parameters in the blood of dairy cows.

Keywords: copper industry, cows, blood, heavy metals, biochemical parameters

W Polsce istnieje rozwinięty przemysł miedziowy, a Legnicko-Głogowski Okręg Miedziowy (LGOM) na-

*) Praca wykonana w ramach badań statutowych Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz współfinansowana ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) na lata 2014-2018 dla Wrocławskiego Centrum Biotechnologii.

leży do największych w świecie. Wydobyciu i przetworstwu miedzi (kopalnie i huty) towarzyszą procesy emitujące do środowiska liczne zanieczyszczenia chemiczne, np. odpady poflotacyjne rud miedzi są składowane w ogromnym obiekcie inżynierskim „Żelazny Most” (Obiekt Unieszkodliwiania Odpadów Wydobywczych

– OUOW), zajmującym powierzchnię ok. 1400 ha, a objętość zmagazynowanych w nim odpadów to ok. 525 mln Mg (12, 26). Zawierają one wiele metali toksycznych, w tym ołów, kadm, arsen i rtęć oraz w bardzo różnych stężeniach związki miedzi, cynku, żelaza, siarki, potasu i sodu. Poprzez zachodzące procesy eoliczne i hydrologiczne substancje te mogą być przemieszczane do środowiska rolniczego, zanieczyszczając glebę, rośliny, w tym pasze dla zwierząt (4, 25, 31). Metale toksyczne (w tym ciężkie) łatwo przechodzą do organizmu, niekiedy nadmiernie kumulują się w tkankach i narządach, np. w mięśniach, krwi, wątrobie czy sierści zwierząt (15, 23, 40, 46), a także w mleku krów (13, 14, 22) czy jajach drobiu (4, 11, 12), stwarzając pewne zagrożenie dla zdrowia człowieka (6, 9, 21).

W dostępnym piśmiennictwie mało jest danych nt. wpływu zanieczyszczeń środowiskowych, w tym metali toksycznych na metabolizm wątroby krów (np. aktywność enzymów AST, LDH i GTP) czy enzymatyczne wskaźniki bariery przeciwutleniającej, np. TAS i GR. Pewne zależności między metalami ciężkimi a wybranymi wskaźnikami biochemicznymi u bydła są zbadane, dotyczą głównie wpływu Cd i Pb (18, 29, 32, 45).

W rejonie LGOM, oprócz przemysłu miedziowego, funkcjonuje rolnictwo, ponieważ występują dobrej jakości gleby, uzyskiwane są wysokie plony roślin uprawnych, a w gospodarstwach rolnych utrzymywane są różne gatunki zwierząt, w tym bydło mleczne. Poza nielicznymi danymi (4, 12, 14, 24, 25, 32) brak jest szerszych opracowań na temat oddziaływania przemysłu miedziowego (w tym OUOW „Żelazny Most”) na zdrowie i produktywność zwierząt oraz jakość produktów zwierzęcego pochodzenia pod kątem akumulacji zanieczyszczeń chemicznych, w tym metali toksycznych. Brakuje danych nt. jego wpływu na fizjologiczne parametry krwi bydła.

Celem badań było określenie poziomu zawartości metali ciężkich i koncentracji wybranych wskaźników biochemicznych we krwi bydła mlecznego utrzymywanego w rejonie oddziaływania przemysłu miedziowego, w tym obiektu unieszkodliwiania odpadów wydobywczych „Żelazny Most”.

Materiał i metody

Przeprowadzono badania monitoringowe krwi krów mlecznych utrzymywanych w rejonie oddziaływania przemysłu miedziowego, w tym OUOW „Żelazny Most” (gminy: Rudna, Polkowice, Grębocice, zwane rejonem I, $n = 21$), a także z rejonu kontrolnego (II), z rolniczych okolic Wrocławia ($n = 20$). W rejonie II nie ma uciążliwych dla środowiska zakładów przemysłowych, nie przechodzą trasy drogowe o dużym obciążeniu (teren nadodrzańskie). Wybrane do badań krowy (mieszające z dominującym dolewem krwi rasy holsztyńsko-fryzyskiej $> 75\%$, w wieku 3-5 lat, o wydajności dziennej ok. 10-15 l (rejon I) oraz 15-20 l (rejon II) były utrzymywane w małych stadach, korzystały z pastwisk i okólników, w fazie pełnej laktacji, klinicznie zdrowe, badane przez lekarza weterynarii. W żywieniu krów z rejonu I dominowały tradycyjne pasze objętościowe, z dodatkiem śruty zbożowej i dodatków mineralno-witaminowych, na-

tomiast w rejonie II żywienie oparte było o system PMR (partially mixed ration) i pasze treściwe (automaty paszowe firmy DeLaval). Krew do badań pobrano jednorazowo z żyły jarzmowej, w okresie jesiennym (2015 r.). Zgodę na przeprowadzone badania wydała II Lokalna Komisja Etyczna ds. Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu (uchwała nr 74/2015).

Metale ciężkie (Cd, Cu, Pb i Zn) oznaczono w pełnej krwi, którą wcześniej poddano procesowi mineralizacji w piecu mikrofalowym firmy Milestone (Włochy). Analizy wykonano metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA) w akredytowanym laboratorium chemicznym. Oznaczenie zawartości rtęci całkowitej (Hg) wykonano metodą spektrometryczną przy użyciu automatycznego analizatora AMA-254 (firmy Tesla). Czulość aparatury, czyli najmniejsza oznaczalna ilość Hg – 0,2 ng.

Badania biochemiczne obejmowały oznaczenia w surowicy krwi: poziomu aminotransferazy asparaginianowej (AST) – testem enzymatycznym (detekcja UV) bez fosforanu pirydoksalu, zgodnie z zaleceniami Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej (IFCC), dehydrogenazy mleczanowej (LDH) – testem zoptymalizowanym wg wytycznych Niemieckiego Towarzystwa Chemii Klinicznej (DGKC), gamma-glutamylotranspeptydazy (GGT) – zmodyfikowanym kinetycznym testem fotometrycznym. Ponadto oznaczono: całkowitą zdolność antyoksydacyjną (TAS) – testem kolorymetrycznym, opartym na reakcji ABTS (2,2'-Azyno-di[3-etylobenzotiazoliny siarczanu]) z peroksydazą, oraz aktywność reduktazy glutationowej (GR) – testem kolorymetrycznym, opartym na redukcji glutationu (GSSG) w obecności NADPH.

Makroskładniki w surowicy krwi oznaczono: wapń (Ca) – testem fotometrycznym z użyciem kompleksonu ortokrezoloftaleinowego (OPC), fosfor nieorganiczny (P) – testem UV z zastosowaniem fosfomolibdenianu, magnez (Mg) – testem fotometrycznym z zastosowaniem błękitu ksylidylowego, żelazo (Fe) – testem fotometrycznym z użyciem ferrozyny.

Parametry biochemiczne krwi (enzymy, makroelementy) oznaczono przy użyciu automatycznego analizatora biochemicznego Pentra 400 firmy Horiba ABX (Francja), stosując odczynniki tej firmy, zaś w przypadku TAS i GR – odczynniki firmy Randox (Wielka Brytania).

Wyniki badań opracowano statystycznie za pomocą programu Statistica 10. Obliczono wartości średnie, odchylenia standardowe, a istotność różnic pomiędzy rejonami oszacowano przy pomocy testu t-Studenta, przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i omówienie

Metale ciężkie. Zawartość pierwiastków toksycznych we krwi jest dobrym wskaźnikiem oddziaływania środowiska na organizmy zwierzęce, szczególnie w terenach uprzemysłowionych czy zdegradowanych. Istnieją liczne dane wskazujące na wpływ metali ciężkich emitowanych do środowiska na wskaźniki fizjologiczne, stan zdrowia zwierząt oraz jakość surowców i produktów zwierzęcego pochodzenia (20, 21, 45, 46), dlatego też od szeregu lat, szczególnie w UE, prowadzone są różne działania legislacyjne mające na celu ten wpływ ograniczyć (27).

Średnie zawartości badanych metali ciężkich we krwi (pełnej) krów mlecznych z rejonu LGOM (rejon I) oraz kontrolnego (okolice Wrocławia, rejon II) zesta-

wiono w tab. 1. Stężenie Cd w obu rejonach było bardzo niskie, nie przekraczało bowiem 1,65 µg/l, natomiast zawartość ołowiu w rejonie LGOM wynosiła 0,021 mg/l oraz więcej – 0,031 mg/l w rejonie II, ale nie były to różnice statystycznie istotne, a ponadto wartości te są relatywnie niskie. Checkley i wsp. (9) podają, że poziom ołowiu we krwi (pełnej) u krów do 0,1 mg/l jest poziomem uznawanym za normalny, od 0,1 do 0,3 mg/l, traktowany jako poziom podwyższony, ale wciąż normalny, zaś powyżej 0,35 mg/l jako poziom toksyczny. Zastanawiać może bardzo wysokie stężenie Pb w krwi krów z rejonów zanieczyszczonych Nigerii, które wynosiło nawet 10,6 mg/l (34). W rejonach przemysłowych północnej Grecji (kopalnie, huty, przetwórstwo metali) stwierdzono w krwi krów też dość wysoki poziom ołowiu, bo od 0,144 do 0,761 mg/l oraz kadmu 0,18-0,741 mg/l, podczas gdy w rejonach niezanieczyszczonych średnie zawartości wyniosły średnio dla Pb 0,082 mg/l i Cd 0,064 mg/l (28). W okolicy huty ołowiu i cynku w Indiach średni poziom Pb w pełnej krwi krów wynosił aż 1,43 ppm, zaś Cd – 0,11 ppm (17). W kontekście tych danych uzyskane wyniki analiz Pb i Cd należy uznać za niskie.

Stężenie rtęci kształtowało się w obu rejonach podobnie (ok. 0,03 µg/l), bez istotnych różnic między rejonami. Dobrzański i wsp. (15) stwierdzili w terenach zurbanizowanych (okolice Wrocławia) maksymalne stężenie Hg w krwi pełnej krów 0,002 mg/l (średnio 0,95 µg Hg/l), zaś Alonso i wsp. (3) u starszych krów w rolniczej Galicji (Hiszpania) tylko 1,3 µg/l, zaś w uprzemysłowionej Asturii 2,76 µg/l. Podobnie Palheta i Taylor (36) u krów w okolicy kopalni złota w Brazylii określili to stężenie na średnio aż 11,7 µg Hg/l. Stężenie tego pierwiastka może być zmienne, zależy od wielu czynników środowiskowych, w tym bliskości źródeł emisji rtęci, a także od wieku i systemu utrzymania krów (4, 12, 15).

Zawartość miedzi w rejonie I wynosiła (1,67 mg/l), była istotnie wyższa w porównaniu do rejonu II (0,72 mg/l), co mogłoby wskazywać na wpływ przemysłu miedziowego na kumulację tego pierwiastka u krów. Stężenie Zn było istotnie niższe w strefie LGOM w porównaniu do rejonu II (2,50 mg/l), a więc odwrotnie niż w przypadku Cu. Nie analizowano składu diety krów, ale prawdopodobny jest wpływ stosowanych premiksów mineralnych. W licznych publikacjach podawane są różne dane dot. stężenia tych pierwiastków u bydła. W rejonie górniczym Hiszpanii (Galicja) stwierdzono we krwi krów stężenie Cu średnio 0,651 mg/l oraz 2,44 mg Zn/l (2). W rejonie zanieczyszczonego przemysłowego

Tab. 1. Stężenie metali toksycznych w pełnej krwi krów mlecznych ($\bar{x} \pm SD$)

Rejon	Metal				
	Cd µg/l	Cu mg/l	Hg µg/l	Pb mg/l	Zn mg/l
I (n = 21)	1,65 ± 0,11	1,67 ^b ± 0,38	0,31 ± 0,05	0,021 ± 0,09	1,96 ^a ± 0,31
II (n = 20)	1,12 ± 0,09	0,72 ^a ± 0,29	0,29 ± 0,08	0,031 ± 0,021	2,50 ^b ± 0,37

Objaśnienia: a, b – średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie w kolumnach przy $p \leq 0,05$

w Nigerii autorzy podają dla bydła rzeźnego w pełnej krwi Cu: 0,04-2,0 mg/l, zaś Zn: 2,32-12,4 mg/l (34), a więc wielokrotnie więcej w porównaniu do wyników badań własnych. Tomza-Marciniak i wsp. (47) w rejonach Polski zachodniej (tereny nieuprzemysłowione) stwierdzili w surowicy krwi krów mlecznych niskie zawartości Cu – 0,152 oraz Zn – 0,629 mg/l. Natomiast Pavlata i wsp. (37) podają dane z 20 ferm bydła w Czechach, średnie wartości wyniosły w surowicy krwi 10,2-13,6 µmol Cu/l oraz 12,2-18,9 µmol Zn/l, w zależności od wieku i płci. Na kształtowanie się tych parametrów mają też wpływ: pora roku, wydajność dzienna mleka i stan fizjologiczny (ciąża, choroby) (33, 39), ale przede wszystkim skład diety, w tym zawartość w niej przyswajalnych form Cu i Zn (38). Zakres stężeń tych pierwiastków może być bardzo szeroki, dla Cu 5,2-32,8 µmol/l a dla Zn 7,7-46 µmol/l, dlatego też Spolder i wsp. (44) sugerują dla krów mlecznych w 1-2 laktacji referencyjny zakres dla miedzi w surowicy krwi 11,7-12,3 µmol/l, zaś dla cynku 12,8-14,2 µmol/l. Nie ustalono wartości dopuszczalnych lub referencyjnych Cu i Zn w pełnej krwi krów.

Należy dodać, że metale ciężkie, takie jak Cd i Pb nie biorą bezpośrednio udziału w reakcjach redox. Ich toksyczność związana jest przede wszystkim z osłabieniem efektywności głównych antyoksydantów komórki. Dodatkowo metale te uszkadzają mitochondria i pośrednio generują reaktywne formy tlenu. Pierwiastki bezpośrednio zaangażowane w reakcje redox (generują wolne rodniki hydroksylowe) to Cu i Fe (10, 45).

Wskaźniki biochemiczne. Aktywność enzymów w surowicy krwi zależy w dużym stopniu od stanu fizjologicznego zwierząt, w tym stanów chorobowych, diety (żywienia), a także czynników środowiskowych, w tym obecności substancji toksycznych (18, 41, 42, 45). Uzyskane wyniki wskazują na pewne różnice między rejonami badań (tab. 2). Średnia aktywność AST była istotnie niższa w rejonie I (66,56 U/l) w porównaniu z rejonem II (75,49 U/l). Podobne zależności odnotowano w aktywności GGT (istotnie niższa w rejonie I – 21,42 U/l). Natomiast aktywność LDH była podobna u zwierząt w obu rejonach. Nie stwierdzono

Tab. 2. Aktywność wybranych enzymów w surowicy krwi krów mlecznych ($\bar{x} \pm SD$)

Rejon	Enzym				
	AST U/l	LDH U/l	GGT U/l	TAS mmol/l	GR U/l
I (n = 21)	66,56 ± 17,51	1976,2 ± 318,3	21,42 ^a ± 5,14	1,16 ± 0,11	429,3 ± 145,7
II (n = 20)	75,49 ^b ± 18,09	2015,0 ± 653,1	28,41 ^b ± 14,09	1,12 ± 0,08	422,4 ± 60,5
Wartości referencyjne*	58-100	900-1500	22-64	brak	brak

Objaśnienia: a, b – jak w tab. 1, * wg (49)

też różnic statystycznie istotnych dla średnich wartości TAS pomiędzy rejonami (1,12 i 1,16 mmol/l), podobnie nie wystąpiły różnice dla średnich wartości GR między grupami (422,4 i 429,3 U/l).

U krów z obu rejonów średnie aktywności AST i GGT mieściły się w zakresie wartości referencyjnych, natomiast znacznie wyższe one były dla LDH (49). Uzyskane wyniki nie wskazują na uszkodzenia struktur wątroby u krów utrzymywanych w tych rejonach. Marcuk i Filar (30) wskazują na szczególną przydatność oznaczania aktywności GLDH, GGT, AST oraz stężenia bilirubiny w rozpoznawaniu subklinicznych uszkodzeń i zaburzeń czynności wątroby krów w przebiegu syndromu stłuszczenia wątroby. GGT jest enzymem znajdującym się w błonie hepatocytów i nabłonku dróg żółciowych, odgrywających główną rolę w detoksykacji komórek (8). Stwierdzone w badaniach własnych wyższe stężenia AST i GGT w strefie II były prawdopodobnie związane z wyższą wydajnością krów w porównaniu do rejonów z LGOM, chociaż metale ciężkie, np. Pb wykazują istotny wpływ na wzrost aktywności w surowicy AST (i ALT). Nie przejawia takiego działania Cd (45). Z kolei Sobiech i wsp. (43) przy suplementacji wysoko wydajnych krów HF seleninem sodu i witaminą E potwierdzili istotny wzrost GSH-Px, bez wpływu na poziom AST czy GGT. U krów w okresie laktacji (5-15 dni po wycieleniu) podają wartości AST w granicach 86,6-103,75 U/l (wyższe w stosunku do badań własnych) oraz podobne wartości GGT (19,0-24,9 U/l). Istotny wpływ na poziom tych enzymów ma np. zakażenie wirusem opryszczki bydła (BoHV-1) (16). Z kolei infekcja wirusem białaczki bydła istotnie obniża stężenie AST, bez wpływu na poziom LDH (1).

Enzymatyczną barierę przeciwutleniającą tworzy szereg enzymów, w badaniach własnych oznaczono całkowitą zdolność antyoksydacyjną (TAS) oraz aktywność reduktazy glutationowej (GR). W warunkach fizjologicznych enzymy współdziałają ze sobą, z tego też powodu inaktywacja któregośkolwiek z tych enzymów powoduje osłabienie obrony antyoksydacyjnej przed reaktywnymi formami tlenu (5, 7, 10).

Nie stwierdzono różnic statystycznych w całkowitej zdolności antyoksydacyjnej (TAS) oraz aktywności reduktazy glutationowej (GR) pomiędzy zwierzętami w rejonach I i II. Wynikać to może z faktu racjonalnego żywienia i użytkowania krów, niskiego stopnia zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi. W badaniach na zwierzętach modelowych intoksykowanych różnymi dawkami ołowiu stwierdzono wpływ tego pierwiastka na zwiększenie peroksydacji lipidów i zahamowanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Przy intoksykacji Pb aktywność tych enzymów (m.in. SOD, GSH-Px, MDA) istotnie się obniża (42). Z kolei badania Gong i Xiao (19) potwierdzają nasilenie stresu oksydacyjnego u krów na początku laktacji, co wynika ze wzrostu poziomu MDA, przy obniżeniu TAS.

Tab. 3. Stężenie głównych składników mineralnych w surowicy krwi krów mlecznych ($\bar{x} \pm SD$)

Rejon	Pierwiastki			
	Ca mmol/l	Pn* mmol/l	Mg mmol/l	Fe μ mol/l
I (n = 21)	2,47 $\pm$ 0,23	2,05 ^a $\pm$ 0,42	1,02 $\pm$ 0,09	24,14 $\pm$ 3,82
II (n = 20)	2,32 $\pm$ 0,14	1,48 ^a $\pm$ 0,43	0,89 $\pm$ 0,08	22,28 $\pm$ 6,87
Wartości referencyjne**	2,25-3,03	1,00-2,71	0,78-1,15	21-35,8

Objaśnienia: a, b – jak w tab. 1, * fosfor nieorganiczny, ** wg (49)

Aktywność tego enzymu stabilizuje się u zdrowych krów w 4. tygodniu laktacji (po wycieleniu) (7), jednakże gwałtownie obniża się w przypadku infekcji wirusowej (16). Z kolei GR, podobnie jak inne enzymy, katalizuje reakcje wzajemnych przemian grup sulfhydrylowych i disiarczoków, a jako kofaktora potrzebuje NADPH. Enzym ten odpowiedzialny jest za utrzymanie odpowiedniego poziomu glutationu zredukowanego (GSH). Kiedy aktywność GSH znacznie obniża się, może dojść do kumulacji nadtlenu wodoru w komórce, co prowadzi do jej uszkodzenia (5, 10). Zwiększony poziom selenu i witaminy E w dawce pokarmowej u wysoko wydajnych krów HF okresie okołoporodowym zwiększa 2-3-krotnie aktywność GSH-Px w okresie wczesnej laktacji w porównaniu do grupy kontrolnej (bez suplementowania) (43).

Z powyższych danych wynika, że stwierdzany poziom enzymów związanych z metabolizmem wątroby oraz stresem oksydacyjnym jest trudny do jednoznacznej interpretacji z uwagi na liczne uwarunkowania fizjologiczne i środowiskowe, jak też interakcje biochemiczne na poziomie komórkowym. W przypadku TAS i GR utrudniona jest interpretacja, gdyż brakuje dotychczas dla tych enzymów wartości referencyjnych.

Wyniki badań podstawowych makroskładników mineralnych w surowicy krwi zestawiono w tab. 3. W badanych rejonach uzyskano raczej zbliżone stężenia Ca, Mg i Fe, natomiast w przypadku P nieorganicznego wystąpiły statystyczne różnice między rejonem I a II. Trudno o wyjaśnienie tych różnic, zważywszy że fosfor wchodzi w liczne interakcje z makroelementami (Ca, Mg, Na, K) (20, 38). Mimo pewnych różnic, średnie stężenia Ca, P, Mg i Fe mieściły się w dość szerokich granicach wartości referencyjnych podawanych przez Winnicką (49).

Z dostępnej literatury (1, 18, 48) wynika, że system utrzymania, pora roku, poziom laktacji czy nawet stan zdrowotny wywierają na ogół niewielki wpływ na koncentrację makroelementów w surowicy krwi krów. Wydaje się, że koncentracja głównych makroskładników w surowicy może ulegać niekorzystnym fizjologicznym zmianom, gdy niebilansowany jest poziom żywienia mineralnego, np. przy nadmiarze lub deficycie Ca lub P w diecie (35, 38).

Uzyskane wyniki analiz laboratoryjnych wybranych parametrów krwi krów wskazują na pewne zróżnicowanie średnich wartości między badanymi rejonami. W ogólnej ocenie stwierdzone stężenia pierwiastków (metale ciężkie, makro- i mikroelementy) oraz aktyw-

ność badanych enzymów nie wskazują na negatywne oddziaływanie obiektów przemysłu miedziowego (rejon LGOM) na wskaźniki fizjologiczne krwi krów mlecznych.

Piśmiennictwo

- Akalın P. P., Ataseven V. S., Fırat D., Ergün Y., Başpınar N., Özcan O.: Selected biochemical and oxidative stress parameters and ceruloplasmin as acute phase protein associated with bovine leukaemia virus infection in dairy cows. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2015, 59, 327-330.
- Alonso M. L., Benedito J. L., Miranda M., Castillo C., Hernandez J., Shore K. F.: Toxic and trace elements in liver, kidney and meat from cattle slaughtered in Galicia (NW Spain). *Food Addit. Contam.* 2000, 17, 447-457.
- Alonso M. L., Benedito J. L., Miranda M., Castillo C., Hernández J., Shore R. F.: Mercury concentrations in cattle from NW Spain. *Sci. Total Environ.* 2003, 302, 93-100.
- Barej R., Kwaśnicki R., Chojnacka K., Bolanowski J., Dobrzański Z., Pokorny P.: Mercury Content in Rural and Industrial Regions in Lower Silesia. *Pol. J. Environ. Stud.* 2009, 18, 547-551.
- Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A.: Influence of body condition score on relationship between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 2017-2026.
- Bortey-Sam N., Nakayama S. M. M., Ikenaka Y., Akoto O., Baidoo E., Beyene Y., Mizukawa H., Ishizuka M.: Human health risks from metals and metalloids via consumption of food animals near gold mines in Tarkwa, Ghana: Estimation of the daily intakes and target hazard quotients (THQs). *Ecol. Environ. Safety* 2015, 111, 160-167.
- Castillo C., Hernández J., Valverde I., Pereira V., Sotillo J., Alonso M. L., Benedito J. L.: Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 2006, 80, 133-139.
- Center S. A.: Interpretation of liver enzymes. *Vet. Clin. Small Anim.* 2007, 37, 297-333.
- Checkley S., Waldner C. H., Blakley B.: Lead poisoning in cattle: Implications for food safety. *Large Animal Vet. Rounds*, 2002, vol. 2, iss. 8 (<http://www.dairyweb.ca/Resources/WCVM/LAVR1002.pdf>).
- Culotta V.: Superoxide dismutase, oxidative stress, and cell metabolism. *Curr. Top. Cell. Regul.* 2001, 36, 117-132.
- Cwynar P., Kolacz R., Grudnik T.: The Influence of Chronic Thallium Intoxication on Laying Hens, Including Its Cumulation in Tissues, Organs and Eggs. *Pol. J. Environ. Stud.* 2014, 23, 949-954.
- Czaban S., Kolacz R., Dobrzański Z., Bubel F., Opaliński S., Durkalec M., Gruszczyński M. F.: Zawartość rtęci w środowisku w rejonie oddziaływania obiektu unieszkodliwiania odpadów wydobywczych „Żelazny Most”. *Przem. Chem.* 2013, 92, 1268-1271.
- Dawd A. G., Gezmu T. B., Haki G. D.: Essential and toxic metals in cow's whole milk from selected sub-cities in Addis Abeba, Ethiopia. *Online Int. J. Food Sci.* 2012, 1, 12-19.
- Dobrzański Z., Kolacz R., Górecka H., Chojnacka K., Bartkowiak A.: The content of microelements and trace elements in raw milk from cows in the Silesian region. *Pol. J. Environ. Stud.* 2005, 14, 685-689.
- Dobrzański Z., Szulc T., Kupczyński R., Kuczał M.: Study on a content of mercury in hair, milk and blood of cows house in an urbanized area. *EJPAU ser. Vet. Med.* 2009, vol. 12, iss. 2 (online: <http://www.ejpau.media.pl/volume12/issue2/art-02.html>).
- Durgut R., Ataseven V. S., Sağkan-Öztürk A., Öztürk O. H.: Evaluation of total oxidative stress and total antioxidant status in cows with natural bovine herpesvirus-1 infection. *J. Anim. Sci.* 2013, 91, 3408-3412.
- Dwivedi S. K., Swarup D., Dey S., Patra R. C.: Lead poisoning in cattle and buffalo near primary lead-zinc smelter in India. *Vet. Hum. Toxicol.* 2001, 43, 93-94.
- Ekici H., Şimşek Ö., Arıkan Ş., Eren M., Güner B.: Comparing levels of certain heavy metals and minerals and antioxidative metabolism in cows raised near and away from highways. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2015, 39, 322-327.
- Gong J., Xiao M.: Selenium and Antioxidant Status in Dairy Cows at Different Stages of Lactation. *Biol. Trace Elem. Res.* 2016, 171, 89-93.
- Kabata-Pendias A., Szeke B.: Pierwiastki śladowe w geo- i biosferze. Wyd. IUNG-PIB, Puławy 2012.
- Khan M. U., Shahbaz N., Waheed S., Mahmood A., Shinwari Z. K., Malik R. N.: Comparative health risk surveillance of heavy metals via dietary foodstuff consumption in different land-use types of Pakistan. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 2016, 22, 168-186.
- Kodrik L., Wagner L., Imre K., Polyak K. F., Besenyi F., Husveth F.: The effect of highway traffic on heavy metal content of cow milk and cheese. *Hun. J. Ind. Chem.* 2011, 39, 15-19.
- Kolacz R., Bodak E., Dobrzański Z., Patkowska-Sokola B.: Trace elements in the wool of Polish merino sheep grazed in polluted and unpolluted environment. *Czech J. Anim. Sci.* 1999, 44, 509-514.
- Kolacz R., Dobrzański Z., Górecka H., Moryl A., Grudnik T.: Zawartość metali ciężkich w tkankach kur utrzymywanych w rejonie zagłębia miedziowego. *Acta Agrophys.* 2003, 1, 263-269.
- Kolacz R., Opaliński S., Dobrzański Z., Kupczyński R., Cwynar P., Durkalec M., Czaban S.: Zawartość miedzi i cynku w środowisku, w rejonie oddziaływania obiektu unieszkodliwiania odpadów wydobywczych „Żelazny Most”. *Przem. Chem.* 2014, 93, 1451-1454.
- Kotarska I.: Odpady wydobywcze z górnictwa miedzi w Polsce – bilans, stan zagospodarowania i aspekty środowiskowe. *Cuprum* 2012, 65, 45-63.
- Legislation on heavy metals in feed and food. <https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/heavy-metals/legislation>
- Leonidis A., Crivineanu V., Goran G. V., Codreanu M. D.: The level of heavy metals in blood and milk from cattle farmed near polluting industries in the province of Thessaloniki. *Lucrări Stiint. Med. Vet.* 2010, 43, 153-158.
- Madej J., Klimontowski S., Kolacz R., Dobrzański Z.: Rola metali ciężkich w patogenie enzoootycznej białaczki bydła (EBB). *Med. Weter.* 1994, 50, 374-377.
- Marczuk J., Filar J.: Ocena uszkodzenia wątroby i jej zaburzeń czynnościowych w przebiegu zespołu nadmiernej mobilizacji tłuszczu u krów mlecznych. *Med. Weter.* 2003, 59, 47-50.
- Medyńska A., Kabala C., Chodak T., Jezierski P.: Concentration of copper, zinc, lead and cadmium in plants cultivated in the surroundings of Żelazny Most copper ore tailings impoundment. *J. Element.* 2009, 14, 729-736.
- Monkiewicz J., Forster J., Geringer H., Napierała J., Jopek Z., Kucharczyk E., Bas K.: Preventing overaccumulation of lead, cadmium, arsine, copper and zinc in cows kept in polluted environment. *Pol. J. Environ. Study* 1999, 8, 117-121.
- Noaman V.: Serum copper, zinc, and iron concentrations of Holstein dairy cows in different seasonal and physiological states. *Comp. Clin. Pathol.* 2014, 23, 1059-1062.
- Nwude D. O., Okoye P. A. C., Babayemi J. O.: Blood heavy metal levels in cows at slaughter at Awka Abattoir, Nigeria. *Inter. J. Dairy Sci.* 2010, 5, 264-270.
- Olech M., Lutnicki K., Kurek L., Brodzki P., Riha T., Marczuk J.: Makroelementy, wskaźniki gospodarki energetycznej i funkcji narządów mięsowych w surowicy krów suplementowanych zwiększoną dawką profilaktycznego dodatku mineralnego. *Med. Weter.* 2014, 70, 432-436.
- Palheta D., Taylor A.: Mercury in environmental and biological samples from a gold mining area in the Amazon region of Brazil. *Sci. Total Environ.* 1995, 168, 636-639.
- Pavlatá L., Podhorský A., Pechová A., Chomat P.: Differences in the occurrence of selenium, copper and zinc deficiencies in dairy cows, calves, heifers and bulls. *Vet. Med.-Czech.* 2005, 50, 390-400.
- Preš J., Mordak R. (red.): Wybrane elementy żywienia a problemy zdrowotne krów mlecznych. Wyd. MedPharm, Wrocław 2010.
- Ranjana R., Swarup D., Naresh R., Patra R. C.: Enhanced Erythrocytic Lipid Peroxides and Reduced Plasma Ascorbic Acid, and Alteration in Blood Trace Elements Level in Dairy Cows with Mastitis. *Vet. Res. Com.* 2005, 29, 27-34.
- Rogowska K. A., Monkiewicz J., Grosicki A.: Lead, cadmium, arsenic, copper and zinc contents in the hair of cattle living in the area contaminated by a copper smelter in 2006-2008. *Bull. Vet. Inst., Pulawy* 2009, 53, 703-706.
- Shang Y. X., Zhao Y., Qiu H. Y., Chang J. J., Chen Y. Z., Zhang H. Y.: Effects of a Food Ingredient Group on Oxidative Stress in Lead-Poisoned Mice. *Integr. Med. Int.* 2015, 2, 49-55.
- Shukla A., Shukla G. S., Srimal R. C.: Cadmium-induced alterations in blood-brain barrier permeability and its possible correlation with decreased microvessel antioxidant potential in rat. *Hum. Exp. Toxicol.* 1996, 15, 400-405.
- Sobiech P., Żarczyńska K., Rękawek W., Śnarska A., Eleusizowa A., Kowalczyk E., Illek J.: Effect of parenteral supplementation of selenium and vitamin E on selected blood biochemical parameters in H-F cows during the transition period. *Med. Weter.* 2015, 71, 683-689.
- Spolders M., Höltershinken M., Meyer U., Rehage J., Flachowsky G.: Assessment of reference values for copper and zinc in blood serum of first and second lactating dairy cows. *Vet. Med. Int.*, 01/2010, 2010, 194656. DOI:10.4061/2010/194656.
- Swarup D., Naresh R., Varshney V. P., Balagatharathilagar M., Kumar P., Nandi D., Patra R. C.: Changes in plasma hormones profile and liver function in cows naturally exposed to lead and cadmium around different industrial areas. *Res. Vet. Sci.* 2007, 82, 16-21.
- Szkod J., Durkalec M., Kolacz R., Opaliński S., Zmudzki J.: Content of cadmium, lead and mercury in the tissues of game animals. *Med. Weter.* 2012, 68, 689-692.
- Tomza-Marciniak A., Pilarczyk B., Bąkowska M., Pilarczyk R., Wójcik J., Marciniak A., Hendzel D.: Relationship between selenium and selected heavy metals concentration in serum of cattle from a non-polluted area. *Biol. Trace Elem. Res.* 2011, 144, 517-524.
- Tracz E., Kupczyński R., Mordak R., Zawadzki M.: Analiza wybranych wskaźników metabolicznych krów utrzymywanych w różnych systemach. *Acta Sci. Pol. ser. Medicina Veterinaria* 2012, 11, 15-24.
- Winnicka A.: Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.

Adres autora: prof. dr hab. Roman Kolacz, ul. Chełmońskiego 38c, 51-631 Wrocław; e-mail: roman.kolacz@up.wroc.pl