



**UDRUŽENJE VETERINARA  
PRAKTIČARA SRBIJE**



**DEPARTMAN ZA  
VETERINARSKU MEDICINU-  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET  
NOVI SAD**

# **ZDRAVSTVENA ZAŠTITA I REPRODUKCIJA ŽIVOTINJA**

## **ZBORNİK RADOVA**



Održavanje skupa podržao je  
Pokrajinski sekretarijat za visoko obrazovanje i  
naučno-istraživačku delatnost AP Vojvodine

Novi Sad, 14.5.2022. godine

# ZDRAVSTVENA ZAŠTITA I REPRODUKCIJA ŽIVOTINJA - ZBORNIK RADOVA

## Datum održavanja:

14.05.2022.

## Organizatori:

Udruženje veterinarara praktičara Srbije i Departman za veterinarsku medicinu Novi Sad

## Izdavač:

Poljoprivredni fakultet Novi Sad

## Za izdavača:

Prof. dr Nedeljko Tica, dekan

## Urednici zbornika:

Prof. dr Ivan Stančić

Prof. dr Bojan Toholj

## Tiraž:

300

## Štampa:

Donat Graf d.o.o., Beograd

ISBN: 978-86-7520-490-9

CIP - Katalogizacija u publikaciji  
Biblioteke Matice srpske, Novi Sad

636.082.4(082)  
614.9(082)

### СКУП Здравствена заштита и репродукција животиња (2022 ; Нови Сад)

Zbornik radova / [Skup] Zdravstvena zaštita i reprodukcija životinja, Novi Sad, 14.5.2022. ;  
[urednici zbornika Ivan Stančić, Bojan Toholj]. - Novi Sad : Poljoprivredni fakultet, 2022  
(Beograd : Donat graf). - 113 str. : ilustr. ; 24 cm

Tiraž 300. - Bibliografija uz svaki rad.

ISBN 978-86-7520-490-9

а) Репродукција животиња - Зборници б) Животиње - Здравствена заштита - Зборници

COBISS.SR-ID 65605641

## **PROGRAMSKI ODBOR**

Prof. dr Ivan Stančić,  
predsednik

Prof. dr Aleksandar Potkonjak,  
prof. dr Branislava Belić, prof. dr Dragan Rogan, prof. dr Ljubica Spasojević Kosić, prof. dr Nikolina Novakov, prof. dr Marko Cincović, prof. dr Nada Plavša, prof. dr Ivana Davidov, prof. dr Miodrag Radinović, prof. dr Zdenko Kanački, prof. dr Slobodan Stojanović, prof. dr Marija Pajić, prof. dr Bojan Blagojević, doc. dr Mihajlo Erdeljan, doc. dr Ognjen Stevančević, doc. dr Nenad Stojanac, doc. dr Stanislav Simin, doc. dr Zorana Kovačević, doc. dr Vuk Vračar, dr Vladimir Polaček, viši naučni saradnik, dr Branislav Kureljušić, viši naučni saradnik

## **NAUČNI ODBOR**

Prof. dr Bojan Toholj, predsednik

Prof. dr Dragica Stojanac, prof. dr Vesna Lalošević, prof. dr Jože Starič, prof. dr Ramiz Ćutuk, prof. dr Mario Kreszinger, prof. dr Marko Pećin, prof. dr Marko Samardžija, prof. dr Božidar Savić, prof. dr Plamen Trojačanec, doc. dr Andrija Musulin, prof. dr Milan Maletić, dr Tamaš Petrović, naučni savetnik, dr Sara Savić, naučni savetnik

## **Stručna lektura i korektura**

Prof. dr Miodrag Lazarević

## **ORGANIZACIONI ODBOR**

Dr vet. med. spec. Bojan Blond,  
predsednik

Doc. dr Jovan Spasojević, dr sc. Mira Majkić, ass Ivan Galić, ass. Jovan Stanojević, dr vet. med. Miloš Jovičić, dr vet. med. spec. Vladimir Čitaković, dr vet. med. Saša Marković, dr vet. med. Zoran Knežević, dr vet. med. Goran Đmura, dr vet. med spec. Marko Kati,

## **POČASNI ODBOR**

Prof. dr Nedeljko Tica / Dekan Poljoprivrednog Fakulteta u Novom Sadu  
Prof. dr Milorad Mirilović / Dekan Fakulteta veterinarske medicine u Beogradu  
Emina Milakara / Direktor uprave za veterinu Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede R. Srbije  
Saša Bošković / Direktor uprave za veterinarstvo BiH  
Dr Sava Lazić, naučni savetnik / Direktor naučnog instituta za veterinarstvo Novi Sad  
Dr Darko Bošnjak / Direktor veterinarskog specijalističkog instituta Zrenjanin  
Mišo Kolarević / Predsednik VKS  
Velibor Kesić / Predsednik VKS RS  
Tomislav Nikolovski / Predsednik VKSM  
Dragana Oklješa / Pomoćnik ministra za veterinarstvo Republike Srpske

**INKAPSULACIJA I NJEN ZNAČAJ ZA PRIMENU ETARSKIH ULJA U  
VETERINARSKOJ MEDICINI  
ENCAPSULATION AND ITS SIGNIFICANCE FOR APPLICATION OF ETHERIC  
OILS IN VETERINARY MEDICINE**

**Filip Štrbac<sup>1\*</sup>, Dragica Stojanović<sup>1</sup>, Radomir Ratajac<sup>2</sup>, Kosta Petrović<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, ,

<sup>2</sup>Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad

<sup>3</sup>Poljoprivredna škola sa domom učenika Futog, Novi Sad

\*strbac.filip@gmail.com

**Kratak sadržaj**

Upotreba biljnih preparata kao što su etarska ulja, za različite indikacije u veterinarskoj medicini predstavlja veoma aktuelno i perspektivno polje. U tom kontekstu, najčešće se ispituju i dokazuju antibakterijsko, antifungalno i antiparazitsko, ali i mnoga druga lekovita dejstva ovih preparata. Zbog toga se etarska ulja sve više koriste za različite namene, kao što su prevencija dijareje prasadi ili tretiranje kokcidioze živine. Međutim, usled njihove nestabilne prirode i sklonosti ka isparavanju može doći do degradacije i delimične inaktivacije njihovih aktivnih sastojaka u organizmu, što dovodi do ograničene efikasnosti etarskih ulja nakon primene *in vivo*. Potencijalno rešenje za ovaj problem, mnogi istraživači vide u inovativnim tehnikama inkapsulacije. One predstavljaju postupak zaštite aktivnih komponenti, fizičkim ili hemijskim procesima, pri čemu se formira zaštitni omotač. Zbog toga su ove tehnike emulzifikacije i nanotehnologije našle primenu u različitim granama (industrija hrane, farmacija), a mogle bi biti veoma korisne i kada je u pitanju primena etarskih ulja. Naime, inkapsulacijom se smanjuje interakcija aktivnih supstanci sa različitim faktorima kao i brzina isparavanja, čime bi se mogla umanjiti inaktivacija sastojaka etarskih ulja, povećati bioraspoloživost, a samim tim i efikasnost. Ovo je posebno značajno za primenu protiv bakterija i endoparazita u gastrointestinalnom traktu. Primenom ovih tehnika se omogućava i kontrolisano oslobađanje aktivnih supstanci, što takođe može biti značajno prilikom pojedinih vidova primene kao što je antielktoparazitska. Na kraju, inkapsulacijom se povećava jednostavnost rukovanja aktivnim supstancama, ali i umanjuje neprijatan miris i ukus, što je veoma bitno prilikom primene etarskih ulja u hrani za životinje. Iz svega navedenog se može zaključiti da tehnike inkapsulacije imaju višestruki značaj kada je u pitanju primena etarskih ulja u veterinarskoj praksi, omogućavajući jednostavniju, praktičniju i efikasniju a samim tim i širu primenu ovih prirodnih proizvoda.

**Ključne reči:** antimikrobna primena, antiparazitska primena, etarska ulja, fitoterapija, inkapsulacija

## Summary

The use of herbal preparations such as essential oils for various indications in veterinary medicine presents a modern and promising field. Within that context, antibacterial, antifungal and antiparasitic, as well as many other medicinal effects of these substances are most often examined. For that reason, essential oils are increasingly used for different purposes, such as prevention of diarrhoea in piglets or coccidiosis treatment in poultry. However, their unstable and volatile nature may lead to degradation and partial deactivation of their active ingredients in the organism after some *in vivo* applications. As a potential solution for this problem, many researchers consider innovative encapsulation techniques. They represent the process of protecting the active components by physical or chemical processes, whereby a protective coating is formed. Therefore, these techniques such as emulsification or nanotechnology have found application in various branches (food industry, pharmacy) and could be very useful for the application of essential oils. Namely, encapsulation reduces the interaction of active substances with various factors as well as the rate of evaporation, which could reduce the deactivation of essential oil ingredients, increase bioavailability and thus efficiency (significant for use against the bacteria and endoparasites in the intestinal tract). The application of these techniques also enables the controlled release of active substances, which can also be important for some applications such as antiectoparasitic. Finally, encapsulation increases the ease of application and also reduces unpleasant smells and tastes, which is very important for the use of essential oils in animal feed. From all the above, it can be concluded that encapsulation techniques have multiple implications for the application of essential oils in veterinary practice with enabling simpler, more practical, efficient, and thus wider application of these natural products.

**Keywords:** antimicrobial use, antiparasitic use, encapsulation, essential oils, phytotherapy

## Uvod

Etarska ili esencijalna ulja predstavljaju koncentrovane, aromatične i hidrofobne isparljive tečnosti složenog hemijskog sastava i karakterističnog mirisa (Dhifi i sar., 2016; Butnariu i Sarac, 2018). Ona se sintetišu u različitim delovima biljaka, najčešće u listovima i cvetovima, ali i u stablu, semenu, pupoljcima, rizomima i korenu i predstavljaju sekundarne metabolite biljaka (Butnariu i Sarac, 2018). Etarska ulja danas imaju široku primenu u različitim sferama uključujući kozmetičku industriju i industriju hrane, ali se koriste i za terapiju različitih oboljenja što se naziva aromaterapija (Dhifi i sar., 2016).

Farmakološki potencijal etarskih ulja potiče od njihovog bogatog hemijskog sastava, odnosno brojnih jedinjenja iz različitih hemijskih grupa. Tu pre svega spadaju terpeni i seskviterpeni, zatim terpenoidi (oksidisani derivati kao što su različiti fenoli, alkoholi, aldehidi, ketoni, oksidi i estri), kao i fenilpropanoidna jedinjenja (Dhifi i sar., 2016; Fokou i sar., 2020). Zbog toga etarska ulja poseduju mnogobrojna lekovita dejstva kao što su antioksidativno, antiinflamatorno, antikancerogeno, ali i antibakterijsko, antifungalno, antivirusno i antiparazitsko (Dhifi i sar., 2016; Sharifi-Rad i sar., 2017), koja su iskorišćena

u narodnoj medicini mnogobrojnih kultura širom sveta. Njihova primena takođe danas sve više dobija na značaju i u veterinarskoj medicini.

Cilj ovog preglednog rada je osvrst na metodu inkapsulacije, koja može biti veoma značajna sa aspekta buduće primene etarskih ulja u svakodnevnoj veterinarskoj praksi.

### **Primena etarskih ulja u veterinarskoj medicini**

S obzirom da su istraživanja o primeni etarskih ulja u veterinarskoj medicini za različite svrhe uglavnom najnovijeg ili novijeg datuma, podaci o njihovom korišćenju kod životinja su još uvek ograničeni. Međutim, interesovanje za njihovu upotrebu i istraživanja u toj oblasti rastu velikom brzinom (Muthee i sar., 2018). Medicinska dejstva etarskih ulja, koja bi mogla imati najveći značaj za veterinarsku medicinu, a koja se ujedno u najviše ispituju, su antimikrobna, odnosno antibakterijska i fungicidna dejstva, kao i antiparazitska svojstva (Abbas i sar., 2018, Ebani i Mancianti, 2020). To je posebno važno ako se ima u vidu rastući problem antimikrobne i antiparazitske rezistencije i opadanje efikasnosti komercijalnih lekova, kao i štetnost rezidua koje ovi preparati ostavljaju u životinjskim proizvodima i životnoj sredini. Pri tome, etarska ulja imaju brojne prednosti koje uključuju bogat hemijski sastav (potencijalno visoka efikasnost protiv različitih patogena, kao i manja podložnost rezistenciji), prirodno poreklo (bolja ekološka prihvatljivost, niža toksičnost za životinje domaćine i manje količine rezidua u mesu i mleku) kao i laka dostupnost u regionima sa razvijenim biodiverzitetom (Ferreira i sar., 2018).

Kada je u pitanju antimikrobna aktivnost etarskih ulja, do sada su sprovedena različita ispitivanja, uglavnom *in vitro* karaktera. Antibakterijski efekat je najčešće dokazivan za etarska ulja cimeta (*Escherichia coli* i *Salmonela enterica* serovari *Enteritidis* i *Typhimurium* kod živine, *Mycobacterium avium paratuberculosis* kod goveda, *Staphylococcus* spp. kod pasa, *Pseudomonas* spp i *Streptococcus iniae* kod riba), origana i timijana (*E. coli* i *Staphylococcus* spp. kod pasa, *Enterococcus* spp. kod pasa i mačaka, *Streptococcus suis* kod svinja, *Pseudomonas* spp kod riba). Za timijan je dokazana i *in vivo* efikasnost protiv *Staphylococcus* spp. kod goveda, za bosiljak (*E. coli* i *P. aeruginosa* kod pasa, *E. coli* kod živine, *Pseudomonas* spp kod riba). Ovaj efekat je zapažen i kod drugih etarskih ulja: karanfilića, lavande, ruzmarina, žalfije i nane (Ebani i Mancianti, 2020). Origano, timijan i majčina dušica su ispoljili efekat i protiv različitih gljivičnih patogena (*Microsporium canis*, *M. gypseum*, *Malassezia pachydermatis*), a origano i protiv *Aspergillus fumigatus* (Ebani i Mancianti, 2020). Kombinacije različitih etarskih ulja u odgovarajućim formulacijama su testirane i *in vivo* kod atopičnih pasa inficiranih sa *M. pachydermatis* (Nardoni i sar., 2017) i kod mačaka sa mikrosporidijazom (Mugnaini i sar., 2012). Primenjene formulacije su dovele do značajnog poboljšanja kod svih ili većine tretiranih životinja.

Dokaza o insekticidnom, repelentnom i antiparazitskom delovanju etarskih ulja i njihovih sastojaka protiv parazita farmских životinja, konja i kućnih ljubimaca, takođe ima puno. Tako su etarska ulja, njihove kombinacije ili njihovi izolovani sastojci ispoljili različita dejstva protiv različitih krpelja (fam. *Ixodidae*, *Rhipicephalus sanguineus*, *R. microplus* - ulje *Tagetes minuta*), grinja (*Dermanyssus gallinae* - korijander, crvena kleka,

timijan i lavanda, šugarca (*Sarcoptes scabiei* - različite vrste eukaliptusa), muva, mušica i buva (*Hippobosca equina* - nana, *Culicoides impunctatus* - kraljevski papar, *Ctenocephalides felis* - slatka narandža), komaraca (*Aedes aegypti* - bosiljak, cimet i timijan) i vaši (*Bovicola cellatus*, *Bovicola ovis* - čajevac) od značaja za veterinarsku medicinu (Abbas i sar., 2018). Sa druge strane, efikasnost različitih etarskih ulja (timijan, origano, ruzmarin, lavanda, nana, bosiljak, hajdučka trava različite vrste eukaliptusa i limunske trave) i aktivnih sastojaka (timol, karvakrol, cinamaldehyd, anetol, karvon, linalool i dr) je dokazana i protiv različitih gastrointestinalnih nematoda kod preživara (Andre i sar., 2018, Saha i Lachance, 2019; Štrbac i sar., 2020; Štrbac i sar., 2021).

Zbog svega navedenog, etarska ulja se sve više koriste u prevenciji i tretmanu različitih oboljenja životinja, najčešće kod monogastričnih, svinja i živine (Mucha i Witkowska, 2021). Zahvaljujući prethodno navedenim baktericidnim svojstvima, etarska ulja se koriste u prevenciji dijareje prasadi. Takođe, ona kao prirodni kokcidostatici, igraju značajnu ulogu u ublažavanju simptoma bolesti creva i smanjuju izlučivanje oocista fecesom kod peradi. Kod preživara je dokazano da antibakterijska svojstva etarskih ulja mogu uticati na ruminalnu fermentaciju, odnosno na smanjenje metanogeneze, izlučivanje azota, kao i na poboljšanje digestije (Mucha i Witkowska, 2021). Na kraju, ovi biljni proizvodi se mogu koristiti i u terapiji nekih oboljenja neinfektivne etiologije. Iako su informacije u ovoj oblasti oskudne, poznata je uloga bosiljka kao ekspektoransa, lavande i čajevca u tretmanu rana, apscesa i opekotina, metilsalicilata (aktivni sastojak nekih ulja) u tretmanu bolova u mišićima kod konja, goveda, ovaca, koza i živine, epazote (meksičkog čaja) u lečenju bolova u stomaku i kolika (Baser i Franz, 2010).

Međutim i pored širokog spektra mogućih indikacija i određene primene, upotreba etarskih ulja u veterinarskoj medicini još uvek nije u potpunosti zaživela. Sa jedne strane se to može objasniti činjenicom da je većina ispitivanja bila *in vitro* karaktera, dok je broj terenskih ispitivanja koja su neophodna za potvrdu njihove efikasnosti značajno manji. Drugi razlog je to što su sastojci etarskih ulja lako isparljivi i nestabilni (Radunz i sar., 2018; Maes i sar., 2019), te nakon primene često lako degradiraju u određenoj meri i ne stižu u dovoljnim količinama na ciljno mesto delovanja, kao što je to pri peroralnoj aplikaciji protiv bakterija ili endoparazita. Zbog toga je efikasnost etarskih ulja u ovakvim terenskim ispitivanjima često niža od komercijalnih preparata. Međutim, upravo novije tehnike inkapsulacije pružaju mogućnost zaštite aktivnih sastojaka etarskih ulja omogućavajući time njihovo dejstvo i potrebnu efikasnost.

### **Inkapsulacija etarskih ulja i njen značaj**

Inkapsulacija je postupak zaštite aktivnih komponenti fizičkim ili hemijskim procesima pri čemu se formira zaštitni omotač. Na ovaj način se aktivna supstanca fizički odvaja od okolne sredine stvaranjem zaštitnog omotača koji se često naziva i nosačem aktivne komponente (Lević i sar., 2014). Kapsule mogu biti različite veličine, pa se na osnovu toga dele u tri grupe:

- 1) Makrokapsule - veličina >5 000 µm;

2) Mikrokapsule - veličina 0,2-5 000  $\mu\text{m}$  i

3) Nanokapsule - veličina  $<0,2 \mu\text{m}$  (Radunz i sar., 2018; Temiz i sar., 2018).

Neki drugi izvori navode podjelu samo na mikrokapsule (1 - 1 000  $\mu\text{m}$ ) i nanokapsule ( $<1 \mu\text{m}$ ) (Maes i sar., 2019). U svakom slučaju, različitim procesima inkapsulacije se može dobiti nekoliko tipova čestica. Tako, omotač može da se nalazi oko aktivne materije (rezervoar tip) ili aktivna materija može biti dispergovana u samom materijalu omotača (matriks tip) (Lević i sar., 2014; Maes i sar., 2019). Treći tip predstavljaju tzv. kompleksi gde se aktivne materije stabilizuju u šupljinama putem hemijskih reakcija, a četvrti tip su kapljice stvorene jednostavnom emulzijom u surfaktantima (Maes i sar., 2019). Procesima inkapsulacije se pored sfernog oblika mogu dobiti i inkapsulati cilindričnog oblika ili agregati koji se sastoje iz manjih čestica (Lević i sar., 2014).

Danas postoje različite tehnike inkapsulacije i od njih zavise svojstva primenjenog materijala. Generalno, ove tehnike se mogu klasifikovati u dve grupe: a) one koje obuhvataju hemijske procese i b) one koje obuhvataju mehaničke odnosno fizičke procese. Razlika između ove dve grupe je u tome što se kod hemijskih procesa formiranje sloja omotača oko aktivne komponente odvija u tečnosti, pri čemu je aktivna komponenta dispergovana u rastvoru omotača, a sam proces formiranja omotača se odvija putem određene hemijske reakcije. Kod mehaničkih procesa, rastvor za inkapsulaciju (aktivna komponenta i nosač) se mehanički disperguju kako bi se dobile čestice uz naknadno formiranje sloja omotača (Lević i sar., 2014). Najznačajnije tehnike inkapsulacije koje se koriste su: emulzifikacija, koacervacija, sprej sušenje, kompleksacija, nanoprecipitacija, jonsko geliranje, oblaganje u fluidizovanom sloju i inkapsulacija u polimerne čestice (Lević i sar., 2014; Maes i sar., 2019). Vrsta tehnike koja će se koristiti zavisi od svrhe inkapsulacije i oblasti u kojoj se sprovodi (industrija hrane, farmacija), ali se najčešće spominju emulzifikacija i nanotehnologija.

Drugi važan činioc od koga zavise svojstva inkapsulata je supstanca koja se koristi kao nosač. Izbor materijala nosača zavisi od tehnike inkapsulacije, svojstava aktivne materije, primene inkapsulata i zakonske regulative (Lević i sar., 2014). Različite supstance se mogu koristiti kao materijali nosači, kao što su gume (karagenan, arapska guma, alginat), ugljeni hidrati (skrob, celuloza, dekstrini, kukuruzni sirup), hitozan, lipidi (stearinska kiselina, vosak, hidrogenizovana ulja, masti, monogliceridi, digliceridi, parafin, tristearin), proteini (albumin, kazein, želatin, gluten) (Radunz i sar., 2018). Od navedenih, supstanci, u literaturi se najčešće spominju hitozan, alginat i cikloheksan koji se mogu koristiti u mnogim tehnikama (Maes i sar., 2019).

S obzirom na već navedene karakteristike etarskih ulja kao što su nestabilnost i isparljivost, inkapsulacija bi mogla imati veliki značaj kada je u pitanju njihova primena za različite svrhe u veterinarskoj medicini. Naime, inkapsulacija smanjuje interakciju aktivnih supstanci sa različitim faktorima u spoljašnjoj sredini, smanjuje brzinu isparavanja ili prenos aktivnih supstanci u spoljašnju sredinu, povećava jednostavnost rukovanja aktivnim supstancama, umanjuje miris i neprijatan ukus i omogućava kontrolisano otpuštanje aktivne supstance (Radunz i sar., 2018). Smanjenjem interakcije aktivnih komponenti etarskih ulja sa različitim faktorima, mogla bi se umanjiti njihova inaktivacija i povećati bioraspoloživost.



Različita, do sada sprovedena istraživanja, su dokazala da inkapsulisana etarska ulja imaju povećanu bioaktivnost u poređenju sa slobodnim uljima pri istoj ili čak nižoj koncentraciji, što sugeriše na otpornost inkapsulata na konverziju (oksidaciju, izomerizaciju i polimerizaciju) i degradaciju. Takođe, inkapsulacija predstavlja održiv i efikasan pristup povećanju fizičke stabilnosti i zaštiti od isparavanja s obzirom na veličinu čestica, što je posebno značajno za etarska ulja koja bi na taj način mogla duže da zadrže svoje osobine i rok trajanja (Majeed i sar., 2015). Na kraju, umanjivanje neprijatnog mirisa i ukusa može da doprinese boljoj i lakšoj upotrebi etarskih ulja u hrani za životinje, što je često način njihove aplikacije.

### **Neka istraživanja o pozitivnom efektu inkapsulacije za primenu etarskih ulja u praksi**

Potvrdu o dobrom efektu inkapsulacije sastojaka etarskih ulja u cilju stabilnosti i bioraspoloživosti kod svinja su izneli Zhang i sar. (2016). U ovom istraživanju je poreden nivo resorpcije u različitim delovima gastrointestinalnog trakta slobodnog i inkapsulisanog karvakrola (glavni sastojak etarskog ulja origana i još nekih) na simuliranom modelu. Kapsulacija je izvršena u vidu mikrokapsula različitih veličina (250 i 800  $\mu\text{m}$ ) napravljenih od alginata i proteina surutke. Rezultati su ukazali da je nivo reapsorpcije i metaboličke razgradnje slobodnog karvakrola bio preko 95 % u želucu i duodenumu, dok je inkapsulacija značajno smanjila resorpciju karvakrola u želucu ( $p < 0,05$ ) i povećala njegovo oslobađanje u tankom crevu ( $p < 0,05$ ). Pri tome, mikrokapsule veće veličine su imale sporije *in vitro* i veće *in vivo* oslobađanje karvakrola u tankom crevu u poređenju sa manjim kapsulama, ukazujući na značaj samog procesa inkapsulacije i dobijenih inkapsulata na bioraspoloživost aktivnih sastojaka.

Zbog labilne prirode etarskih ulja, njihova stabilnost tokom varenja hrane je takođe upitna i može doći do brzog isparavanja i resorpcije u gornjem delu digestivnog trakta. Tu inkapsulacija može biti veoma značajna, kao što je dokazano u istraživanju Choi i sar. (2020), koji su ispitivali raspoloživost inkapsulisanog timola, aktivnog sastojka etarskog ulja timijana, nakon unosa putem ishrane kod odbijene prasadi. Životinje su bile podeljene u dve grupe od po šest jedinki, od kojih je jedna dobijala hranu zasnovanu na kukuruзу i sojinoj sačmi, a druga istu hranu uz dodatak 6 g/kg inkapsulisanog timola (mikročestice u lipidnom matriksu). Ovo istraživanje je dokazalo da je mikrokapsulacija u lipidnom matriksu uspela da održi stabilnost timola i omogućila sporo i progresivno oslobađanje duž digestivnog trakta prasadi, s obzirom da se 15,5 % timola oslobodilo u želucu, 41,85 % timola je dospelo u središnji deo jejunuma, a samo 2,21 % je izdvojeno u fecesu. Ovaj rezultat može biti od značaja kod eventualnog tretmana različitih bakterijskih enteritisa i dijareja koji su česta pojava kod prasadi i svinja, kao što je ranije napomenuto.

Kada je u pitanju antiendoparazitska primena, u dosadašnjim istraživanjima su različita etarska ulja imala visok ovidicidni i larvicidni, kao i uticaj na adulte gastrointestinalnih nematoda u *in vitro* testovima. Međutim, u *in vivo* ispitivanjima, efikasnost čistih ulja je bila niža i još uvek nedovoljna za standardnu primenu, s obzirom da još uvek nije dostigla nivo komercijalnih antihelmintika. Ograničena efikasnost je u ovim

slučajevima najčešće pripisivana nestabilnosti etarskih ulja sa jedne, odnosno anatomsko-fiziološkim specifičnostima gastrointestinalnog trakta preživara (ukoliko je kod njih ispitivano), sa druge strane. Zbog toga je ispitivana mogućnost primene inkapsuliranih preparata, među kojima je najčešće korišćeno etarsko ulje *Eucalyptus staigeriana* u različitim inkapsulatima. Mesquita i sar. (2013) su ispitali ovo ulje inkapsulirano sa 4 % hitozana u dozi od 365 mg/kg jednokratno, peroralno kod ovaca i uspjeli da postignu efikasnost od 83,75 % kod nematoda u abomazusu (bolja aktivnost od pozitivne kontrole, ivermektina), iako je efikasnost kod nematoda u tankom crevu bila niska.

U istraživanju Ribeiro i sar. (2017), ulje *E. staigeriana* je bilo inkapsulisano u 1% rastvor hitozana, čime je dobijena nanoemulzija sa česticama veličine 276,8 nm u kojoj je koncentracija etarskog ulja bila 36,4 % (v/v). Doza je bila 250 mg/kg, p.o., jednokratno, a efekat je meren u 10 različitih dana, pri čemu se efikasnost primenjene formulacije nije statistički razlikovala od levamizola u 8/10 dana. Sa druge strane, nanoemulzija ulja *Cymbopogon citratus* (1 % hitozan, 20 % v/v, veličina čestica 248 nm) je ispoljila veću efikasnost u poređenju sa čistim, neinkapsuliranim uljem (47-51,7 % u odnosu na 19,6-23,9 %), a takođe i nižu toksičnost (Macedo i sar., 2019). Na kraju je ispitana i inkapsulisana formulacija sačinjena od 10 % anetola, 10 % karvona i 80 % lipidnog matriksa u dozama od 250 i 100 mg/kg t.m. u hrani (odgovara dozama od 50 i 20 mg/kg anetol-karvona) tokom eksperimenta od 45 dana kod jaganjaca prirodno i veštački inficiranih sa *Haemonchus contortus*. Niža doza nije ispoljila nikakve efekte, međutim viša je dovela do značajnog smanjenja broja jaja u fecesu 43. i 45. dana, što je pripisano uticaju formulacije na fekunditet ženki nematoda i smanjenje veličine mužjaka (Katiki i sar., 2019)

Primena inkapsuliranih etarskih ulja u hrani je u nekoliko navrata ispitivana kod brojlera, a činjenica da su istraživanja sprovedena u prethodnih godinu-dve govori o aktuelnosti ove problematike. Tako su Gao i sar. (2019) ispitali inkapsulisanu mešavinu etarskih ulja i organskih kiselina na performanse, intestinalnu morfologiju, cecalnu mikrofoloru, aktivnost mukoznih enzima u jejunumu i nivo sekrecije IgA kod brojlera, a eksperiment je sproveden na 300 brojlera koji su bili podeljeni u 5 grupa sa 5 ponavljanja. Primenjeni aktivni sastojci etarskih ulja su bili timol ( $\geq 1,7$  %) i vanilin ( $\geq 1,0$  %), a od organskih kiselina limunska kiselina ( $\geq 25,0$  %) i sorbinska kiselina ( $\geq 16,7$  %). Primenjene doze navedene formulacije su bile 150, 200 i 250 mg/kg, a eksperiment je trajao 70 dana. Rezultati su ukazali da su brojleri hranjeni navedenom mešavinom imali veći prosečni dnevni porast, kao i bolji odnos dobitka i hranjenja u poređenju sa kontrolnim životinjama. Primenjena formulacija je značajno smanjila nivo cecalnih bakterija *E. coli* i *Salmonella* vrsta 21. i 70. dana ( $p < 0,01$ ). Takođe su zabeležene i značajno povećane aktivnosti himotripsina,  $\alpha$ -amilaze, značajno povećan sadržaj IgA i visine crevnih resica u jejunumu. Zbog svega navedenog je zaključeno da ova inkapsulisana formulacija aktivnih sastojaka etarskih ulja i organskih kiselina povećava performanse, utiče pozitivno na crevnu morfologiju, povećava aktivnost enzima i utiče pozitivno na balans intestinalne mikroflore kod brojlera.

Pham i sar. (2020) su sličnu formulaciju ispitali kod brojlera sa dijagnostikovanim nekrotičnim enteritisom. U pitanju je bila mešavina 4 % timola, 4 % karvakrola, 0,5 % heksanske kiseline, 0,5 % benzojeve kiseline i 0,5 % buterne kiseline inkapsuliranih u

kapsule sa Ca-alginatom i proteinima surutke. Suplement je dodavan u hrani za brojlere u koncentraciji od 500 mg/kg tokom proizvodnog ciklusa od 42 dana. Rezultati istraživanja su dokazali da primena ovog suplementa dovodi do boljeg rasta i zdravlja pilića zaraženih nekrotičnim enteritisom jačajući crevne barijere, pozitivno modulirajući mikrobiotu creva i diferencijalno regulišući crevni imunski odgovor. Zbog toga su autori zaključili da je navedena formulacija obećavajuće sredstvo za kontrolu nekrotičnih enteritisa pilića. Na kraju, Lee i sar. (2020) su ispitali inkapsulisane timol-karvakrol preparate zasnovane na prirodnom formulacijame u dozama od 60 i 120 mg/kg kod pilića koji su bili vakcinisani protiv kokcidioze u dozama 25 puta većim od standardnih. S obzirom da je primena ovih formulacija dovela do umanjivanja neželjenih efekata vakcinacije, smanjenja koncentracije isparljivih masnih kiselina, povećanja aktivnosti katalaze u serumu i pozitivnog efekta na crevnu morfologiju, zaključeno je da inkapsulisana etarska ulja i njihovi sastojci predstavljaju dobru alternativu antikokcidijalnim lekovima.

### **Zaključak**

S obzirom na brojna dokazana medicinska dejstva kao što su antiinflamatorno, antioksidativno, antibakterijsko, antigljivično i antiparazitsko, etarska ulja i njihovi sastojci imaju široku mogućnost primene u veterinarskoj medicini. Međutim, razloge za njihovu još uvek skromnu primenu, treba tražiti sa jedne strane u još uvek nedovoljnom broju istraživanja i nepoznicama vezanim za njihovu upotrebu, a sa druge u još uvek nedovoljnoj efikasnosti u *in vivo* uslovima nakon određenih tretmana. U tim slučajevima, ograničena efikasnost se može objasniti negativnim osobinama etarskih ulja kao što su laka isparljivost i nestabilnost koje dovode do delimične inaktivacije njihovih aktivnih sastojaka koji ne dospeva u dovoljnoj meri na ciljna mesta dejstva. Zbog toga, kao i zbog mnogih drugih prednosti, inkapsulacija etarskih ulja kao nova i aktuelna ideja nudi mogućnost prevazilaženja ovog problema, odnosno povećanja efektivnosti primene ovih vrednih biljnih proizvoda, a samim tim i njihovu širu primenu.

### **Literatura**

1. Abbas A, Abbas RZ, Masood S, Iqbal Z, Khan MK, Kashif M et al., 2018, Acaricidal and insecticidal effects of essential oils against ectoparasites of veterinary importance, *Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 17, 5, 441-522.
2. André WPP, Ribeiro WLC, de Oliveira LMB, Macedo ITF, Rondon FCR, Bevilaqua CML, 2018, Essential oils and their bioactive compounds in the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants, *Acta Sci Vet*, 46,1522.
3. Baser KHC, Franz C, 2010, Essential oils used in veterinary medicine, In: KHC Baser, G Buchbauer: *Handbook of Essential Oils Science, Technology and Applications*. Boca Raton, London, New York: CRC Press, Taylor & FrancisGroup, 881-94.
4. Butnariu M, Sarac I, 2018, Essential oils from plants, *J Biotechnol Biomed Sci*, 1, 4,35-43.

5. Choi J, Wang L, Ammater E, Lahaye L, Liu S, Nyachoti M et al., 2020, Evaluation of lipid matrix microencapsulation for intestinal delivery of thymol in weaned pigs, *Translat Anim Sci*, 4, 1, 411–22.
6. Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, Mnif W, 2016, Essential oils chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review, *Medicines*, 3, 25.
7. Ebani VV, Mancianti F, 2020, Use of essential Oils in veterinary medicine to combat bacterial and fungal infections, *Vet Sci*, 7, 4, 193.
8. Ferreira LE, Benincasa BI, Fachin AL, Contini SHT, França SC, Chagas ACS et al., 2018, Essential oils of *Citrus aurantifolia*, *Anthemis nobile* and *Lavandula officinalis*: in vitro anthelmintic activities against *Haemonchus contortus*, *Parasit Vect*, 11, 1, 269.
9. Fokou JBH, Dongmo PMJ, Boyom FF, 2020, Essential oil's chemical composition and pharmacological properties, In: H. El-Shemy: *Essential Oils – Oils of Nature*, IntechOpen, London, UK.
10. Gao Y, Zhang X, Xu L, Peng H, Wang C, Bi Y, 2019, Encapsulated blends of essential oils and organic acids improved performance, intestinal morphology, cecal microflora, and jejunal enzyme activity of broilers, *Czech J Anim Sci*, 64, 189-98.
11. Katiki LM, Araujo RC, Ziegelmeyer L, Gomes ACP, Gutmanis G, Rodrigues L et al., 2019, Evaluation of encapsulated anethole and carvone in lambs artificially- and naturally-infected with *Haemonchus contortus*, *Experim Parasitol*, 197, 36-42.
12. Lee JW, Kim DH, Kim YB, Jeong SB, Oh ST, Cho SY et al., 2020, Dietary encapsulated essential oils improve production performance of coccidiosis vaccine-challenged broiler chickens, *Animals*, 10, 481.
13. Lević S, Kalušević A, Đorđević V, Bugarski B, Nedović V, 2014, Savremeni procesi inkapsulacije u tehnologiji hrane, *Hrana i Ishrana* (Beograd), 55, 1, 7-12.
14. Macedo ITF, de Oliveira LMB, Andre WPP, Filho JVA, dos Santos JML, Rondon FCM et al., 2019, Anthelmintic effect of *Cymbopogon citratus* essential oil and its nanoemulsion on sheep gastrointestinal nematodes, *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 28, 3, 522-7.
15. Maes C, Bouquillion S, Fauconnier ML, 2019, Encapsulation of essential oils for the development of biosourced pesticides with controlled release: a review, *Molecules*, 24, 14, 2539.
16. Majeed H, Bian YY, Ali B, Jamil A, Majeed U, Khan QF et al., 2015, Essential oil encapsulations: uses, procedures, and trends, *RSC Advances* 5, 72, 58449-63.
17. Mesquita MDA, Júnior JBES, Panassol AM, de Oliveira EF, Camurça-Vasconcelos ALF, de Paula HCB et al., 2013, Anthelmintic activity of *Eucalyptus staigeriana* encapsulated oil on sheep gastrointestinal nematodes, *Parasitol Res*, 112, 9, 3161-5.
18. Mucha W, Witkowska D, 2021, The applicability of essential oils in different stages of production of animal-based foods, *Molecules*, 26, 3798.
19. Mugnaini L, Nardoni S, Pinto L, Pistelli L, Leonardi M, Pisseri F, Mancianti F, 2012, *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of some essential oils against feline isolates of *Microsporium canis*, *J Med Mycol*, 22, 2, 179-84.

20. Muthee JK, 2018, Anthelmintic efficacy of selected medicinal plants against gastrointestinal nematodes in naturally infected sheep in Kenya, *J Phytopharmacol*, 7, 111-5.
21. Nardoni S, Pistelli L, Baronti I, Najar B, Pisseri F, Reidel RVB et al., 2017, Traditional Mediterranean plants: characterization and use of an essential oils mixture to treat *Malassezia otitis externa* in atopic dogs, *Nat Prod Res*, 31, 16, 1891-4.
22. Pham VH, Kan L, Huang J, Geng Y, Zhen W, Guo Y et al., 2020, Dietary encapsulated essential oils and organic acids mixture improves gut health in broiler chickens challenged with necrotic enteritis, *J Anim Sci Biotechnol*, 11, 1, 18.
23. Radunz M, Helbig E, Borges CD, Gandra TKV, Gandra EA, 2018, A mini-review on encapsulation of essential oils, *J Analyt Pharmaceut Res*, 7, 1, 00205.
24. Ribeiro WLC, Camurça-Vasconcelos ALF, dos Santos JML, dos Santos JML, Macedo ITF, Ribeiro JDC, 2017, The use of *Eucalyptus staigeriana* nanoemulsion for control of sheep haemonchosis, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37, 3, 221-6.
25. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M et al., 2017, Biological activities of essential oils: from plant chemoecology to traditional healing systems, *Molecules*, 22, 1, 70.
26. Saha S, Lachance S, 2019, Effect of essential oils on cattle gastrointestinal nematodes assessed by egg hatch, larval migration and mortality testing, *J Helminthol*, 94, e111.
27. Štrbac F, Bosco A, Amadesi A, Rinaldi L, Stojanović D, Simin N et al., 2021, Ovicidal potential of five different essential oils to control gastrointestinal nematodes of sheep, *Pak Vet J*, 41, 3, 353-8.
28. Štrbac F, Bosco A, Amadesi A, Rinaldi L, Stojanović D, Simin N et al., 2020, *In vitro* ovicidal activity of two chemotypes of the yarrow (*Achillea millefolium* L.) essential oil against sheep gastrointestinal nematodes, *Arch Vet Med*, 13, 2, 59-76.
29. Zhang Y, Wang QC, Yu H, Zhu J, de Lange K, Yin Y et al., 2016, Evaluation of alginate-whey protein microcapsules for intestinal delivery of lipophilic compounds in pigs, *J Sci Food Agricul*, 96, 8, 2674-81.