



# NAUKI ŚCISŁE I PRZYRODNICZE

## PRZEGLĄD WYBRANYCH ZAGADNIĘĆ

Redakcja: Joanna Jędrzejewska, Alicja Danielewska

Lublin 2021

# **Nauki ścisłe i przyrodnicze – przegląd wybranych zagadnień**



# **Nauki ścisłe i przyrodnicze – przegląd wybranych zagadnień**

Redakcja:  
Joanna Jędrzejewska  
Alicja Danielewska

Lublin 2021

**Wydawnictwo Naukowe TYGIEL składa serdecznie podziękowania  
dla zespołu Recenzentów za zaangażowanie w dokonane recenzje  
oraz merytoryczne wskazówki dla Autorów.**

**Recenzentami niniejszej monografii byli:**

- prof. dr hab. inż. Joanna Kawa-Rygielska
- dr hab. n. med. Joanna Bartosińska
- dr hab. Justyna Bohacz
- dr hab. inż. Ewa Hanus-Fajerska, prof. UR
- dr hab. Renata Matraszek-Gawron
- dr hab. Justyna Polit, prof. UŁ
- dr n. wet. Beata Abramowicz
- dr Artur Banach
- dr inż. Joanna Całus-Moszko
- dr inż. Małgorzata Fugol
- dr inż. Anita Kukułowicz
- dr Małgorzata Matysek
- dr inż. Anna Stój

Wszystkie opublikowane rozdziały otrzymały pozytywne recenzje.

Skład i łamanie:  
Monika Maciąg

Projekt okładki:  
Marcin Szklarczyk

Korekta:  
Agnieszka Grubska

© Copyright by Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o.

ISBN 978-83-67104-13-5

Wydawca:  
Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o.  
ul. Głowackiego 35/341, 20-060 Lublin  
[www.wydawnictwo-tygiel.pl](http://www.wydawnictwo-tygiel.pl)

## Spis treści

Agnieszka Wnuk-Gnich, Olga Blauth <i>Terapia manualna w rehabilitacji psów</i> .....	7
Olga Blauth, Agnieszka Wnuk-Gnich <i>Znaczenie prawidłowego doboru szelek i obroży dla psów oraz preferencje właścicieli ...</i>	24
Barbara Lipniak, Małgorzata Stasińska, Zofia Sotek, Bogdan Kontek <i>Właściwości odżywcze i lecznicze grzybów</i> .....	36
Paulina Walczak, Anna Sikora, Anna Detman, Karolina Drężek <i>Wywary gorzelniane jako źródło bakterii wykorzystujących do wzrostu etanol</i> .....	50
Iwona Adamska, Patrycja Biernacka <i>Grzyby z rodzaju <i>Rhizopus</i> w produkcji żywności prozdrowotnej</i> .....	62
Bogdan Kontek, Anastasiya Sipchuk, Anna Dietrich-Muszalska <i>Rośliny jako źródło bioaktywnych związków stosowanych w żywności</i> .....	75
Katarzyna Godlewska <i>Analiza praktyk logistycznych dostawcy żywności pochodzenia zwierzęcego</i> .....	89
Magdalena Walasek-Janusz, Małgorzata Kuśmierz, Ewa Zalewska, Grażyna Zawiaślak, Robert Gruszecki <i>Wybrane olejki eteryczne stosowane w medycynie i kosmetologii</i> .....	102
Sylwia Siebielec, Grzegorz Siebielec, Dominika Gmur <i>Pierwiastki ziem rzadkich w środowisku</i> .....	120
Miłosz Rutkowski, Lidia Krzemińska-Fiedorowicz, Gohar Khachatryan, Piotr Dańda, Zbigniew Gajewski <i>Wpływ biokompozytów zawierających nanocząstki srebra na efektywność zakażenia tytoniu (<i>Nicotiana L.</i>) wirusem mozaiki pomidora (<i>ToMV</i>)</i> .....	129
Aleksandra Gałuszka <i>Wybrane rośliny lecznicze stosowane w medycynie</i> .....	139
Małgorzata Kuśmierz, Magdalena Walasek-Janusz <i>Herbata chińska (<i>Camellia sinensis L. Kuntze</i>) jako roślina o cennych walorach terapeutycznych</i> .....	150

Waldemar Łasica, Marcin Małek

*Wpływ dodatku odpadowych granulowanych łupin orzecha oraz kolb kukurydzy na właściwości mechaniczne kompozytów cementowych i betonów.....*158

Joanna Kurek

*Cienkowarstwowa chromatografia cieczowa alkaloidów z zastosowaniem nowego odczynnika wywołującego.....*178

Anna Sikora, Anna Detman, Ewa Wiktorowska-Sowa, Marcin Nosek, Marcin Szewczyk, Szymon Nowak, Jan Piotrowski

*Beztlenowy rozkład produktów ubocznych i odpadowych przemysłu cukrowniczego jako źródło biopaliw gazowych.....*189

Indeks Autorów .....204

## Terapia manualna w rehabilitacji psów

### 1. Wprowadzenie

Rehabilitacja zwierząt od wielu lat ciągle się rozwija, nie tylko w zakresie zabiegów fizykalnych, ale także terapii manualnych. Wzrastająca świadomość właścicieli oraz współpraca zoofizjoterapeutów z lekarzami weterynarii sprzyja podnoszeniu zarówno jakości, jak i dostępności tego typu usług [1-4]. Coraz więcej zakładów leczniczych dla zwierząt oraz samodzielnych gabinetów rehabilitacyjnych świadczy najnowocześniejsze terapie [5].

Obecnie fizjoterapia zwierząt, podobnie jak i ludzi, relatywnie rzadko stanowi podstawową część leczenia prowadzoną w formie monoterapii. Zwykle stosuje się wiele metod, takich jak: terapia manualna, masaż, akupunktura, kinesiotaping, kinezyterapia, w tym hydroterapia czy fizykoterapia wykorzystująca terapeutyczne oddziaływanie różnych czynników fizycznych (m.in. laseroterapia, pole magnetyczne, ultradźwięki, fala uderzeniowa, elektroterapia) [2-8]. Jak podkreśla Mikołajczyk i wsp. [9] nie ma możliwości przywrócenia prawidłowego funkcjonowania mięśnia czy regionu objętego restrykcją (napięciem) bez zastosowania odpowiednich technik terapeutycznych m.in. manipulacji powięzi, uwalniania mięśniowo-powięziowego czy stretchingu. Stosowane terapie mogą przybierać różne formy, wśród których wyróżnia się powszechnie znany masaż klasyczny (rehabilitacyjny, sportowy, odprężający, profilaktyczny) oraz masaże specjalistyczne (masaż punktowy, łącznotkankowy, mięśniowo-powięziowy, pobudzający, powierzchowny, głęboki, terapię punktów spustowych) [10-12]. Wszystkie stosowane techniki przez terapeutów wchodzi w skład medycyny manualnej zajmującej się w ramach ogólnie przyjętego postępowania diagnostycznego i terapeutycznego, leczeniem odwracalnych zaburzeń funkcjonalnych postawy ciała i układu ruchu, które wywodzą się z zaburzeń strukturalnych i towarzyszą im lub są ich następstwem [13]. Głównym celem terapii będzie przywrócenie bądź poprawa ruchomości między warstwami powięzi lub tkankami, które otaczają narządy, zmniejszenie bólu, poprawa wydolności i samopoczucia, korekcja dysfunkcji ruchowych oraz wzorca ruchowego [14-19]. Ponadto terapie manualne wpływają pozytywnie na zwiększenie sprężystości, elastyczności, mobilności oraz stabilności tkanek, a także zapobiegają i zmniejszają zwłóknienia, zagęszczenia, nadmierną sztywność mięśniową, zwiększają zakres ruchu w stawach, przyspieszają pourazowe i pooperacyjne gojenie ran. Ponadto działają relaksująco, zmniejszają stres, lęk i uczucie niepokoju, promują zmiany zachowania oraz mogą działać uspokajająco [20-22].

Z badań przeprowadzonych przez Jastrzębską i Brzyszc [3] wynika, że masaż jest jednym z najczęściej wykonywanych zabiegów fizjoterapeutycznych, co więcej jest on bardzo dobrze znoszony i akceptowany przez zwierzęta [1, 21, 22] (zdj. 1). Jego popularność i powszechna dostępność wynika z faktu, że głównym narzędziem pracy są ręce fizjoterapeuty, zatem nie jest wymagany specjalistyczny i kosztowny sprzęt [1, 2, 4].

---

<sup>1</sup> kontakt@hydrotens.pl, Fizjoterapia Zwierząt, HYDRO-TENS AGNIESZKA WNUK-GNICH.

<sup>2</sup> blautho@gmail.com, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa.





Zdjęcie 1. Pełna akceptacja wykonywanych zabiegów terapii manualnej [zdjęcie własne Auterek w Całodobowej Klinice Weterynaryjnej „Puławska”, Warszawa]

Obecnie w fizjoterapii weterynaryjnej funkcjonuje wiele koncepcji, manipulacji tkankowych oraz mobilizacji stawowych [23]. Wykwalifikowani w diagnostyce tkanek miękkich terapeuci są w stanie odnaleźć restrykcje w obrębie tkanek i przeprowadzić odpowiednią terapię. Zdaniem Marciniak [14], zaburzenia funkcjonowania w obrębie jednej struktury, tkanki oraz organu przekładają się na funkcjonowanie całego organizmu. Jak podkreśla Mikołajczyk i wsp. [9], terapia holistyczna to wspólna cecha większości współczesnych osteopatycznych, jak i tradycyjnych manualnych oraz fizjoterapeutycznych metod terapeutycznych. Polega ona na analizowaniu ciała pacjenta oraz jego problemu w ujęciu globalnym. Istotną częścią jest znalezienie struktur, które dzięki swojej budowie oraz funkcjonalności wpływają na cały organizm. Zależności te dokładnie opisuje i wyjaśnia model tensegracji, który ma ogromne znaczenie w przypadku koncepcji terapii manualnych i holistycznego podejścia do pacjenta [9, 15, 16]. Pojęcie tensegracji, wyrażające ideę napiężeń (*tension* – napięcie, *integrity* – integralność, spójność) w strukturach o zamkniętej budowie, z zachowaną pomiędzy poszczególnymi elementami ciągłością [9, 16]. Napięcia obecne w tkankach na skutek pracy mięśni i obciążeń zewnętrznych rozprzestrzeniają się do zarówno bliskich, jak i dalekich tkanek za pośrednictwem powierzchni powięziowych oraz zagęszczonych powrózków, pasm, sznurów i pasów [16, 24, 25]. Zmiany te pojawiają się początkowo lokalnie, następnie na szerszych obszarach, a w konsekwencji doprowadzają do globalnych zaburzeń posturalnych [25]. Przykładem tensegracyjnych zależności jest koncepcja taśm anatomicznych Toma Myersa [24], która jest także owocem odkryć strukturalnych Autora na bazie integracji strukturalnej. Taśmy mięśniowo-powięziowe to globalne linie napięcia przechodzące przez całą powierzchnię ciała, zachowujące się tak, aby utrzymać szkielet w odpowiednim kształcie, wskazując dostępne ruchy i koordynując globalne wzorce posturalne [26-28].

Współczesne zainteresowanie powięzią postrzeganą jako ogólnoustrojowym systemem integrującym jest zgodne ze wzrastającym zrozumieniem kompleksowości i powiązań wewnątrzsystemowych [9, 16, 29-31]. Do niedawna tkanka ta była uważana za zbędną i podczas sekcji odrzucana przez wielu anatomów [30]. Jeszcze w XX wieku

uważano, że jedyną jej rolą jest wypełnienie przestrzeni pomiędzy strukturami anatomicznymi oraz łączenie ich. Z roku na rok zwiększa się jednak zainteresowanie tkanką łączną, jaką jest powięź, jej strukturą, właściwościami, funkcjami oraz wpływem na cały organizm [15, 16, 29]. Struktury powięziowe mogą stawać się zbyt sztywne i bolesne w stanach patologicznych takich jak: uraz czy choroba. Przy braku odpowiedniego ruchu mogą wykazywać zmiany wynikające z bezczynności, czy też po prostu mogą się przeciążać. Odpowiednio stosowana terapia manualna oddziałuje na negatywne zmiany w powięzi, przywraca jej prawidłowe funkcjonowanie oraz w istotny sposób wpływa na propriocepcję [15, 16, 31, 32].

## 2. Cel pracy

Celem pracy był systematyczny przegląd dotychczas opublikowanych badań dotyczących wykorzystania terapii manualnej w rehabilitacji zwierząt. Ponadto, przybliżenie czytelnikowi i wyjaśnienie złożoności problemu jakim jest ból mięśniowo-powięziowy, jakie ma znaczenie w terapiach, a także opisanie przyczyn jego powstawania i możliwości leczenia. Dodatkową część pracy stanowi opis wybranych technik manualnych stosowanych w terapii zwierząt.

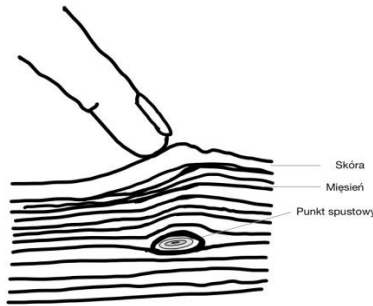
## 3. Ból mięśniowo-powięziowy, przyczyny i metody leczenia

Przez wiele lat odczuwanie bólu przez zwierzęta było wątpliwe [33, 34]. Ból zarówno u zwierząt, jak i u ludzi jest pojęciem subiektywnym. Według definicji Polskiego Towarzystwa Badania Bólu jest to przykre i negatywne wrażenie zmysłowe i emocjonalne, powstające pod wpływem bodźców (tzw. nocycyptywnych) uszkodzających tkankę lub zagrażających jej uszkodzeniem [35]. Podobnie jak u ludzi jest on doznaniem nieprzyjemnym, wywołującym u zwierząt reakcję obronną, zmianę zachowania, osłabioną aktywność, obniżoną świadomość, podwyższoną częstotliwość oddechów, opór przed wszelkimi manipulacjami, czy też zaburzenia poruszania się (kulawizna, skrócony chód, sztywność kończyn, niechęć do wchodzenia na schodu, niechęć do wskakiwania do samochodu). Evans i wsp. [36] oraz Moore i wsp. [37] zauważyli u psów policyjnych zależność pomiędzy bólem w obrębie kręgosłupa, a spadkiem aktywności oraz wcześniejszą emeryturą. Z badań Dodd i wsp. [38] jasno wynika, że u psów ze stenozą w odcinku lędźwiowo-krzyżowym pojawiła się niechęć do skoków do samochodu oraz niechęć do pracy (po 38%), nagła agresja (25%), samookaleczenie się w okolicy dystalnej pleców, ogona oraz kończyn miednicznych (25%). Właściciele psów towarzyszących, najczęściej obserwują niechęć do ruchu, w tym do biegania, skakania, chodzenia po schodach, wstawania z pozycji leżącej, ponadto brak apetytu oraz posmutnienie [39]. Czasami zmiany w zachowaniu są tak subtelne, że bardzo łatwo je przeoczyć. Rozwijają się bardzo wolno, a właściciele szybko przyzwyczajają się do ich obecności, przyjmując, że *ma tak od zawsze, nigdy nie podnosił łapy jak oddawał mocz, nie lubi się tarzać*. Od pierwszych niepokojących objawów mija zazwyczaj sporo czasu zanim trafią do psiego fizjoterapeuty, a gdy już trafiają to ból jest dość spory [39].

Ból mięśniowo-powięziowy jest jedną z najczęściej odczuwalnych dolegliwości przez człowieka. Jego częstotliwość występowania waha się od 21% do 30% w populacji ogólnej lub nawet 85% do 90% u ludzi z przewlekłym bólem [40]. Co więcej, jest on opisywany jako silny stan ograniczający funkcjonowanie, a w konsekwencji jest przyczyną nieobecności w pracy. Dolegliwości bólowe w układzie mięśniowo-szkieletowo-

wym w obecnych czasach można zaliczyć do chorób cywilizacyjnych [41]. W medycynie weterynaryjnej badania nad bólem mięśniowo-powięziowym głównie skupiają się na psach oraz koniach. Niestety nie dają one konkretnych odpowiedzi na pytania jak powstaje, jak leczy [34, 42, 43].

Ostatnia dekada badań nad systemem powięziowym przyniosła nowe informacje dotyczące potencjalnej roli, jaką może odgrywać tkanka łączna w powięziowo-mięśniowym zespole bólowym [44]. Chaitow [16] opisuje go jako zbiór objawów pochodzenia mięśniowego, czuciowego, motorycznego i autonomicznego związanych z aktywnością mięśniowo-powięziowych punktów spustowych. Co więcej charakteryzuje się on rzutowaniem bólu, dysfunkcją mobilności wewnątrzmięśniowej i/lub międzymięśniowej, uwięzieniem nerwu obwodowego lub dysfunkcją stawową. Jako przyczynę zaburzeń mięśniowo-powięziowych uznaje się punkty spustowe (*tigger point*) [45]. Travell i Simons [46], definiują je jako „nadwrażliwe miejsce w obrębie mięśnia szkieletowego, który powiązany jest z nadmiernie czułym, wyczuwalnym palpacyjnie zgrubieniem w obrębie napiętego pasma”. Chochowska i wsp. [47] podaje, że punkt spustowy to *hiperwrażliwe miejsce w obrębie mięśni szkieletowych, które jest związane z nadwrażliwym, dającym się wyczuć palpacyjnie guzkiem w napiętym paśmie mięśni* (rys. 1). W każdym mięśniu mogą rozwijać się mięśniowo-powięziowe punkty spustowe, które generują ból rzutowany oraz dokuczliwe objawy [47]. Ponadto ucisk punktu spustowego zawsze powoduje ból oraz promieniowanie do innych części ciała [48].



Rysunek 1. Punkt spustowy [opracowanie własne]

Wśród czynników wpływających na ich powstanie wymienia się: nieprawidłową postawę ciała, przeciążenia mięśniowe, złe wzorce ruchowe, zaburzenia hormonalne, a nawet stan emocjonalny [48]. Co więcej ich powstawanie może być wywołane przez bezpośredni uraz, choroby wewnętrzne, czy też infekcje wirusowe. Nie bez znaczenia jest aktywność fizyczna, jej rodzaj, a także jej brak [9, 49]. Ponadto, jak podkreśla Luc [43], nieaktywne punkty spustowe mogą aktywować się pod wpływem chociażby zmęczenia, strachu czy urazu.

Metody leczenia bólu mięśniowo-powięziowego w rehabilitacji ludzi były obiektem wielu badań [15, 50-54]. Wciąż jednak jest za mało badań klinicznych i opracowań naukowych z zakresu szeroko pojętej rehabilitacji zwierząt, a większość stosowanych metod zaczerpnięta jest z fizjoterapii ludzi i zaadaptowana do pracy ze zwierzętami [34]. W medycynie ludzkiej postępowanie przeciwbólowe obejmuje trzy rodzaje terapii: farmakologiczną, fizjoterapeutyczną oraz psychologiczną. W przypadku zwierząt bardzo długo ignorowano ból, w skutek czego nie udzielano im pomocy. Dzisiejsze leczenie

zwierząt opiera się zarówno na farmakologii jak i fizjoterapii. Ponadto coraz częściej też porusza się również aspekty psychologiczne [33].

Zespoły bólowe układu ruchu mogą być skutecznie leczone przy użyciu różnych form w tym fizykoterapii, kinezyterapii czy terapii manualnej. Kompleksowa rehabilitacja polega na odpowiednim łączeniu ze sobą różnych metod, uwzględniając nie tylko przeciwwskazania do zabiegów, ale także komfort i możliwość akceptacji danej terapii przez pacjenta oraz ich wpływ na opracowywane tkanki [1, 5, 6, 7]. Z badań przeprowadzonych na ludziach [15, 50-55] wynika, że stosowanie zabiegów fizykalnych tj. laseroterapia, światłoterapia, magnetoterapia, ultradźwięki, fala uderzeniowa, czy elektrostymulacja może być cennym uzupełnieniem zabiegów manualnych. Nie bez znaczenia jest również kinezyterapia. Ćwiczenia rozciągające wykonywanych przez terapeutę wpływają na zwiększenie zakresu ruchu w stawie, elastyczności, świadomości ciała oraz kontroli motorycznej [56]. Ponadto redukują ból oraz chronią układ mięśniowo-powięziowy przed urazami.

#### **4. Wskazania oraz przeciwwskazania do terapii**

Terapię manualną zaleca się najczęściej w przypadku zmniejszonego lub ograniczonego zakresu ruchu w stawach, więzadłach, ścięgnach, skórze, restrykcjach powięzi, w stanach przeciążeniowych, nerwobólach, stanach wzmożonego napięcia mięśni, zaburzeniach postawy ciała, obrzękach, w urazach sportowych, a także w leczeniu pooperacyjnym lub po prostu do polepszenia komfortu i jakości życia [5, 12, 19, 57]. Zdaniem Stecco i Stecco [31] wskazaniem do wykonania terapii jest między innymi: ból, tkliwość, asymetria, kulawizna, czy też zaburzone wzorce ruchowe. Pewne jednostki chorobowe tj. osteoarthritis, spondyloza, choroba krążka międzykręgowego, przykurcze mięśni czy tendinopatie również kwalifikują pacjentów do terapii manualnej [58].

Z badań przeprowadzonych przez Gulde i Lik [59] wynika, że systematyczne stosowanie technik manualnych w rehabilitacji psów sportowych trenujących agilitę wzmacnia struktury anatomiczne układu kostnego, zmniejsza napięcie mięśniowe oraz zwiększa intensywność metabolizmu. Autorki podkreślają, że odpowiednio dobrane techniki wpływają pozytywnie na utrzymanie dobrej kondycji sportowej oraz zapobiegają wystąpieniu urazów. Również Hausser [56] przyznaje, że zastosowanie technik manualnych wpływa na zwiększenie wydajności organizmu, na regenerację po wysiłku oraz przeciwdziałają powstawaniu urazów.

Jak każda terapia, również techniki mięśniowo-powięziowe w swoim założeniu mają przeciwwskazania, które również będą zależały od zastosowanej metody. Nie należy wykonywać ich w stanach zapalnych o ostrym przebiegu, w sytuacji podwyższonej temperatury ciała, w chorobach skóry, inwazjach pasożytniczych, bezpośrednio po dużym wysiłku fizycznym, czy bezpośrednio po posiłkach [15, 16, 29, 31]. Kwestia chorób nowotworowych pozostaje sporna. Niezależnie od tego czy pracujemy z ludźmi, czy ze zwierzętami, każdy fizjoterapeuta prędzej czy później spotka na swojej zawodowej drodze chorego leczonego z powodu nowotworu, który będzie miał wskazania do fizjoterapii. Zdaniem Woźniewskiego [60] w Polsce wokół wykorzystania metod fizjoterapii, a zwłaszcza fizykoterapii w onkologii, narosły pewne potoczne opinie i mity, z których wynika, że ze względu na ich charakter bodźcowy mogą zwiększać ryzyko nawrotu lub nasilenia choroby nowotworowej. Z drugiej jednak strony pacjenci onkologiczni to bardzo często pacjenci starsi lub po przebytych zabiegach chirurgicz-

nych, a więc posiadający z założenia pewne restrykcje w obrębie układu mięśniowo-powięziowego. Wciąż jednak brak jest rzetelnych badań naukowych w tym zakresie, co sprawia, że fizjoterapeuta zwierzęcy zostaje sam ze swoją wiedzą i umiejętnościami oraz decyduje o wprowadzeniu skutecznej pomocy pacjentowi. Jeżeli już terapeuta zdecydował się na wykonanie masażu musi pamiętać, aby nie wykonywać go w obszarze leczenia onkologicznego lub zmiany nowotworowej [61].

Jednym z najważniejszych przeciwwskazań jest brak akceptacji dotyku przez zwierzę. Zmuszanie i robienie czegoś na siłę jest niedopuszczalne. Z badań przeprowadzonych przez Kassolika i wsp. [1] wynika jednak, że masaż jest jedną z najlepiej akceptowalnych metod stosowanych w rehabilitacji zwierząt. Potwierdzają to również badania Brzyszczy [2], Blauth [4] oraz Wnuk [6]. W pracy ze zwierzętami ze względu na trudności w komunikacji, należy zwrócić szczególną uwagę na objawy lęku, stresu czy bólu [18]. Terapeuta zwierzęcy musi nauczyć się odczytywać zachowania zwierzęcia, dzięki czemu praca będzie przyjemniejsza i bezpieczniejsza dla obu stron [1].

#### **4.1. Przyczyny niepowodzenia terapii**

Na skuteczność przeprowadzanych technik manualnych ma wpływ wiele czynników. Niewątpliwie ogromne znaczenie ma diagnostyka weterynaryjna i określenie problemu pierwotnego, który generuje napięcia mięśniowo-powięziowe. Dzięki trafnie postawionej diagnozie zoofizjoterapeuta jest w stanie ustalić kompleksowy program rehabilitacji [5]. W wielu przypadkach bowiem niska skuteczność terapeutyczna spowodowana jest błędną diagnozą [9]. W sytuacji braku lub błędnej diagnozy, terapia mięśniowo-powięziowa staje się leczeniem objawowym i nie przynosi planowanych rezultatów. Efekt terapii jest krótkotrwały, a powstające napięcia i restrykcje w obrębie układu mięśniowo-powięziowego mają tendencję do nawracania. Przeciężenia lub uraz danej okolicy mogą wywoływać zespoły bólowe pojawiające się wiele miesięcy później w zupełnie innym regionie ciała [15, 36]. Dlatego tak ważne jest przeprowadzenie odpowiedniego wywiadu [9]. Z doświadczenia własnego wynika, że bardzo często pomijanym aspektem przez właścicieli zwierząt są blizny po przebytych zabiegach ortopedycznych lub po urazach tkanek miękkich [5]. Co więcej blizna na skórze może powodować nie tylko zmiany jej wyglądu (wyciągnięcia, przebarwienia, obrzęki), problemy funkcjonalne (zaburzenia czucia, drętwienie, nadwrażliwość lub niewrażliwość), ale też być źródłem długotrwałego bólu. Aby zrozumieć oddziaływanie blizn, trzeba uwzględnić w jaki sposób połączenie blizny ze skórą, powięzią czy łańcuchami mięśniowo-powięziowymi oddziałuje na całe ciało [62-64]. Należy zwrócić uwagę na fakt, że powstałe blizny ze względu na małą elastyczność, wpływają na zmniejszenie rozciągliwość danego segmentu, stawu czy narządu, a tym samym wpływają na struktury położone głębiej [62-64].

Nie bez znaczenia jest też dobór odpowiedniej techniki terapeutycznej oraz wybór odpowiednich miejsc do opracowania oraz wiedza i doświadczenie terapeuty. W przypadku terapii punktów spustowych znaczenie ma opracowywanie pierwotnych, a nie satelitarnych punktów spustowych [49]. Istotne też jest spojrzenie na pacjenta bardziej globalnie, a nie skupianie się na jednym punkcie lub restrykcji [9, 25]. Niekiedy przyczyna dysfunkcji jest znacznie oddalona od miejsca, na którym realnie pracuje terapeuta, przykładem tu mogą być ww. blizny i bliznowce. Dzisiejsze czasy, pęd, stres oraz oczekiwania właścicieli zwierząt niekiedy przekraczają możliwości terapeutyczne.

Niestety nie da się za pomocą jednego spotkania przywrócić prawidłowego funkcjonowania organizmu. Widoczne jest to szczególnie w przypadku pacjentów ze stwierdzoną zaawansowaną uogólnioną chorobą zwyrodnieniową stawów, których leczenie jest trudne, a wczesne i właściwie ukierunkowanie postępowania fizykalno-usprawniającego jest kluczem do sukcesu [65]. Terapia mięśniowo-powięziowa (manualna) u tego typu pacjentów w znacznym stopniu poprawia komfort i jakość życia. Podobnie jak u innych pacjentów przewlekłe chorych, lub z bardzo dużymi restrykcjami w układzie mięśniowo-powięziowych, istotne znaczenie ma częstotliwość wykonywanych zabiegów. Pojedyncze sesje najczęściej przynoszą efekt krótkotrwały. Najefektywniejsze są sesje terapeutyczne obejmujące kilka spotkań [19]. Z doświadczenia własnego wynika, że pierwsze kliniczne objawy zauważalne przez właścicieli/opiekunów zwierząt pojawiają się pomiędzy 3. a 4. zabiegiem. U pacjentów młodych bądź tych którzy relatywnie szybko trafili na terapie manualne, a restrykcje są jeszcze niewielkie na efekty nie trzeba czekać długo. Niestety u pacjentów z dużymi problemami ortopedycznymi czy neurologicznymi efekty przychodzą z czasem, a terapia ma charakter przewlekły.

Odwiecznym problemem w dyscyplinach medycznych i pokrewnych jest rutyna i podchodzenie do pacjenta schematycznie. Jak podkreśla Wytrązek i wsp. [66] ta sama jednostka chorobowa może generować różne objawy kliniczne, a stosowanie uogólnionych schematów może przyczynić się do ograniczenia efektywności terapii. Dlatego tak ważne jest podejście do pacjenta w sposób indywidualny oraz stosowanie kompleksowej rehabilitacji składającej się z: zabiegów fizykalnych, terapii manualnej oraz kinezyterapii. Tylko holistyczne podejścia do pacjenta sprawia, że terapie mają długotrwały efekt i w znacznym stopniu przyczyniają się do polepszenia komfortu życia. Terapia nie może składać się z przepisów, ale powinna zawierać reguły, które powinny zostać dostosowane do każdego pacjenta indywidualnie [67, 15].

## **5. Wybrane techniki wykorzystywane na co dzień w pracy manualnej przez zoofizjoterapeutów**

Wiedza jaką obecnie dysponują fizjoterapeuci zwierząt, możliwość szkolenia i podnoszenia swoich kwalifikacji sprawiają, że coraz częściej i śmieiej sięgają oni do technik manualnych. Terapia manualna to ogólne określenie dla zestawu metod i technik zajmujących się diagnostyką i leczeniem odwracalnych zaburzeń funkcjonalnych układu ruchu (stawów, mięśni, powięzi, więzadeł) [68, 69]. Wywodzących się niewątpliwie od Eskulapa, a we współczesnym świecie nowoczesnymi źródłami są m.in. Ida Rolf, czy Leon Chaitow. Jak podkreśla Chaitow i wsp. [49] w swojej pracy zbiorowej praca z tkankami wymaga dużej cierpliwości, ale równocześnie przynosi ogromną satysfakcję. Autor podkreśla, że w złożonych mechanizmach kompensacyjnych, które towarzyszą stanom przewlekłym, na pierwsze efekty terapii należy długo poczekać. Rodzaj dobrej terapii manualnej będzie zależał od wielu czynników m.in. od patofizjologii choroby lub powstałego urazu, czasu jego trwania, wieku pacjenta, zastosowanego leczenia farmakologicznego lub zastosowanych innych metod rehabilitacji [18]. Do terapii manualnej zalicza się m. in: chiropraktykę, osteopatię, masaż oraz techniki manualne. Każda z technik charakteryzuje się innymi właściwościami, wskazaniem oraz przeciwwskazaniem. Niezależnie jednak od wybranej techniki celem będzie przywrócenie prawidłowego funkcjonowania organizmu. Wykorzystanie technik manualnych jest bardzo częstą praktyką w leczeniu bólu mięśniowo-powięziowego [47].

## **5.1. Masaż tkanek głębokich**

Masaż tkanek głębokich to forma pracy terapeutycznej na tkankach miękkich prowadzona w sposób celowy, świadomy oraz nieschematyczny, wymagający znajomości zasad tensegracji oraz warstwowości tkanek. Celem tej formy terapii jest odnalezienie utrzymujących się restrykcji i nieprawidłowych napięć w obrębie układu mięśniowo-powięziowo-więzadłowego, a następnie dążenie do rozluźnienia i przywrócenia tkankom miękkim tego układu ich fizjologicznej długości, sprężystości, przesuwalności oraz elastyczności [69, 70].

W masażu tkanek głębokich istnieje wiele zasad, którymi należy się kierować i choć nie ma konkretnego schematu postępowania, a działanie jest niesystematyczne to jednak celowe i świadome [69]. Istotą tej metody jest świadoma palpacja, idealne wykonywanie technik oraz dobra znajomość anatomii oraz tensegracji. Usuwanie istniejących restrykcji niewątpliwie wymaga cierpliwości oraz wolnego tempa. Znaczenie ma również leczenie przyczyny, a nie samego objawu. Masaż tkanek głębokich nie powinien boleć, a praca terapeuty nie powinna dotyczyć tylko samych brzuśców mięśni, ale także obejmować ich ścięgna [69, 70]. Chwyty stosowane przez terapeutę są zależne od opracowywanej struktury oraz zamierzonego efektu terapeutycznego. Stosuje się m.in. chwyt wydluzający, techniki pracy na przegrodach międzymięśniowych, techniki uwalniające uwięzione mięśnie, czy też stymulowania mięśnia do wydłużenia [29, 69, 70]. Masaż tkanek głębokich to bardzo efektowna forma terapii, dzięki której uzyskuje się trwałe i stabilne zmiany oraz obniża ból.

## **5.2. Manipulacje powięziowe ® Stecco**

Włoski fizjoterapeuta Luigi Stecco, w swojej trwającej ponad 40 lat pracy zawodowej, na podstawie szczegółowych badań i studiów nad powięzią, stworzył całościowy model diagnostyczny i terapeutyczny narządu ruchu [9, 30, 31, 67]. Podłożem do pracy jest powięź. Odgrywa ona ważną rolę w percepcji i koordynacji ruchu. Jak podkreśla Mikołajczyk i wsp. [9] to nie jest tylko łącznotkankowe rusztowanie i opakowanie mięśni oraz narządów.

Ruch każdego głównego stawu jest koordynowany przez sześć jednokierunkowych jednostek mięśniowo-powięziowych, z których każda odpowiada za ruch. Co więcej, w obrębie każdej jednostki mięśniowo-powięziowej znajduje się centrum koordynacji (CC) oraz centrum percepcji (CP) [22, 30]. W przypadku powięzi głębokiej największe modyfikacje, określane przez Stecco [10, 30, 31] densyfikacjami, zachodzą w centrach koordynacji i centrach fuzyjnych, gdzie koncentrują się największe siły oddziałujące na układ powięziowy.

W metodzie Manipulacji powięziowej ® Stecco, źródłem bólu są tzw. densyfikacje powięzi, polegające na zagęszczeniu substancji podstawnej, przy jednoczesnej zmianie ilości (wzroście) oraz orientacji włókien kolagenowych. Regiony te wyczuwalne są jako bolesne, nieruchome zgrubienia o różnym kształcie, które powstają na skutek urazów, przeciążeń czy zaburzeń metabolicznych. Jak podają Autorzy, w przypadku gdy powięź ulega densyfikacji, nawet niewielki dotyk może powodować przeculicę bólową. Leczenie w tej metodzie polega na masażu poprzecznym densyfikacji [10, 16, 30-32, 71].

Stymulacja manualna mechanoreceptorów powoduje reakcję autonomicznego układu nerwowego, miejscowy stan zapalny i modyfikację konsystencji tkanki (przebudowę

warstwy podstawnej). Z badań przeprowadzonych przez Fidut-Wrońską i wsp. [72] wynika, że odpowiednio przeprowadzone manipulacje zwiększają temperaturę opracowanego regionu. Z doświadczenia własnego wynika, że część właścicieli, zgłasza ogólne złe samopoczucie zwierzęcia po manipulacjach Metodą Stecco lub pogorszenie stanu pacjenta w czasie do 2 dni po zabiegu. W głównej mierze może to wynikać, z mechanizmu działania tej terapii i powstających miejscowych stanów zapalnych oraz od indywidualnych możliwości i szybkości regeneracji organizmu. Po ustąpieniu stanu zapalnego dochodzi do poprawy funkcjonowania narządu ruchu oraz innych układów ciała.

Niestety układ nerwowy nie jest w stanie samodzielnie rozpoznać nadmiaru włókien kolagenowych, a tym samym powstałych densusyfikacji. Jedynie zastosowanie odpowiednich metod daje taką możliwość. Leczenie w tej metodzie polega na masażu poprzecznym densusyfikacji [10, 16, 30-32, 71] (zdj. 2).



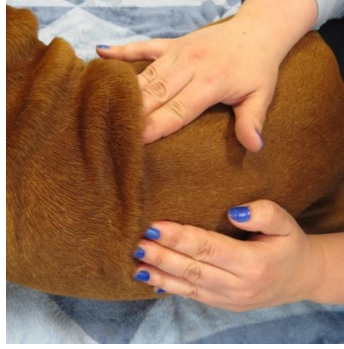
Zdjęcie 2. Opracowanie Centrów Koordynacji (CC) [Zdjęcie własne autorki]

### **5.3. Techniki rozluźniania powięziowego**

O powięzi coraz częściej mówi się i pisze. To ona jest tym brakującym elementem w równaniu ruchomość/stabilność [24]. Co więcej, kształtuje się pod wpływem naszych wzorców ruchu (oddychania, chodzenia, aktywności fizycznej, stresu), a z upływem lat ulega starzeniu i degeneracji. W rękach doświadczonego terapeuty techniki rozluźniania powięziowego są niewątpliwie przyjemne, choć w początkowych etapach terapii mogą sprawiać pewien dyskomfort, zwłaszcza u zwierząt, które nie do końca rozumieją sens wykonywanych zabiegów [24, 29].

Podstawą terapii z wykorzystaniem rozluźniania powięziowego jest badanie palpacyjne i techniki manualne wykonywane z dostosowaniem się do stanu klinicznego pacjenta. Jedną z podstawowych technik pracy jest tzw. przesuwanie powięzi. Gdy dłonie przesuwają się wzdłuż tkanek na powierzchni, ciśnienie wywierane na tkanki rośnie, a poszczególne warstwy przesuwają się [19, 73, 74] (zdj. 3). W metodzie tej istotne jest wyczuwanie warstw od położonej najbardziej zewnętrznie skóry, poprzez powięź powierzchowną, aż do powięzi głębokiej. To terapeuta decyduje, na którym z poziomów chce pracować, a terapia polega na wyczuwaniu oporu oraz luzu tkankowego w zależności od kierunku przesuwania warstw [15, 16, 24].





Zdjęcie 3. Technika rozluźniania powięzi tzw. przesuwanie powięzi [Zdjęcie własne Auterek, w Całodobowej Klinice Weterynaryjnej „Puławska”, Warszawa]

Równie często stosowaną metodą jest tzw. walcowanie skóry, rolowanie skóry, które polega na przytrzymaniu pomiędzy palcem wskazującym a kciukiem fałdu skóry, który następnie delikatnie roluje się w stronę czaszki lub w stronę ogona [15].

#### **5.4. Koncepcja taśm mięśniowo-powięziowych**

Koncepcja Taśm Anatomicznych powstała na bazie doświadczeń związanych z nauczeniem anatomii mięśniowo-powięziowej różnych grup „alternatywnych” terapeutów, głównie na obszarze USA, Wielkiej Brytanii i Europy. Po raz pierwszy idea ta została zaprezentowana przez Leona Chaitowa w 1997 roku w *Journal of Bodywork and Movement Therapies*.

Taśmy mięśniowo-powięziowe, inaczej zwane liniami kinetycznymi to globalne linie napięcia przechodzące przez całą powierzchnię ciała, zachowują się tak, aby utrzymać szkielet w odpowiednim kształcie, wskazując dostępne ruchy i koordynując globalne wzorce posturalne [15, 16, 24, 27, 28]. Pierwsze badania nad opisem taśm mięśniowo-powięziowych u koni przeprowadzili Elbrønd i Schultz [27, 28], którzy wykazali, obecność 6 taśm anatomiczno powięziowych. Praca na taśmach mięśniowo-powięziowych opiera się na dowolnej technice, jaką terapeuta ma do swojej dyspozycji. Celem tej terapii jest zlikwidowanie nieprawidłowych wzorców ruchowych [20, 24]. Sam Autor tej metody pracy z tkankami nie jest za promowaniem jednej techniki. Nie ma najmniejszego znaczenia, czy mechanizm zmian mięśniowo-powięziowych jest następstwem pracy wynikającej ze zwykłego rozluźniania czy chociażby uwolnienia punktów spustowych. Istotą jest zrozumienie przebiegu taśm powięziowych, ich wzajemnych powiązań i wpływu na organizm pacjenta [24].

#### **5.5. Praca na punktach spustowych (terapia punktów spustowych)**

Terapia punktów spustowych jest techniką, która głównie wykorzystuje różne formy ucisku na wrażliwe miejsca w tkance mięśniowej. Celem terapii jest uwolnienie się od bólu i poprawa zaburzonych wzorców ruchowych [47]. W terapii punktów spustowych stosuje się wiele technik oraz metod terapeutycznych. Do najczęściej wykorzystywanych należą techniki uciskowe (kompresyjne) mięśni, które wpływają na zmniejszenie napięcia w obszarze tkanki mięśniowej oraz na poprawienie metabolizmu komórkowego, tym samym umożliwiając swobodny przepływ krwi i limfy [16, 32, 47].

Jedną z metod jest technika ciągłego ucisku bezpośredniego zlokalizowanego punktu spustowego. Polega ona na aplikowaniu ucisku przy użyciu kciuka, czy też opuszków palców w miejscu wyczucia oporu tkankowego. W niektórych przypadkach, gdy przeciwwskazane jest zastosowanie głębokiego ucisku płaskiego lub w rejonach struktur naczyniowo-nerwowych wskazane jest wykorzystanie chwytu szczypcowego [16, 32, 47]. Polega on na ujęciu pomiędzy kciuk i inny palec (najczęściej wskazujący lub środkowy) fałdu mięśniowo-skórnego zawierającego punkt spustowy i uciskaniu go (zdj. 4).



Zdjęcie 4. Praca na punktach spustowych. Chwyt szczypcowy [Zdjęcie własne Autorki, w Całodobowej Klinice Weterynaryjnej „Puławska”, Warszawa]

Czas trwania ucisku powinien wynosić około 10 sekund, po tym czasie należy poczekać na rozluźnienie tkanek (0,5-2 min) i wyszukać miejsce nowego oporu tkankowego. Czynność tę powtarza się kilkakrotnie do momentu ustąpienia bólu [47].

Należy jednak pamiętać, iż punkty spustowe nie pojawiają się bez powodu. Każdy z nich ma swoją przyczynę, która powinna być wyeliminowana, aby efekt terapeutyczny był długotrwały [16, 32, 47]. W przypadku, gdy nie są one właściwie leczone, wykazują tendencję do podtrzymywania własnego istnienia.

## **5.6. Kinesiotaping jako uzupełnienie technik manualnych**

Nowoczesna rehabilitacja wykorzystuje w swoich terapiach kinesioteping. Metodę opracowaną w latach 1973-1979 przez doktora Kenzo Kase, w celu zapewnienia wsparcia dla układu mięśniowo-szkieletowego [75, 76]. Metoda ta znalazła swoje stałe miejsce, tak w terapii osób dorosłych, jak i dzieci [77]. Po zbadaniu wpływu taśm na ludzkie ciało zaczęto przenosić tę technikę na zwierzęta w szczególności na konie oraz psy [76]. Plastry wykorzystywane do klejenia aplikacji stworzone są z bawełny i kleju akrylowego. Mają grubość i ciężar zbliżony do skóry i podobnie jak ona są dość rozciągliwe. Ponadto przepuszczają powietrze i są wodoodporne [77]. Zdolni terapeuci, potrafią w sposób kreatywny doskonalić tę metodę, łącząc ją z innymi sposobami rehabilitacji. Jak podkreśla Mikołajewska [77] kinesiotaping działa na organizm poprzez wspomaganie pracy mięśni, rozluźnienie zbyt mocno napiętych mięśni, wspomaganie funkcji więzadeł, wspieranie działania stawów, układu limfatycznego, miejscowego ukrwienia, poprawę układu powięzi oraz wsparcie właściwego ustawienia ciała (zdj. 5).



Zdjęcie 5. Technika powięziowa [Zdjęcie własne Auterek, w Całodobowej Klinice Weterynaryjnej „Puławska”, Warszawa]

Plastrowanie wywiera bezpośredni lub pośredni wpływ na warstwy powięziowe. Naklejona taśma delikatnie unosi skórę i zwiększa w ten sposób przestrzeń pomiędzy skórą a tkankami położonymi głębiej [78]. Korekcja powięziowa jest stosowana w celu uzyskania przesunięcia się powięzi. Naciąg taśmy jest lekki około 25%, co powoduje pociągnięcie skóry i powięzi w kierunku bazy bez napięcia. Przy takim klejeniu wykorzystuje się taśmy w kształcie litery Y, pomiędzy ramionami której, znajduje się zazwyczaj miejsce najbardziej bolesne [78]. Jak podkreśla Iibeydui [51] taśmy wpływają również na mobilizację struktur nerwowych, uruchamiają naczynia limfatyczne, uwalniają adhezje tkanek. Co więcej, techniki klejenia powięziowego wpływają na zmniejszenie bólu mięśniowo-powięziowego, zmniejszenia adhezji, a nawet wpływają na nieprawidłowe wzorce chodu [76-78].

Inną równie skuteczną metodą jest wykorzystanie Corss tapów w celu leczenia punktów spustowych oraz punktów akupunkturowych (zdz. 5). Aplikacje tego typu nie mają możliwości rozciągania się jak klasyczne taśmy stosowane do tapingu [76-78].



Zdjęcie 5. Zastosowanie metody cross tape [zdjęcie własne Auterek w Całodobowej Klinice Weterynaryjnej „Puławska”, Warszawa]

## 6. Wnioski/Podsumowanie

Cechą wspólną większości współczesnych technik manualnych, fizjoterapeutycznych czy osteopatycznych jest podejście holistyczne do pacjenta. Opracowane kompleksy anatomiczno-funkcjonalne pozwalają z jednej strony skutecznie i wszechstronnie reagować na zmiany w otaczającym środowisku, a z drugiej strony przenoszą przeciążenia wzdłuż danej linii w odległe rejony ciała. Warunkiem odpowiednio przeprowadzanej terapii jest szeroka wiedza i doświadczenie pracujących manualnie osób. Efektywna forma pracy z ciałem, dobór odpowiednich technik manualnych umożliwiających uzyskanie zmian w układzie ruchu pacjenta, zależy od poznania jej zasad i założeń, a także zrozumienia zasad tensegracji w obrębie układu mięśniowo-powięziowego.

Niewątpliwie rosnące zainteresowanie terapią manualną, wynika z faktu, że jest ona cennym uzupełnieniem programów rehabilitacyjnych. Dobrze wykwalifikowany fizjoterapeuta zwierząt staje dziś przed koniecznością opanowania kilku, z wielu technik badania i leczenia układu stawowego, mięśniowego, nerwowego i innych tkanek miękkich.

Zastosowanie odpowiednich metod przyczynia się do trwałych i stabilnych zmian w układzie mięśniowo-powięziowym pacjentów, co więcej wpływa na likwidację dolegliwości bólowych związanych ze wzorcami nieprawidłowych napięć w obrębie układu ruchu, polepsza komfort i jakość życia oraz wpływa na ograniczenie występowania urazów.

## Literatura

1. Kassolik K., Andrzejewski W., Gilar A., *Rozwój fizjoterapii weterynaryjnej w Polsce*, Fizjoterapia, 2009, 17(4), s. 78-86.
2. Brzyszczyk A., *Wiedza właścicieli zwierząt na temat zoofizjoterapii*, Praca magisterska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn 2019.
3. Jastrzębska E., Brzyszczyk A., *Stan wiedzy opiekunów zwierząt na temat zoofizjoterapii*, Medycyna Weterynaryjna, 2020, 76(9), s. 542-547.
4. Blauth O., *Pies pracujący okiem zoofizjoterapeuty: rola rehabilitacji oraz profilaktyka urazów*, Praca inżynierska, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa 2021.
5. Wnuk A., Blauth O., *Wstęp do fizjoterapii psów pracujących*, Materiały szkoleniowe, 2021.
6. Wnuk A., *Fizjoterapia w rehabilitacji psów*, Praca magisterska, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa 2010.
7. Pasek J., Cieślak G., Sieroń A., *Wprowadzenie do zagadnienia terapii skojarzonej w fizjoterapii*, Rehabilitacja w Praktyce, 2017, 4, s. 15-20.
8. Pasek J., Pasek T., Białkowska M., Cieślak G., *Zastosowanie wybranych zabiegów fizykalnych w leczeniu dolegliwości bólowych*, Rehabilitacja w Praktyce, 2021, 1, s. 16-23.
9. Mikołajczyk A., Kocięcki M., Zaklukiewicz A., Listewnik M., Gębska M., *Zastosowanie koncepcji tensegracji strukturalnej w manipulacjach powięziowych © według Stecco*. Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, 2014, 60(2), s. 59-64.
10. Podstawka Z., Pińskowska O., Byś A., Gawda P., *Effectiveness of Fascial Manipulation Method (FM®)*, Journal of Education, Health and Sport, 2020, 10(9), s. 506-513.
11. Puchała P., *Masaż koni receptą na zdrowie*, Wydawnictwo Happy Horse, Wrocław 2014.
12. Soroko M., *Masaż w profilaktyce i leczeniu koni*, Konie i Rumaki, 2012, 9, s. 40-44.
13. Frisch H., Roex, *Terapia manualna. Poradnik wykonywania ćwiczeń*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2001.
14. Marciniak R., [w:] *Anatomia masażu tkanek głębokich*, Wydawnictwo Centrum Szkoleniowe Rafał Uryzaj, Poznań 2020.

15. Schleip R., Findley T.W., Chaitow L., Huijing, *Powieź. Badanie, profilaktyka i terapia dysfunkcji sieci powięziowej*, Wydawnictwo Elsevier, 2012.
16. Chaitow L. (red.), *Metody terapii manualnej w leczeniu dysfunkcji powięziowych*, Wydawnictwo Edra URBAN&PARTNER, Wrocław 2015.
17. Riley L.M., Satchell L., Stilwell L.M., Lenton N.S., *Effect of massage therapy on pain and quality of life in dogs: A cross sectional study*, VetRecord, 2021, s. 1-10.
18. Formenton M.R., Pereira M.A.A.P., Fantoni D.T.F., *Small Animal Massage Therapy: A brief review and relevant observation*, Topical Review, 2017, 32, s. 139-145.
19. Schleip R., Findley T.W., Chaitow L., Huijing, *Powieź. Badanie, profilaktyka i terapia dysfunkcji sieci powięziowej*, Wydawnictwo Elsevier, 2012.
20. Chaitow L. (red.), *Metody terapii manualnej w leczeniu dysfunkcji powięziowych*, Wydawnictwo Edra URBAN&PARTNER, Wrocław 2015.
21. Wnuk-Gnich A., *Masaż relaksacyjny*, Pies rasowy, 2019, 11-12, s. 34-38.
22. Wolska M., Jastrzębska E., *Wpływ masażu na organizm konia*, Hodowca Jeździec, 2015, 13, s. 98-101.
23. Bocheńska A., *Terapia manualna w fizjoterapii weterynaryjnej. Ręce, które leczą*, Vet Trends. Specjalistyczny Magazyn Lekarzy Weterynarii, 2019, 5, s. 60-64.
24. Earls J., Myers T., *Rozluźnianie powięziowe dla równowagi strukturalnej*, Wydawnictwo Wyższej Szkoły Edukacji i Terapii, Poznań 2012.
25. Souchard P. (red.), *Fizjoterapeutyczna metoda globalnych wzorów posturalnych*, Wydawnictwo Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2011.
26. Ahmed W., Kulikowska M., Ahlmann T., Berg L.C., Harrison A.P., Elbrønd V.S., *A comparative multi-site and whole-body assessment of fascia in the horse and dog: a detailed histological investigation*, Journal of Anatomy, 2019, 225(6), s. 1065-1077.
27. Elbrønd V.S., Schultz R.M., *Myofascia – the unexplored tissue: Myofascial kinetic lines in horses, a model for describing locomotion using comparative dissection studies derived from human lines*, Medical Research Archives, 2015, 3, s. 1-22.
28. Elbrønd V.S., Schultz R.M., *Deep Myofascial Kinetic Lines in Horses, Comparative Dissection Studies Derived from Humans*, Open Journal of Veterinary Medicine, 11, s. 14-40.
29. Luchau T., *Zaawansowane techniki mięśniowo-powięziowe. Bark, miednica, kończyna górna i dolna*, Wydawnictwo Edra URBAN&PARTNER, Wrocław 2016.
30. Stecco C., Macchi V., Porzionato A., Fabrice D., Raffaele D.C., *The fascia: the forgotten structure*. Italian Journal of Anatomy and Embryology, 2011, 116(3), s. 127-138.
31. Stecco L., Stecco A., *Manipulacja powięzi w leczeniu dolegliwości bólowych układu ruchu*, Wydawnictwo ODNVA-MED, Szczecin 2019.
32. Goguł P., Goguł M., Gieroba P., *Densyfikacja powięzi i punkty spustowe. Podejście Stecco oraz Travell i Simons do bólu układu mięśniowo szkieletowego*, <http://bc.wydawnictwo-tygiel.pl/public/assets/137/Ksi%C4%85%C5%BCka%20Abstrakt%C3%B3w%20IF.pdf>, 20.06.2021.
33. Lorenz M.D., Kornegay J.N., *Neurologia weterynaryjna*, Wydawnictwo Elsevier Urban&Partner, Wrocław 2004.
34. Sato N.Y.S., Bastos B.B.B., Pereira M.A.A., Campos K.D.C., Ambrosio A.M., Formenton M.R., Fantoni D.T., *Myofascial pain syndrome, myofascial trigger points and trigger points in veterinary medicine: a review*, Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 2020, 57(2), s. 1-9.
35. Polskie Towarzystwo Badania Bólu, <https://ptbb.pl/>, 10.08.2021.
36. Evans R.I., Herbold J.R., Bradshaw B.S., Moore G.E., *Causes for discharge of military working dogs from service: 268 cases (2000-2004)*, Journal of the American Veterinary Medical Association, 2007, 231(8), s. 1215-1220.
37. Moore G.E., Burkman K.D., Carter M.N., Peterson M.R., *Causes of death or reasons for euthanasia in military working dogs: 927 cases (1993-1996)*, Journal of the American Veterinary Medical Association, 2001, 219 (2), s. 209-214.

38. Dodd T., Jones J., Holaskova I., Mukherjes M., *Behavioral problems may be associated with multilevel lumbosacral stenosis in military working dogs*, Journal of Veterinary Behavior 35, 2020, s. 8-13.
39. Wnuk-Gnich A., Kołodziejaska-Lesisz J., *Gdy psa boli kręgosłup*, Pies Rasowy, 2019, 7-8, s. 38-40.
40. Borg-Stein J., Iaccarino M.A., *Myofascial pain syndrome treatments*, Physical medicine and rehabilitation clinics of North America, 2014, 25 (2), s. 357-374, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmr.2014.01.012>. PMID:24787338.
41. Potoniec M., Trybulec B., *Zastosowanie masażu tkanek głębokich w przewlekłym bólu krzyża – opis przypadku*, Rehabilitacja w praktyce, 2020, 3, s. 60-65.
42. Brockman T., *A case study utilizing myofascial relasse, acupressure and tiger point therapy to treat bilateral „Stringhalt” in 12 year old Akhal-Teke horse*, Journlar of Bodywork & Movement Therapies, 2017, 21, s. 589-593.
43. Luc A., *Trigger Points in 48 Dogs with Myofascial Pain Syndromes*, Veterinary Surgery, 1991, 20, 4, s. 274-278.
44. Ciechomski J., *Powięź jako źródło bólu i zaburzeń propriocepcji na przykładzie dolnego odcinka kręgosłupa i powięzi piersiowo-lędźwiowej*, Rehabilitacja w Praktyce, 2020, 2, s. 60-66.
45. Okada-Ogawa A., Sekine N., Watanabe K., Kohashi R., Asano S., Iwata K., Imamura Y., *Change in muscle hardness after trigger point injection and physiotherapy for myofascial pain syndrome*, Journal of Oral Science, 2018, s. 1-9.
46. Travell J.G., Simons D.G., *Myofascial Pain and Dysfunction: The Tigger point Manual*, Wydawnictwo Williams & Wilkins, Baltimore 1992.
47. Chochowska M., Ogródowczyk R., Klonowska J., Wyrażek M., *Terapia punktów spustowych w napięciowych bólach głowy*, Rehabilitacja w praktyce, 2015, 5, s. 61-67.
48. Szczygieł A., *Rola punktów spustowych w postępowaniu fizjoterapeutycznym – wybrane zagadnienia*, [w] Kasperczyk T., Mucha D. (red.), *Podstawy terapii manualnej*, Wydawnictwo Jet, Kraków 2020, s. 151-160.
49. Chaitow L., Fritz S., King R.K., Chambers G., *Badanie i leczenie mięśniowo-powięziowych punktów spustowych*, Wydawnictwo Elsevier, Wrocław 2010.
50. Qi-Wang C., Bao-Gan P., Lin W., You-Qing H., Dong-Li J., Hao J., Yan L., Xian-Guo L., Rong-Guo L., Ying L., Tao S., Wen S., Ling-Zhi Y., Yong-Jun Z., Yan-Qing L., Dong H., *Expert consensus on the diagnosis and treatment of myofascial pain syndrome*, World Journal of Clinical Cases, 2021, 26(9), s. 2077-2089.
51. Ramon S., Gleitz M., Hernandez L., Romero L.D., *Update on the efficacy of extracorporeal shockwave treatment for myofascial pain syndrome and fibromyalgia*, International Journal of Surgery, 2015, 24, s. 201-206.
52. Ahmed H.M., Taleb E.A., Eldesoky M.T., Lasheen Y.R., Ameen F.H., *High intensity laser therapy effect on pain in patients with myofascial tigger points*, Egyptian Journal of Physical Therapy, 2020, 3, s. 1-8.
53. Chang W.-H., Tu L.-W., Pei Y.-C., Chen Ch.-K., Wang Sz.-H., Waong A.M., *Comparistion of the effects between lasers applied to myofascial tigger points and to classical acupoints for patiens with cervical myofascial pain syndrome*, Biomedical Journal, 2010, s. 1-9.
54. Zhang Q., Fu Ch., Huang L., Xiong F., Peng L., Liang Z., Chen L., He Ch., Wei Q., *Efficacy of Extracorporeal Shockwave Therapy on Pain and Function in Myofascial Pain Syndrome of the Trapezius: A Systematic Review and Meta-Analysis*, Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, 2020, 101(8), s. 1437-1446.
55. Bauer A., Wiecheć M., *Przewodnik metodyczny po wybranych zagadnieniach fizykalnych*. Wydawnictwo Markmed, 2012.
56. Haussler K.K., *Review of Manual Therapy Techniques in Equine Practice*, Journal of Veterinary Science, 29(12), s. 849-869.

57. Jastrzębska E., Wadas E., Lipka M., *Masaż zabiegiem poprawiającym dobrostan zwierząt*, Przegląd Hodowlany, 2018, 86, s. 25-28.
58. Hesbach A.L., *Manual Therapy in Veterinary Rehabilitation*, Topics in Companion Animal Medicine, 2014, 29, s. 20-23.
59. Gulda D., Lik M., *The use of manual therapy in canine discipline – agility*, Polish Journal Of Natural Science, 2018, 33(3), s. 487-50.
60. Woźniewski M., *Fizjoterapia onkologiczna*, Rehabilitacja w praktyce, 2020, 3, s. 13-14.
61. Malicka I., *Rehabilitacja osób chorujących na nowotwory złośliwe*, Rehabilitacja w praktyce, 2020, 3, s. 15-21.
62. Wnuk-Gnich A., Blauth O., *Blizny i bliznowce w fizjoterapii zwierząt*, Pies rasowy, 2021, 1-2, s. 44-47.
63. Bringeland N.E., Boeger D., *Terapia blizny. Metody stymulujące gojenie się ran i usprawniające funkcjonowanie układu powięziowego*, Wydawnictwo MedPharm Polska, Warszawa 2020.
64. Bagrowski B., *Związek terapii blizn z funkcjonowaniem narządu ruchu*, Rehabilitacja w praktyce, 2020, 3, s. 55-60.
65. Kuliński W., Leśniewski P., Mróz J., Olczak A., *Choroba zwyrodnieniowa stawów – analiza postępowania, Dysfunkcje narządów ruchu – różne oblicza*, Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Medycznego, 2014, Poznań, s. 73-82.
66. Wyrażek M., Chochowska M., Huber J., *Obiektywizacja stanu chorego z zespołem bólu mięśniowo-powięziowego w codziennej praktyce Fzjoterapeutycznej*, Zeszyty Promocji Rehabilitacji, Ortopedii, Neurofizjologii i Sportu – IRONS, 2012, 1, s. 57-65.
67. Czechowski K., Wilmowska-Pietruszyńska A., *O potrzebie rehabilitacji kompleksowej*, Niepełnosprawność – zagadnienia, problemy, rozwiązania, 2016, 2, 19, s. 35-51.
68. Wojtanowski W., *Rola punktów spustowych w postępowaniu fizjoterapeutycznym – wybrane zagadnienia*, [w] Kasperczyk T., Mucha D. (red.), *Podstawy terapii manualnej*, Wydawnictwo Jet, Kraków, 2020, s. 161-173.
69. Uryzaj R., *Anatomia masażu tkanek głębokich*, Wydawnictwo Centrum Szkoleniowe Rafał Uryzaj, 2020.
70. Uryzaj R., *Masaż tkanek głębokich. Koncepcja pracy*, Rehabilitacja w praktyce, 2016, 1, s. 63-67.
71. Gieroba P., Goguł P., *Powięź jako przedmiot terapii w metodzie Manipulacji Powięzi wg L. Stecco*, <http://bc.wydawnictwo-tygiel.pl/public/assets/159/Post%20C4%99powanie%20fizjoterapeutyczne%20-%20wybrane%20aspekty.pdf>.
72. Fidut-Wrońska J., Chołuj K., Chmiel J., Pikto-Pitkiewicz K., Majcher P., *Observation using thermography of post-operative reaction after fascial manipulation*®, Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 2019, 26 (3), s. 468-471.
73. Millis D.L., Levine D., Taylor R.A., *Rehabilitacja psów*, Wydawnictwo Urban&Partner, Wrocław 2007.
74. Millis D., Levine D., *Canine Rehabilitation and Physical Therapy*, Wydawnictwo Elsevier Saunders, 2014, China.
75. Molle S., *Kinesio Taping Fundamental for the Equine Athlet*, [https://www.researchgate.net/profile/Sybill-Molle/publication/295396634\\_Kinesio\\_Taping\\_Fundamentals/links/5b85a1e34585151fd1392c59/Kinesio-Taping-Fundamentals.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Sybill-Molle/publication/295396634_Kinesio_Taping_Fundamentals/links/5b85a1e34585151fd1392c59/Kinesio-Taping-Fundamentals.pdf).
76. Mikołajewska E., *Kinesiotaping w sporcie*, Wydawnictwo PZWL, Warszawa 2016.
77. Ilbeygui R., *Taping. Techniki-działanie-zastosowanie kliniczne*, Wydawnictwo Edra Urban&Partner, Warszawa 2018.
78. Pijnappel H., *Taping Medyczny Podręcznik*, Wydawnictwo Antilope, 2012.

## **Terapia manualna w rehabilitacji psów**

### **Streszczenie**

Obecnie w fizjoterapii weterynaryjnej funkcjonuje wiele koncepcji, manipulacji tkankowych oraz mobilizacji stawowych. Zaburzenia funkcjonowania w obrębie jednej struktury, tkanki oraz organu przekładają się na funkcjonowanie całego organizmu. Teoria ta i model tensegracji ma ogromne znaczenie w przypadku koncepcji terapii manualnych i holistycznego podejścia do pacjenta. Do terapii manualnej zalicza się m.in: chiropratykę, osteopatię, masaż oraz techniki manualne. Każda z technik charakteryzuje się innymi właściwościami, wskazaniami oraz przeciwwskazaniami. Niezależnie jednak od wybranej techniki celem będzie przywrócenie prawidłowego funkcjonowania organizmu. Wykorzystanie technik manualnych jest bardzo częstą praktyką w leczeniu bólu mięśniowo-powięziowego.

Słowa kluczowe: terapia manualna, powieź, manipulacje powięziowe, ból mięśniowo-powięziowy

## **Manual therapy in dog rehabilitation**

### **Abstract**

Today, veterinary physiotherapy has many concepts, tissue manipulations and joint mobilization. Disorders of functioning within one structure, tissue and organ translate into the functioning of the whole organism. This theory and tensegration model is of great importance for the concept of manual therapies and a holistic approach to the patient. Manual therapy includes chiropractosis, osteopathy, massage and manual techniques. Each technique is characterized by different properties, indications and anti-convictions. However, regardless of the chosen technique, the goal will be to restore the proper functioning of the body. The use of manual techniques is a very common practice in the treatment of musculo-vascular pain.

Keywords: manual therapy, fascia, fascial manipulation, myofascial pain syndrome



# Znaczenie prawidłowego doboru szelek i obroży dla psów oraz preferencje właścicieli

## 1. Wstęp

Większość właścicieli psów staje przed wyborem kupna akcesoriów dla swojego podopiecznego. Na początku wydaje się to nie być aż tak problematyczne, lecz po dłuższym zastanowieniu padają pytania i pojawiają się wątpliwości. Jak podkreśla Platten i Williams (2021) dobór odpowiednich akcesoriów ma istotne znaczenie u psów pracujących, u których prawidłowe funkcjonowanie układu mięśniowo szkieletowego warunkuje dobrą pracę. Autorzy podkreślają, że wszelkie ograniczenia ruchu w stawie mogą doprowadzić do nieodwracalnych zmian fizjologicznych m.in. do zaburzenia odżywiania chrząstki stawowej, z pełnymi tego konsekwencjami. Zdaniem autorów należy możliwie w jak największym stopniu ograniczyć używanie takich akcesoriów, które będą wpływać na zmiany w biomechanice ruchu [1]. Badania Smitha i wsp. (2001) udowadniają, że nawet delikatne zaburzenia w ruchu kończyny piersiowej mogą doprowadzić do zmiany w ruchu całego ciała [2]. Przykładem zależności różnych struktur i tkanek w organizmie jest koncepcja taśm anatomicznych Toma Myersa (2020), który w swojej pracy udowadnia, że taśmy mięśniowo-powięziowe to globalne linie napięcia przechodzące przez całą powierzchnię ciała, zachowujące się tak, aby utrzymać szkielet w odpowiednim kształcie, wskazując dostępne ruchy i koordynując globalne wzorce posturalne. Tym samym zaburzenia w jednym regionie mogą powodować problemy w innym obszarze ciała [3]. Ahmed i wsp. (2019) dokładnie pokazują przebieg taśm mięśniowo-powięziowych zarówno u psa jak i u konia [4]. Zależność tę również wykazały wcześniejsze badania Kinga (2017), który opisał, że zaburzona biomechanika ruchu może doprowadzać do nieprawidłowej pracy stawów, a także powodować dysfunkcje oraz kompensacje w ciele [5]. Hunter i wsp. (2019) oraz Pilar Lafuente i wsp. (2019) zwracają uwagę w swoich pracach, że źle dobrane akcesoria mogą zmieniać wzorce ruchowe, a w konsekwencji doprowadzać do urazów [6, 7].

Rynek zoologiczny niewątpliwie z roku na rok coraz bardziej się rozwija [8]. Jak podaje Domagalska -Grędyś (2013) w Europie wartość rynku zoologicznego wzrasta w tempie 13% rocznie [9]. Również w Polsce zachowana jest podobna tendencja, przy równoczesnym wzroście zapotrzebowania na usługi obejmujące doradztwo odnośnie utrzymania i żywienia zwierząt, ich pielęgnację i itp. Autorka podkreśla, że posiadanie oraz opieka nad zwierzętami domowymi, stanowi bardzo ważny element życia codziennego ludzi. Badania społeczne Koneckiego (2010) wskazują m.in., że tworzenie się innowacji w postaci różnych akcesoriów dla zwierząt czy działań na ich rzecz (np. kosmetyki i biżuteria dla zwierząt) jest skutkiem przecinania się społecznego świata właścicieli zwierząt domowych ze światem biznesu [10]. Wraz ze wzrostem liczby zwierząt domowych zwiększa się również świadomość właścicieli, którzy coraz

---

<sup>1</sup> blautho@gmail.com, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

<sup>2</sup> kontakt@hydrotens.pl, Fizjoterapia Zwierząt, HYDRO-TENS AGNIESZKA WNUK-GNICH.

częściej szczególną uwagę zwracają nie tylko na prawidłowe żywienie, ale odpowiednie leczenie, rehabilitację oraz dobór odpowiednich akcesoriów (szelek, obroży, zabawek itp.) [11, 12]. Wzrost wiedzy spowodowany jest m.in. kampaniami informacyjnymi, artykułami w prasie branżowej oraz dzięki reklamom i działaniom medialnym.

### **1.1. Akcesoria**

Jak wynika z badań przeprowadzonych przez agencję EUROMONITOR wartość sprzedaży akcesoriów dla zwierząt w 2018 roku wynosiła 527 mln zł, co stanowiło blisko 16% wartości całej branży zoologicznej. Ponadto agencja szacuje, że z każdym kolejnym rokiem utrzymywany będzie trend wzrostowy, który wyniesie minimum 5,5-6%. Oznacza to, że już w 2023 r. wartość detaliczna rynku akcesoriów dla zwierząt zbliży się do 700 mln zł [13].

Dobór odpowiednich akcesoriów ma ogromne znaczenie, ponieważ nieprawidłowo dobrane mogą zwiększać bolesność kręgosłupa [14]. W Szwecji zostały przeprowadzone badania przez Andersa Hallgrena (2016), które wykazały, że 252 z 400 psów miało nieprawidłowo ustawiony kręgosłup, a 65% z 252 psów z problemami kręgosłupa wykazywało problemy behawioralne. Natomiast tylko 30% psów wykazywało je bez uszkodzeń kręgosłupa. Badania wykazały również, że aż 78% psów określanych jako agresywne lub nadpobudliwe miało problemy z kręgosłupem. Warto zaznaczyć, że wszystkie psy zostały zgłoszone do udziału w badaniach przez właścicieli i były w dobrej kondycji zdrowotnej [15].

### **1.2. Obroża**

Zdaniem Grainer (2016) w wielu krajach popularne są obroże, które obecnie produkowane są z różnych materiałów, jak podaje Hunter i wsp. (2019), najczęściej wykonane są one ze skóry, nylonu lub metalu [16, 6]. Producenci oferują pełną gamę kolorów oraz różnorodność zapięć m. in. plastikowe bądź metalowe zatrzaski, klamry, czy półzacziski z łańcuszkiem [17]. Przykładowo obroża The Blueberry Classic Nylon Dog Collar dostępna jest aż w 25 kolorach, co więcej, istnieje możliwość doboru w tym samym kolorze smyczy [6, 18]. Ponadto, istnieje wiele różnych rodzajów m.in.: obroże parciane, skórzane, ozdobne, odblaskowe, uzdowe, zaciskowe i kolczatki, antyszczekowe, adaptacyjne, przeciwpchelne i przeciwkleszczowe, elektryczne, z lokalizatorem GPS [19, 20]. Dobranie właściwej obroży uzależnione jest od wielu czynników w tym od: wieku, wielkości oraz rasy psa. Większość producentów podaje na swoich stronach internetowych dokładne informacje, jakich pomiarów należy dokonać przed zakupem i w jaki sposób obroża powinna być założona [18, 19]. Zdaniem wielu z nich przy wyborze w znacznym stopniu może pomóc pomiar obwodu szyi psa, do którego należy dodać 2 cm, innym sposobem jest założenie tak obroży, aby właściciel mógł włożyć dwa palce pomiędzy szyję a obrożę. Nieodpowiedni jej dobór może wywierać nacisk na krtań i tchawicę, powodować przeciążenia w obrębie mięśni szyi, wpływać na prawidłowe funkcjonowanie zmysłu wzroku, powodować otarcia i zranienia skóry, uszkadzać sierść, czy też może być powodem ucieczki zwierzęcia [6, 16]. Niestety brak jest wielu dostępnych badań klinicznych w tym zakresie. Nie bez znaczenia jest też aktywność zwierzęcia. Grohmann i wsp. (2013) w swoim artykule opisali przypadek psa, który po treningu z użyciem obroży zaciskowej doznał urazu niedokrwiennego mózgu, w konsekwencji którego poddano psa eutanazji [21]. Z badań przeprowadzonych

przez Hunter i wsp. (2019), wynika, że siła z jaką oddziałuje obroża na szyję psa jest zależna od jego aktywności [6]. U psów nieposłusznym, ciągnących, skaczących, rosła ona w znaczący sposób. Dlatego też, zdaniem Grainger i wsp. (2016) nie powinno się ich stosować u chartów, lub innych ras psów charakteryzujących się smukłą szyją [16]. Ponadto znacznie zmniejsza to ryzyko wyswobodzenia się psa [22].

Wpływ rodzaju materiału oraz konstrukcji obroży na ciało zwierzęcia był obiektem badań Huntera i wsp. (2019). W eksperymencie użyto trzech rodzajów obroży, wykonanych z różnych materiałów. Pierwsza z dwuwarstwowego splotu poliestru i nylonu, druga z pojedynczą warstwą nylonu, a kolejna z pojedynczej warstwy płóciennej. Wszystkie posiadały zatrzask plastikowy oraz zostały dopasowane w ten sam sposób, tak aby mieściły się dwa palce pomiędzy szyją psa a obrożą. Obroża z dwuwarstwowym splotem poliestru i nylonu wykazała największy nacisk na szyję w porównaniu do pozostałych. Co więcej, była ona wykonana z najgrubszego materiału. Tym samym można stwierdzić, że poprzez wybór odpowiedniego materiału można wpływać na zmniejszenie sił działających na szyję. Autorzy badali też wpływ wyściółki wykonanej z polaru na obniżenie wartości działającej siły i wykazali, że nie miała ona na to wpływu oraz tendencję do zwiększenia lub koncentrację nacisku w określonych punktach [6]. Innym popularnym materiałem jest skóra. Choć obroże skórzane są bardzo trwałe, to mogą okazać się zbyt ciężkie dla szczeniaków oraz psów ras miniaturowych. Co więcej, w przypadku małych ras nie zaleca się zakupu obroży z nitami i innymi ozdobami, które mogą podrażniać delikatną skórę psa i dodatkowo zwiększać ciężar na szyi. W przypadku ras psów o białym lub jasnym umaszczeniu należy zwrócić uwagę na kolor obroży – warto mieć na uwadze fakt, że niektóre barwniki używane w ich produkcji mogą trwale powodować przebarwienia sierści.

Kolejnym istotnym parametrem jest szerokość taśmy, z której została uszyta obroża. Również i w tym przypadku, powinno się ją dopasować do gabarytów oraz charakterystyki rasy zwierzęcia [23]. Zaleca się, aby szerokość taśmy odpowiadała szerokości dwóch kręgów szyjnych psa.

Do prawidłowego użytkowania obroży niezbędne jest odpowiednio niskie jej umiejscowienie na szyi psa. Należy zwrócić szczególną uwagę, aby nie powodowała ona ucisku na tchawicę oraz krtań.

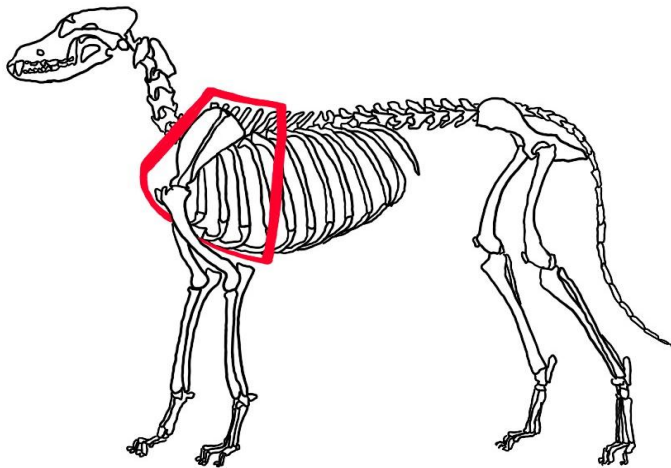
W przypadku kolczatek i obroży łańcuszkowych zalecane jest umieszczenie ich trochę wyżej niż przy standardowych obrożach [25]. Tylko prawidłowe położenie warunkuje swobodne oddychanie przez zwierzę. Co więcej zbyt luźna obroża umożliwia psu łatwe wydostanie się oraz ewentualną ucieczkę.

### **1.3. Szelki**

Dla wielu właścicieli wybór szelek jest trudny i nie jest tak oczywisty jak wybór obroży. Na rynku zoologicznym obecnych jest kilka rodzajów szelek, co w znaczny sposób utrudnia ich wybór. Z doświadczenia własnego wynika, że nie wszystkie sklepy zoologiczne, a w szczególności osoby sprzedające szelki potrafią je dobrać w sposób właściwy.

Jednym z rodzajów są szelki w typie guardy (rys. 1). Szczególnie polecane ze względu na wygodę i komfort dla zwierzęcia, blokowanie łopatki w mniejszym stopniu niż inne modele oraz charakterystyczną konstrukcją, która uniemożliwia wyswobodzenie się psa [25]. Zbudowane są z dwóch obręczy, jednej znajdującej się na szyi oraz

drugiej umieszczonej na tułowiu, połączonych ze sobą dwoma paskami. Podobnie jak w przypadku obroży, prawidłowe dopasowanie, gwarantuje odpowiednie ich użytkowanie. Zbyt luźne powodują dyskomfort, obcierają i stwarzają zwierzęciu możliwość ucieczki. Obręcz na szyi powinna znajdować się niżej niż prawidłowo założona obroża. Odległość obręczy na tułowiu od stawu łokciowego winna wynosić 3 cm, dzięki czemu zmniejsza się ryzyko obtarć przy zwiększonej aktywności zwierzęcia. Dodatkowo, istotny jest zakres ich regulacji. Szczególnie należy zwrócić uwagę na możliwość regulacji pasków łączących obręcz. Dodatkową zaletą i dużym ułatwieniem jest obecność dwóch zapiek w obręczy na tułowiu, dzięki czemu można zdejmować je w łatwy sposób, bez podnoszenia łap zwierzęcia. Ma to istotne znaczenie u psów ze zdiagnozowaną chorobą zwyrodnieniową stawów, u których nadmierne zginanie w stawach kończyn piersiowych powoduje ból [26], a także u pacjentów z zaburzeniami neurologicznymi, czy nie posiadających centralnej stabilizacji ciała. Istotne znaczenie przy doborze szelek ma wiek oraz płeć psa. Jak podkreśla Evans i wsp. (2012), u niektórych ras psów kształtowanie klatki piersiowej trwa nawet do 5 roku życia [27]. Zbyt wąskie, ciasne szelki będą generować nacisk i powodować ból oraz uszkodzenia skóry.

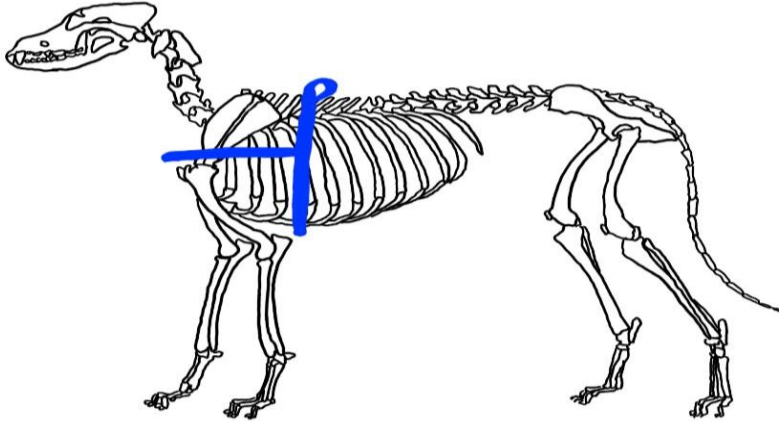


Rysunek 1. Szelki w typie guard [opracowanie własne]

Kolejnym rodzajem są szelki w typie norweskim (rys. 2). I choć badania Lafuente i wsp. (2018) oraz Blake i wsp. (2019) wskazują, że szelki tego typu w mniejszym stopniu ograniczają ruch w stawie ramiennym w porównaniu do szelek typu guard, to wydawać się może, że brak uwzględnienia ruchu łopatki, może zaburzać poprawną ich ocenę [7, 28]. Jak podkreśla Evans i wsp. (2012), dzięki specyficznemu połączeniu łopatki z tułowiem poprzez mięśniozrost, posiada ona swobodę w ruchu [27]. Zdaniem Koch i Fischer (2014) ze względu na to nietypowe połączenie kończyna piersiowa porusza się nie w jednym ustalonym punkcie, lecz dookoła tak zwanego bieguna chwilowego [29].

Przy poruszaniu kończyna piersiowa wędruje cały czas w przód i w tył, dzięki ruchowi ślizgu łopatki po ścianie klatki piersiowej. Fischer i Lilje w projekcie „dogs in motion” (2014) podkreślają istotną rolę i fakt niedoceniaania łopatki w procesie lokomocji. Zakres ruchu kończy piersiowej w dużej mierze zależy od wielkości łopatki oraz kątownia w stawie ramiennym. Średnia proporcja łopatki w stosunku do długości całej

kończyny to ok. 28%. U welsh corgi pembrokea wynosi ok. 34%, a u charta rosyjskiego borzoi 24%. Długa łopatka daje możliwość zwiększenia zakresu ruchu stawu barkowego, a jej skośne ułożenie pozwala na lepszą amortyzację kończyn [30, 31].



Rysunek 2. Szelki w typie norweskim [opracowanie własne]

Cechą charakterystyczną szelek typu norweskiego jest przechodzenie paska przez okolice stawu ramiennego, co może być problematyczne u psów z problemami w okolicy stawu ramiennego tj.: zespoły przeciążeniowe stożka rotatorów, zapalenie pochewki mięśnia dwugłowego ramienia, czy w konsekwencji obecności m.in. kalcyfikacji w przebiegu ścięgna mięśnia nadgrzebieniowego. Jak podkreśla Zink (2018) wyżej wymienione schorzenia w dużej mierze dotyczą psów sportowych oraz pracujących [32, 11]. Warto w takich przypadkach zrezygnować z używania szelek norweskich, gdyż będą one przyczyną bólu i większego dyskomfortu zwierzęcia.

Kolejną grupą szelek dostępnych na rynku są szelki specjalistyczne. Coraz częściej widuje się szelki z zapięciem z przodu do nauki chodzenia na luźnej smyczy. Warto podkreślić, że ten rodzaj szelek powinien być wykorzystywany tylko i wyłącznie pod okiem wykwalifikowanego trenera jako narzędzie szkoleniowe u dorosłych psów, które mają wykształcony kościec, a także nie posiadają żadnych przeciwwskazań do ich stosowania. Wśród przeciwwskazań wyróżnia się: problemy ze stawami, przeciążeniami mięśniowymi czy z historią chorób ortopedycznych.

Następnym przykładem mogą być szelki typu sled. Dedykowane są one jako sprzęt dla psów do zaprzęgów oraz treningów wysiłkowych, a także psów ciągnących na smyczy np. podczas górskiej wycieczki. Mają one bardzo długą historię użytkowania w szczególności na Arktyce [33]. Z powodzeniem nadal stosowane w sportach takich jak: dogtreking, canicross, bikejoring i skijoring. Dzięki swojej budowie dobrze dopasowane szelki maksymalnie wykorzystują siłę uciągu, równomiernie ją rozkładają na mostku psa, pozostawiając swobodę ruchów psa.

Niezależnie czy właściciel wybierze szelki, czy obroże duże znaczenie ma również sama smycz oraz sposób jej użytkowania. Z przeprowadzonych badań wynika, że zachowanie zwierzęcia może być zależne od siły napięcia smyczy [34, 35]. Zdaniem Shih i wsp. (2020) nawet osobowość opiekuna, może mieć wpływ na zachowanie psa [34]. Z kolei Rezac i wsp. (2011) zbadali interakcje zachodzące pomiędzy psami wy-

prowadzonymi na spacer, i wykazali, że częstotliwość wystąpienia zabawy pomiędzy osobnikami zależna jest od płci, wielkości psa oraz od tego czy były one na smyczy czy nie. Obserwacje wykazały, że różne formy zabawy stanowiły nawet do 26% wszystkich zachowań. Autorzy zaobserwowali, że psy bez smyczy wykazywały większe chęci do zabawy w porównaniu do osobników znajdujących się na smyczy. Co więcej poziom zabawy był również niższy, gdy jeden z psów był wyprowadzany na smyczy, a drugi biegał luzem [35]. Tu warto dodać, że zabawa jest niezbędna psu do zachowania dobrostanu [36]. Na dobrostan psów również ma wpływ siła naciągu smyczy, która przenosi się na obroże lub szelki, mogąc powodować urazy [34].

Z badań przeprowadzonych przez Shih i wsp. (2020), wynika, że cięższe psy wywierały większe napięcie na smycz, ale miały mniejszą częstotliwość ciągnięcia w porównaniu do mniejszych i lżejszych osobników. Ponadto zaobserwowano, że młode psy ciągnęły bardziej podczas spacerów niż zwierzęta dorosłe. Dobrze zachowujące się psy powodowały mniejsze napięcie smyczy, ale przewodnicy nie reagowali mniejszą siłą [34], co również stwierdzili w swoich badaniach Hunter i wsp. [28].

Kolejnym często pomijanym aspektem jest używanie smyczy typu flexi. Jak podkreśla Kaufman (2020) w swoich badaniach, smycz ta jedynie pozornie pozwala psu na większą swobodę ruchu podczas spaceru. Według autora wraz z jej używaniem zwiększa się ryzyko uszkodzenia szyi, kręgosłupa oraz tchawicy. Wynika to z faktu, że po osiągnięciu końca linki następuje duże szarpnięcie. Z reguły psy nie spodziewają się tego, co może jeszcze bardziej zwiększyć uraz [37].

Istotnym aspektem jest również zastosowanie szelek do przewozu zwierząt. Zeleny i Grusova (2015) w swoich badaniach podkreślają, że konstrukcja szelek jest kluczowa dla bezpieczeństwa psa. Idealne szelki przyczepiane do pasów bezpieczeństwa powinny być duże i wyściełane, w przeciwieństwie do szelek spacerowych. Ich wymiary powinny być idealnie dopasowane do wielkości i sylwetki psa, wykluczając możliwość zsunęcia się z psa, zsunęcia się na szyję lub okręcenia się wokół klatki piersiowej w nagłego hamowania lub wypadku. Kręgosłup musi być chroniony, a uprząż powinna posiadać więcej niż jeden punkt zaczepienia w celu rozłożenia obciążenia udarowego. Natomiast łączniki i zszycia powinny być jak najkrótsze. Według autorów nawet poważny uraz bez skutków śmiertelnych może skutkować eutanazją; dlatego tak ważne jest, aby zwrócić uwagę na jakość szelek.

Producenci zabezpieczeń do transportu zwierząt oferują bardzo duży wybór swoich produktów. Poszczególne modele są przeznaczone nie tylko dla określonej rasy zwierząt i gabarytów, lecz także są zróżnicowane pod względem materiału. Dość popularnym rozwiązaniem są pasy i szelki transportowe. Jeżeli właścicielom czworonogów nie zależy na ich przenoszeniu za pomocą transportera, klatki czy torby lub nie jest to realne przez gabaryty zwierzęcia mogą skorzystać z szelek transportowych. Warto podkreślić, że brak zabezpieczenia w samochodzie zwierzęcia może być związany ze zwiększonym ryzykiem poważnych obrażeń lub śmierci w razie wypadku, a w niektórych przypadkach może nawet spowodować wypadek [38, 39]. Badania przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych i Wielkiej Brytanii przez Hazel i wsp. (2019) wskazują, że najczęstszą metodą przewozu psa była klatka/skrzynia w przestrzeni ładunkowej z tyłu pojazdu; w Australii były to szelki i uprząż przymocowana do klamry siedzenia. Młodszy właściciele psów z USA, którzy jeździli samochodem typu pickup lub van, najczęściej mieli dużego psa i statystycznie rzadziej podróżowali z nim, a także

najrzadziej stosowali urządzenia przytrzymujące dla swoich psów. Badania te również podkreślają potrzebę poprawy edukacji i informacji w zakresie przewozu psów podróżujących w pojazdach. Także bardzo ważne jest wybieranie sprzętu z A testami, czyli dokumentem stwierdzającym, że dany produkt spełnia obowiązujące normy i dzięki temu daje większe szanse na przeżycie zwierzęcia w razie wypadku. Jest też kilka organizacji zajmującymi się niezależnym testami np. Center For Pet Safety [40, 41].

## **2. Cel pracy**

Celem pracy był przegląd systematyczny dotychczas opublikowanych badań dotyczących wykorzystania i wpływu zarówno szelek, jak i obroży na organizm psa. Ponadto poznanie preferencji opiekunów odnośnie stosowanych akcesoriów, ich typów, umieszczenia na zwierzęciu. Dodatkowo sprawdzenie czy ankietowani korzystali z fachowej pomocy przy wyborze szelek oraz czy są chętni do zdobywania wiedzy w tym zakresie.

### **2.1. Materiał i metody**

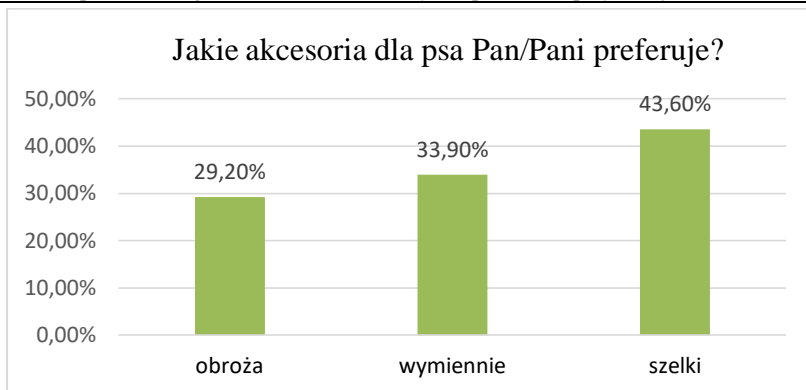
Analizę stanu wiedzy opiekunów zwierząt przeprowadzono na podstawie anonimowego autorskiego badania ankietowego. Ankieta składała się z 20 pytań i była dostępna online za pomocą formularza Google w okresie od 19 do 24 czerwca 2021. Ankieta została udostępniona na różnych grupach społecznościowych. Grupę badawczą stanowiło 257 osób.

## **3. Analiza i dyskusja wyników**

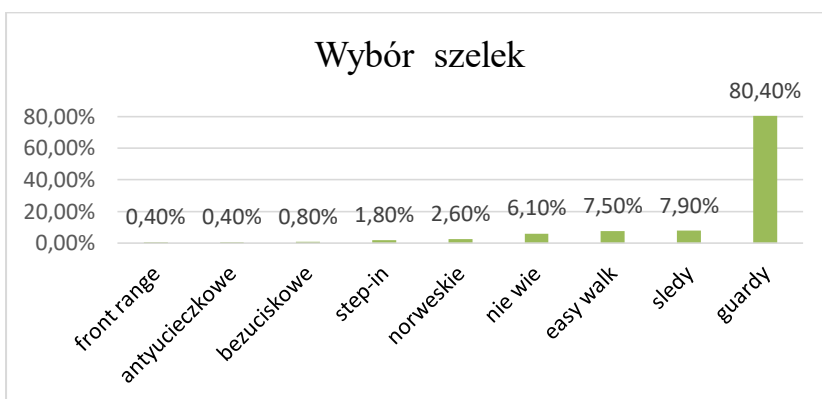
Na podstawie przeprowadzonej analizy literatury jednoznacznie można stwierdzić, że niewiele jest badań nad wpływem zarówno szelek, jak i obroży na biomechanikę ruchu, wpływu na częstotliwość występowania urazów czy prawidłowości ich zakładania oraz stosowania. Tym samym skłania to do podejmowania kolejnych kroków w zakresie badań, jak i zwiększania świadomości nie tylko opiekunów, ale i osób odpowiedzialnych za sprzedaż szelek. Z doświadczenia własnego i z pracy klinicznej jako fizjoterapeuty wynika, że bardzo często obserwuje się źle dobrane czy dopasowane akcesoria.

Na podstawie przeprowadzonego badania ankietowego wynika, że 43,6% właścicieli psów przy zakupie akcesoriów wybiera szelki, co więcej 33,9% zamiennie stosuje je z obrożą, natomiast samą obrożę stosuje 29,2% (wyk. 1). Jak podkreśla Grainger i wsp. (2016) obroża może wpływać na występowanie urazów tchawicy, co więcej nie powinno jej się stosować u ras psów charakteryzujących się smukłą szyją [16]. Autorzy nie wykazali jednak wpływu typu założonych szelek lub obroży na zwiększenie ilości zachowań stresowych u psów. Spośród dostępnych na rynku szelek aż 80,4% ankietowanych wybiera guardy, następnie sledy oraz easy walk 7,5%, zaskakująco dużo osób nie pamięta, albo nie wie jakiego akcesoria używa – 6,1%. Najmniej popularne są szelki norweskie 2,6% oraz step-in 1,8%. Poniżej 1% odpowiedzi uzyskały m. in. szelki bezuciskowe, antyucieczkowe, front range in (wyk. 2).

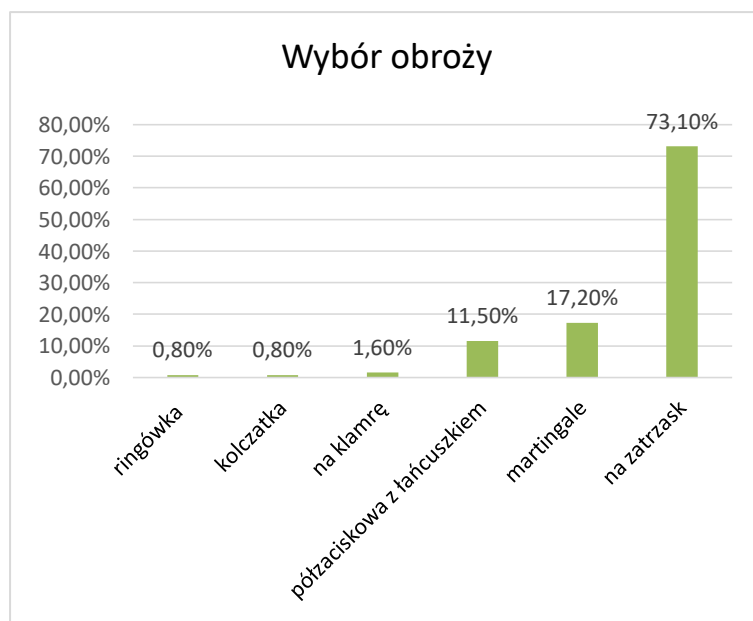
W przypadku obroży aż 73,1% ankietowanych stosuje je z zapięciem na zatrask, 17,2% martingale, inaczej półzacisk pętelkowy 11,5% półzaciskową z łańcuszkiem. Pozostałe odpowiedzi stanowiły poniżej 2%. Jeżeli chodzi o dopasowanie obroży, 72,5% ankietowanych, a więc większość odpowiedziała, że jest to 2 palce. Takie dopasowanie obwodu obroży jest zalecane przez większość producentów (wyk. 3).



Wykres 1. Preferencja właścicieli dotycząca wyboru akcesoriów



Wykres 2. Najczęściej wybierane typy szelek



Wykres 3. Najczęściej wybierane typy obroży



Zdaniem Pauli i wsp. (2006) istotnym w przypadku korzystania przez właścicieli psów zarówno z szelek, jak i obroży jest specjalistyczne badanie okulistyczne, wraz z określeniem ciśnienia wewnątrzgałkowego. Autorzy w swoich badaniach udowodnili, że psy noszące obroże miały istotnie podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe w porównaniu z psami w szelkach. Ponadto autorzy podkreślają, że u psów ze słabą lub cienką rogówką, jaskrą lub innymi schorzeniami narządu wzroku, wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego może być szkodliwy. Ich zdaniem u tych psów należy zakładać szelki zamiast obroży, zwłaszcza podczas ćwiczeń lub aktywności [41]. W przeprowadzonym badaniu własnym, aż 71,4% ankietowanych nie była ze swoim psem na wizycie okulistycznej, a co za tym idzie nie było wykonane badanie ciśnienia wewnątrzgałkowego. Pociuszający jest fakt, że aż 66,5% respondentów konsultowało zakup szelek bądź obroży ze specjalistą. Najczęściej w doborze pomagali behawiorysty/trenerzy – 45,5%, a następnie pracownicy sklepu zoologicznego – 34,7%, lekarze weterynarii – 10,5 % oraz zoofizjoterapeuci – 9%. Dla wielu ankietowanych polecenie wybranego produktu przez specjalistę odgrywa istotną rolę. Ponadto w pytaniu otwartym, gdzie zapytano, dlaczego wybór padł na używanie wybranego akcesorium ankietowani udzielili m.in. następujących odpowiedzi: wygoda, akceptacja i preferencja zwierzęcia danego akcesorium, bezpieczeństwo, możliwość lepszego kontrolowania psa, wygląd, trwałość oraz cena, użytkowaniem psa, opinią innych klientów na temat danego akcesorium czy też własną wiedzą w tym zakresie. Ponad połowa ankietowanych (50,6%) chcąc poszerzyć swoją wiedzę w zakresie szelek lub obroży wykorzystaby internet, 16,3% zasięgnęłoby opinii behawiorysty/trenera, 13,5% jest technikiem weterynarii i uważa, że posiada w tym zakresie stosowną wiedzę, blisko 3% ankietowanych udałoby się do sklepu zoologicznego czy lekarza weterynarii, lub sięgnęło po czasopismo o tematyce kynologicznej. Niewielki procent ankietowanych porównaby informacje z różnych źródeł lub skorzystałoby z opinii hodowcy (poniżej 1%).

#### **4. Podsumowanie**

Na podstawie przeanalizowanego piśmiennictwa można stwierdzić, że brak jest aktualnej literatury oraz badań dotyczących stosowania szelek i obroży. Stale rozwijający się rynek zoologiczny, w tym akcesoriów dla psów, w wielu przypadkach nie ułatwia wyboru. Pociuszający jest fakt, że właściciele/opiekunowie zwierząt są coraz bardziej świadomymi konsumentami i chcą stale poszerzać swoją wiedzę. Pułapką może być tu jednak popularnie wybierany internet jako źródło informacji oraz dostęp do nierenzowanych artykułów o wątpliwej jakości. Dlatego słuszne wydaje się stworzenie szkoleń kierowanych bezpośrednio do właścicieli psów.

Większość ankietowanych jednak korzysta z porad specjalistów i wybiera szelki typu guard. Swój wybór opiera nie tylko na wyglądzie obroży czy szelek, ale także zwraca uwagę na komfort i fakt akceptacji danego akcesoria przez zwierzę. Co więcej, wielu z nich stosując wymiennie szelki oraz obrożę zwraca uwagę na rodzaj aktywności, czy też cel zastosowania.

## Literatura

1. Platten H., Williams J., *The influence of three working harnesses on thoracic limb kinematics and stride length at walk in assistance dogs*, 2021, Journal of Veterinary Behavior.
2. Smith G., Mayhew P., Kapatkin A., McKelvie P., Shofer F., Gregor T., *Evaluation of risk factors for degenerative joint disease associated with hip dysplasia in German Shepherd Dogs, Golden Retrievers, Labrador Retrievers, and Rottweilers*, Journal of the American Veterinary Medical Association, 2001, 219(12), s. 1719-1724.
3. Myers T., *Anatomy Trains, Myofascial Meridians for Manual Therapists and Movement Professionals*, Elsevier, 2020.
4. Ahmed W., Kulikowska M., Ahlmann T., Berg L.C., Harrison A.P., Elbrønd V.S., *A comparative multi-site and whole-body assessment of fascia in the horse and dog: a detailed histological investigation*, J Anat. 2019 Dec, 235(6), s. 1065-1077.
5. King M., *Etiopathogenesis of Canine Hip Dysplasia, Prevalence, and Genetics*, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 2017, 47(4), s. 53-76.
6. Hunter A., Blake S., Ferro De Godoy R., *Pressure and force on the canine neck when exercised using a collar and leash*, Veterinary and Animal Science, 2019, 8.
7. Lafuente M.P., Provis L., Schmalz E.A., *Effects of restrictive and non-restrictive harnesses on shoulder extension in dogs at walk and trot*, Vet Rec. 2019 Jan 12, 184(2), s. 64.
8. Lubryka E., Bujak A., *Determinants of the development of contemporary enterprises from zoological industry*, Autobusy: technika, eksploatacja, systemy transportowe, 2017, 18, 12, 18191823.
9. Domagalska-Grędyś M., *Kształtowanie wartości i rentowności relacji z klientami na rynku produktów zoologicznych – case study*, Zeszyty Naukowe, Organizacja i Zarządzanie, 2013.
10. Konecki K.T., *W stronę socjologii jakościowej: badanie kultur, subkultur i światów społecznych*, [w:] *Kultury, subkultury i światy społeczne w badaniach jakościowych*, Leoński J., Fiternicka-Gorzko M. (red.), 2010.
11. Blauth O., *Pies pracujący okiem zoofizjoterapeuty: rola rehabilitacji oraz profilaktyka urazów*, Praca inżynierska, SGGW, 2021.
12. Kazimierska K., Biel W., *Żywnienie szczeniąt i psów rosnących*, Wiadomości Zootechniczne, 58,1, 14-20, 2020.
13. <https://zoobranza.com.pl/dynamika-i-obszary-rozwoju-branzy-zoologicznej-w-polsce-w-latach2020-2023-cz-1/> - data dostępu 25.06.2021.
14. <https://www.konferencjavevtrends.pl/artykul/przyczyny-i-objawy-zlaman-kregoslupa-oraz-innychurazow-u-psow-> - data dostępu 25.06.2021.
15. Hallgren A., *Back Problems in Dogs – Underlying causes for behavioral problems*, AH Books, 2016.
16. Grainger J., Wills A.P., Montrose V.T., *The behavioral effects of walking on a collar and harness in domestic dogs (Canis familiaris)*, Journal of Veterinary Behavior, 2016.
17. Fritz A., <https://www.thesprucepets.com/best-dog-collars-4151687> – data dostępu 25.06.2021.
18. Parks S. <https://www.businessinsider.com/best-dog-collar?IR=T> – data dostępu 25.06.2021.
19. Majewska M., <https://www.telekarma.pl/n476/rodzaje.obrozy.dla.psow.htm> – data dostępu 25.06.2021.
20. <http://howtohou.pl/jaka-obroza-dla-psa/> – data dostępu 24.06.2021.
21. Grohmann K., Dickomeit M.J., Schmidt M.J., Kramer M., *Severe brain damage after punitive training technique with a choke chain collar in a German shepherd dog*, Journal of Veterinary Behavior, 8, 3, 2013, s. 180-184.
22. Morris D., *Training and Racing the Greyhound*, Crowood Press, 2009.

23. Roley J., Brady C.M., *Choosing the Right Type of Collar for Your Dog*, Purdue University Cooperative Extension Service, West Lafayette, IN 47907.
24. <http://howtohou.pl/kolczatka-dla-psa/> – data dostępu 24.06.2021.
25. <https://warsawdog.com/cat/szelki-guard/> – data dostępu 24.06.2021.
26. Bruecker K.A., Benjamino K., Vezzoni A., Walls C., Wendelburg K.L., Follette C.M., Déjardin L.M., Guillou R., *Canine Elbow Dysplasia: Medial Compartment Disease and Osteoarthritis*, *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Volume 51,2, 2021, s. 475-515.
27. Evans H.E., de Lahunta A., *Miller's Anatomy of the Dog*, Saunders, 2012.
28. Blake R., Hunter A.S., Ferro De Godoy, *Pressure and force on the canine neck when exercised using a collar and leash*, *Veterinary and Animal Science*, Volume 8, 2019.
29. Koch D., Fischer M.S., *Diagnostyka przyczyn kulawizn u psów*, Galaktyka, 2018.
30. Fischer M.S., Lilje K.E., *Dogs in motion*, VDH, 2014.
31. Dembiniok E., [http://www.klub.weimaraner.pl/index.php?option=com\\_content&view=article&id=176&Itemid=836](http://www.klub.weimaraner.pl/index.php?option=com_content&view=article&id=176&Itemid=836) – data dostępu 24.06.2021.
32. Zink C., Van Dyke J.B., *Canine sports medicine and rehabilitation*, Wiley Blackwell, 2013.
33. Losey R.J., Nomokonova T., Gusev A.V., Bachura O.P., Fedorova N.V., Kosintsev P.A., Sablin M.V., *Dogs were domesticated in the Arctic: Culling practices and dog sledding at Ust'-Polui*, *Journal of Anthropological Archaeology*, 2018, 51, s. 113-126.
34. Shih H.Y., Georgiou F., Curtis R.A., Paterson M.B.A., Phillips C.J.C., *Behavioural Evaluation of a Leash Tension Meter Which Measures Pull Direction and Force during HumanDog on-Leash Walks*, *Animals (Basel)*, 2020, 10(8), s. 1382.
35. Rezac P., Viziová P., Dobesová M., Havlíček Z., Pospíšilová D., *Factors affecting dog dog interactions on walks with their owners*, *Appl. Anim. Behav. Science*, 2011, 134, s. 170-176.
36. Karpiński M., Mazurkiewicz T., Czyżowski P., Goleman M., *Zabawa jako podstawowy czynnik dobrostanu kształtujący prawidłowe zachowania psychosomatyczne i socjalne psów*, *Med. Weter.*, 2012, 68 (4).
37. Kaufman J., *The Collar's Role*, <https://www.labadoption.org/info/file?file=27370.pdf>, 2020.
38. Zeleny M., Grusova K., *A car accident involving a restrained dog within the vehicle: a case report*, *Veterinarni Medicina*, 2015,60, s. 399-402.
39. Turoń K., Juzek M., Czech P., *Practical advices of national, non-profit transport domestic animals in road transport – technical aspect*, *Scientific Journal of Silesian University of Technology. Series Transport*. 2015, 88, s. 121-131.
40. Hazel S.J., Kogan L.R., Montrose V.T., Hebart M.L., Oxley J.A., *Restraint of dogs in vehicles in the US, UK and Australia*, *Preventive Veterinary Medicine*, 2019.
41. <https://www.centerforpetsafety.org/test-results/harnesses/2018-harness-testing-pipers-walk/> – data dostępu 24.06.2021.

## **Znaczenie prawidłowego doboru szelek i obroży dla psów oraz preferencje ich właścicieli**

### **Streszczenie**

Większość właścicieli psów staje przed wyborem kupna akcesoriów dla swojego podopiecznego. Na początku wydaje się to nie być aż tak problematyczne, lecz po dłuższym zastanowieniu padają pytania i pojawiają się wątpliwości. Dobór odpowiednich akcesoriów ma istotne znaczenie. Celem pracy był przegląd systematyczny dotychczas opublikowanych badań dotyczących wykorzystania i wpływu zarówno szelek, jak i obroży na organizm psa. Ponadto poznanie preferencji opiekunów odnośnie stosowanych akcesoriów, ich typów, umieszczenia na zwierzęciu, stosowania ich w okresie rekonwalescencji po zabiegach chirurgicznych. Dodatkowo sprawdzenie czy ankietowani korzystali z fachowej pomocy przy wyborze szelek oraz czy są chętni do zdobywania wiedzy w tym zakresie. Analizę stanu wiedzy

opiekunów zwierząt przeprowadzono na podstawie anonimowego autorskiego badania ankietowego. Grupę badawczą stanowiło 257 osób.

Na podstawie przeprowadzonej analizy literatury jednoznacznie można stwierdzić, że jest niewiele badań sprawdzających wpływ zarówno szelek, jak i obroży na biomechanikę ruchu, wpływu na częstotliwość występowania urazów czy prawidłowości ich zakładania oraz stosowania. Ankietowani najczęściej wybierali szelki (43,6%), a 66,5% respondentów konsultowała swój zakup ze specjalistą, którym w głównej mierze był behawiorysta/trener. Ankietowani chcą poszerzać swoją wiedzę w zakresie prawidłowego doboru i wyboru akcesoriów, a w celu poszukiwania wiadomości zasięgnęliby informacji zawartych w internecie.

Słowa kluczowe: szelki, obroża, fizjoterapia psów

## **The importance of the proper selection of harnesses and collars for dogs and their owners' preferences**

### **Abstract**

Most dog owners are faced with the choice of buying accessories for their dog. At first, it seems not so problematic, but after thinking about it for a while, more questions and doubts are raised. Choosing the right accessories is important. The purpose of this study was to conduct a systematic review of the research published to date on the use and effects of both harnesses and collars on the dog's body. In addition, we sought to understand the preferences of the caregivers regarding the accessories used, their types, placement on the animal, and their use during recovery from surgery. In addition, to find out whether the respondents received professional assistance in choosing the harness and whether they are willing to learn more in this field. The analysis of animal owners' knowledge was based on anonymous questionnaire survey. The research group consisted of 257 people.

Based on the analysis of the literature, it can be clearly stated that there are few studies on the impact of both harnesses and collars on the biomechanics of movement, the impact on the incidence of injury or the correctness of their fitting and use. Respondents were most likely to choose a harness (43.6%), and 66.5% of respondents consulted a specialist for their purchase, which was most often a behaviorist/trainer. Respondents are willing to expand their knowledge on the proper selection and choice of accessories and would consult the Internet for information.

Keywords: harness, collar, canine physiotherapy

## Właściwości odżywcze i lecznicze grzybów

### 1. Wstęp

Jednym z pięciu królestw organizmów występujących na Ziemi są grzyby. W systematyce wyróżnia się także królestwa zwierząt, roślin, bakterii i protistów – małych, eukariotycznych organizmów [1, 2].

Grzyby są bardzo zróżnicowaną grupą, ważną zarówno dla środowiska nieożywionego, jak i dla innych organizmów, w tym człowieka. W środowisku pełnią wiele ważnych funkcji. Stanowią pokarm dla zwierząt, a więc są elementem łańcucha troficznego. Ponadto wiele gatunków grzybów to organizmy saprotroficzne, rozkładają one martwe szczątki organiczne, przez co użyźniają glebę [3]. Ludzie cenią grzyby między innymi za ich walory kulinarne, czy też użyteczność biotechnologiczną. Wykorzystywane są w produkcji żywności, ze względu na proces fermentacji jaki mogą przeprowadzać [4]. Są powszechnie wykorzystywane przez człowieka z uwagi na ich walory smakowe oraz substancje odżywcze, co czyni je bardzo ważnymi składnikami diety. Wynika to z występowania w ich organizmach określonych związków chemicznych, takich jak białka, cukry oraz kwasy tłuszczowe [5]. Liczne gatunki grzybów są również wykorzystywane do produkcji leków w związku z ich właściwościami leczniczymi, obecnością substancji o szerokim zakresie działania, np. antyoksydacyjnego, czy przeciwzapalnego [6]. Warto również wspomnieć o związkach chemicznych (naturalnych antybiotykach), jakie mogą być wytwarzane przez niektóre gatunki grzybów. Dzięki właściwościom bakteriobójczym są one skutecznymi lekami w walce z tymi patogenami [7]. Wiele grzybów wytwarza także substancje toksyczne, które są bardzo niebezpieczne dla człowieka. Jedną z najbardziej szkodliwych jest  $\alpha$ -amanityna występująca m.in. u muchomorze zielonawego (*Amanita phalloides*). Innym przykładem niebezpiecznego działania grzybów z rodzaju *Psilocybe* są zawarte w nich związki psychoaktywne. Podobnym działaniem charakteryzują się substancje zawarte w muchomorze czerwonym (*Amanita muscaria*) [8].

### 2. Skład chemiczny i właściwości odżywcze grzybów

Przeważającą część suchej materii grzybów stanowią węglowodany, głównie w postaci długołańcuchowych polisacharydów, takich jak glikogen czy chityna [9]. Ich zawartość może dochodzić do 70% [10]. Obecność tych konkretnych cukrów wynika z tego, że chityna buduje ich ścianę komórkową, a glikogen jest ich materiałem zapasowym [9]. Innymi polisacharydami, występującymi w grzybach są: błonnik pokarmowy (wykazujący właściwości higroskopijne, zwiększający swoją objętość pod wpływem

<sup>1</sup> barbara.lipniak@edu.uni.lodz.pl, Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki.

<sup>2</sup> malgorzata.stasinska@usz.edu.pl, Instytut Nauk o Morzu i Środowisku, Uniwersytet Szczeciński.

<sup>3</sup> zofia.sotek@usz.edu.pl, Instytut Nauk o Morzu i Środowisku, Uniwersytet Szczeciński.

<sup>4</sup> bogdan.kontek@biol.uni.lodz.pl, Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki.

\* autor korespondencyjny.

wody, a tym samym obniżający uczucie głodu), celuloza, mannany czy glukany [5, 11, 12]. W mniejszej ilości występują tam także glukoza, trehaloza, mannitol czy arabitol. Zawartość białek w grzybach jest niższa w porównaniu do cukrów i może stanowić do 56% ich masy. Najczęściej występującym aminokwasem jest kwas glutaminowy, ale także alanina czy ornityna. Ponadto zawierają argininę, glicynę, serynę, metioninę, treoninę, cysteinę i tyrozynę [5]. Grzyby są także źródłem koniecznych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu aminokwasów egzogennych, czyli takich, które należy dostarczyć z pożywieniem, ponieważ organizm nie jest w stanie ich syntetyzować. Wśród tych aminokwasów największą zawartość stanowi lizyna, leucyna, izoleucyna i treonina, a najmniejszą metionina i histydyna [2]. Stężenie tłuszczów jest znacznie niższe i może dochodzić do 16% ich masy. Przeważającą ilość tłuszczów w grzybach stanowią kwasy tłuszczowe, zarówno nasycone, jak i nienasycone, czyli takie które posiadają podwójne wiązanie pomiędzy węglami w łańcuchu. U grzybów podstawkowych (*Basidiomycota*) najczęściej występującymi kwasami tłuszczowymi nasyconymi są: kwas palmitynowy (C16) oraz kwas stearynowy (C18). Kwasy nienasycone, które występują w grzybach to: kwas oleinowy (C18:1,  $\Delta 9$ ,  $\omega$ -9), kwas palmitooleinowy (C16:1,  $\Delta 9$ ,  $\omega$ -7), kwas linolowy (C18:2,  $\Delta 9,12$ ,  $\omega$ -6), kwas linolenowy (C18:3,  $\Delta 9,12,15$ ,  $\omega$ -3), kwas eikozapentaenowy (EPA) (C20:5,  $\Delta 5,8,11,14,17$ ,  $\omega$ -3) oraz kwas dokozaheksaenowy (DHA) (C22:6,  $\Delta 4,7,10,13,16,19$ ,  $\omega$ -3) [13]. Ponadto są także źródłem steroidów, takich jak ergosterol, który jest prekursorem ergokalcysterolu (witaminy D<sub>2</sub>) [5]. Obecność kwasów nukleinowych u grzybów waha się od 3,2 do 4,7% w suchej masie. Ponadto grzyby są także źródłem witamin i składników mineralnych [2]. Przede wszystkim zawierają niacynę (B<sub>3</sub>), kwas pantotenowy (B<sub>5</sub>), ryboflawinę (B<sub>2</sub>), tiaminę (B<sub>1</sub>), pirydoksynę (B<sub>6</sub>), witaminę (B<sub>12</sub>), witaminę D i biotynę (B<sub>7</sub>) [14]. Spośród składników mineralnych szczególnie wysoką zawartością w suchej masie odznacza się potas (K), fosfor (P), siarka (S) i magnez (Mg). Ponadto można stwierdzić zawartość sodu (Na) i wapnia (Ca), jednak ich ilość jest zdecydowanie mniejsza [9]. Grzyby, ze względu na składniki odżywcze są wartościowym źródłem pożywienia, i często są stosowane jako substytuty mięsa przez osoby preferujące dietę bezmięsną [15]. Wartość energetyczna grzybów jest zróżnicowana i w zależności od gatunku wynosi od ok. 266 do 1053 kcal/kg. Jednak u większości gatunków średnio wynosi ona ok. 360 kcal/kg [5]. Wynika ona z dużej zawartości wody (81,8-94,8%) i niskiej zawartości tłuszczów [6].

### 3. Właściwości lecznicze grzybów

#### 3.1. Substancje lecznicze wytwarzane przez grzyby

Zastosowanie lecznicze grzybów wynika z obecności w ich organizmach substancji biologicznie aktywnych, jak np. polisacharydów lub takich, które są przez nie wytwarzane na zasadzie metabolizmu wtórnego. Wiele metabolitów wtórnych wytwarzanych przez grzyby ma pozytywny wpływ na organizmy. Szczególnie ważną grupą związków są antybiotyki, które są wykorzystywane w leczeniu infekcji bakteryjnych. Produkowane są one przez takie gatunki jak: *Penicillium rubens* i *Penicillium chrysogenum* (penicyliny G i V) czy *Acremonium chrysogenum*, który wytwarza cefalosporynę C. Antybiotyki te należą do grupy antybiotyków  $\beta$ -laktamowych. Innymi ważnymi antybiotykami są należące do terpenów pleuromutylinina oraz kwas fusydynowy. Mechanizm działania antybiotyków polega na ich ingerencji w funkcje życiowe bakterii. Wiele gatunków grzybów ma także zdolność do wytwarzania substancji o działaniu przeciw-

grzybiczym, jak np. echinokandyna B czy pneumokandyna B<sub>0</sub>. Niektóre metabolity wtórne mają także działanie immunosupresyjne, co oznacza, że obniżają one odporność organizmu i w związku z tym są wykorzystywane przy transplantacjach. Do substancji o takim działaniu można zaliczyć cyklosporynę A, kwas mykofenolowy i mizorybinę. Metabolity wtórne są wykorzystywane także w leczeniu hipercholesterolemii, jak np. monokolina K oraz mewastatyna [7].

Bardzo ważną grupą substancji biologicznie aktywnych występujących w organizmach grzybów są lektyny. Są to białka, które mają zdolność do wiązania cukrów, ale nie są przeciwciałami i enzymami [2]. Lektyny grzybów posiadają różnorodną aktywność, przede wszystkim należy wyróżnić działanie antynowotworowe, mitogenne i antymitogenne, immunomodulujące oraz antywirusowe [16].

Najwyższą aktywnością biologiczną wśród grzybów charakteryzują się polisacharydy, a wśród tych przede wszystkim  $\beta$ -glukany, które są elementem ich ściany komórkowej [17]. Właściwości wybranych polisacharydów przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wybrane polisacharydy występujące w grzybach oraz ich właściwości lecznicze

Źródło polisacharydów	Rodzaj polisacharydu	Właściwości
<i>Lentinula edodes</i>	Lentinan	przeciwnowotworowe immunomodulujące antyoksydacyjne chroniące przed stresem radiacyjnym
<i>Ganoderma atrum</i>	Ganoderan	antynowotworowe immunomodulujące
<i>Ganoderma lucidum</i>		hipolipidemiczne hipoglikemiczne
<i>Ganoderma sinense</i>		antyoksydacyjne
<i>Agaricus bisporus</i>	$\beta$ -glukan	antyoksydacyjne antynowotworowe przeciwzapalne antyseptyczne przeciwbólowe immunomodulujące
<i>Pleurotus osteratus</i>	Pleuran	antyoksydacyjne antynowotworowe hepatoprotekcyjne gastroprotekcjne antyalgiczne
<i>Auricularia polytricha</i>	$\beta$ -glukan	antynowotworowe immunomodulujące
<i>Auricularia auriculajudae</i>		antyoksydacyjne ( $\rightarrow$ wspomagające funkcjonowanie serca) antymutagenne: przeciwko uszkodzeniom DNA ( <i>Auricularia polytricha</i> )
<i>Hericium erinaceus</i>	$\beta$ -glukan	antynowotworowe antybakteryjne antyoksydacyjne wzmacniające odpowiedź immunologiczną
<i>Flammulina velutipes</i>	Flammulina	antynowotworowe immunomodulujące antyoksydacyjne chroniące wątrobę wzmacniające pamięć

<i>Grifola frondosa</i>	Grifolan	antynowotworowe immunomodulujące antyoksydacyjne chroniące wątrobę hipoglikemiczne
<i>Pleurotus abalones</i>	$\beta$ -glukan	antynowotworowe antyoksydacyjne antyhiperglikemiczne antywirusowe
<i>Schizophyllum commune</i>	Schizofylian	antynowotworowe antybakteryjne
<i>Trametes versicolor</i>	Polisacharyd K	antynowotworowe antywirusowe

Źródło: [17, 20]

## 3.2. Wpływ substancji leczniczych występujących w grzybach na organizmy zwierząt i ludzi

### 3.2.1. Działanie antybakteryjne

Działanie antybakteryjne posiadają przede wszystkim antybiotyki. Najważniejszymi antybiotykami są wspomniane wcześniej penicyliny i cefalosporyny [18]. Nie są to jednak jedyne substancje wytwarzane przez grzyby, które posiadają właściwości antybakteryjne. Ekstrakty z grzybów z rodzajów: *Agaricus*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Clitocybe*, *Cortinarius*, *Ganoderma*, *Lactarius*, *Hygrophorus*, *Pycnoporus*, *Hypholoma*, *Tricholoma* i *Lentinus* mają działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne w stosunku do niektórych gatunków bakterii. Aktywność taką posiadają związki fenolowe takie jak: kwas p-hydroksybenzoesowy, kwas protokatechowy, kwas galusowy, kwas cynamonowy, kwas p-kumarowy, kwas ferulowy, kwas chlorogenowy, katechina, mirycetyna, ergosterol i pirogalol. Substancje te wykazały pozytywne efekty w zwalczaniu drobnoustrojów zarówno z grupy bakterii Gram-dodatnich (*MRSA*, *MSSA*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae*) i bakterii Gram-ujemnych (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Pausterella multocida*, *Neisseria gonorrhoeae*) [19]. Innymi biologicznie aktywnymi związkami o działaniu antybakteryjnym są polisacharydy, którymi są  $\beta$ -glukany. Obecny w *Lentinula edodes* (rys. 1) lentinan ( $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glukan) wykazał działanie przeciwbakteryjne w warunkach *in vitro* na bakterie *Bacillus megaterium*, *Enterococcus phoeniculicola* i *Klebsiella pneumoniae*. Antybakteryjne działanie posiada także schizofylian obecny w *Schizophyllum commune* oraz  $\beta$ -glukan gatunku *Schizophyllum glaucanicum* [20]. Mechanizm działania  $\beta$ -glukanów przeciwko bakteriom opiera się na degradacji błony komórkowej bakterii spowodowanej przez te związki. W badaniach przeprowadzonych na *Staphylococcus aureus* dokonywano analizy przepuszczalności błon komórkowym, a stopień ich degradacji określano na podstawie zmian w transbłonowym gradiencie elektrycznym, pH oraz ATP [21].



Rysunek 1. *Lentinula edodes* (twardnik japoński), Źródło: [22]

### 3.2.2. Działanie antywirusowe

Aktywność antywirusowa związków chemicznych występujących w grzybach opiera się na inhibicji określonych enzymów wirusów. Grupą związków o takim działaniu są lektyny, czyli białka wiążące reszty cukrowe. Działanie przeciwwirusowe wybranych lektyn zostało przedstawione w tabeli 2 [16].

Tabela 2. Działanie przeciwwirusowe lektyn pochodzących z grzybów

Źródło lektyn	Działanie
<i>Paxillus involutus</i>	Aktywność przeciwko wirusowi mozaiki tytoniu
<i>Hericium erinaceus</i> <i>Schizophyllum commune</i> <i>Pleurotus citrinopileatus</i> <i>Cordyceps militaris</i> <i>Agaricus bisporus</i> <i>Boletus edulis</i>	Inhibitory odwrotnej transkryptazy HIV-1

Źródło: [16]

Kolejną grupą związków aktywnych biologicznie o działaniu przeciwwirusowym są triterpenoidy występujące w owocnikach *Ganoderma lucidum* (rys. 2). Ich działanie opiera się na blokowaniu enzymów wirusa HIV. Właściwości przeciwwirusowe wykazują związki takie jak kwas lucydenowy O i lakton lucydenowy, których działanie opiera się na blokowaniu odwrotnej transkryptazy HIV-1. Kwas ganoderowy, ganoderiol B, ganodermanondiol, ganodermanontriol, lucydumol B, kwas  $\beta$ -ganoderowy i kwas ganolucydowy A są inhibitorami proteazy tego wirusa. Ponadto ganoderiol F i ganodermanontriol zatrzymują jego wzrost [23]. Inhibitorem odwrotnej transkryptazy wirusa HIV-1 są także polisacharydy występujące w owocnikach *Pleurotus abalones* [17]. Ponadto z badań przeprowadzonych *in silico* 6 związków chemicznych zostało określonych jako potencjalne leki na chorobę COVID-19, wywoływaną przez koronawirusa ciężkiego ostrego zespołu oddechowego – SARS-CoV-2. Są to: colossolakton E, colossolakton G i colossolakton VII (*Ganoderma colossum*), ergosterol (np. *Auricularia politricha*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*), heliandriol F (*Lignosus rhinocerus*), velutin (*Flammulina velutipes*). Metodą dokowania molekularnego wykazano, że mają działanie hamujące dla proteazy tego wirusa, jednocześnie nie wykazując toksyczności dla człowieka [24].



Rysunek 2. *Ganoderma lucidum* (lakownica żółtawa), Źródło: [25]

### 3.2.3. Działanie antyoksydacyjne

Uszkodzenia oksydacyjne, które powodowane są przez wolne rodniki skutkują uszkodzeniami takich biomolekuł jak lipidy, białka czy DNA. Działanie wolnych rodników jest neutralizowane przez przeciwutleniacze [26]. Grupą związków o działaniu antyoksydacyjnym są związki fenolowe. Można do nich zaliczyć kwasy: galusowy, rotokatechowy, p-hydroksybenzoesowy, wanilinowy, syringowy, p-kumarowy, ferulowy i kawowy. Substancje te zostały wyekstrahowane z takich gatunków jak: *Agaricus bisporus*, *Trametes versicolor*, *Boletus edulis*, *Lentinula edodes* i *Ganoderma lucidum* [19]. Właściwości przeciwutleniające zostały stwierdzone dla polisacharydów z gatunków: *Lentinula edodes*, *Ganoderma atrum*, *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma sinense*, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus osteratus*, *Auricularia polytricha*, *Auricularia auricula-judae*, *Pleurotus abalones*, *Hericium erinaceus*, *Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*. Ich działanie opiera się na wiązaniu wolnych rodników, zmniejszaniu ich liczby oraz wspomaganie enzymów antyoksydacyjnych, takich jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) czy katalaza (CAT) [17].

### 3.2.4. Działanie immunomodulujące i antynowotworowe

Działaniem immunomodulującym można określić procesy regulujące – stymulujące bądź osłabiające funkcjonowanie układu immunologicznego. Właściwości wzmacniające jego działanie posiadają immunostymulatory oraz immunoadjuwanty, immunosupresanty zaś mają działanie przeciwne. U grzybów substancjami o działaniu immunomodulującym są lektyny, terpeny i terpenoidy, białka immunomodulujące oraz polisacharydy [27]. Działanie tych grup związków chemicznych opiera się na wpływie jaki wywierają na komórki układu immunologicznego, takie jak makrofagi, limfocyty T pomocnicze i cytotoksyczne, limfocyty B, komórki NK, komórki dendrytyczne oraz komórki macierzyste, które mogą różnicować się w powyżej wymienione. Dzięki immunomodulatorom może wzrastać ich liczba, mogą być one aktywowane lub dezaktywowane. Na skutek działania związków, komórki mogą regulować wytwarzanie lub sekrecję cytokin, takich jak: interleukiny (IL), chemokiny, interferony (IFN) czy czynniki martwicy nowotworu (TNF). Cytokiny z kolei mogą stymulować lub hamować proces powstawania nowych komórek, inne natomiast mają działanie cytotoksyczne (np. TNF- $\alpha$ ). Regulacja działania układu immunologicznego jest powiązana z działaniem

przeciwko patogenom, stanem zapalnym i działaniem antynowotworowym. Właśnie dlatego te same grupy substancji posiadają działanie zarówno immunomodulacyjne, jak i antynowotworowe [28]. Lektyny z gatunku *Tricholoma mongolicum*, nazwane TML-1 i TML-2, lektyna z *Agaricus bisporus* (ABL) oraz galektyna z *Agrocybe cylindracea* (ACG) aktywują i stymulują makrofagi. Lektyny wyizolowane z gatunku *Volvariella volvacea* (VVL) stymulują produkcję limfocytów Th-1 [16]. Lektyny *Grifola frondosa* mają działanie cytotoksyczne, a lektyny *Ganoderma capanense* posiadają aktywność mitogenną i antyproliferacyjną. Działanie antyproliferacyjne posiadają także lektyny *Clitocybe nebularis* (CNL), które dodatkowo działają wspomagająco na komórki dendrytyczne. Terpeny i terpenoidy o właściwościach immunomodulujących występują u grzybów z rodzaju *Ganoderma*. Przykładami substancji o takim działaniu są lanostan, lucidon, kwas ganoderowy, ganoderal, ganoderol, ganodermanondiol i ganodermanontriol, których działanie opiera się na aktywacji (NF)- $\kappa$ B oraz kinazy MAPK, co z kolei prowadzi do wywołania odpowiedzi immunologicznej przeciwko nowotworom [28]. Białka immunomodulujące (FIP, ang. *fungus immunomodulatory proteins*) są kolejną grupą związków regulujących funkcjonowanie układu odpornościowego. Ich obecność została potwierdzona u grzybów: *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma tsugae*, *Ganoderma sinensis*, *Ganoderma japonicum*, *Ganoderma microsporum*, *Flammulina velutipes*, *Volvariella volvacea*, *Antrodia comphorate* i *Trametes versicolor*, *Poria cocos*. Oddziaływanie tych białek opiera się na stymulacji produkcji cytokin – interleukin, chemokin, interferonu typu II (IFN- $\gamma$ ), czynnika martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ ). Dodatkowo FIP wpływają na wzrost liczby limfocytów oraz sekrecję cytokin [27]. Białka immunomodulujące znajdują zastosowanie w leczeniu reakcji anafilaktycznych, ze względu na produkcję cytokin oraz innych reakcji alergicznych. Ponadto są wykorzystywane jako leki przeciwnowotworowe, ze względu na ich antyproliferacyjne działanie oraz indukcję procesu apoptozy [29], a także są lekiem na choroby autoimmunologiczne [30]. Polisacharydy również są ważnymi immunomodulatorami. Lentinan obecny u *Lentinula edodes* pełni wiele ważnych funkcji, wśród których można wyróżnić regulację funkcji komórek układu immunologicznego, takich jak makrofagi, komórki dendrytyczne oraz limfocyty B i T. Ponadto wspomaga on produkcję cytokin i poprawia odporność. Podobne działanie posiada ganoderan obecny w grzybach z rodzaju *Ganoderma*, który również wzmacnia produkcję komórek układu odpornościowego, takich jak makrofagi. Podobne działanie posiada pleuran obecny w owocnikach *Pleurotus ostreatus*. Analogicznie jak w przypadku innych związków chemicznych polisacharydy działają także antynowotworowo. Wspomniany wcześniej lentinan hamuje proliferację oraz indukuje apoptozę komórek nowotworowych. Ponadto może on zapobiegać onkogenezie. Polisacharydy obecne w grzybach z rodzaju *Ganoderma* mają podobne właściwości. Działanie antynowotworowe posiadają także polisacharydy z *Agaricus bisporus*, które indukują apoptozę oraz hamują wzrost guza [17]. Schizofylian obecny w owocnikach *Schizophyllum commune* (rys. 3) oraz polisacharydy z grzybów: *Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Pleurotus abalones* i *Agaricus blazei* także mają działanie antynowotworowe [2].



Rysunek 3. *Schizophyllum commune* (rozszczepka pospolita) Źródło: [31]

### 3.2.5. Działanie przeciwzapalne

Powstawanie stanu zapalnego jest reakcją układu immunologicznego na działanie patogenów czy czynników uszkodzających tkanki. Prawidłowym następstwem tych reakcji jest obrona przed patogenami, naprawa uszkodzonych tkanek lub adaptacja. Jednakże, długotrwały proces zapalny jest szkodliwy dla organizmu i towarzyszy wielu chorobom, głównie autoimmunologicznym czy chorobom układu krążenia [32]. Wiele związków aktywnych biologicznie, które występują w grzybach ma aktywność przeciwzapalną. Są to cukry, takie jak trehaloza,  $\beta$ -glukany, chitozan. Ponadto, działanie takie posiadają lektyny, ergotioneina, glutation, kwasy tłuszczowe (kwas oleinowy, kwas palmitynowy, kwas linolowy, kwas  $\alpha$ -linoleinowy), związki fenolowe (kwasy: protokatechowy, p-hydroksybenzoesowy, p-kumarowy, cynamonowy, kawowy i galusowy), związki indolowe, takie jak L-tryptofan, melatonina, 5-hydroksy-L-tryptofan. Witaminy z grupy B (tiamina, ryboflawina, biotyna, pirydoksyna), witamina C, tokoferol, karotenoidy także posiadają działanie przeciwzapalne. Związki te hamują działanie kompleksu NF- $\kappa$ B, cyklooksygenazy 2 (COX-2), syntazę tlenu azotu, syntazę prostaglandyny E2 oraz receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksyosomów  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ). Powoduje to hamowanie wytwarzania mediatorów uczestniczących w zapaleniu, np.: interleukiny (IL), czynnik martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ ), prostaglandyny czy tlenek azotu (NO) [33].

### 3.2.6. Działanie w chorobach układu krążenia

Choroby sercowo-naczyniowe to narastający problem wśród społeczeństwa na całym świecie, ponieważ stanowią główną przyczynę śmierci i każdego roku ok. 17,9 miliona ludzi umiera w ich wyniku. Stanowi to ok. 31% wszystkich zgonów na świecie. Ich główną przyczyną jest niezdrowa dieta, brak aktywności fizycznej oraz zażywanie alkoholu i tytoniu [34]. Grzyby zawierają związki chemiczne, które zapobiegają miażdżycy i chorobom sercowo-naczyniowym oraz są pomocne w ich leczeniu. Wiele bioaktywnych substancji powoduje obniżanie ciśnienia poprzez inhibicję ACE (konwertazy angiotensyny), reakcja ta reguluje aktywność RAAS (układu renina-angiotensyna-aldosteron). Działanie takie posiadają peptydy (pochodzące np. z: *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*), kwasy ganoderowe, aldehydy ganoderowe (ganoderale), alkohole ganoderowe (ganoderole), lentinan,

chityna, D-mannitol, kwas L-pipekolinowy (występujący np. u *Sarcodona spratus*) [35]. Aktywne biologicznie substancje obecne w wielu gatunkach jadalnych grzybów (wymienionych poniżej) są w stanie zapobiegać hipercholesterolemii. Takie działanie posiadają wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz błonnik pokarmowy. Mogą one obniżać poziom całkowitego cholesterolu w osoczu (*Agaricus bisporus*, *Auricularia auricula*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus citrinopileus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus ostreatus*, *Tremella fuciformis*) lub jego lipoproteinowych frakcji: LDL (*Agaricus bisporus*, *Auricularia auricula*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Tremella fuciformis*) oraz HDL (*Agaricus bisporus*). Ponadto mogą one obniżać poziom trójglicerydów (*Pleurotus citrinopileus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus ostreatus*, *Tremella fuciformis*) oraz wspomagać produkcję kwasów żółciowych (*Pleurotus citrinopileus*, *Pleurotus florida*). W leczeniu hipercholesterolemii wykorzystywane są także  $\beta$ -glukany, które mają antykoagulacyjne właściwości. Wśród cukrów korzystne właściwości ma także chitozan, którego działanie opiera się na obniżaniu absorpcji lipidów, obniżaniu poziomu tłuszczu w mięśniach i wątrobie oraz redukcji tkanki tłuszczowej. Erytadenina (lentinacyna, lentystyna) obecna w grzybach z gatunków: *Lentinula edodes* i *Agaricus bisporus* także obniża poziom cholesterolu. Redukcja poziomu cholesterolu jest także wynikiem zablokowania działania enzymu – reduktazy HMG-CoA, która zamienia HMG-CoA w mewanolian. Inhibitorem tego enzymu jest mewinolina obecna u *Pleurotus citrinopileus*, *Pleurotus florida* oraz *Pleurotus ostreatus* [6]. Ponadto w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych duże znaczenie mają właściwości antyoksydacyjne bioaktywnych związków obecnych w grzybach. Są to polisacharydy, związki fenolowe, triterpeny, kwas nikotynowy, ergosterol, tokoferol i ergotioneina [35]. Substancje te wspomagają aktywność enzymów antyoksydacyjnych oraz obniżają poziom cholesterolu całkowitego i trójglicerydów. Dodatkowo metanolowe ekstrakty z *Lentinula edodes*, *Flammulina velutipes*, *Pleurotus ostreatus* i *Volvariella volvacea* chronią przed peroksydacją lipidów, a ekstrakt z *Agrocybe aegerita* hamuje oksydację LDL [6]. Innym ważnym aspektem jest hamowanie agregacji płytek krwi i zapobieganie zakrzepom. Wiele aktywnych biologicznie związków obecnych w grzybach, takich jak: *Armillaria mellea*, *Pleurotus ostreatus*, *Cordyceps militaris*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum* oraz z rodzaju *Fusarium* posiada fibrynolityczne enzymy, które powodują rozpad skrzepów krwi [35].

### 3.2.7. Działanie na układ nerwowy i choroby neurodegeneracyjne

Choroby neurodegeneracyjne prowadzą do uszkodzenia i utraty komórek nerwowych, a w konsekwencji do zaburzeń funkcji ruchowych oraz problemów z pamięcią [36]. Substancje biologicznie aktywne obecne w niektórych gatunkach grzybów mogą w pewnym stopniu zapobiegać lub pomagać w leczeniu, np. choroby Alzheimera i choroby Parkinsona [37].

W chorobie Parkinsona (PD), która jest powodowana utratą neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej śródmózgowia oraz agregatów białkowych zwanych ciałami Lewy'ego, co prowadzi do stopniowej utraty funkcji motorycznych [38]. Metanolowy ekstrakt z *Ganoderma lucidum* hamował degradację neuronów dopaminergicznych, a wodny ekstrakt z *Mycleptodonoides aitchisonii*, powodował zwiększenie stężenia dopaminy oraz wzrost jej uwalniania [35].

Choroba Alzheimerera (AD), spowodowana jest odkładaniem się płytek amyloidu  $\beta$ , który powstaje z białka prekursorowego amyloidu (APP), w wyniku działania sekretaz oraz hiperfosforylacji białka tau, które zaburza funkcjonowanie cytoskieletu neuronów [39]. AD może być także spowodowana zwiększoną aktywnością cholinesteraz. Biologicznie czynne związki chemiczne (pochodzące z grzybów; tab. 3) zapobiegają agregacji  $\beta$ -amyloidu, blokują działanie  $\beta$ -sekretazy (BACE1) i cholinesteraz, hamują ekspresję białka tau oraz stymulują wzrost neurytów [37].

Tabela 3. Działanie surowców, ekstraktów i substancji biologicznie aktywnych pochodzących z grzybów w chorobie Alzheimerera

Źródło	Surowiec/ekstrakt/substancja aktywna	Działanie
<i>Antrodia comphorata</i>	Grzybnia	Inhibicja ekspresji białka tau
<i>Hericum erinaceus</i>	Proszek	Poprawa pamięci
<i>Ganoderma lucidum</i>	Wodny ekstrakt	Oslabienie synaptotoksyczności i apoptozy neuronów spowodowane $\beta$ -amyloidem, Czynniki wzrostu nerwów (NGF)
<i>Cortinarius infractus</i>	Infraktyna 6-hydroksyinfraaktyna Infrafraktopikryna	Inhibicja acetylocholinoesterazy (AChE), Inhibicja agregacji amyloidu $\beta$
<i>Tricholoma fracticum</i>	Ekstrakt	Inhibicja acetylocholinoesterazy i butyrylocholinoesterazy
<i>Tricholoma imbricatum</i>		
<i>Tricholoma terreum</i>		
<i>Phelinus linteus</i>	Hispidyna	Inhibicja $\beta$ -sekretazy (BACE1)
<i>Auricularia polytricha</i>	Ekstrakt	Inhibicja $\beta$ -sekretazy (BACE1)

Źródło: [37]

Bardzo ważne działanie dla funkcjonowania układu nerwowego mają neurotrofiny. Są to białka o masie około 25 kDa, które regulują wzrost i diferencjację komórek nerwowych, a ich nieprawidłowe działanie powoduje choroby układu nerwowego. Do neurotrofin należą: czynnik wzrostu nerwów (NGF), neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF), neurotrofina-3 (NT-3), neurotrofina-4/5 (NT-4/5) oraz czynnik neurotroficzny pochodzący z komórek glejowych (GDNF) [37, 40]. Substancje biologicznie aktywne obecne w niektórych gatunkach grzybów mogą stymulować syntezę i działać wspomagająco na wzrost neurytów [37]. Wpływ na neurony i NGF przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Działanie surowców, ekstraktów i substancji biologicznie aktywnych obecnych w grzybach na neurony i NGF

Źródło	Surowiec/ekstrakt/substancja aktywna	Działanie
<i>Sarcodon cyrneus</i>	Cyrneina A, B	Wzrost neurytów, Wzrost produkcji NGF
<i>Sarcodon glaucopus</i>	Glaukopina C	Wzrost ekspresji genu kodującego NGF
<i>Sarcodon sambrosus</i>	Skabronina B, C, E, G	Stymulacja syntezy NGF
<i>Hericum erinaceus</i>	Ekstrakt	Wzrost neurytów
	Herikenon C-H	Stymulacja biosyntezy NGF
	Erinacyna A-J	Indukowanie syntezy NGF
<i>Ganoderma lucidum</i>	Ekstrakt	Diferencjacja neuronów, Wzrost neurytów

<i>Mycleptodonoides aitchisonii</i>	Proszek, Wodny ekstrakt	Synteza NGF w korze mózgowej i hipokampie, zwiększenie ilości dopaminy i jej metabolitów
<i>Dictiofora indusiata</i>	Diktioforyna A i B	Synteza NGF w komórkach astrogleju
<i>Grifola frondosa</i>	Lizofosfatydylo- eonoetanoloamina	Wzrost neurytów
<i>Tremella fuciformis</i>	Wodny ekstrakt, Tricholomalidy A-C	Wzrost neurytów, Poprawa pamięci
<i>Termitomyces albuminosus</i>	Termitomycesfyny A-D	Wzrost neurytogenezy
<i>Lignosus rhinocerotis</i>	Ekstrakt, Grzybnia	Diferencjacja neuronów, Wzrost neurytów
<i>Ganoderma neo-japonicum</i>	Wodny ekstrakt	
<i>Pleurotus giganteus</i>	Wodny ekstrakt	

Źródło: [37]

#### 4. Podsumowanie

Grzyby, ze względu na swoje właściwości odżywcze są bardzo ważnym elementem diety. Są one źródłem cukrów, polisacharydów, tłuszczu, ale także witamin. Przeważającą część występujących cukrów stanowią polisacharydy, takie jak chityna, glikogen czy błonnik. Zawierają one niezbędne dla funkcjonowania organizmu aminokwasy egzogenne. Ponadto są także źródłem niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT). Związki te nie mogą być syntetyzowane w organizmie człowieka, dlatego ważne jest ich dostarczanie do organizmu. Ponadto grzyby zawierają bardzo dużo wody i posiadają niewielką wartość energetyczną w dużej masie [5].

Grzyby są także źródłem bioaktywnych substancji o właściwościach leczniczych. Wielokierunkową aktywnością charakteryzują się należące do polisacharydów  $\beta$ -glukany. Związki te mają działanie antybakteryjne, antywirusowe, antynowotworowe, immunomodulujące i antyoksydacyjne [17]. Z kolei równie istotne lektyny wykazują aktywność przeciwwirusową, immunomodulującą oraz przeciwnowotworową [16]. Wiele związków fenolowych posiada działanie antyoksydacyjne oraz przeciwbakteryjne [19]. Ponadto związkami immunomodulującymi i antynowotworowymi są terpeny, terpenoidy oraz specyficzne białka [27]. Cukry, białka, związki fenolowe i indolowe mają również działanie przeciwzapalne [33]. Substancje zawarte w grzybach są także pomocne w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych. Są to cukry, takie jak np. błonnik pokarmowy,  $\beta$ -glukany czy chitozan, peptydy czy wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Ponadto grzyby zawierają statyny, które zapobiegają hipercholesterolemii [6]. Bioaktywne związki obecne w grzybach znalazły również zastosowanie w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera i choroba Parkinsona. Substancje te hamują procesy związane z degradacją komórek nerwowych, ale także stymulują ich wzrost [37].

#### Literatura

1. Fenchel T., *Microorganisms (Microbes), Role of*, [w:] *Encyclopedia of Biodiversity*, Levin S.A. (red.), Elsevier, Academic Press, , Amsterdam 2013, s. 299-308.
2. Chang S., Miles G.P., *Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effects and Environmental Impact*, Boca Raton. FL: CRC Press, 2004, s. 1-477.
3. Carris L., Little C., Stiles C., *Introduction to Fungi*, Plant Health Instructor, 2012, s. 1-22.

4. Dupont J., Dequin S., Giraud T., Le Tacon F., Marsit S., Ropars J., Richard F., Selosse M.A., *Fungi as a source of food*, Microbiology Spectrum, 5, 2017, s. 1-15.
5. Kalač P., *A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms*, Journal of the Science of Food Agriculture, 93, 2013, s. 209-218.
6. Guillamón E., García-Lafuente A., Lozano M., D'Arrigo M., Rostagno M.A., Villares A., Martínez J.A., *Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases*, Fitoterapia, 81, 2010, s. 715-723.
7. Bills G.F., Gloer J.B., *Biologically Active Secondary Metabolites from the Fungi*, Microbiology Spectrum, 4, 2016, s. 1-25.
8. Yin X., Yang A.A., Gao J.M., *Mushroom Toxins: Chemistry and Toxicology*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 67, 2019, s. 5053-5071.
9. Kalač P., *Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review*, Food Chemistry, 113, 2009, s. 9-16.
10. Cheung P.C.K., *Nutritional Value and Health Benefits of Mushrooms*, [w:] *Mushrooms as Functional Foods*, Cheung P.C.K. (red.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey 2009, s. 71-109.
11. Bernaś E., Jaworska G., Lisiewska Z., *Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents*, Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria, 5, 2006, s. 5-20.
12. Capuano E., *The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57, 2017, s. 3543-3564.
13. Sande D., Oliveira G.P., Moura M.A.F.E., Martins B.A., Lima M.N.T.S., Takahashi J.A., *Edible mushrooms as a ubiquitous source of essential fatty acids*, Food Research International, 125, 2019, s. 108524.
14. Sharifi-Rad J., Butnariu M., Ezzat S.M., Adetunji C.O., Imran M., Sobhani S.R., Tufail T., Hosseinabadi T., Ramírez-Alarcón K., Martorell M., Maroyi A., Martins N., *Mushrooms – Rich Preparations on Wound Healing: From Nutritional to Medicinal Attributes*, Frontiers in Pharmacology, 11, 2020, s. 1-7.
15. Kumar P., Chatli M.K., Mehta N., Singh P., Malav O.P., Verma A.K., *Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57, 2017, s. 923-932.
16. Hassan M.A., Rouf R., Tiralongo E., May T.W., Tiralongo J., *Mushroom lectins: specificity, structure and bioactivity relevant to human disease*, International Journal of Molecular Sciences, 16, 2015, s. 7802-7838.
17. Huang X., Nie S., *The structure of mushroom polysaccharides and their beneficial role in health*, Food & Function, 6, 2015, s. 3205-3217.
18. Hutchings M.I., Truman A.W., Wilkinson B., *Antibiotics: past, present and future*, Current Opinion in Microbiology, 51, 2019, s. 72-80.
19. Ramos M., Burgos N., Barnard A., Evans G., Preece J., Graz M., Ruthes A.C., Jiménez-Quero A., Martínez-Abad A., Vilaplana F., Ngoc L.P., Brouwer A., van der Burg B., Del Carmen Garrigós M., Jiménez A., *Agaricus bisporus and its by-products as a source of valuable extracts and bioactive compounds*, Food Chemistry, 292, 2019, s. 176-187.
20. Zhu F., Du B., Bian Z., Xu B., *Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities*, Journal of Food Composition and Analysis, 41, 2015, s. 165-173.
21. Song J., Chen H., Wei Y., Liu J., *Synthesis of carboxymethylated  $\beta$ -glucan from naked barley bran and its antibacterial activity and mechanism against Staphylococcus aureus*, Carbohydrates Polymeres, 242, 2020, s. 1-7.
22. [https://it.wikipedia.org/wiki/Lentinula\\_edodes#/media/File:Shiitake\\_mushroom.jpg](https://it.wikipedia.org/wiki/Lentinula_edodes#/media/File:Shiitake_mushroom.jpg).
23. Sanodiya B.S., Thakur G.S., Baghel R.K., Prasad G.B., Bisen P.S., *Ganoderma lucidum: a potent pharmacological macrofungus*, Current Pharmaceutical Biotechnology, 10, 2009, s. 717-42.



24. Rangsinth P., Sillapachaiyaporn C., Nilkhet S., Tencomnao T., Ung A.T., Chuchawankul S., *Mushroom-derived bioactive compounds potentially serve as the inhibitors of SARS-CoV-2 main protease: An in silico approach*, Journal of traditional and complementary medicine, 11, 2021, s. 158-172.
25. [https://pl.wikipedia.org/wiki/Lakownica\\_%C5%BC%C3%B3%C5%82tawa#/media/Plik:Ganoderma\\_lucidum\\_01.jpg](https://pl.wikipedia.org/wiki/Lakownica_%C5%BC%C3%B3%C5%82tawa#/media/Plik:Ganoderma_lucidum_01.jpg).
26. Pisoschi A.M., Pop A., *The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review*, European Journal of Medicinal Chemistry, 97, 2015, s. 55-74.
27. El Enshasy H.A., Hatti-Kaul R., *Mushroom immunomodulators: unique molecules with unlimited applications*, Trends in biotechnology, 31, 2013, s. 668-677.
28. Moradali M.F., Mostafavi H., Ghods S., Hedjaroude G.A., *Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi)*, International Immunopharmacology, 7, 2007, s. 701-724.
29. Li Q., Wang X., Zhou X., *Recent status and prospects of the fungal immunomodulatory protein family*, Critical Reviews in Biotechnology, 31, 2011, s. 365-375.
30. Rezvani V., Pourianfar H.R., Mohammadnejad S., Madjid Ansari A., Farahmand L., *Anticancer potentiality and mode of action of low-carbohydrate proteins and peptides from mushrooms*, Applied microbiology and biotechnology, 104, 2020, s. 6855-6871.
31. [https://pl.wikipedia.org/wiki/Rozszczepka\\_pospolita#/media/Plik:Schizophyllum\\_commu ne\\_G2.1.jpg](https://pl.wikipedia.org/wiki/Rozszczepka_pospolita#/media/Plik:Schizophyllum_commu ne_G2.1.jpg).
32. Medzhitov R., *Origin and physiological roles of inflammation*, Nature, 454, 2008, s. 428-435.
33. Muszyńska B., Grzywacz-Kisielewska A., Kała K., Gdula-Argasińska J., *Anti-inflammatory properties of edible mushrooms: A review*, Food chemistry, 243, 2018, s. 373-381.
34. WHO, *Cardiovascular diseases (CVDs)*, [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)), 27.05.2021.
35. Rahman M.A., Abdullah N., Aminudin N., *Interpretation of mushroom as a common therapeutic agent for Alzheimer's disease and cardiovascular diseases*, Critical Reviews in Biotechnology, 36, 2015, s. 1131-1142.
36. Dugger B.N., Dickson D.W., *Pathology of Neurodegenerative Diseases*, Cold Spring Harbor perspectives in biology, 9, 2017, s. 1-17.
37. Phan C.W., David P., Naidu M., Wong K.H., Sabaratnam V., *Therapeutic potential of culinary-medicinal mushrooms for the management of neurodegenerative diseases: diversity, metabolite, and mechanism*, Critical Reviews in Biotechnology, 35, 2015, s. 355-368.
38. Beitz J.M., *Parkinson's disease: a review*, Frontiers in bioscience (Scholar edition), 6, 2014, s. 65-74.
39. Oboudiyat C., Glazer H., Seifan A., Greer C., Isaacson R.S., *Alzheimer's Disease*, Seminars in neurology, 33, 2013, s. 313-329.
40. Pattarawarapan M., Burgess K., *Molecular basis of neurotrophin-receptor interactions*, Journal of medicinal chemistry, 46, 2003, s. 5277-5291.

## Właściwości odżywcze i lecznicze grzybów

### Streszczenie

Grzyby są grupą organizmów eukariotycznych, należąca do jednego z pięciu królestw. Grupa ta jest bardzo zróżnicowana, a w jej skład wchodzi zarówno grzyby jadalne i lecznicze, jak również trujące. Grzyby są wykorzystywane przez człowieka ponieważ posiadają wartość odżywczą i leczniczą. Są one źródłem węglowodanów, białek, tłuszczu i witamin. Związki te są niezbędne w diecie. Grzyby są także bogate w substancje bioaktywne, które mogą działać w organizmach na różne sposoby. Posiadają działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwutleniające, immunomodulujące, przeciwzapalne i przeciwnowotwo-

rowe. Ponadto mogą zapobiegać chorobom sercowo-naczyniowym, a także mają właściwości neuroprotektcyjne. Ze względu na walory grzyby stanowią doskonały składnik pożywienia i warto włączyć je do diety. Słowa kluczowe: grzyby, właściwości odżywcze, właściwości lecznicze

## **Nutritional and healing properties of the fungi**

### **Abstract**

Fungi is a group of eukaryotic organisms, which is one of the five kingdoms of life. It is a varied group, which contains edible and medicinal fungi, as well as a poisonous one. Fungi are used by people because they have nutritional and medicinal value. They are a source of carbohydrates, proteins, lipids, and vitamins. These compounds are essential in the diet. They are also rich in bioactive compounds, which are able to act in very different ways in organisms. They own antibacterial, antiviral, antioxidant, immunomodulating, anti-inflammatory, and anticancer activity. Moreover, they can prevent cardiovascular diseases and also have neuroprotective properties. Because of these vital features, fungi are an excellent food ingredient and it is worth including them in the diet.

Keywords: fungi, mushrooms, nutritional properties, healing properties

# Wywary gorzelniane jako źródło bakterii wykorzystujących do wzrostu etanol

## 1. Wprowadzenie

Każdego roku produkowane jest coraz więcej odpadów, które wpływają na zanieczyszczenie środowiska. Z problemem związanym z odpowiednim składowaniem i utylizacją produktów ubocznych zmagają się wszyscy kraje. Z tego powodu, dokłada się wszelkich starań w poszukiwaniu sposobów umożliwiających konwersję pozostałości przemysłowych do różnych wartościowych produktów, w tym biopaliw. Przekształcanie odpadów industrialnych do alternatywnych źródeł energii pozwoli na lepsze zagospodarowanie produktów ubocznych i redukcję zanieczyszczenia środowiska. Również ograniczone zostanie wykorzystanie paliw kopalnianych, dzięki czemu możliwe będzie zmniejszenie efektu cieplarnianego.

Odpadami stanowiącymi ogromny problem dla ekologii są między innymi wywary gorzelniane, czyli produkty uboczne przemysłu alkoholowego. Ich wysoki ładunek ChZT (chemiczne zapotrzebowanie na tlen) oraz ciemna barwa negatywnie wpływa na środowisko oraz utrudnia proces ich utylizacji. Z tego powodu prowadzone są badania skupiające się na poszukiwaniu możliwości racjonalnego wykorzystania wywarów gorzelnianych. Obecnie są one częstym substratem do produkcji metanu na drodze beztlenowego rozkładu materii organicznej w biogazowniach. W odpowiednich układach możliwa jest produkcja gazu fermentacyjnego składającego się z 65-70% metanu. Pozwala to nie tylko na ograniczenie wykorzystania paliw kopalnianych, ale także na redukcję, nawet o 72-85%, szkodliwego ładunku ChZT [1].

Wywary gorzelniane różnią się pod względem izolowanych z nich mikroorganizmów pochodzących z zastosowanych substratów do produkcji alkoholu. Jeżeli jako surowiec zastosowana zostanie przeterminowana żywność to mikroorganizmy izolowane z wywarów będą głównie drobnoustrojami odpowiedzialnymi za psucie jedzenia. Takie mikroorganizmy najczęściej stanowią [2-4]:

- bakterie: *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Pediococcus* sp., *E. coli*, *Clostridium* sp., *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp.;
- pleśnie: *Mucor* sp., *Aspergillus* sp.;
- drożdże: *Saccharomyces* sp., *Candida* sp.

Natomiast, jeśli jako substrat wykorzystane zostaną produkty uboczne przemysłu piekarniczego, to z wywarów izolowane będą w większości mikroorganizmy wykorzystywane przy produkcji pieczywa oraz odpowiedzialne za jego psucie [4-7]:

<sup>1</sup> paulina.walczak98@wp.pl, Pracownia Białej Biotechnologii, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Politechnika Warszawska Wydział Chemiczny.

<sup>2</sup> annaw@ibb.waw.pl, Pracownia Białej Biotechnologii, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN.

<sup>3</sup> annadetman@ibb.waw.pl, Pracownia Białej Biotechnologii, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN.

<sup>4</sup> kchreptowicz@ch.pw.edu.pl, Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków, Politechnika Warszawska.

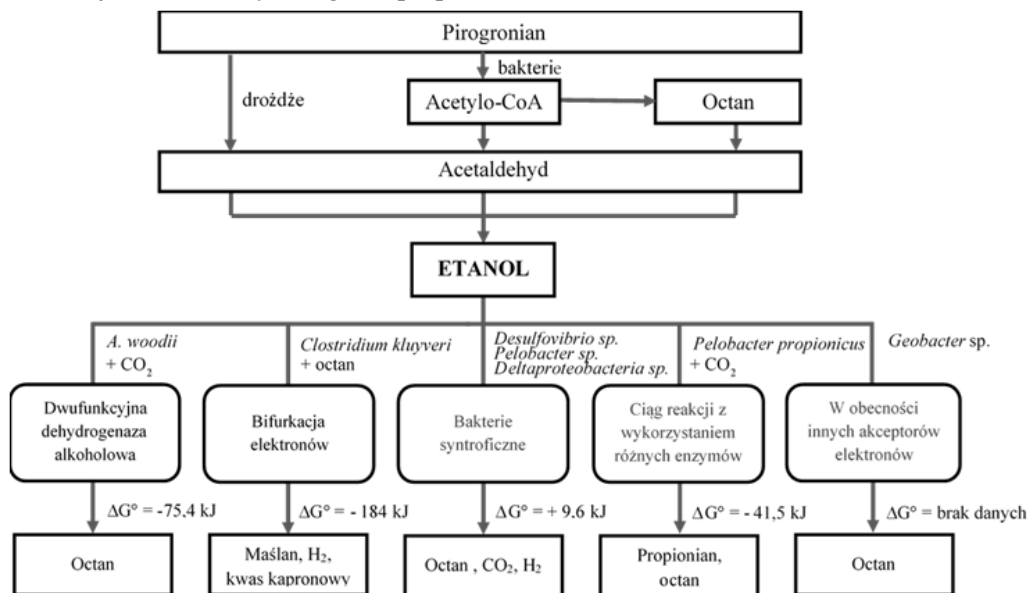
- pleśnie: *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp.;
- drożdże: *Saccharomyces* sp., *Pichia* sp., *Candida* sp.;
- bakterie: *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp.;

Jednak z odpadów przemysłu fermentacyjnego izolowane będą nie tylko mikroorganizmy pochodzące z surowca, ale także te, które zostały wykorzystane do produkcji alkoholu. Najczęściej są to [4, 8]:

- drożdże: *Saccharomyces* sp., *Kluyveromyces* sp., *Candida* sp.;
- bakterie: *Clostridium* sp., *Thermoanaerobium* sp., *Zymomonas* sp.

Jak widać, wywary gorzelniane są cennym źródłem mikroorganizmów. Jednak obecne w nich drożdże wpływają na zahamowanie procesu produkcji wodoru [9]. Z tego powodu wykorzystanie pozostałości alkoholowych jako substrat do produkcji wodoru jest niewskazane. W opisywanych w niniejszej pracy badaniach skupiono się na wykorzystaniu wywarów gorzelnianych jako źródła inokulum. Poszukiwano mikroorganizmów środowiskowych, które po odpowiedniej adaptacji zdolne byłyby do przemian biochemicznych umożliwiających produkcję wodoru lub mogłyby wzbogacić wyselekcjonowane już w tym celu wspólnoty mikroorganizmów.

Poznanych jest wiele szlaków produkcji i metabolizmu etanolu do innych wartościowych produktów przez mikroorganizmy (rys. 1). W większości przypadków do wykorzystania alkoholu etylowego jako źródło energii do produkcji wodoru niezbędna jest syntrofia bakterii z metanogennymi archeonami. Istnieją także szlaki pozwalające na przekształcenie etanolu do niegazowych produktów. Przykładowo, bakterie z gatunku *Geobacter* w obecności jonów żelaza zdolne są do produkcji octanu z etanolu [10]. Również bakterie *Pelobacter propionicus* posiadają szlak biochemiczny pozwalający na konwersję alkoholu etylowego do propionianu oraz octanu [11].



Rysunek 1. Szlaki produkcji i metabolizmu etanolu przez mikroorganizmy [4]

Interesująca, pod kątem opisywanych w tej pracy badań, jest droga przekształcania etanolu oraz octanu do kwasu kapronowego, maślanu i wodoru na drodze mechanizmu bifurkacji elektronów. Po raz pierwszy opisano ten szlak dla *Clostridium kluyveri* w reakcji przekształcania krotonylo-CoA w butyrylo-CoA [12-14].

Produkowany w tej reakcji przez bakterie biowodór jest czystym, cennym nośnikiem energii. Wykorzystywany jest jako biopaliwo w transporcie oraz w ogniwach wodorowych. Jego mikrobiologiczna synteza na skalę przemysłową często opiera się na wykorzystaniu przemian zachodzących na etapie kwasogenezy podczas beztlenowego rozkładu materii organicznej [15]. Nieustannie prowadzone są badania mające na celu optymalizację wydajności produkcji wodoru poprzez między innymi poszukiwanie nowych mikroorganizmów lub substancji stymulujących produkcję biopaliw.

## 2. Cel pracy

Istotą prowadzonych badań była izolacja czystych szczepów, bądź konsorcjów bakteryjnych z osadów gorzelnianych zdolnych do wykorzystywania do wzrostu alkoholu etylowego. Badania były również nakierowane na poszukiwanie mikroorganizmów zdolnych do produkcji wodoru.

W przyszłości wyselekcjonowane bakterie mogłyby zostać wykorzystane przy procesach utylizacji produktów odpadowych zawierających etanol.

## 3. Materiały i metody

### 3.1. Źródło inokulum

Źródło inokulum do badań stanowiły wywary gorzelniane po fermentacji alkoholowej przeterminowanej żywności „Refood” (Gorzelnia Witulin) i odpadów przemysłu piekarniczego (Gorzelnia Suchowola).

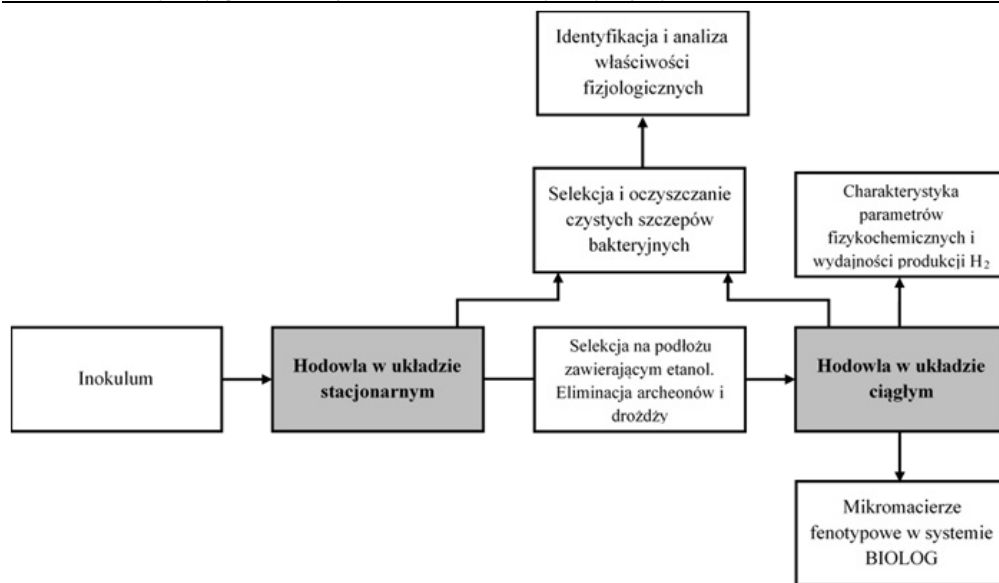
### 3.2. Skład podłoży

Podczas prowadzonych eksperymentów zastosowano następujące podłoża i dodatki:

- Podłoże M9 (BD; fosforan disodowy 6,78 g/L, fosforan monopotasu 3 g/L, chlorek amonu 1 g/L, chlorek sodu 0,5 g/L) – 11 g/L;
- YPD (ekstrakt drożdżowy 10 g/L, bactopecton 20 g/L, agar 20 g/L, dekstroza 20 g/L);
- YPE (Chempur<sup>®</sup>; ekstrakt drożdżowy 10 g/L, bactopecton 20 g/L, agar 20 g/L, alkohol etylowy 0,6%);
- Melasa buraczana (Cukrownia Dobrzelin, Krajowa Spółka Cukrowa S.A.) – 40 g/L;
- Alkohol etylowy 96% (Chempur<sup>®</sup>);
- Ekstrakt drożdżowy (BD) – 0,5 g/L;
- Octan sodu 3 hydrat (Chempur<sup>®</sup>) – 5,4 g/L;
- Antybiotyk przeciwgrzybiczy – nystatyna (Sigma-Aldrich) – 50 µg/mL;
- Antybiotyki bakteryjne – streptomycyna (Sigma-Aldrich) – 25 mg/mL oraz ampicylina (BioShop) – 100 mg/mL.

### 3.3. Schemat prowadzonych badań

W oparciu o przedstawiony na rysunku 2 schemat przeprowadzonych badań wykonano dwa warianty eksperymentalne, które różniły się stosowaną ilością alkoholu etylowego. Podczas wariantu pierwszego ilość etanolu została ustalona na podstawie literatury i wynosiła 1,25%. W wariacie drugim stężenie alkoholu etylowego zostało wyznaczone eksperymentalnie i wynosiło 0,6%.



Rysunek 2. Schemat przedstawiający przebieg przeprowadzonych badań [4]

### 3.3.1. Hodowle stacjonarne

Hodowle stacjonarne prowadzono w szklanych kolbach (250 mL) w komorze anaerobowej (CoY Laboratory Products Inc., USA). Czas trwania hodowli oraz zastosowane podłoża przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Czas trwania hodowli stacjonarnych oraz zastosowane podłoża

	Wariant 1	Wariant 2
<b>Czas trwania hodowli</b>	29 dni	20 dni
<b>Podłoże 1</b>	Podłoże M9, melasa	Podłoże M9, melasa, etanol
<b>Podłoże 2</b>	Podłoże M9, octan, etanol	Podłoże M9, octan, ekstrakt drożdżowy, etanol
<b>Podłoże 3</b>	Podłoże M9, etanol	Podłoże M9, melasa

Źródło: Opracowanie własne

Podczas prowadzenia hodowli stacjonarnych wykonywano obserwacje makroskopowe i mikroskopowe (barwienia Grama zestawem Microscopy Gram-Color modified (Merck)). Również prowadzono pomiary pH przy pomocy pH-metru ELMETRON (model CP-502 wyposażony w elektrodę pH-metryczną (IJ44C)).

W trakcie prowadzenia hodowli stacjonarnych starano się wyeliminować obecne w wywarach drożdże, przy wykorzystaniu antybiotyków przeciugrzybiczych i różnych zabiegów temperaturowych.

### 3.3.2. Hodowle ciągłe

Hodowle w układach ciągłych prowadzono w bioreaktorach typu PBR (ang. *Packed Bed Reactor*, objętość robocza 1,5 L) ze złożem upakowanym w postaci ceramicznych pierścieni Rashiga. W tabeli 2 przedstawiono czas trwania hodowli oraz zastosowane podłoża w zależności od prowadzonego wariantu.

Tabela 2. Czas trwania hodowli ciągłych oraz zastosowane podłoża

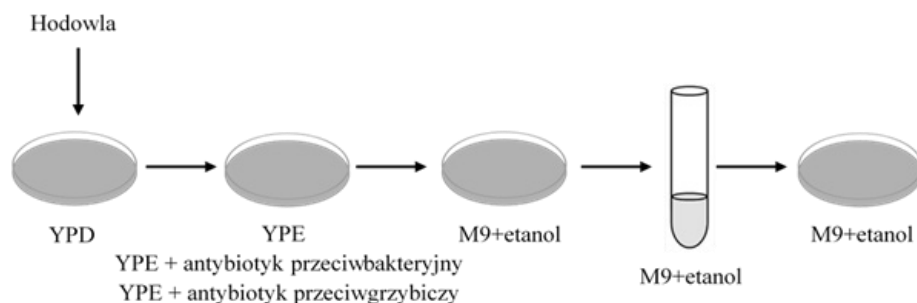
	Wariant 1	Wariant 2
Czas trwania hodowli	23 dni	33 dni
Bioreaktor 1	Podłoże M9, melasa, etanol	Podłoże M9, melasa, etanol
Bioreaktor 2	Podłoże M9, octan, ekstrakt drożdżowy, etanol	Podłoże M9, melasa
Bioreaktor 3	Podłoże M9, ekstrakt drożdżowy, etanol	Podłoże M9, octan, ekstrakt drożdżowy, etanol

Źródło: Opracowanie własne

Podczas prowadzenia hodowli ciągłych wykonywano obserwacje makroskopowe i mikroskopowe (barwienia Grama) oraz pomiary parametrów fizykochemicznych takich jak pH i chemiczne zapotrzebowanie na tlen (ChZT). ChZT badano metodą spektrofotometryczną używając testów NANOCOLOR CSB 1500 kit (MacheryNagel) z wykorzystaniem metody 029 zgodnej z normą ISO: 15705. Kontrolowano także czas przebywania substratu w bioreaktorze (HRT, ang. *Hydraulic Retention Time*). W celu analizy składu produkowanego gazu fermentacyjnego wykorzystano spektrometr mas HPR-20 firmy Hidden Analytical. Wykonano również w Pracowni Bakterii Fermentacji Mlekowej, IBB PAN, charakterystykę metaboliczną wyselekcjonowanych konsorcjów z wykorzystaniem mikromacierzy fenotypowych w systemie BIOLOG na płytkach EcoPlate w warunkach beztlenowych. Miało to na celu określenie profilu metabolicznego mikroorganizmów w zależności od obecnego źródła węgla.

### 3.3.3. Izolacja bakterii

W trakcie wykonywanych badań podjęto próbę izolacji i identyfikacji pojedynczych szczepów bakteryjnych zdolnych do rozkładu etanolu z hodowli w układach stacjonarnych oraz ciągłych. W tym celu dokonano ich selekcji w warunkach tlenowych oraz beztlenowych według schematu przedstawionego na rysunku 3.



Rysunek 3. Schemat działania w celu uzyskania czystych szczepów bakteryjnych [4]

W dalszym kroku, po otrzymaniu czystych szczepów bakteryjnych, wyizolowano DNA przy użyciu gotowego zestawu DNeasy® PowerSoil® Pro Kit. Następnie przeprowadzono PCR przy użyciu starterów 27F/1492R. Produkty amplifikacji, fragmenty genu kodującego 16S rRNA, oddano do sekwencjonowania w Pracowni Sekwencjonowania DNA i Syntezy Oligonukleotydów w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN. Otrzymane wyniki analizowano za pomocą Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) w bazie National Center for Biotechnology Information (NCBI).

W ostatnim etapie badań wykonano krótką charakterystykę metaboliczną wyizolowanych szczepów bakteryjnych pod kątem wydzielanych enzymów. W tym celu wysiano analizowane szczepy w postaci okręgów na 4 podłoża:

- agar odżywczy z 10% mlekiem;
- agar odżywczy z 2% skrobią;
- SBA z oliwą (5 mL oliwy; 3,5 g SBA);
- CMC (0,67 g YNB (BIOCORP), 2 g karboksymetylocelulaza)

Hodowle inkubowano w temperaturze 27°C przez 48 h. Pojawienie się przejaśnienia na szalce oznaczało wykazanie danej aktywności enzymatycznej.

## **4. Analiza wyników**

### **4.1. Hodowle stacjonarne**

Hodowle stacjonarne stanowiły pierwszy etap badań i miały na celu wstępną selekcję bakterii na podłożach zawierających etanol. W trakcie ich trwania starano się wyeliminować obecne w wywarach drożdże. Podczas prowadzenia hodowli stacjonarnych nie obserwowano widocznej produkcji gazu, ani pienienia. Zauważalne było zmętnienie hodowli. Badane pH utrzymywało się na stałym poziomie wynoszącym około 6,5.

### **4.2. Hodowle ciągłe**

Jako inokulum do założenia hodowli ciągłych wybrano wspólnoty bakterii wyselekcjonowanych z wywaru Refood. Podczas wariantu 1 w układach ciągłych obserwowano wytracanie wyselekcjonowanych bakterii wraz z czasem trwania hodowli oraz nie zauważono produkcji gazu fermentacyjnego. Dodatkowo w bioreaktorach były obecne drożdże, które mogły hamować produkcję wodoru przez bakterie. Ich negatywny wpływ na produkcję wodoru został opisany w literaturze [9]. Z tego powodu zakończono prowadzenie tych hodowli.

W wariantcie drugim założone hodowle w Bioreaktorze 1 oraz 2 miały na celu sprawdzenie czy etanol wpływa na wzrost bakterii i produkcję wodoru. Biomasa w obu bioreaktorach różniła się strukturą oraz obserwowano jej szybszy wzrost w Bioreaktorze 1. Może to świadczyć o selekcji różnych konsorcjów bakteryjnych w obu hodowlach. W Bioreaktorze 3 występowało lekkie zmętnienie hodowli podczas trwania badań.

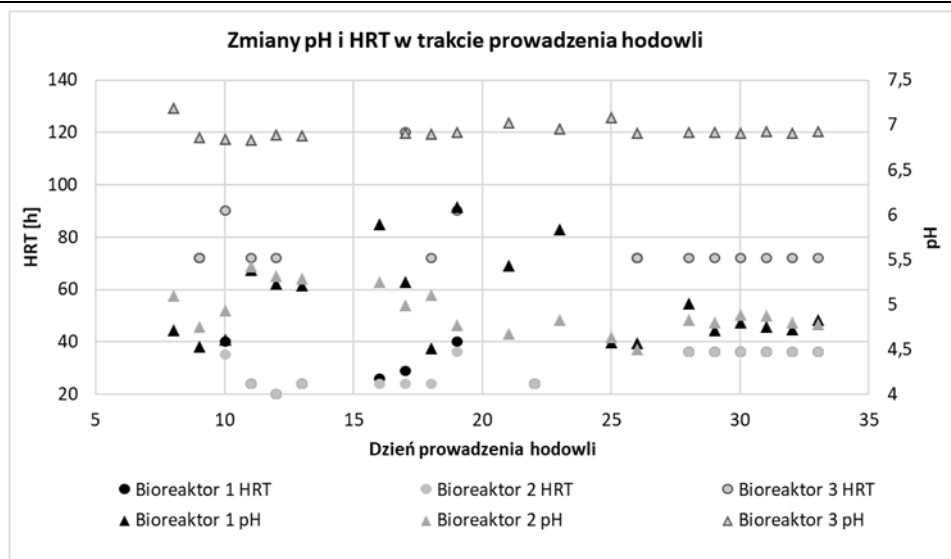
Wyniki wykonywanych pomiarów fizykochemicznych dla wariantu 2 zostały przedstawione na wykresie 1 (pH, HRT) oraz w tabeli 3 (ChZT).

Wartość pH w Bioreaktorze 1 oraz 2 utrzymywała się w okolicy 4,5-6,1. Jest to zakres zbliżony do optymalnego pH produkcji wodoru z melasy buraczanej [15]. W Bioreaktorze 3 wartość pH utrzymywała się na stałym poziomie.

Zmiany HRT mogą powodować niekorzystne modyfikacje dynamiki populacji mikroflory w reaktorze i zaburzać ocenę jakości substratu oraz inokulum.

Wyniki przeprowadzonej analizy składu gazu fermentacyjnego w 32 dniu hodowli zostały przedstawiona w tabeli 4.





Wykres 4. Zmiany pH i HRT w trakcie prowadzenia hodowli ciągłej w wariancie 2 [opracowanie własne]

Tabela 3. Zmiany ChZT w trakcie prowadzenia hodowli ciągłej w wariancie 2

Dzień hodowli	ChZT [g/l]					
	Bioreaktor 1		Bioreaktor 2		Bioreaktor 3	
	Substrat	Odciek	Substrat	Odciek	Substrat	Odciek
17	40,45	35,05	29,13	30,33	-	13,98
30	39,35	36,30	30,27	27,66	12,96	12,48

Źródło: Opracowanie własne

Tabela 4. Skład gazu fermentacyjnego w hodowlach ciągłych w wariancie 2

Skład gazu fermentacyjnego					
Bioreaktor 1			Bioreaktor 2		
H <sub>2</sub> [%]	CH <sub>4</sub> [%]	CO <sub>2</sub> [%]	H <sub>2</sub> [%]	CH <sub>4</sub> [%]	CO <sub>2</sub> [%]
16,73 ± 0,05	0,02	83,25 ± 0,05	11,60 ± 0,04	0,01	88,39 ± 0,05

Źródło: Opracowanie własne

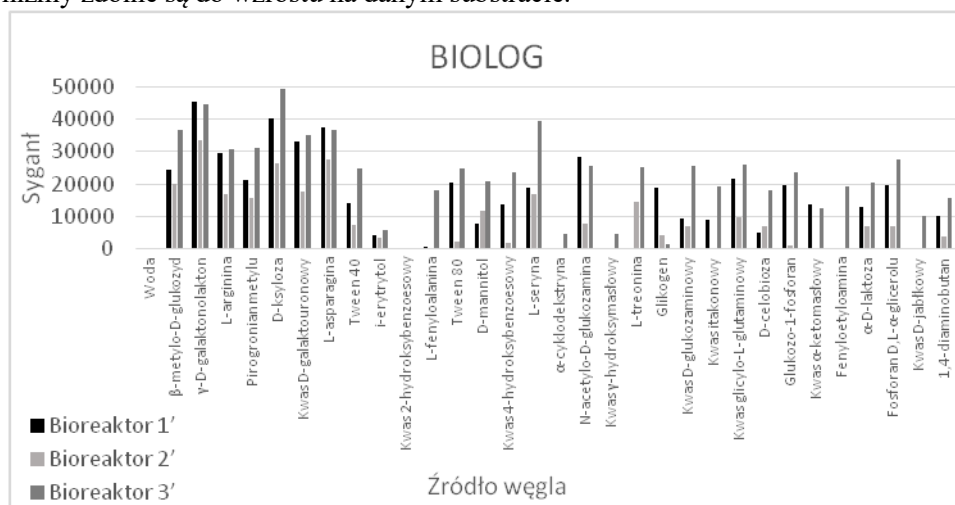
W przypadku Bioreaktora 1 produkcja wodoru była większa niż w Bioreaktorze 2. Otrzymane wyniki mogą sugerować korzystny wpływ dodatku etanolu na wydajność produkcji wodoru przez wyselekcjonowane w hodowli konsorcja bakteryjne. W literaturze zauważono zwiększoną produkcję wodoru podczas prowadzenia fermentacji alkoholowej w porównaniu do fermentacji kwasów mieszanych i propionowej [16]. Zaobserwowane różnice w wydajności produkcji wodoru sugerują selekcję różnych wspólnot bakteryjnych w bioreaktorach.

Jednak otrzymana ilość biowodoru była znacznie mniejsza niż doniesienia literaturowe. W Pracowni Białej Biotechnologii IBB PAN prowadzono zblizoną do opisywanej w badaniach hodowlę ciągłą na podłożu składającym się z soli M9 i melasy. Produkowany wodór w tym układzie stanowił 35-48% gazu fermentacyjnego [17]. Jest to wynik znacznie większy niż uzyskany w przypadku przedstawianych badań. Sugeruje

to, że wykorzystane wywary gorzelniane nie są źródłem bakterii wydajnie produkujących biowodór w zastosowanych warunkach eksperymentalnych. W Bioreaktorze 3 nie obserwowano produkcji gazu fermentacyjnego. Świadczy to o tym, że wyselekcjonowane mikroorganizmy prawdopodobnie nie są zdolne do konwersji obecnych w podłożu substratów do związków gazowych. Tego typu przemiany obserwowane były między innymi dla *Pelobacter propinicus* podczas konwersji etanolu do octanu i propionianu [11].

### 4.3. Charakterystyka metaboliczna wyselekcjonowanych wspólnot bakterii

Wyniki analizy z wykorzystaniem mikromacierzy fenotypowych w systemie BIOLOG przedstawiono na wykresie 2. Sygnały większe od 0 oznaczają, że badane mikroorganizmy zdolne są do wzrostu na danym substracie.

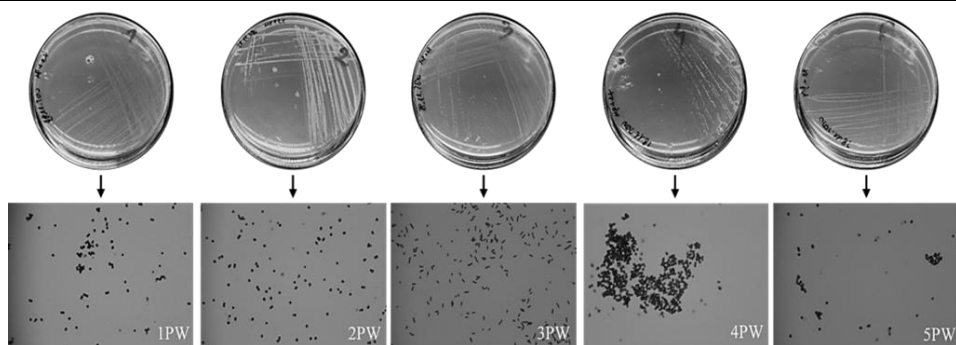


Wykres 5. Charakterystyka metaboliczna z wykorzystaniem mikromacierzy fenotypowych w systemie BIOLOG [opracowanie własne]

W warunkach beztlenowych wyselekcjonowane bakterie zdolne są do wzrostu na wielu różnych źródłach węgla. W przypadku Bioreaktora 3 można zaobserwować znaczącą różnicę w wykorzystywanych substratach przez mikroorganizmy w porównaniu do innych hodowli. Wykazują zdolność do wzrostu na wszystkich źródłach węgla z wyjątkiem kwasu 2-hydroksybenzoesowego. Porównując sygnały dla Bioreaktora 1 oraz 2 widać, że bakterie wykorzystują podobne źródła węgla, jednak z różną efektywnością. Różnicę można zaobserwować między innymi w przypadku L-fenylalaniny, L-treoniny, kwasu itakonowego oraz kwasu α-ketomasłowego. Otrzymane wyniki mogą świadczyć o wyselekcjonowaniu różnych konsorcjów mikroorganizmów w bioreaktorach.

### 4.4. Izolacja pojedynczych szczepów bakteryjnych zdolnych do rozkładu etanolu

Podczas prowadzenia hodowli w układach stacjonarnych oraz ciągłych podjęto próbę wyselekcjonowania pojedynczych szczepów bakteryjnych. Na rysunku 4 przedstawiono wyizolowane mikroorganizmy na podłożu składającym się z soli M9 i 6% etanolu. Wzrost obserwowano tylko w warunkach tlenowych.



Rysunek 4. Otrzymane czyste szczepy bakteryjne. Powiększenie zdjęć mikroskopowych 1000x [4]

W celu ich identyfikacji wykonano izolację DNA oraz PCR. Zamplifikowane produkty poddano sekwencjonowaniu. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Wyniki sekwencjonowania

Próbka	Wynik	Primery	Query cover [%]	Identity [%]
1PW	<i>Exiguobacterium indicum</i>	1492R	98	96,56
		27F	96	97,82
2PW	<i>Acinetobacter</i> sp.	1492R	96	97,60
		27F	97	97,13
3PW	<i>Pseudomonas</i> sp.	1492R	97	96,79
		27F	98	97,07
4PW	<i>Acinetobacter</i> sp.	1492R	98	97,27
		27F	98	96,85
5PW	<i>Exiguobacterium indicum</i>	1492R	99	96,30
		27F	95	97,52

Źródło: [4]

Wyizolowano 5 różnych szczepów bakteryjnych, przynależących do klas bakterii (*Gammaproteobacteria*, *Bacilli*) odpowiedzialnych między innymi za psucie żywności [2-4]. Znalaziono w literaturze doniesienia o zdolności bakterii z rodzaju *Acinetobacter* i *Pseudomonas* do wzrostu na etanolu [18, 19] oraz do produkcji wodoru [20]. Wyizolowany *Exiguobacterium indicum* zdolny jest do przetrwania w zróżnicowanych środowiskach takich jak gorące źródła [21], czy lodowiec Hamta [22]. Jednak, nie znaleziono w dostępnej literaturze doniesień o zdolności tego gatunku do wzrostu na alkoholu etylowym.

#### 4.5. Testy enzymatyczne

W tabeli 6 przedstawiono wyniki przeprowadzonych testów enzymatycznych.

Tabela 6. Wyniki testów enzymatycznych

Podłoże	Aktywność metaboliczna	1PW	2PW	3PW	4PW	5PW
SBA z oliwą	Aktywność lipolityczna	+	+	+	+	-

*Wywary gorzelniane jako źródło bakterii wykorzystujących do wzrostu etanol*

Agar odżywczy z 10% mlekiem odtłuszczonym	Aktywność proteolityczna	-	-	-	-	-
Agar odżywczy z 2% skrobią	Aktywność amyloリティczna	-	-	+	-	+
CMC	Aktywność celulolityczna	+	-	-	-	+

Źródło: Opracowanie własne. 1PW, 5PW – *Exiguobacterium indicum*; 2PW, 4PW – *Acinetobacter* sp.; 3PW – *Pseudomonas* sp.

Widoczne są różnice w wynikach w obrębie rodzaju oraz gatunku bakterii. Może to wynikać z obecności w wyizolowanych szczepach plazmidów środowiskowych odpowiedzialnych za aktywność enzymatyczną.

## 5. Podsumowanie

Z wywarów gorzelnianych wyizolowano 5 szczepów bakteryjnych przynależących do 3 różnych rodzajów bakterii (*Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*) zdolnych do wzrostu na etanolu.

W przeprowadzonych badaniach uzyskano odpowiednie warunki do wzrostu wyselekcjonowanych konsorcjów bakteryjnych w układach ciągłych. Mikroorganizmy zdolne były do produkcji gazu fermentacyjnego składającego się z 12-16% wodoru z melasy oraz melasy z dodatkiem alkoholu etylowego. Dodatek etanolu może intensyfikować produkcję poszukiwanego biopaliwa. Badane wywary gorzelniane nie stanowiły źródła bakterii wydajnie produkujących wodór w zastosowanych warunkach eksperymentalnych.

## Podziękowania

Składam serdeczne podziękowania dr inż. Karolinie Drężek za nieocenioną pomoc, poświęcony czas oraz wsparcie podczas wykonywania badań.

Badania sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016 realizowanego w latach 2016-2021.

## Literatura

1. Nemade P., *Biogas generation from distillery spent wash by using an OPUR western biotechnology process: a case study*, Desalination and water treatment, 2018, 118, s. 241-248.
2. Gram L., Ravn L., Rasch M., Bruhn J.B., Christensen A.B., Givskov M., *Food spoilage – interactions between food spoilage bacteria*, International Journal of Food Microbiology, 2002, 78(1), s. 79-97.
3. Rawat S., *Food Spoilage: Microorganisms and their prevention*, Asian Journal of Plant Science and Research, 2015, 5(4), s. 47-56.
4. Walczak P., *Selekcja bakterii z wywaru gorzelnianego oraz osadu beztlenowego przycukrownianej oczyszczalni ścieków wykorzystujących etanol jako źródło węgla*, (Praca inżynierska), Politechnika Warszawska, Warszawa 2021.
5. Aplevicz K.S., Ogliari P.J., Sant'Anna E.S., *Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread*, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, 49(2), s. 233-239.
6. Saranraj P., *Microbial Spoilage of Bakery Products and Its Control by Preservatives*, International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 2012, 3(1), s. 38-48.
7. Saranraj P., *Microorganisms Involved in Spoilage of Bread and Its Control Measures*, International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 2015, 3(1), s. 38-48

8. Bizukojć M., *Mikrobiologiczne i biochemiczne ujęcie wytwarzania wybranych biopaliw*, <https://docplayer.pl/2954179-Mikrobiologiczne-i-biochemiczne-ujecie-wytwarzania-wybranych-biopaliw.html>, data dostępu: 2021.
9. Detman A., Chojnacka A., Mielecki D., Błaszczyk M., Sikora A., *Inhibition of hydrogen-yielding dark fermentation by ascomycetous yeasts*, *International Journal of Hydrogen Energy*, 2018, 43(24), s. 10967-10979.
10. Viulu S., Nakamura K., Kojima A., Yoshiyasu Y., Saitou S., Takamizawa K., *Geobacter sulfurreducens subsp. ethanolicus, subsp. nov., an ethanol-utilizing dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium from a lotus field*, *The Journal of general and applied microbiology*, 2013, 59, s. 325-34.
11. Schink B., Kremer D., Hansen T., *Pathway of propionate formation from ethanol in pelobacter-propionicus*, *Archives of Microbiology* 1987, 147(4), s. 321-327.
12. Buckel W., Thauer R.K., *Energy conservation via electron bifurcating ferredoxin reduction and proton/Na<sup>+</sup> translocating ferredoxin oxidation*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 2013, 1827(2), s. 94-113.
13. Detman A., *Analiza wybranych współzależności pomiędzy mikroorganizmami na etapie kwasogenezy i octanogenezy w beztlenowymrozkładzie materii organicznej*, Rozprawa Doktorska, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa 2019.
14. Li F., Hinderberger J., Seedorf H., Zhang J., Buckel W., Thauer R.K., *Coupled ferredoxin and crotonyl coenzyme A (CoA) reduction with NADH catalyzed by the butyryl-CoA dehydrogenase/Etf complex from Clostridium kluyveri*, *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(3), s. 843-850.
15. Detman A., Chojnacka A., Błaszczyk M., Kaźmierczak W., Piotrowski J., Sikora A., *Biohydrogen and Biomethane (Biogas) Production in the Consecutive Stages of Anaerobic Digestion of Molasses*, *Polish Journal of Environmental Studies*, 2017, 26(3), s. 1023-1029.
16. Ren N., Xing D., Rittmann B., Zhao L., Xie T., Zhao X., *Microbial community structure of ethanol type fermentation in bio-hydrogen production*, *Environmental microbiology*, 2007, 9(5), s. 1112-1125.
17. Chojnacka A., Błaszczyk M.K., Szczyński P., Nowak K., Sumińska M., Tomczyk-Żak K., Zielenkiewicz U., Sikora A., *Comparative analysis of hydrogen-producing bacterial biofilms and granular sludge formed in continuous cultures of fermentative bacteria*, *Bioresource technology*, 2011, 102(21), s. 10057-10064.
18. Abbott B.J., Laskin A.I., McCoy C.J., *Growth of Acinetobacter calcoaceticus on Ethanol*, *Applied Microbiology*, 1973, 25(5), s. 787-792.
19. Crocker A.W., Harty C.E., Hammond J.H., Willger S.D., Salazar P., Botelho N.J., Jacobs N.J., Hogan D.A., *Pseudomonas aeruginosa Ethanol Oxidation by AdhA in Low-Oxygen Environments*, *Journal of Bacteriology*, 2019, 201(23).
20. Murugan R.S., Dinesh G.H., Raja R.K., James Obeth E.S., Bora A., Samsudeen N.M., Pugazhendhi A., Arun A., *Dark fermentative biohydrogen production by Acinetobacter junii-AH4 utilizing various industry wastewaters*, *International Journal of Hydrogen Energy*, 2020, 46(20), s. 11297-11304.
21. Vu T.H.A., Tam N.H., Huu N.N., Tu N.H.K., *Characterization of Exiguobacterium Indicum Pn04 Isolated From Hot Spring*, *Global Institute for Research & Education*, 2016, 5(1), s. 2319-5584.
22. Chaturvedi P., Shivaji S., *Exiguobacterium indicum sp. nov., a psychrophilic bacterium from the Hamta glacier of the Himalayan mountain ranges of India*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56(12), s. 2765-2770.

## Wywary gorzelniane jako źródło bakterii zdolnych do wykorzystania do wzrostu etanolu

### Streszczenie

Każdego roku produkowane jest coraz więcej odpadów, które mają negatywny wpływ na środowisko. Konwersja między innymi pozostałości przemysłowych do biopaliw pozwoli nie tylko na ograniczenie problemu zagospodarowania odpadów, ale również na zmniejszenie efektu cieplarnianego i zanieczyszczeń środowiska spowodowanych wykorzystaniem paliw kopalnianych.

Prezentowane badania skupiają się na izolacji mikroorganizmów (pojedynczych szczepów bakteryjnych oraz konsorcjów bakterii) z osadów gorzelnianych zdolnych do wykorzystywania etanolu jako źródła węgla. Wyselekcjonowane mikroorganizmy sprawdzono również pod kątem produkcji wodoru w układach ciągłych. Wyizolowano z wywarów gorzelnianych 5 szczepów bakteryjnych przynależących do 3 różnych rodzajów bakterii (*Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*) wykazujących zdolność do wzrostu na alkoholu etylowym w warunkach aerobowych.

Wyniki poniższej pracy badawczej sugerują, że dodatek etanolu może stymulować produkcję wodoru przez mikroorganizmy. W bioreaktorze z zastosowanym medium zawierającym alkohol etylowy ilość produkowanego wodoru była większa niż w medium bez dodatku etanolu. Otrzymana wydajność produkcji biowodoru sugeruje, że badane wywary gorzelniane nie stanowią źródła bakterii wydajnie produkujących wodór w zastosowanych warunkach eksperymentalnych. Konieczna jest kontynuacja badań w tym kierunku.

Słowa kluczowe: wodór, etanol, bioreaktory, bakterie, biogaz

## Distillery sludge as a source of bacteria which uses ethanol for growth

### Abstract

Every year, more and more waste is produced which has a negative impact on the environment. Conversion of industrial residues to biofuels allows not only for the reduction of the waste management problem, but also for the decreasing the outcome of the greenhouse effect and environmental pollution caused by the use of fossil fuels.

The presented research focuses on the isolation of microorganisms (single bacterial strains and bacterial consortia) from distillery sludge which are capable of using ethanol as a carbon source. Selected microorganisms were also examined for hydrogen production in continuous systems.

Five bacterial strains belonging to three different types of bacteria (*Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*) showing the ability to grow on ethanol under aerobic conditions were isolated from distillery sludge.

The results of the following research work suggest that the addition of ethanol may stimulate the production of hydrogen by microorganisms. In the bioreactor with the medium containing ethyl alcohol, the amount of produced hydrogen was greater than in the medium without the addition of ethanol. The obtained biohydrogen production efficiency suggests that the studied distillery sludge is not a source of efficiently hydrogen producing bacteria under the experimental conditions utilized throughout my research. More research is needed in this direction.

Keywords: hydrogen, ethanol, bioreactors, bacteria, biogas

## Grzyby z rodzaju *Rhizopus* w produkcji żywności prozdrowotnej

### 1. Wstęp

Tempeh jest produktem spożywczym powstającym w drodze fermentacji nasion roślin strączkowych, a wywodzącym się z terenu Indonezji. Obecnie stanowi on dodatek do wielu dań serwowanych w krajach azjatyckich, rzadziej ze względu na delikatny smak jest ich podstawą. Produkt ten ceniony jest głównie ze względu na wysoką zawartość białka, soli mineralnych i niektórych witamin, zwłaszcza na obszarach niezbyt obfitujących w źródła tych składników. Tempeh wyglądem przypomina duży baton z orzechami, w którym nasiona roślin strączkowych zanurzone są w białawej, watawatej, zbitej grzybni. Produkt ma konsystencję w miarę stałą, choć zależną od czasu inkubacji, a zarazem fermentacji. Po dłuższej trwającym procesie nasiona mogą stać się maziste.

Celem pracy jest analiza aktualnych informacji dotyczących technologii produkcji tempeh i możliwości wykorzystania w niej surowców innych niż soja, które pozwalają uzyskać produkty o odmiennym składzie chemicznym i innych od tradycyjnych walorach sensorycznych.

### 2. Surowce podstawowe w produkcji tempeh

Surowcem podstawowym stosowanym tradycyjnie do wyrobu tempeh jest soja, roślina z rodziny *Leguminosae* (subfamily: *Papilionaceae*). Jest toroślina dobrze plonująca, której technologię uprawy łatwo można dostosować do warunków stanowiskowych (nie wymaga mocnego dodatkowego nawożenia czy nawadniania [1]). Ponadto jest bardzo wartościowa pod względem odżywczym. To właśnie między innymi powoduje, że surowiec ten jest najczęściej stosowany w produkcji tempeh w rejonach o słabej rozwiniętym rolnictwie.

Suche nasiona soi zawierają około 37,5% białka, 19,6% tłuszczu i 32,7% węglowodanów ogółem (z tego 15,7% błonnika pokarmowego) [2]. Są one także źródłem izoflawonów, między innymi genisteiny i daidzeiny oraz glicyteiny – substancji pełniących rolę fitohormonów ze względu na duże podobieństwo do estrogenów i dosyć szeroko wykorzystywanych w medycynie [3, 4]. Jednak wspominając o walorach tego surowca nie można pominąć zawartych w nim substancji antyodżywczych. Nasiona soi zawierają bowiem fityniany (kwas fitynowy), szczawiany, inhibitory tripsyny i chymotrypsyny, oligosacharydy, saponiny i substancje goitrogenne. Substancje te powodują zmniejszenie przyswajania składników odżywczych podczas procesów trawienia, np. kwas fitynowy ma zdolność chelatowania składników mineralnych, w tym żelaza, a inhibitory tripsyny i chymotrypsyny hamują aktywność enzymów trawiących białka, a przez to upośledzają ich przyswajanie. Szczawiany natomiast pogarszają wchłanianie

<sup>1</sup> iwona.adamska@zut.edu.pl, Katedra Technologii Rybnej, Roślinnej i Gastronomicznej, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, www.zut.edu.pl.

<sup>2</sup> patrycja966.bg@gmail.com, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, www.zut.edu.pl.

jonów wapnia i magnezu oraz witaminy D, a goitrogeny upośledzają regulację zawartości jodu w organizmie. Ponadto niektóre substancje antyodżywcze przyczyniają się do nadmiernego wydzielania gazów w jelitach (oligosacharydy: rafinoza, stachioza, werbaskoza) lub przy dłuższym spożywaniu – do zaburzeń funkcjonowania i przerostu tarczycy w wyniku blokowania aktywności peroksydazy tarczycowej (goitrogeny: izoflawony sojowe) [5-13].

Surowcami stosowanymi do przygotowania klasycznego tempeh są, oprócz soi, także startery do produkcji tempeh i niewielka ilość kwasu octowego lub kwasu mlekowego. Jednakże często kwasy te zamieniane są z powodzeniem na kultury bakterii kwasu mlekowego (LAB) i dodawane na etapie moczenia nasion [14, 15]. Starter do produkcji tempeh zazwyczaj zawiera w sobie zarodniki grzyba z rodzaju *Rhizopus*, najczęściej np. *R. microsporus* var. *oligosporus*, które zawieszane są w niewielkiej ilości mąki ryżowej i mąki sojowej (skład startera podany za: [www.pureveg.pl](http://www.pureveg.pl)).

### 3. Walory tempeh

Tempeh powstające z soi ma delikatny smak, oceniany jako lekko grzybowy lub orzechowy, jednak wyczuwalny jest w nim charakterystyczny posmak sojowy. Produkt ten cechuje się lekko grzybowym zapachem i aromatem przypominającym ser pleśniowy. Tekstura jest zwięzła, ale z lekką tendencją do rozmazywania (Hermana i Karyadi, 2001, za [16]) lub kruszenia się. Na przekroju plastra widoczne są nasiona soi o barwie od ciemnokremowej do żółtawej, zatopione z każdej strony w białej watowatej masie. Uznaje się, że jest to produkt o ogromnych zdolnościach dopasowywania się do innych składników dania poprzez pochłanianie ich zapachów [17].

W literaturze zwraca się uwagę na wysokie wartości odżywcze tego produktu. Podczas rozwoju grzyba, któremu towarzyszy proces fermentacji, dochodzi do wzrostu poziomu i biodostępności białek, co wiąże się z dużą zawartością wolnych aminokwasów ułatwiających strawialność tempeh. Tempeh cechuje się także obecnością cukrów, najczęściej w postaci oligosacharydów rozpuszczalnych w wodzie. Jedną z jego zalet jest także wysoka zawartość witamin z grupy B, a zwłaszcza ryboflawiny, niacyny i witaminy B<sub>6</sub>, choć czasem stwierdzano w nim także obecność witaminy B<sub>12</sub> [18, 19]. Jednak witamina B<sub>12</sub> nie jest stałym składnikiem obecnym w tempeh, a wiąże się z obecnością w tym produkcie bakterii mających możliwość syntezy tej substancji [20]. Bakterie te uznawane są za zanieczyszczenie biologiczne, które dostaje się w początkowym etapie przygotowania surowca do fermentacji. Witamina B<sub>12</sub> nie występuje w produktach powstających w zakładach przemysłowych. Jej obecność stwierdza się zazwyczaj w przypadku tradycyjnej metody produkcji tempeh, czyli nie zawsze zgodnej z zasadami bezpieczeństwa mikrobiologicznego. W produkcji takiej wykorzystuje się wodę często pochodzącą z zanieczyszczonych ujęć, a wyporcjonowane surowce przechodzą proces fermentacji zawinięte w opłukane wodą liście hibiskusa (*Hibiscus* sp. [21]), bananowca (*Musa* sp. [22]) lub drzewa tikowego (*Tectona grandis* [23]). Tempeh zawiera duże ilości składników mineralnych oraz substancji o działaniu przeciwtłuszczającym (za [24] i pracami tam zacytowanymi).

Grzyby z rodzaju *Rhizopus* mają zdolność produkowania wielu enzymów hydrolytycznych, wśród których grupę istotną dla procesów fermentacyjnych stanowią fitazy, proteazy, lipazy i karbohydrazy [25, 26]. Wzrost grzyba, a następnie jego starzenie się w obrębie produktu powoduje naturalny spadek suchej masy związany ze zmniejsz-



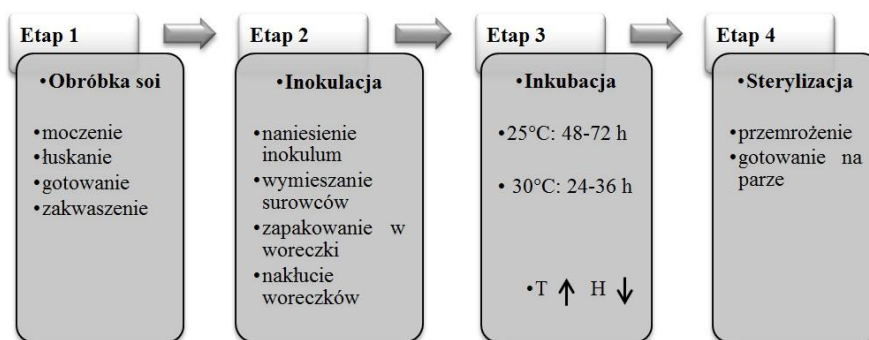
szeniem się poziomów białka, lipidów i protein [27]. Białko obecne w surowcu ulega hydrolizie, co skutkuje zwiększeniem poziomu peptydów i aminokwasów: aż 65% hydrolizowanego białka ulega takiej przemianie, a 25% zostaje przyswojone przez rozrastające się strzępki grzyba [27, 28]. Zmianom podlegają także poziomy kwasów tłuszczowych. Podczas procesu fermentacji tempeh zaobserwowano wzrost poziomu kwasów oleinowego i linolowego, a spadek kwasu linolenowego (Agranoff 1999 za [23, 27]). Fermentacja sprzyja także uwolnieniu wielu oligosacharydów rozpuszczalnych w wodzie [23, 29, 30]. Obserwowany jest także wzrost zawartości błonnika, który wiąże się ze wzrostem masy grzybni grzyba z rodzaju *Rhizopus* [23].

Właśnie prozdrowotne właściwości tempeh, związane z obecnością w nim między innymi izoflawonów genisteiny, glicyteiny i daidzeiny skłaniają do włączenia tego produktu nie tylko do diety wegan i wegetarian. Dowiedziono, że substancje te sprzyjają utrzymaniu dobrej kondycji zdrowotnej: zapobiegają chorobom układu nerwowego i krążenia oraz negatywnym zmianom zachodzącym w obrębie układu kostnego. Pozwalają także zapobiegać rozwojowi zmian nowotworowych u kobiet w obrębie piersi, a u mężczyzn – w obrębie prostaty [3, 31] oraz łagodzą objawy towarzyszące menopauzie [32]. Mają one postać łatwoprzyswajalnych aglikonów [33-35].

Proces fermentacji powoduje wzrost poziomu i dostępności mikroelementów, a także poprawę aktywności przeciwutleniającej i obniżenie poziomu substancji antyodżywczych (m.in. oligosacharydów, kwasu fitowego, inhibitorów trypsyny i szczawianów) w porównaniu z poziomem w surowcu wyjściowym [16, 33, 36-40]. Jednak ze względu na zawartość genisteiny i daidzeiny zbliżonych budową do estrogenów (żeńskich hormonów płciowych) spożycie tempeh sojowego przez mężczyzn powinno być kontrolowane. Według literatury nadmiar fitohormonów w pożywieniu może wywołać u mężczyzn problemy z płodnością [41-43].

#### 4. Technologia produkcji tempeh z soi

Technologia produkcji tempeh z soi przebiega w 4 podstawowych etapach (rys. 1). Jednak może się ona zasadniczo różnić w zależności od kraju, z którego się wywodzi [24]. Pierwszy etap polega na obróbce mechanicznej i termicznej nasion, które należy najpierw namoczyć i pozbawić łupiny (ręcznie lub mechanicznie), a następnie ugotować do miękkości w wodzie zakwaszonej octem lub kwasem mlekowym. Potem miękkie nasiona ostają odcedzone i odstawione do ostudzenia. Etap drugi polega na zaszczepieniu na powierzchni nasion zarodników grzyba z rodzaju *Rhizopus*. Zazwyczaj znajdują się one w starterze, czyli w mieszance mąki sojowej i mąki ryżowej. Na początek nasiona posypywane są połową dawki starterowej i dokładnie mieszane, a następnie dodawana jest druga połowa porcji i ponownie miesza. Daje to pewność w miarę równomiernego rozłożenia zarodników grzyba na nasionach surowca. Tak przygotowana soja zostaje zapakowana w woreczki foliowe i uformowana na kształt poduszeczek. Woreczki nakłuwają się wykałaczką w kilku rzędach, robiąc drobne dziurki. Trzeci, najdłuższy etap, polega na inkubacji zaszczepionych nasion w cieplarni. W tym czasie dochodzi do rozrostu grzybni, która zaczyna spajać ze sobą nasiona i pokrywać je białym nalotem. Następuje wtedy także proces fermentacji związany z wytworzeniem się kwasu mlekowego. Ostatni, czwarty etap produkcji tempeh, wiąże się z koniecznością przerwania cyklu życiowego grzyba i zatrzymaniem procesu fermentacji. W tym celu woreczki z tempeh poddaje się zamrożeniu w zamrażarce (poprzez przeniesienie ich do temperatury -18°C, a następnie dalsze przechowywanie w takich warunkach) lub gotowaniu na parze (3-15 minut, w zależności od wielkości porcji).



Rysunek 1. Podstawowe etapy produkcji tempeh [opracowanie własne na podstawie danych z [24]

Na obszarze Indonezji czas inkubacji tego produktu czasem ulega znacznemu wydłużeniu, co pozwala uzyskać cztery odmiany produktu typu tempeh (rys. 2).

## 5. Zastosowanie tempeh

Tempeh, tuż po przygotowaniu, może zostać przeznaczony do bezpośredniego spożycia. Najczęściej jednak stosuje się go po dodatkowym gotowaniu, gotowaniu na parze, smażeniu (w niewielkiej ilości tłuszczu lub w głębokim tłuszczu) czy pieczeniu [16]. Często jest podstawą do przygotowania wegańskich hamburgerów lub stanowi dodatek do zup i sosów. Okres przechowywania w temperaturze pokojowej wynosi około 36-48 godzin [23, 55-57], w warunkach chłodniczych – do 72 godzin, a w warunkach zamrażalniczych (przy temperaturze  $-18^{\circ}\text{C}$ ) zdecydowanie dłużej. Jednak tempeh podczas przechowywania w chłodni wykazuje stopniowe odbarwianie produktu, natomiast w produkcie wyjętym z zamrażalni stwierdzono silne pogorszenie tekstury oraz utratę walorów smakowych [58]. Według Astawana i współpracowników [56] produktowi temu sprzyja blanszowanie parowe, a następnie pakowanie próżniowe. Okres przechowywania w temperaturze  $4-6^{\circ}\text{C}$  wydłuża się wówczas z 2 do 32 dni, a w temperaturze  $0-4^{\circ}\text{C}$  z 21 do 39 dni. Z drugiej strony tempeh suszony w temperaturze  $5^{\circ}\text{C}$  można przechowywać nawet do 30 tygodni.



Rysunek 2. Zróżnicowanie produktów fermentowanych typu tempeh w zależności od długości czasu inkubacji prowadzonej w temperaturze  $25-37^{\circ}\text{C}$  [opracowanie własne na podstawie danych z [44]

## 6. Warunki produkcji tempeh z soi

Czas produkcji tempeh uzależniony jest od temperatury, w jakiej prowadzimy inkubację grzyba. Według danych literaturowych przy temperaturze około  $30^{\circ}\text{C}$  czas ten wynosi zaledwie 24-36 godzin, a przy obniżeniu temperatury do poziomu  $25^{\circ}\text{C}$  wydłuża się aż do 48-72 godzin. Inkubację produktu należy przerwać zanim grzybnia pokrywająca nasiona zacznie przybierać kolor szarawy lub jeśli takie plamki będą drobne i będą występowały tylko miejscowo. Barwa czarna na powierzchni białego nalotu oznacza, że proces inkubacji trwał zbyt długo, a grzyb z rodzaju *Rhizopus*

wytworzył już zarodniki (spory). Taki produkt można przeznaczyć do wyizolowania zarodników grzyba traktowanych w następnym procesie jako starter [23].

Grzyby z rodzaju *Rhizopus* należą do rzędu *Mucorales* (*Mucoromycota*, Fungi). Do produkcji tempeh stosuje się najczęściej szczepy NRRL 2710 i NRRL 2549 gatunku *R. microsporus* var. *oligosporus* (Wang, 1986, za [24, 45]). Grzyb ten jest organizmem tlenowym, który jednak zdolny jest także egzystować przy bardzo niskiej zawartości tlenu (0,5% v/v), ale którego rozwój hamowany jest przez podwyższoną zawartość CO<sub>2</sub> (5-10% v/v; [46]). Dopływ tlenu warunkuje różny wzrost grzybni na całej wysokości produktu (Tahir i in., 2018). Grzyb ten wykazuje różnice we wrażliwości na zmiany temperatury w zależności od aktywności wodnej: niższa aktywność wodna zmniejsza tę wrażliwość [46]. Innymi gatunkami stosowanymi w produkcji tempeh są także: *Rhizopus microsporus* var. *chinensis*, *R. oryzae*,

*R. stolonifer* i *R. delemar* CBS 120.12(T) – takson obejmujący dawne szczepy UICC 26, UICC39 i UICC 121 gatunku *R. arrhizus* oraz szczepy UICC 27, UICC 40, UICC 51 i UICC 67 grzyba *R. oligosporus* [24, 48, 49].

Warunki inkubacji ściśle wpływają na walory produktu końcowego. Uznano, że tempeh powstające w temperaturze 30°C nie jest dobrej jakości z powodu tego, że wzrost grzyba następuje zbyt gwałtownie i w pewnym momencie spowalnia, natomiast nasiona soi wysychają [47]. Frankland ze współpracownikami (1982, za [47]) stwierdzili, że temperatura wyższa niż 40°C i niższa niż 25°C także wpływała niekorzystnie na walory sensoryczne tego produktu, a już powyżej 25°C, pomimo dłuższego czasu fermentacji, tempeh nabierało cech akceptowanych. Zwrócono także uwagę na istotność wielkości inokulum grzyba. Zbyt mała porcja skutkowała zasiedleniem tempeh przez niepożądane bakterie, które spowalniały rozwój *Rhizopus*, a duża i zbyt duża warunkowała równomierny i szybki rozwój grzybni oraz właściwe uformowanie tempeh. Czynnikiem wpływającym na jakość produktu końcowego jest także pH: czynnik ten na poziomie 4,0 gwarantuje dobry rozrost grzybni *R. microsporus*, w wyniku czego otrzymujemy produkt o zwartej grubej warstwie białego nalotu, dobrej konsystencji i smaku [23, 47].

## 7. Inne mikroorganizmy w procesie produkcji tempeh

Podczas produkcji przemysłowej do nasion poddawanych moczeniu dodaje się bakterie kwasu mlekowego, np. *Lactobacillus plantarum*. Stosuje się je w celu poprawy walorów produktu końcowego, niedopuszczenia do wytworzenia zarodników przez grzyb *R. microsporus* oraz zahamowania rozwoju niepożądanych mikroorganizmów, do których należą między innymi *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella infantis* czy *Staphylococcus aureus* [50-54]. Jednak obecność w technologii przemysłowej odchodzi się od moczenia nasion na rzecz zakwaszania ich kwasem octowym lub kwasem mlekowym podczas gotowania.

Czasem, zazwyczaj podczas produkcji na drobną skalę (nieprzemysłową), dochodzi do zanieczyszczenia mikroorganizmami *Klebsiella pneumoniae* lub *Citrobacter freundii* [20]. Stwierdzono, że ich występowanie w tempeh wiąże się z obecnością w gotowym już produkcie witaminy B<sub>12</sub>. Podobnie na ten produkt wpływa obecność *Saccharomyces cerevisiae* wprowadzonego jako mikroorganizm towarzyszący grzybowi *R. microsporus* [35].

## 8. Surowce nietradycyjne

Wśród innych surowców wykorzystywanych w celach badawczych do sporządzenia tempeh pod względem liczby gatunków należą rośliny z rodziny *Fabaceae*. Produkt ten sporządzany był m.in. z: ciecierzycy pospolitej (*Cicer arietinum*), fasoli mungo (*Vigna mungo*), f. półksiężycowatej (*Phaseolus lunatus*) i f. zwyczajnej (*P. vulgaris*), f. yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*), grochu zwyczajnego (*Pisum sativum*), groszku siewnego (*Lathyrus sativus*), kanawalii mieczokształtnej (*Canavalia ensiformis*), kłębianu kątownatego (*Pachyrhizus erosus*), łubinu, w tym ł. wąskolistnego (*Lupinus* spp. i *L. angustifolius*), orzechów arachidowych (*Arachis hypogaea*), sorzycy ziemnej (*V. subterranea*), świerzbca właściwego (*Mucuna pruriens*) i wykibobu (*Vicia faba*). Zdecydowanie rzadziej stosowano w tym celu rośliny z rodzin *Poaceae* [owies zwyczajny (*Avena sativa*), jęczmień zwyczajny (*Hordeum vulgare*) i pszenicę zwyczajną (*Triticum aestivum*)], *Amaranthaceae* [komosę ryżową, quinoa (*Chenopodium quinoa*)], *Brassicaceae* [kapusta rzepek (*Brassica napus*)] czy *Polygonaceae* [gryka zwyczajna (*Fagopyrum esculentum*)] (zestawiono za: [24] i cytowanymi tam publikacjami).

Często wprowadzenie nowego surowca wiązało się z zastosowaniem w badaniach mikroorganizmu innego niż *R. microsporus* lub wprowadzeniem do procesu dodatkowego gatunku mikroorganizmu. Na przykład: na ziarna *Hordeum vulgare* nanoszono równocześnie zarodniki mikroorganizmów *Kluyveromyces lactis*, *Pichia anomala*, *Rhizopus oligosporus*, *Saccharomyces boulardii* i *S. cerevisiae* [59], a nasiona *Lathyrus sativus* inokulowano zarodnikami *R. microsporus* var. *chinensis* i *Aspergillus oryzae* [60, 61]. Wolkers-Rooijackers i współpracownicy [62] w swoich badaniach nanieśli na nasiona łubinu (*Lupinus angustifolius*) 2 gatunki mikroorganizmów: *R. oryzae* i *Propionibacterium freudenreichii*, dzięki czemu uzyskali produkt zawierający witaminę B<sub>12</sub>.

## 9. Technologia produkcji tempeh z innych surowców

Niestandardowymi surowcami stosowanymi do produkcji tempeh są nasiona roślin strączkowych, rdestowatych, szarłatowatych, zbóż i kapustnych. Jednak mimo tak dużego różnicowania, według [24], proces produkcji tempeh z takich nasion nie odbiega od produkcji tempeh z soi i składa się z 9 etapów. Pierwszym jest moczenie nasion aż do spęcznienia i zmięknięcia tkanek. Etap ten, w zależności od rodzaju rośliny, stopnia wysuszenia nasion oraz temperatury zastosowanej wody, trwa od 6 do 24 godzin. W drugim etapie nasiona poddawane są mechanicznemu lub ręcznemu łuskaniu, a następnie oddzieleniu od łusek. Trzeci etap polega na ugotowaniu nasion aż do miękkości. Proces ten zazwyczaj trwa 20-45 minut, w zależności od gatunku rośliny i od stopnia napęcznienia nasion. Po ugotowaniu wodę odlewa się, a nasiona poddawane są obsuszaniu z zastosowaniem nawiewu powietrza lub w wyniku kontaktu z ręcznikami pochłaniającymi wilgoć. Następnie na osuszone i schłodzone do 25°C nasiona nanoszone są zarodniki grzyba z rodzaju *Rhizopus*, a całość poddawana jest mieszaniu (jest to etap inokulacji, czyli zaszczepiania grzyba na podłożu wzrostowym). Kolejnym etapem jest zapakowanie porcji nasion w liście (np. bananowca) lub w perforowane woreczki, a następnie inkubacja w temperaturze 27-30°C przez 30-48 godzin. Po tym czasie produkt poddaje się pasteryzacji, suszeniu lub mrożeniu.

## 10. Walory sensoryczne tempeh z surowców nietradycyjnych

Na walory produktu wpływa przede wszystkim rodzaj surowca, zastosowane dodatki oraz rodzaj procesów technologicznych, którym surowiec jest poddawany. Innymi cechami będzie się bowiem charakteryzował tempeh powstający z nasion fasoli łuskanej, a innymi – z niełuskanej w porównaniu z tempeh produkowanym z soi czy grochu. Badania walorów produktów, a zarazem preferencji konsumentów w tym zakresie, polegają na ocenie cech danego produktu w oparciu o ściśle zdefiniowane skale. Podczas oceny sensorycznej burgerów powstałych z tempeh wyprodukowanego na bazie soi oraz na bazie fasoli osoby oceniające preferowały burgery powstające z soi, choć analizy statystyczne nie wykazały jednoznacznej przewagi tradycyjnego produktu. Wprawdzie nowoczesny produkt pozbawiony był naturalnego posmaku soi, jednak wyczuwalna była nuta smakowa fasoli, co nie wszystkim oceniającym przypadło do gustu [54].

Badania tempeh produkowanego z nasion łubinu (*Lupinus angustifolius*) wykazały natomiast, że konsystencja i smak oraz ogólna ocena tego produktu nie odbiega od oceny, którą uzyskał tempeh sojowy [62]. Podobne oceny uzyskano podczas badań tekstury tempeh z nasion

*L. angustifolius*, ale z udziałem *R. oryzae* we współudziale z *Klebsiella pneumoniae* lub z *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* [63]. Testerzy zwrócili uwagę, że aromat tempeh zależy od długości procesu fermentacji, użytego surowca roślinnego oraz dalszej obróbki gotowego produktu (np. smażenia). Przy porównaniu tempeh poddanego 1-dniowej i 5-dniowej fermentacji stwierdzono, że dłuższy proces wpływa na ujawnianie się dodatkowych składowych aromatu tego produktu. Ponadto tempeh po 5-dniowej fermentacji poddane dodatkowo smażeniu nabiera wyraźniejszych aromatów grzybów, pieczeni, popcornu, nut słodowych czy gotowanych ziemniaków [64].

## 11. Substancje prozdrowotne w tempeh z innych surowców

Badania nad niestandardowymi surowcami wnoszą, iż w wyniku fermentacji i produkcji tempeh powstaje szereg składników o działaniu prozdrowotnym. W badaniach stwierdzono między innymi wzrost aktywności przeciwutleniającej, którą zaobserwowano także w tempeh powstałym z ciecierzycy [65], fasoli [66], komosy ryżowatej [67, 68], owsa zwyczajnego [69] i wyki bobu [70]. Notowano także zwiększenie poziomu lewodopa (L-DOPA) przy zastosowaniu jako surowca świerzbca właściwego [71], a także powstanie kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA) w tempeh z kaszy gryczanej [72], kampesterolu i stygmasterolu oraz kwasów  $\gamma$ -aminomasłowego i  $\gamma$ -linolenowego w tempeh z bobu [73]. Obecność tej drugiej substancji stwierdzono także w produkcie wytworzonym z soi [74].

## 12. Podsumowanie

Tempeh jest fermentowanym produktem roślinnym, który idealnie wpisuje się w dietę wegan i wegetarian ze względu na bogatą zawartość białka, soli mineralnych i witamin z grupy B. Ponadto może stanowić interesujące i bogate w cenne składniki urozmaicenie tradycyjnej diety. Z uwagi na skład chemiczny soi jako podstawowego surowca stosowanego do jego produkcji warto podczas produkcji tempeh sięgać także

po nasiona innych roślin. Alternatywne surowce zastosowane do wyrobu tempeh zwiększą asortyment produktów, a także będą odpowiedzią na zapotrzebowanie rynku. Ponadto dają one możliwości uzyskania substancji niezwykle cennych ze względów zdrowotnych, które nie występują lub występują w niewielkiej ilości w zastosowanych surowcach.

## Literatura

1. Billore S.D., Dupare B.U., Sharma P., *Addressing Climate Change Impact on Soybean through Resilient Technology*, 1 Soybean Research, 16, 2018, s. 1-24.
2. Kunachowicz H., Przygoda B., Nadolna I., Iwanow K., *Tabele składu i wartości odżywczej żywności*, PZWL, Warszawa 2017, Wydanie II zmienione.
3. Prescha A., Biernat J., *Wpływ fitoestrogenów pokarmowych na organizm człowieka. Cz. II. Przeciwdziałanie skutkom menopauzy oraz działanie przeciwnowotworowe*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 41(4), 2008, s. 941-948.
4. Zdrojewicz Z., Matusiak-Kita M., *Czy fitoestrogeny mogą być alternatywą dla terapii hormonalnej?*, Family Medicine and Primary Care Review, 14(4), 2012, s. 601-605.
5. Doerge D.R., Sheehan D.M., *Goitrogenic and Estrogenic Activity of Soy Isoflavones*, *Environmental Health Perspectives*, 110(Suppl. 3), 2002, s. 349-353.
6. Šošić-Jurjević B., Filipović B., Ajdžanović V., Savin S., Nestorović N., Milošević V., Sekulic M., *Suppressive effects of genistein and daidzein on pituitary – thyroid axis in orchidectomized middle-aged rats*, *Experimental Biology and Medicine*, 235, 2010, s. 590-598.
7. Burssens S., Pertry I., Ngudi D.D., Kuo Y.H., Van Montagu M., Lambein F., *Soya, Human Nutrition and Health*, [w:] El-Shemy H. (red.), *Soybean and Nutrition*, InTech, Croatia, 2011, s. 157-180, DOI: 10.5772/21951.
8. Švejtil R., Musilová Š., Rada V., *Raffinose-series oligosaccharides in soybean products*, *Scientia Agriculturae Bohemica*, 46(2), 2015, s. 73-77.
9. Bajaj J.K., Salwan P., Salwan S., *Various Possible Toxicants Involved in Thyroid Dysfunction: A Review*, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(1), 2016, FE01-FE03.
10. Silva E.O., Bracarense A.P.F.R.L., *Phytic Acid: From Antinutritional to Multiple Protection Factor of Organic Systems*, *Journal of Food Science*, 81(6), 2016, R1357-R1362, doi: 10.1111/1750-3841.13320.
11. Nissar J., Ahad T., Naik H.R., Hussain S.Z., *A review phytic acid: As antinutrient or nutraceutical*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6), 2017, s. 1554-1560.
12. Avilés-Gaxiola S., Chuck-Hernández C., Serna Saldívar S.O., *Inactivation Methods of Trypsin Inhibitor in Legumes: A Review*, *Journal of Food Science*, 83(1), 2018, s. 17-29, doi: 10.1111/1750-3841.13985.
13. Csapó J., Albert C., *Methods and procedures for reducing soy trypsin inhibitor activity by means of heat treatment combined with chemical methods*, *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 11, 2018, s. 58-80, DOI: 10.2478/ausal-2018-0004.
14. Starzyńska-Janiszewska A., Stodolak B., Mickowska B., *Effect of controlled lactic acid fermentation on selected bioactive and nutritional parameters of tempeh obtained from unhulled common bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 2014, s. 359-366.
15. Starzyńska-Janiszewska A., Stodolak B., Wikiera A., *Antioxidant potential and  $\alpha$ -galactosides content of unhulled seeds of dark common beans subjected to tempe-type fermentation with *Rhizopus microsporus* var. *chinensis* and *Lactobacillus plantarum**, *Food Science and Technology Research*, 21(6), 2015, s. 765-770.

16. Ferreira M.P., de Oliveira M.C.N., Mandarin J.M.G., da Silva J.B., Ida E.I., Carrão-Panizzi M.C., *Changes in the isoflavone profile and in the chemical composition of tempeh during processing and refrigeration*, Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 46(11), 2011, s. 1555-1561.
17. Hoffmann M., Górnicka M., Jędrzejczyk H., *Zamienniki białka zwierzęcego – technologia, wartość odżywcza, możliwości wykorzystania. Część I. Nietradycyjne źródła białka – produkty sojowe fermentowane*, Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, 1, 2009, s. 75-80.
18. Bisping B., Hering L., Baumann U., Denter J., Keuth S., Rehm H.J., *Tempe fermentation – some aspects of formation of gamma-linolenic acid, proteases and vitamins*, Biotechnology Advances, 11, 1993, s. 481-493.
19. Denter J., Rehm H.J., Bisping B., *Changes in the contents of fat-soluble vitamins and provitamins during tempe fermentation*, International Journal of Food Microbiology, 45, 1998, s. 129-134.
20. Denter J., Bisping B., *Formation of B-vitamins by bacteria during the soaking process of soybeans for tempe fermentation*, International Journal of Food Microbiology, 22, 1994, s. 23-31.
21. Ogawa Y., Tokumasu S., Tubaki K., *An original habitat of tempeh molds*, Mycoscience, 45(4), 2004, s. 271-276.
22. Okada N., *Role of Microorganisms in Tempeh Manufacture. Isolation of vitamin B<sub>12</sub> producing bacteria*, Japan Agricultural Research Quarterly, 22(4), 1989, s. 310-316.
23. Nout M.J.R., Kiers J.L., *Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium. A review*, Journal of Applied Microbiology, 98, 2005, s. 789-805.
24. Ahnan-Winarno A.D., Cordeiro L., Winarno F.G., Gibbons J., Xiao H., *Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability*, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 20, 2020, s. 1717-1767.
25. Nout M.J.R., Rombouts F.M., *Recent developments in tempe research*, Journal of Applied Bacteriology, 69, 1990, s. 609-633.
26. Sato V.S., Jorge J.A., Oliveira W.P., Souza C.R.F., Guimarães L.H.S., *Phytase Production by Rhizopus microsporus var. microsporus Biofilm: Characterization of Enzymatic Activity After Spray Drying in Presence of Carbohydrates and Nonconventional Adjuvants*, Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(2), 2014, s. 177-187.
27. Ruiz-Teran F., Owens J.D., *Fate of oligosaccharides during production of soya bean tempe*, Journal of the Science of Food and Agriculture, 79, 1996, s. 249-252.
28. Higasa S., Negishi Y., Aoyagi Y., Sugahara T., *Changes in free amino acids of tempe during preparation with velvet beans (Mucuna pruriens)*, Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology – Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 43, 1996, s. 188-193.
29. Sarrette M., Nout M.J.R., Gervais P., Rombouts F.M., *Effect of water activity on production and activity of Rhizopus oligosporus polysaccharidases*, Applied Microbiology and Biotechnology, 37, 1992, s. 420-425.
30. De Reu J.C., Linszen V.A.J.M., Rombouts F.M., Nout M.J.R., *Consistency, polysaccharidase activities and non-starch polysaccharides content of soya beans during tempe fermentation*, Journal of the Science of Food and Agriculture, 73, 1997, s. 357-363.
31. Kraszewska O., Nynca A., Kamińska B., Ciereszko R., *Fitoestrogeny. I. Występowanie, metabolizm i znaczenie biologiczne u samic*, Postępy Biologii Komórki, 34(1), 2007, s. 189-205.

32. Khaodhiar L., Ricciotti H.A., Li L., Pan W., Schickel M., Zhou J., Blackburn G.L., *Daidzein-rich isoflavone aglycones are potentially effective in reducing hot flashes in menopausal women*, *Menopause*, 15(1), 2008, s. 125-132.
33. Ahmad A., Ramasamy K., Majeed A.B.A., Mani V., *Enhancement of  $\beta$ -secretase inhibition and antioxidant activities of tempeh, a fermented soybean cake through enrichment of bioactive aglycones*, *Pharmaceutical Biology*, 53(5), 2015, s. 758-766, <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.942791>.
34. Widowati W., Prahastuti S., Ekayanti N.L.W., Munshy U.Z., Kusuma H.S.W., Wibowo S.H.B., Amalia A., Widodo W.S., Rizal R., *Anti-Inflammation Assay of Black Soybean Extract and Its Compounds on Lipopolysaccharide-Induced RAW 264.7 Cell*, *Journal of Physics, Conference Series*, 1374, 2019, 012052, doi:10.1088/1742-6596/1374/1/012052.
35. Kustyawati M.E., Subeki, Murhadi, Rizal S., Astuti P., *Vitamin B<sub>12</sub> production in soybean fermentation for tempeh*, *AIMS Agriculture and Food*, 5(2), 2020, s. 262-271, DOI:10.3934/agrfood.2020.2.262.
36. Stodolak B., Starzyńska-Janiszewska A., *The influence of tempeh fermentation and conventional cooking on anti-nutrient level and protein bioavailability (in vitro test) of grass-pea seeds*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13), 2008, s. 2265-2270, <https://doi.org/10.1002/jsfa.3341>.
37. Chang C.-T., Hsu C.-K., Chou S.-T., Chen Y.-C., Huang F.-S., Chung Y.-C., *Effect of fermentation time on the antioxidant activities of tempeh prepared from fermented soybean using *Rhizopus oligosporus**, *International Journal of Food Science and Technology*, 44(4), 2009, s. 799-806, doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01907.x
38. Borges C.W.C., Carrão-Panizzi M.C., Mandarino J.M.G., Silva J.B. da, Benedetti S., Ida E.I., *Contents and bioconversion of  $\beta$ -glycoside isoflavone to aglycones in the processing conditions of soybean tempeh*, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(3), 2016, s. 271-279.
39. Xiao Y., Fan J., Chen Y., Rui X., Zhang Q., Dong M., *Enhanced total phenolic and isoflavone aglycone content, antioxidant activity and DNA damage protection of soybeans processed by solid state fermentation with *Rhizopus oligosporus* RT-3*, *RSC Advances*, 6(35), 2016, s. 29741-29756.
40. Kuligowski M., Pawłowska K., Jasińska-Kuligowska I., Nowak J., *Isoflavone composition, polyphenols content and antioxidative activity of soybean seeds during tempeh fermentation*, *CyTA Journal of Food*, 15(1), 2017, s. 27-33, <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1197316>.
41. Strauss L., Makela S., Joshi S., Huhtaniemi I., Santii R., *Genistein exerts estrogen-like effects in male mouse reproductive tract*, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 144(1-2), 1998, s. 83-93.
42. Kołłątaj W., Szewczyk L., *Estrogeny w diecie a zdrowie osób płci męskiej*, *Endokrynologia Pediatryczna*, 3(4), 2004, s. 61-67.
43. Czupryńska K., Marchlewicz M., Wiszniewska B., *Wpływ ksenoestrogenów na męski układ płciowy*, *Postępy Biologii Komórki*, 34(2), 2007, s. 317-333.
44. Kuligowski M., Nowak J., *Możliwości modelowania cech funkcjonalnych żywności wytworzonej z nasion roślin strączkowych poprzez zastosowanie fermentacji typu tempeh*, *Biotechnologia*, 4, 2007, s. 113-124.
45. Hachmeister K.A., Fung D.Y.C., *Tempeh: A mold-modified indigenous fermented food made from soybeans and/or cereal grains*, *Critical Reviews in Microbiology*, 19(3), 1993, s. 137-188, <https://doi.org/10.3109/10408419309113527>.
46. Han B.-Z., Nouth R.M.J., *Effects of temperature, water activity and gas atmosphere on mycelial growth of tempe fungi *Rhizopus microsporus* var. *microsporus* and *R. microsporus* var. *oligosporus**, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, 2001, s. 853-858.



47. Tahir A., Anwar M., Mubeen H., Raza S., *Evaluation of Physicochemical and Nutritional Contents in Soybean Fermented Food Tempeh by Rhizopus oligosporus*, Journal of Advances in Biology and Biotechnology, 17(1), 2018, s. 1-9, art. no. JABB.26770.
48. Khasanah M., Sjamsuridzal W., Oetari A., Santoso I., Roosheroe G., *Phylogenetic analyses based on ITS regions of rDNA identified five Rhizopus strains from tempeh as R. delemar and R. oryzae*, AIP Conference Proceedings, 2023, 2018, 020141. <https://doi.org/10.1063/1.5064138>.
49. Vebliza Y., Sjamsuridzal W., Oetari A., Santoso I., Roosheroe I.G., *Re-identification of five strains of Rhizopus arrhizus from tempeh based on ITS regions of rDNA sequence data*, AIP Conference Proceedings, 2023, 2018, 020167, <https://doi.org/10.1063/1.5064164>.
50. Nout M.J.R., Beernink G., Bonants-van Laarhoven T.M.G., *Growth of Bacillus cereus in soyabean tempeh*, International Journal of Food Microbiology, 4(4), 1987, s. 293-301, [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(87\)90004-3](https://doi.org/10.1016/0168-1605(87)90004-3).
51. Ashenafi M., *Growth of Listeria monocytogenes in fermenting tempeh made of various beans and its inhibition by Lactobacillus plantarum*, Food Microbiology, 8(4), 1991, s. 303-310, [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(05\)80004-8](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(05)80004-8).
52. Ashenafi M., Busse M., *Inhibitory effect of Lactobacillus plantarum on Salmonella infantis, Enterobacter aerogenes and Escherichia coli during tempeh fermentation*, Journal of Food Protection, 52(3), 1989, s. 169-172, <https://doi.org/10.4315/0362-028X-52.3.169>.
53. Ashenafi M., Busse M., *Growth of Staphylococcus aureus in fermenting tempeh made from various beans and its inhibition by Lactobacillus plantarum*, International Journal of Food Science and Technology, 27(1), 1992, s. 81-86.
54. Vital R.J., Bassinello P.Z., Cruz Q.A., Carvalho R.N., de Paiva J.C. M., Colombo A.O., *Production, Quality, and Acceptance of Tempeh and White Bean Tempeh Burgers*, Foods, 7, 2018, s. 136, doi:10.3390/foods7090136.
55. Sparringa R.A., Owens J.D., *Protein Utilization during soybean tempeh fermentation*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(10), 1999, s. 4375-4378, <https://doi.org/10.1021/jf981279u>.
56. Astawan M., Hermanianto J., Suliantari, Sugiyanto G.S.P., *Application of vacuum packaging to extend the shelf life of fresh-seasoned tempe*, International Food Research Journal, 23(6), 2016, s. 2571-2580.
57. Djunaidi S., Puspitasari M.D., Gunawan-Puteri T., Wijaya C.H., Prabawati E.K., *Physicochemical and microbial characterization of overripe tempeh*, INSIST, 2(1), 2017, s. 48-51, <https://doi.org/10.23960/ins.v2i1.33>.
58. Witono Y., Bambang W., Mujiyanto M., Rachmawati D.T., *Amino acids identification of over fermented tempeh, the hydrolysate and the seasoning product hydrolysed by calotropin from crown flower (Calotropis gigantea)*, International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology, 5(2), 2015, s. 103-106, <https://doi.org/10.18517/ijaseit.5.2.494>.
59. Feng X.M., Passoth V., Eklund-Jonsson C., Alminger M.L., Schnürer J., *Rhizopus oligosporus and yeast co-cultivation during barley tempeh fermentation – Nutritional impact and realtime PCR quantification of fungal growth dynamics*, Food Microbiology, 24(4), 2007, s. 393-402, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.06.007>.
60. Starzyńska-Janiszewska A., Stodolak B., Duliński R., Mickowska B., *The influence of inoculum composition on selected bioactive and nutritional parameters of grass pea tempeh obtained by mixed-culture fermentation with Rhizopus oligosporus and Aspergillus oryzae strains*, Food Science and Technology International, 18(2), 2012, s. 113-122.

61. Starzyńska-Janiszewska A., Stodolak B., Wikiera A., *Proteolysis in tempeh-type products obtained with Rhizopus and Aspergillus strains from grass pea (Lathyrus sativus) seeds*, Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 14(2), 2015b, s. 125-132.
62. Fudiyansyah N., Petterson D.S., Bell R.R., Fairbrother A.H., *A nutritional, chemical and sensory evaluation of lupin (L. angustifolius) tempe*, International Journal of Food Science and Technology, 30(3), 1995, s. 297-305, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb01378.x>.
63. Wolkers-Rooijackers J.C.M., Endika M.F., Smid E.J., *Enhancing vitamin B<sub>12</sub> in lupin tempeh by in situ fortification*, LWT – Food Science and Technology, 96, 2018, s. 513-518.
64. Jeleń H., Majcher M., Ginja A., Kuligowski M., *Determination of compounds responsible for tempeh aroma*, Food Chemistry, 141, 2013, s. 459-465.
65. Sánchez-Magana L.M., Cuevas-Rodríguez E.O., Gutiérrez-Dorado R., Ayala-Rodríguez A.E., Valdez-Ortiz A., Milán-Carrillo J., Reyes-Moreno C., *Solid-state bioconversion of chickpea (Cicer arietinum L.) by Rhizopus oligosporus to improve total phenolic content, antioxidant activity and hypoglycemic functionality*, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 65(5), 2014, s. 558-564.
66. Rochín-Medina J.J., Gutiérrez-Dorado R., Sánchez-Magaña L.M., Milán-Carrillo J., Cuevas-Rodríguez E.O., Mora-Rochín S., Valdez-Ortiz A., Reyes-Moreno C., *Enhancement of nutritional properties, and antioxidant and antihypertensive potential of black common bean seeds by optimizing the solidstate bioconversion process*, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 66(5), 2015, s. 498-504.
67. Matsuo M., *Suitability of quinoa fermented with Rhizopus oligosporus as an ingredient of biscuit*, Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 53(1), 2006, s. 62-69.
68. Starzyńska-Janiszewska A., Baczkowicz M., Sabat R., Stodolak B., Witkowicz R., *Quinoa tempe as a value-added food: Sensory, nutritional, and bioactive parameters of products from white, red, and black seeds*, Cereal Chemistry, 94(3), 2017, s. 491-496, <https://doi.org/10.1094/CCHEM-07-16-0186-R>.
69. Cai S., Gao F., Zhang X., Wang O., Wu W., Zhu S., Zhang D., Zhou F., Ji B., *Evaluation of  $\gamma$ -aminobutyric acid, phytate and antioxidant activity of tempeh-like fermented oats (Avena sativa L.) prepared with different filamentous fungi*, Journal of Food Science and Technology, 51(10), 2014, s. 2544-2551. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0748-2>.
70. Berghofer E., Grześkowiak B., Mundigler N., Sentall W.B., Walczak J., *Antioxidative properties of faba bean-, soybean- and oat tempeh*, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 49(1), 1998, s. 45-54, <https://doi.org/10.3109/09637489809086403>.
71. Ariani S.R.D., Matsjeh S., Mustofa, Purwono B., *Quantitative analysis of L-dopa (l-3,4-dihydroxyphenylalanine) content in extracts of various products from velvet bean (Mucuna pruriens (L.) DC.) Tempe processing*, Oriental Journal of Chemistry, 32(6), 2016, s. 2921-2927, [doi.org/10.13005/ojc/320611](https://doi.org/10.13005/ojc/320611).
72. Handoyo T., Morita N., *Structural and functional properties of fermented soybean (Tempeh) by using Rhizopus oligosporus*, International Journal of Food Properties 9, 2006, s. 347-355.
73. Polanowska K.A., *Fermentacja jako czynnik wpływający na zawartość wybranych związków biologicznie aktywnych w nasionach Vicia faba*, Manuskrypt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań 2020.
74. Hering L., Bisping B., Rehm H.J., *Patterns and formation of fatty acids at tempe fermentation by several strains of Rhizopus sp.*, Fett Wissenschaft Technologie – Fat Science Technology, 93, 1991, s. 303-308.

## Grzyby z rodzaju *Rhizopus* w produkcji żywności prozdrowotnej

### Streszczenie

Grzyby z rodzaju *Rhizopus*, należące do rzędu *Mucorales*, są mikroorganizmami stosowanymi w produkcji żywności fermentowanej powstającej według tradycyjnych receptur na obszarze Azji. Podstawowym surowcem w produkcji tej żywności są gotowane i zakwaszone nasiona soi, a najczęściej stosowanym mikroorganizmem – *Rhizopus microsporus* Tiegh. Po naniesieniu inokulum (zarodników grzyba) na soję następuje wzrost grzybni, z następującym równocześnie procesem fermentacji. Warunki sprzyjające aktywności grzyba to temperatura powyżej 25°C, odpowiednia wilgotność surowca i dostęp tlenu. W takich warunkach, po kilkadziesiąt godzinach, dochodzi do powstania tempeh. Produkt ten zawiera wysoką zawartość białka, witamin z grupy B i izoflawonów. Zewzględu na rosnącą popularność tempeh do jego produkcji wprowadza się nowe surowce. Praca stanowi przegląd literatury dotyczącej technologii produkcji tempeh metodą tradycyjną (z soi, z wykorzystaniem grzybów z rodzaju *Rhizopus*) oraz możliwości zastosowania innych surowców (zarówno roślinnych, jak mikroorganizmów) skutkujących otrzymaniem produktów o nowych i nietypowych walorach sensorycznych.

Słowa kluczowe: tempeh, *Rhizopus*, fasola, łubin, soja

## Fungi of the genus *Rhizopus* in the production of pro-health food

### Abstract

Fungi of the genus *Rhizopus*, belonging to the order *Mucorales*, are microorganisms used in the production of fermented foods produced according to traditional recipes in Asia. The basic raw material in the production of this food is boiled and acidified soybeans, and the most commonly used microorganism – *Rhizopus oligosporus*. After the application of the inoculum (fungal spores) to soybeans, mycelium grows and the seeds ferment. The conditions favorable for fungus activity are the temperature above 25°C, adequate moisture of the raw material and oxygen supply. After a longer process (several dozen hours), tempeh forms. This product contains a high content of protein, vitamins B and isoflavones. Due to the growing popularity of tempeh, new raw materials are introduced into its production. The publication is a review of the literature on the technology of tempeh production using the traditional method (from soybean, with the use of *Rhizopus* fungi) and the possibility of using other raw materials (both plant and microorganisms) resulting in the production of products with new and unusual sensory values.

Keywords: tempeh, *Rhizopus*, bean, lupine, soybeans

## Rośliny jako źródło bioaktywnych związków stosowanych w żywności

### 1. Wstęp

Na przestrzeni wieków ludzie uprawiali i hodowali wiele roślin, które później były z powodzeniem wykorzystywane do różnych celów, w tym głównie jako jedzenie. Pokarm roślinny zawsze był doskonałym źródłem składników odżywczych i energii, zarówno dla ludzi, jak i zwierząt. Szczególną uwagę na żywność roślinną zwrócono w drugiej połowie ubiegłego wieku, a później odkryto, że surowce roślinne zawierają biologicznie aktywne związki, które okazały się ważne dla ludzi [1, 2]. Udowodniono, że niektóre z tych związków nawet w niewielkich ilościach mają pozytywny wpływ na stan zdrowotny człowieka. To właśnie wtedy pojawił się pomysł dodawania tych substancji do innych produktów spożywczych w celu zwiększenia ich wartości odżywczych i zdrowotnych oraz polepszenia ich wyglądu i walorów smakowych bez konieczności użycia syntetycznych składników.

Rozpatrując roślinne związki bioaktywne należy zaznaczyć, że te substancje powstają w roślinie, jako skutek procesów metabolicznych. Procesy te polegają na przemianach materii i mają na celu zachowanie stałych warunków wewnątrz organizmu.

Istnieją dwie podstawowe grupy tych przemian: metabolizm pierwotny oraz wtórny. Związki biologicznie aktywne, powstałe podczas metabolizmu pierwotnego, są powszechne dla wszystkich roślin i mają charakter podstawowy, ponieważ odgrywają ważną rolę w procesach fizjologicznych [2]. Związki te uczestniczą we wszystkich życiowych procesach organizmu roślinnego i stanowią dla rośliny źródło energii, a ponadto mogą zostać wykorzystane do budowy nowych elementów komórkowych lub mogą zostać zmagazynowane w komórce. Przykładem tych związków są aminokwasy, węglowodany, nukleotydy, lipidy i ich pochodne [3]. Z kolei substancje bioaktywne, które powstały wskutek metabolizmu wtórnego, są odmienne dla każdej rośliny i nie pełnią w życiu roślin podstawowych funkcji fizjologicznych [2, 4]. Są to substancje chroniące rośliny przed innymi organizmami, tak zwane allelozwiązki, hormony, związki sygnałowe i inne.

Rośliny stanowią cenne źródło bioaktywnych związków, w tym metabolitów wtórnych, które podzielono na trzy podstawowe grupy: terpenoidy, fenole i alkaloidy [5]. Dawno temu uważano je za związki o nieistotnym znaczeniu, jednak później dzięki badaniom odkryto, że substancje te odgrywają ważną funkcję w interakcjach roślinno-środowisko, a dzięki kolejnym badaniom wykryto, że metabolity wtórne wykazują

---

<sup>1</sup> bogdan.kontek@biol.uni.lodz.pl, Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, <https://www.biol.uni.lodz.pl/>.

\* autor korespondencyjny.

<sup>2</sup> anastasiya.sipchuk@edu.uni.lodz.pl, Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, <https://www.biol.uni.lodz.pl/>.

<sup>3</sup> tzn\_lodz@post.pl, Zakład Psychiatrii Biologicznej i Neurofizjologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, <http://www.umed.edu.pl/>.

właściwości prozdrowotne dla organizmu człowieka. Niestety niektóre z nich mają również właściwości toksyczne [1, 2]. Związki roślinne są obecnie z powodzeniem stosowane w medycynie, jak również w niektórych dziedzinach przemysłu, szczególnie w przemyśle spożywczym. Stosuje się je również jako dodatki podczas produkcji żywności. Przykładem mogą być barwniki, wzmacniacze smaku i aromatu oraz konserwanty. Te substancje mogą być również pochodzenia syntetycznego, ale w obecnych czasach konsumenci preferują naturalne dodatki do żywności, gdyż są one zdrowsze od syntetycznych.

Celem niniejszej pracy było omówienie zagadnienia związanego z rolą roślin jako surowca o istotnym znaczeniu w diecie człowieka, szczególnie jako źródła bioaktywnych związków stosowanych w żywności. Związki te mają istotne znaczenie w zdrowym żywieniu, profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych.

## **2. Rola roślin w przyrodzie i życiu człowieka**

Rośliny odgrywają ważną rolę w utrzymaniu stabilności w ekosystemach, będąc ważnym elementem łańcucha pokarmowego, regulują również poziom zanieczyszczenia środowiska poprzez wychwytywanie dwutlenku węgla z powietrza.

Rośliny w łańcuchu pokarmowym stanowią „niszę producentów”, gdyż są zdolne do wychwytywania energii słonecznej, a następnie poprzez złożony proces wewnątrzkomórkowy uczestniczą w procesie syntezy materii organicznej, czyli w fotosyntezie. Fotosynteza jest reakcją chemiczną zachodzącą wewnątrz komórek zawierających wyspecjalizowane struktury komórkowe – chloroplasty. W większości te komórki zlokalizowane są w liściach, ale są one również obecne i w innych organach rośliny, i to właśnie chloroplasty sprawiają, że roślina ma kolor zielony. Pochłonięty przez roślinę dwutlenek węgla (z powietrza) i woda (z gleby) stanowią substraty fotosyntezy, które z udziałem promieniowania słonecznego są przekształcane w związki organiczne oraz tlen [6]. Cząsteczka tlenu stanowi produkt uboczny tej reakcji, a ponieważ gromadzenie tlenu w dużych ilościach jest toksyczne dla rośliny, to zostaje on uwolniony do środowiska.

Rośliny oraz inne organizmy, mające zdolność do przetwarzania związków nieorganicznych w organiczne, zwane autotrofami w przeciwieństwie do organizmów heterotroficznych, które nie potrafią zdobyć energii za pośrednictwem energii słonecznej, i dlatego są zmuszone zdobywać te związki w otaczającym je środowisku. Dla części heterotrofów rośliny odgrywają ważną rolę, gdyż stanowią jedyne źródło pokarmu [7].

Rośliny stanowią także środowisko życia dla niektórych gatunków zwierząt, na przykład drzewa liściaste stanowią schronienie dla ptaków i niektórych ssaków. Rośliny dodatkowo wchodzi w korzystne interakcje z innymi organizmami, na przykład rośliny bobowate żyją w symbiozie z bakteriami azotowymi znajdującymi się w brodawkach korzeniowych, co pozwala im pochłaniać azot z powietrza, gdyż rośliny bez brodawek nie są w stanie przyswoić azotu w ten sposób [8].

Rośliny pełnią również ważną rolę w utrzymaniu spójności gleby, czyli chronią ją przed erozją. Podczas deszczu liście i gałęzie drzew przyjmują na siebie siłę spadającej wody, co sprawia, że gleba pod drzewami w małym stopniu ulega ubiciu, a korzenie zapobiegają wymywaniu cząstek gleby, gdyż utrzymują je razem [9].

Od dawna rośliny mają duże znaczenie w życiu człowieka. Są one źródłem pożywienia nie tylko dla ludzi, ale także dla zwierząt. Kiedy nasi dalecy przodkowie przeby-

wali w lesie, mężczyźni chodzili na polowania, a kobiety i dzieci zajmowały się zbieraniem owoców i jagód. Później, kiedy ludzie zaczęli prowadzić osiadły tryb życia, rozpowszechniło się rolnictwo i uprawiano różne grupy roślin. Preferowana była uprawa zbóż, roślin strączkowych i owoców [10].

Od wielu stuleci ludzie używają roślin do wielu celów. Bardzo ważnymi w historii ludzkości okazały się rośliny przyprawowe. To właśnie te rośliny i pozyskiwane z nich przyprawy były jednym z powodów podróżowania na duże odległości w celu znalezienia i zdobycia ich na targach, w innych krajach i na innych kontynentach. Powodem takiego zainteresowania przyprawami przez ludzi są ich właściwości [11]. Powszechnie stosowane są do poprawienia smaku, zapachu i koloru potraw, dodatkowo na dłużej zachowują świeżość niektórych produktów spożywczych, a niektóre z nich mają korzystny wpływ na zdrowie człowieka [12]. Najczęściej dodawanymi przyprawami do różnego rodzaju potraw są kurkuma, pieprz czarny, czosnek, bazylia, koperek, pietruszka, mięta, tymianek, rozmaryn oraz cynamon [11].

Niektóre rośliny stosuje się do przygotowania napojów gorących. Są to na przykład ziarna kawowca z rodzaju *Coffea* używane do produkcji kawy, liście roślin z rodzaju *Camellia* stosowane w przygotowaniu herbaty oraz nasiona kakaowca *Theobroma cacao*, które wykorzystuje się do produkcji kakao [13]. Zawarte w herbacie i kawie substancje chemiczne stymulują aktywność układu nerwowego, dlatego nazywa się je używkami [14].

Ponadto rośliny odgrywają ważną rolę w produkcji odzieży i materiałów budowlanych. Surowce pochodzące z roślin, takie jak drewno, trzcina i słoma, są od dawna stosowane jako materiały do produkcji mebli oraz do budowy ścian i dachów domów. Do produkcji odzieży często wykorzystuje się włókna pochodzenia roślinnego, głównie są to bawełna i len. Te naturalne włókna tekstylne są hipoalergiczne i przepuszczają powietrze, co zapobiega nadmiernemu poceniu się, które występuje w przypadku używania włókien syntetycznych [15].

Niezwykłą rolę odgrywają związki bioaktywne roślin w medycynie. Już dawno ludzie zauważyli lecznicze właściwości niektórych roślin i od tego czasu zapoczątkowano ich używanie do leczenia różnych chorób. Najczęściej wykorzystywane są różne organy rośliny, ponieważ rozmieszczenie cennych dla ludzi substancji w roślinie zazwyczaj różni się. Wraz z rozwojem chemii, ludzie nauczyli się izolować substancje z roślin leczniczych [16]. Umożliwiło to uzyskanie i odmierzenie odpowiedniej dawki związków bioaktywnych oraz produkcję z nich wysokiej jakości leków [17].

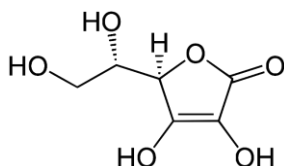
### 3. Odżywcze i lecznicze znaczenie roślin

Rośliny były uprawiane przez ludzi od czasów starożytnych. Ich właściwości odżywcze i lecznicze były i są doceniane przez społeczeństwa wielu krajów, a aspekty poznawcze tego zagadnienia znajdują wyraz w licznych badaniach naukowych. Uprawa zbóż, warzyw, owoców, czy ziół leczniczych jest bardzo ważna dla rolnictwa i powoduje, że przemysł spożywczy, farmaceutyczny czy kosmetyczny, uzyskuje surowce do produkcji potrzebnych produktów [18]. Dzięki tej produkcji jest dzisiaj dostępna szeroka oferta wielu leków ziołowych, a także żywności.

Żywność pochodzenia roślinnego ma znaczący, pozytywny wpływ na funkcjonowanie organizmu ludzkiego i stan zdrowia człowieka. Stosowanie właściwej diety z wykorzystaniem produktów pochodzenia roślinnego z upraw ekologicznych przy-

czynia się do profilaktyki wielu chorób, w tym tzw. cywilizacyjnych [19]. W wielu badaniach podkreśla się, że zdrowa dieta, zbilansowana – z uwzględnieniem spożycia odpowiedniej ilości żywności pochodzenia roślinnego, ma istotne znaczenie w zapobieganiu takim chorobom jak: cukrzyca, choroby układu krążenia, nowotwory czy choroby neurodegeneracyjne; przyczynia się też wydatnie do lepszej jakości życia i opóźnienia procesów starzenia organizmów [20].

Pokarm roślinny jest źródłem składników odżywczych, takich jak białka, tłuszcze, węglowodany, witaminy i minerały, a także błonnik, ponadto zawiera substancje bioaktywne m.in. glikozydy, terpeny, saponiny, związki polifenolowe, alkaloidy, kwasy organiczne, olejki eteryczne, które wywierają pozytywny wpływ na stan zdrowia [21, 22]. Niektóre związki dostarczane przez owoce i warzywa jak na przykład kwas askorbinowy (witamina C) pełniący w organizmie człowieka wiele ważnych funkcji, nie jest syntetyzowany w organizmie ludzkim, a jego dostarczanie wraz z dietą jest niezbędne [23, 24]. Człowiek, podobnie jak inne naczelne, świnia morska oraz niektóre gatunki nietoperzy, utracił zdolność syntezy kwasu L-askorbinowego w szlaku kwasu uronowego z powodu braku oksydazy L-gulonolaktonowej utleniającej L-gulonolakton do kwasu askorbinowego. Dla tych gatunków kwas askorbinowy jest witaminą i musi być dostarczany do organizmu drogą pokarmową [25, 26]. Witamina C, przedstawiona na rysunku 1, wspomaga m.in. aktywność enzymów syntetyzujących kolagen i uczestniczących w reakcjach hydroksylacji (hydroksylazy), pomaga przyswajać żelazo zawarte w pożywieniu, a także promuje syntezę niektórych neuroprzekaźników, takich jak karnityna i tyrozyna [23, 27]. Warto zaznaczyć, że witamina C jest przeciwutleniającym składnikiem odżywczym, który chroni komórki przed uszkodzeniem przez wolne rodniki i reaktywne formy tlenu [28].



Rysunek 1. Wzór witaminy C (kwasu askorbinowego). Źródło: [29]

Utrata jednej piątej całkowitej ilości witaminy C w organizmie może doprowadzić do pojawienia się skorbutu [23, 24], choroby wielonarządowej, śmiertelnej, którą w XVI-XVIII wieku nazywano chorobą żeglarzy, gdyż najczęściej dotyczyła załogi statków podczas długich podróży morskich [27]. Choroba ta wywołana jest niedoborem kwasu askorbinowego w pożywieniu i upośledzeniem syntezy kolagenu. Charakteryzuje się samoistnymi krwawieniami, zapalnym przerostem dziąseł i wypadaniem zębów, bólami mięśni, stawów i kości, słabym gojeniem ran, ogólnym osłabieniem [24, 27]. Przykładem żywności roślinnej bogatej w witaminę C są przede wszystkim owoce cytrusowe, takie jak: pomarańcza, cytryna, mandarynka, grejpfrut oraz warzywa, takie jak: brokuły, kalafior, brukselka i papryka. Inne owoce bogate w witaminę C to np. papaja, truskawki i czarne porzeczki. Dobrym źródłem witaminy C są kiszonki, a także kiwi, truskawki i pomidory [30].

Nieodłącznym składnikiem pokarmów roślinnych jest błonnik pokarmowy, który składa się z mieszaniny substancji o charakterze polisacharydowym (m.in. celulozy,

hemicelulozy czy pektyny) i niepolisacharydowym, które nie ulegają trawieniu w układzie pokarmowym człowieka, oczyszczają jelita i sprzyjają regulacji rytmu wypróżnień poprzez przyspieszenie perystaltyki jelit i pasażu treści przez przewód pokarmowy. Żywność bogata w błonnik pokarmowy zaspokaja głód z powodu jego pęcznienia w przewodzie pokarmowym i nie dostarcza przy tym nadmiaru kalorii. Ponadto dieta bogata w błonnik ma znaczenie w profilaktyce występowania nowotworów przewodu pokarmowego (np. raka żołądka) [30-32]. Wskutek spożycia błonnika czynniki rakotwórcze, zawarte w masach kałowych, stają się mniej stężone, a dzięki fermentacji bakteryjnej błonnika przez mikrobiom ludzki powstają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe mające właściwości przeciwrakotwórcze [33]. Błonnik oprócz wspierania prawidłowego funkcjonowania układu pokarmowego ma istotne znaczenie dla układu krążenia, gdyż przyczynia się do zmniejszenia wchłaniania cholesterolu i trójglicerydów oraz obniżenia ciśnienia tętniczego krwi. Ponadto błonnik spowolnia rozkład węglowodanów, obniża stężenie glukozy we krwi oraz zapotrzebowanie na insulinę, a także sprzyja rozwojowi korzystnych bakterii jelitowych. Jego rola prebiotyczna wspomaga korzystnie układ odpornościowy [31, 34].

Ważną rolę w diecie pełnią minerały. Minerały to elementy nieorganiczne, które można znaleźć na przykład w glebie. Są one jednym z elementów składowych organizmów żywych. Zazwyczaj dzieli się je na dwie podstawowe grupy: makro- i mikroelementy. Do makroelementów zalicza się na przykład: wapń, potas, magnez, a do mikroelementów miedź, cynk, żelazo, mangan i selen i inne [28].

Minerały odgrywają ważną rolę zarówno w organizmach roślinnych, jak i zwierzęcych. W roślinie potas jest zaangażowany w utrzymanie równowagi jonowej, otwieranie i zamykanie aparatów szparkowych oraz regulowanie turgoru komórkowego, z kolei wapń bierze udział w sygnalizacji komórkowej, a magnez stanowi główny składnik chlorofilu [35]. Dla człowieka i zwierząt wapń ma duże znaczenie w budowaniu i późniejszym utrzymaniu silnych i zdrowych kości [28]. Magnez z kolei jest potrzebny do aktywacji enzymów, stabilizacji błon komórkowych, hamowania krzepnięcia krwi [36]. Jony potasu są konieczne do utrzymania prawidłowej funkcji enzymów i błony komórkowej. Pierwiastek ten jest również ważnym elementem w przekazywaniu impulsów nerwowych w neuronach oraz w skurczu wszystkich rodzajów mięśni [37]. Źródłem wapnia w roślinnych produktach żywnościowych są orzechy i pełnoziarniste produkty zbożowe, a magnezu – niektóre warzywa liściowe i owoce, nasiona roślin strączkowych i orzechy, zaś źródłem potasu – nasiona roślin strączkowych, orzechy oraz ziemniaki [22]. Odnosząc się do mikroelementów, żelazo jest zaangażowane w biosyntezę chlorofilu, a miedź, mangan i cynk są aktywatorami niektórych enzymów roślinnych [35]. Z kolei w organizmach zwierzęcych żelazo odgrywa ważną rolę, gdyż tworzy kompleksy z tlenem cząsteczkowym w hemoglobinie i mioglobinie [28]. Cynk odgrywa ważną rolę w procesie starzenia się organizmu, oraz w patogenezie takich chorób jak: cukrzyca, depresja, choroby układu krążenia, zaburzenia neurologiczne i choroby autoimmunologiczne [38]. Źródłem żelaza są między innymi: orzechy, warzywa liściowe, nasiona roślin strączkowych oraz ziemniaki [22]. Cynk w większych ilościach można znaleźć w szpinaku, liściach sałaty oraz cebuli, z kolei miedź w dużej ilości jest zawarta w jabłkach [39], a w mniejszych ilościach można ją znaleźć w kapuście [40].



Jedna dziesiąta wszystkich znanych gatunków roślin na Ziemi to rośliny lecznicze, ale tylko 0,025% tej ilości jest dostępne na rynku światowym [18]. Rośliny lecznicze rosną zarówno w środowisku naturalnym, gdzie mogą być zbierane i później wykorzystywane, jak i uprawiane przez rolników w celu czerpania korzyści ze zbiorów. Zbieranym dzikim materiałem roślinnym mogą być liście, korzenie, owoce, kwiaty lub kora, a zbierać je można w wielu miejscach, takich jak lasy, sady czy pastwiska [41]. Rośliny lecznicze uprawiane są zarówno w ogrodach, jak i na polach, jako uprawy pojedyncze lub łączone, ale rzadko jako plantacje [42]. Najczęściej uprawiane są na dużą skalę w takich krajach jak: Indie, Chiny, Węgry, Hiszpania i Polska w celu wykorzystania tych surowców przez firmy farmaceutyczne do produkcji leków [41].

Ponadto niektóre z nich uważane są za cenne źródło pożywienia, dlatego zaleca się stosowanie ich w celach terapeutycznych, przykładem takich roślin są: imbir, zielona herbata, orzechy włoskie i wiele innych [43].

Ochrona roślin leczniczych i ich siedlisk jest wspierana przez różne programy ochrony bioróżnorodności, przykładem mogą być prace nad wprowadzeniem w uprawach rolniczych roślin leczniczych. Stosowane już dzisiaj agrotechnologie pomagają zmienić skład chemiczny tych związków roślinnych, które w przeszłości będą stosowane w różnych dziedzinach przemysłu, a także w medycynie [18].

### **3.1. Odżywianie, a choroby cywilizacyjne**

Na całym świecie wzrasta zainteresowanie zdrowym odżywianiem i ziołami [44], co jest ściśle związane z rosnącą liczbą osób z chorobami cywilizacyjnymi, obniżoną odpornością na infekcje i zwiększoną podatnością na alergię [18]. Zwiększenie rozpoznania problemów zdrowotnych związanych z chorobami cywilizacyjnymi wynika, między innymi, z pogarszających się warunków środowiskowych, zmian klimatu, a także życia dużych grup ludności w wielkich aglomeracjach miejskich, gdzie powietrze jest pełne cząstek kurzu i brudu. Ważną rolę w pojawieniu się chorób cywilizacyjnych odgrywają też zmiany w stosowanej diecie, a zwłaszcza konsumpcja żywności ubogiej w witaminy i minerały, objadanie się (dostarczanie nadmiernej ilości kalorii), przewaga w diecie dużych ilości mięsa i tłustych, słonych, czy też pikantnych pokarmów, siedzący tryb życia oraz mała aktywność fizyczna [45]. Zastosowanie roślin w leczeniu (fitoterapia), zwiększa zapotrzebowanie na te związki (zwane powszechnie fitozwiązkami). Powszechnie uważa się, że rośliny, zioła i inne rośliny lecznicze będą odgrywać coraz większą rolę w medycynie, zwłaszcza w profilaktyce i leczeniu takich chorób jak: choroby układu krążenia, cukrzyca, nowotwory, choroby zakaźne i inne. Z tego względu istotne znaczenie ma rozwijanie badań związanych z coraz lepszym poznaniem właściwości leczniczych roślin oraz udowodnienie ich skuteczności w terapii różnych chorób i dolegliwości somatycznych oraz możliwości zastosowania w ich prewencji [46].

Jednym z głównych zastosowań roślinnych związków bioaktywnych jest leczenie cukrzycy [47]. Cukrzyca jest przewlekłą chorobą charakteryzującą się hiperglikemią, (podwyższonym poziomem glukozy we krwi) wynikającą z defektu produkcji lub działania insuliny wydzielanej przez komórki beta trzustki [47, 48]. Osoby chore na cukrzycę nie mogą produkować i prawidłowo wykorzystywać insuliny (hormonu produkowanego przez trzustkę), co powoduje utrzymanie się wysokiego poziomu glukozy we krwi, a wynikający z tego chroniczny brak równowagi metabolicznej naraża

pacjentów na długotrwałe i poważne problemy zdrowotne, a w szczególności choroby układu krążenia [49]. W leczeniu tej choroby szczególną uwagę zwraca się na żywność bogatą w związki polifenolowe. Związki te po zaaplikowaniu do organizmu mogą hamować trawienie węglowodanów, absorpcję glukozy w jelitach, stymulować wydzielanie insuliny z trzustki, modulować uwalnianie glukozy z wątroby, aktywować receptory insulinowe i wychwytywać glukozę w tkankach wrażliwych na insulinę, oraz modulować wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe i ekspresję genów [50-52].

Kolejnym poważnym problemem cywilizacyjnym jest otyłość. Dominujący obecnie siedzący tryb życia, niedostatek aktywności fizycznej oraz niezdrowe odżywianie powoduje, że nasz organizm zamienia nadmiar kalorii w tłuszcz. Stałe przekraczanie dziennego zapotrzebowania na energię potrzebną do prawidłowego funkcjonowania organizmu, wzmacnia proces akumulacji tłuszczu, co ostatecznie prowadzi do otyłości. Najważniejsze zalecenia, które mogą przeciwdziałać otyłości to stosowanie zdrowych nawyków żywieniowych i aktywności fizycznej. W profilaktyce otyłości ważnym elementem oprócz diety, jest wykorzystanie surowców odżywczych i leczniczych pochodzenia roślinnego w zapobieganiu odkładania się tkanki tłuszczowej [19]. Ostatnie badania nad otyłością koncentrowały się na roślinach stosowanych w leczeniu tej choroby i jej zaburzeń metabolicznych [53]. Badano rośliny, które mają korzystny wpływ na metabolizm lipidów i glukozy oraz działanie przeciwzapalne, na przykład efekt leczniczy zielonej herbaty [53, 54].

Rośliny znalazły również zastosowanie w profilaktyce chorób nowotworowych. Choroby te cechuje niekontrolowany podział komórek organizmu a nowo powstałe komórki nie różnicują się w typowe komórki tkanki, tracą swoje pierwotne funkcje, i mogą być następnie transportowane do innego miejsca w organizmie za pośrednictwem układu krwionośnego lub limfatycznego. Utrata kontroli nad podziałami komórek jest związana z mutacjami genów kodujących białka uczestniczące w cyklu komórkowym. Częstość występowania nowotworów na ogół wzrasta wraz z wiekiem, a rozwój choroby trwa zazwyczaj kilkanaście lub kilkadziesiąt lat [55]. Bardzo często osoby z początkowym stadium nowotworu są zupełnie nieświadome, że mają jakiś problem, ponieważ nowotwór objawia się głównie w końcowych stadiach rozwoju. Choroba ta może być spowodowana różnymi czynnikami, w tym znaczne ryzyko jej rozwoju mają osoby z nadwagą, spożywające alkohol i palące tytoń (ze względu na występujące w papierosach związki smoliste, w tym benzopireny) [55, 56]. W niektórych badaniach grupowych zostało zaobserwowane zmniejszenie ryzyka wystąpienia nowotworu przy zwiększonym spożyciu owoców i warzyw [55, 57].

Nie można nie wspomnieć o chorobach układu krążenia, które są obecnie szeroko rozpowszechnione w społeczeństwie i są pierwszą przyczyną wszystkich zgonów wśród ludzi. Miażdżyca, nadciśnienie tętnicze, zawał serca i inne choroby układu krążenia są często wynikiem niewłaściwej diety i niskiej aktywności fizycznej, a wraz z wiekiem prawdopodobieństwo wystąpienia tych schorzeń wzrasta. Nadciśnienie tętnicze jest ważnym czynnikiem ryzyka rozwoju zmian miażdżycowych, chorób układu krążenia, i nerek, oraz udaru mózgu [20, 58-60]. Do wystąpienia tej choroby często przyczyniają się takie czynniki, jak: wysoki poziom cholesterolu, otyłość, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze oraz palenie tytoniu [59, 60].

Zawarte w niektórych produktach pokarmowych, oraz w roślinach leczniczych aktywne biologicznie związki umożliwiają profilaktyczną i leczniczą poprawę stanu

zdrowia (układu krążenia) [61]. Wykazano, że związki o właściwościach antyoksydacyjnych zawarte w roślinach odgrywają ważną rolę w zmniejszaniu agregacji płytek krwi, syntezy i absorpcji cholesterolu, mają właściwości przeciwzapalne oraz przyczyniają się do zmniejszenia ciśnienia krwi, co z kolei może zapobiegać lub opóźnić postęp zmian miażdżycowych [20, 62]. Takie funkcje bioaktywnych surowców roślinnych, jak osłabienie aktywności niektórych enzymów lub ich zdolność do tworzenia kompleksów z metalami, które katalizują reakcje utleniania oraz wpływ na procesy metaboliczne, mogą przyczynić się do lepszej profilaktyki w zakresie zapobiegania i leczenia chorób układu krążenia [61].

Rośliny lecznicze są często wykorzystywane jako surowiec do ekstrakcji składników aktywnych, które są później wykorzystywane w syntezie różnych leków, takich jak: środki przeczyszczające, leki przeciwzakrzepowe i antybiotyki [43]. Niezależnie od zalet roślinnej terapii należy podkreślić, że w przypadku niektórych zaburzeń zdrowotnych mogą wystąpić przeciwwskazania do jej stosowania. Ponadto należy zwrócić uwagę na możliwość wystąpienia interakcji z niektórymi stosowanymi lekami oraz w przypadku niektórych związków roślinnych – na nieznaczną różnicę między dawką terapeutyczną i dawką toksyczną.

### **3.2. Roślinne dodatki do żywności**

Rośliny zawierają dużo substancji chemicznych, które z sukcesem wykorzystuje się w przemyśle spożywczym. Są one wykorzystywane do produkcji barwników, substancji aromatycznych i smakowych, a także substancji konserwujących [18]. Często konsumenci i producenci uważają produkty roślinne za produkty bezpieczne ze względu na ich naturalne pochodzenie [63]. W obecnych czasach wzrasta zapotrzebowanie na naturalne produkty spożywcze, a w tym i na naturalne dodatki w spożywanej żywności. Zwiększony popyt spowodował zwiększenie produkcji barwników naturalnych o 15-20% w latach 2010-2015 [18].

Dodatki do żywności można podzielić na kilka kategorii: dodatki technologiczne (środki konserwujące i przeciwtleniające), sensoryczne (substancje zapachowe i barwiące), odżywcze (aminokwasy, mikroelementy, witaminy) i zootechniczne (substancje poprawiające trawienie i stabilizujące florę jelitową) [1]. Mogą to być dodatki naturalne lub syntetyczne. Spośród naturalnych dodatków najczęściej są badane przeciwtleniacze, środki przeciwdrobnoustrojowe, barwniki i substancje słodzące [64].

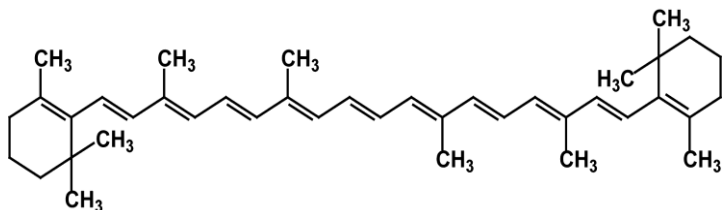
W dzisiejszych czasach rośliny stanowią przedmiot badania na obecność naturalnych związków mających zdolność do konserwowania żywności [65]. Obecne w żywności drobnoustroje wytwarzają toksyny, które powodują psucie się produktów spożywczych [63]. Dzięki obecności w roślinach niektórych związków bioaktywnych można zapewnić wydłużoną świeżość żywności oraz zastąpić syntetyczne środki konserwujące naturalnymi [65]. Alternatywą dla środków syntetycznych mogą być takie związki, jak: terpenoidy, olejki eteryczne, polifenole, alkaloidy, flawonoidy, które mają działanie przeciwdrobnoustrojowe i przeciwtleniające [63, 65].

Główną klasą antyoksydantów stosowaną w przemyśle spożywczym są związki fenolowe [64]. Po dodaniu do żywności, pełnią one rolę czynników redukujących (oddających wodór i wygaszających tlen), powodując efekt antyoksydacyjny. Te związki są zdolne do chelatowania jonów metali będących katalizatorami w reakcjach utleniania [65]. Ważną zaletą związków fenolowych jest również to, że są one zdolne

do zahamowania w żywności wzrostu patogennych bakterii, takich jak: *Escherichia coli* i *Salmonella* sp. [66].

Olejki eteryczne (inaczej olejki lotne) są otrzymywane z różnych części roślin i są związkami aromatycznymi, które pod względem chemicznym odpowiadają terpenom oraz ich formom tlenowym [67]. Ich podstawową funkcją jako dodatków do żywności jest nadanie określonego smaku i aromatu licznym produktom (np. wyrobom cukierniczym) i napojom [68]. Olejki eteryczne są używane w przemyśle zapachowym oraz do konserwowania żywności [67]. Są one szeroko stosowane w produkcji napojów alkoholowych oraz substancji leczniczych [4]. Jednak mimo tak licznych korzyści wynikających z zastosowań, związki te są droższe od substancji syntetycznych, oraz mogą czasami reagować z innymi składnikami żywności, a ich silny zapach może zostać odrzucony przez konsumentów [68].

Kolor stanowi jedną z najważniejszych cech produktów odżywczych, które wpływają na akceptację produktów żywnościowych przez konsumentów [65]. Spośród barwników naturalnych stosowanych w przemyśle spożywczym można wymienić trzy główne grupy związków o właściwościach bioaktywnych: karotenoidy, antocyjany i betalainy [69]. Karotenoidy są zbudowane z ośmiu jednostek izoprenowych, w których długi łańcuch zawierający wiązania podwójne tworzy układ chromoforowy, co z kolei nadaje związkowi barwę żółtą, pomarańczową i czerwoną. Te związki są stosowane jako barwniki w przemyśle spożywczym oraz używane do celów farmaceutycznych [70]. Przykładem karotenoidu jest  $\beta$ -karoten (rys. 2). Karotenoidy nadają barwę różnym częściom rośliny, np. korzeniowi marchwi.



Rysunek 2. Wzór  $\beta$ -karotenu. Źródło: [71]

Związek taki, jak  $\beta$ -karoten ma zdolność do przekształcania się w witaminę A, a luteina i zeaksantyna mogą pochłaniać określone długości fal świetlnych, co z kolei prowadzi do pewnej ochrony oczu [70].

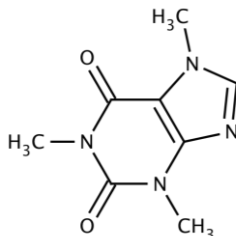
Antocyjany natomiast należą do klasy flawonoidów, czyli do rozpuszczalnych w wodzie pigmentów, które mogą przybierać barwę fioletową, czerwoną lub niebieską w zależności od pH środowiska. Związki te stanowią dobrą alternatywę dla syntetycznych barwników używanych w żywności [4].

Aby zapobiec zmianie barwy produktów żywnościowych, spowodowanej utlenianiem zawartych w żywności pigmentów, stosuje się już wspomniane przeciwutleniacze pochodzenia naturalnego (np. witaminę E, likopen). Substancje te stosuje się na przykład w świeżych sokach owocowych w celu zachowania i ustabilizowania zapachu oraz pigmentów karotenoidowych [66].

Terpenoidy są ważnymi składnikami zapachów, gdyż mono- i seskwiterpeny wykorzystywane są do produkcji przypraw i aromatów w przemyśle spożywczym [72]. Tymol

jest związkiem z grupy monoterpenów, który ma silne właściwości antyseptyczne i przyjemny zapach, wskutek czego stosowany jest jako środek aromatyzujący [4].

Do poprawienia smaku produktów spożywczych stosuje się związki z grupy glikozydów – glikozydy stewiolowe, które są stosowane jako substancje słodzące lub wzmacniacze smaku [1]. Na rynku spożywczym kofeina (rys. 3) jest powszechnym składnikiem wielu napojów (np. kawa, herbata, kakao, cola, napoje energetyczne) [4].



Rysunek 3. Wzór kofeiny. Źródło: [73]

Kofeina występuje w różnych organach wielu gatunków roślin, które wykorzystują ją jako naturalny pestycyd np. przeciwko ślimakom i licznym innym szkodnikom. Szczególnie duże jej stężenia zanotowano w siewkach rozwijających liście, które nie mają ochrony mechanicznej [72, 74].

#### 4. Podsumowanie

Rośliny pełnią ważną rolę w oczyszczaniu powietrza z dwutlenku węgla, stanowią miejsce ukrycia niektórych zwierząt. W niszy ekologicznej odgrywają rolę producentów, gdyż dzięki fotosyntezie są w stanie stworzyć materię organiczną z nieorganicznych substratów. Dla człowieka rośliny są ważne, gdyż stanowią podstawowe źródło pokarmu (zboża, owoce, warzywa, przyprawy), ochrony przed warunkami środowiska (odzież, materiały budowlane) oraz substancji o właściwościach prozdrowotnych (metabolity pierwotne, wtórne, składniki mineralne). Wykorzystywane są także do leczenia i profilaktyki licznych chorób, takich jak: cukrzyca, otyłość, nowotwory, choroby układu krążenia.

Rozwój technologii umożliwił lepsze poznanie związków bioaktywnych roślin, w szczególności metabolitów wtórnych, oraz umożliwił ich zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym i kosmetycznym. Metabolity wtórne powszechnie stosuje się jako dodatki do żywności, pozwalające wydłużyć czas jej przechowywania poprzez używanie naturalnych środków konserwujących. Środki te mogą poprawiać, stabilizować i nadawać odpowiednie kolory i aromaty, a także smaki produktom odżywczym.

#### Literatura

1. Holmboe-Ottesen G., *Increased levels of bioactive compounds in organically grown food plants, Possible health effects?*, [w:] Bernhoft A. (red.), *Bioactive compounds in plants – Benefits and risks for man and animals*, The Norwegian Academy of Science and Letters, Oslo 2010, s. 236-252.
2. Piłat B., Zadernowski R., *Substancje bioaktywne pozytywne i negatywne skutki dodawania do żywności*, *Przemysł Spożywczy*, 71, 2017, s. 24-27.
3. Oleszek W., *Substancje bioaktywne roślin i ich biosynteza w kulturach in vitro*, [w:] Malepszy S. (red.), *Biotechnologia roślin*, PWN, Warszawa 2009, s. 122-170.
4. Zhao Y., Wu Y., Wang M., *Bioactive Substances of Plant Origin*, [w:] Cheung P., Mehta B. (red.), *Handbook of Food Chemistry*, Springer, Berlin 2015, s. 967-1008.

5. Taiz L., Zeiger E., Møller I. M., Murphy A., *Plant Physiology and Development*, Sixth Edition, Sinauer Associates Incorporated, Sunderland 2015.
6. Sujatha B., *Photosynthesis*, [w:] *Plant Biology and Biotechnology*, Bahadur B., Rajam M.V., Sahijram L., Krishnamurthy K.V. (red.), Springer, New Delhi 2015, s. 569-591.
7. Koroidov S., *Water splitting in natural and artificial photosynthetic systems*, 2014, <http://umu.divaportal.org/smash/get/diva2:698620/FULLTEXT01.pdf>, (stan z dnia 22.01.2021).
8. Signorelli S., Sainz M., Tabares-da Rosa S., Monza J., *The Role of Nitric Oxide in Nitrogen Fixation by Legumes*, *Frontiers in Plant Science*, 11, 2020, s. 1-14, doi:10.3389/fpls.2020.00521.
9. Usman A.B., Abubakar S., Alaku C., Nnadi O., *Plant: a Necessity of Life*, *International Letters of Natural Sciences*, 20, 2014, s. 151-159.
10. Fernando W.G.D., *Plants: An International Scientific Open Access Journal to Publish All Facets of Plants, Their Functions and Interactions with the Environment and Other Living Organisms*, *Plants*, 1, 2012, s. 1-5, doi.org/10.3390/plants1010001.
11. Vázquez-Fresno R., Remu A., Rosana R., Sajed T., Onookome-Okome T., Wishart N.A., Wishart D.S., *Herbs and Spices – Biomarkers of Intake Based on Human Intervention Studies – A Systematic Review*, *Genes & Nutrition*, 14, 2019, s. 1-27, DOI:10.1186/s12263-019-0636-8.
12. El-Sayed S.M., Youssef A.M., *Potential application of herbs and spices and their effects in functional dairy products*, *Heliyon*, 5, 2019, s. 1-7, doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01989.
13. Diby L., Kahia J., Kouamé C., Aynekulu E., *Tea, Coffee, and Cocoa*, [w:] Thomas B., Murray B.G., Murphy D.J. (red.), *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, vol. 3, Academic Press, Waltham 2017, s. 420-425.
14. Bernáth J., *Plants used for the production of stimulants*, [w:] Füleký G. (red.), *Cultivated plants, primarily as food sources*, vol. 2, EOLSS Publishers, Oxford 2009, s. 108-123.
15. Gazzola P., Pavione E., Pezzetti R., Grechi D., *Trends in the Fashion Industry. The Perception of Sustainability and Circular Economy: A Gender/Generation Quantitative Approach*, *Sustainability*, 12, s. 1-19, doi:10.3390/su12072809.
16. Rameshkumar K.B., *Phytochemistry – The Fascinating Chemistry of Plants*, *Science India*, 15, 2012, s. 10-18.
17. World Health Organization, *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations*, Fifty-second report of the WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, World Health Organization, Geneva 2018, <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272452> (stan z dnia 12.06.2021).
18. Olesińska K., Sugier D., Luchowska K., *Rośliny w medycynie, farmacji i przemyśle. Znaczenie gospodarcze roślin leczniczych*, [w:] Maciąg M., Szklarczyk M. (red.), *Rośliny w medycynie, farmacji i przemyśle*, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, Lublin 2016, s. 17-32.
19. Malczyk E., Maciejewicz M., *Znaczenie fitoterapii przy wspomaganiu leczenia otyłości*, *Hygeia Public Health*, 52, 2017, s. 209-216.
20. Liu R.H., *Health-Promoting Components of Fruits and Vegetables in the Diet*, *Advances in Nutrition*, 4, 2013, s. 384-392.
21. Płocharski W., Markowski J., Rutkowski K.P., Konopacka D., *Wartości odżywcze i zdrowotne owoców i warzyw*, 2017, <https://docplayer.pl/104792229-Instytut-ogrodnictwa-wartosci-odzywcze-i-zdrowotne-owocow-i-warzyw.html> (stan z dnia 12.06.2021).
22. Waszkiewicz-Robak B., Świderski F., *Nutraceutyki, dodatki prozdrowotne i bioaktywne składniki żywności*, *Przemysł Spożywczy*, 63, 9, 2009, s. 38-42.
23. World Health Organization, Food and Agriculture Organization, *Vitamin and mineral requirements in human nutrition. 2<sup>nd</sup> ed.* World Health Organization, Geneva 2004, <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42716> (stan z dnia 12.06.2021).
24. Yussif N.M., *Vitamin C*, [w:] LeBlanc J.G. (red.), *Vitamin C – an Update on Current Uses and Functions*, *IntechOpen*, 2018, s. 1-28, doi:10.5772/intechopen.81783.

25. Linster C.L., Van Schaftingen E., *Vitamin C. Biosynthesis, recycling and degradation in mammals*, FEBS J., 274, 2007, s. 1-22.
26. Monfort A., Wutz A., *Breathing-in epigenetic change with vitamin C*, EMBO Rep., 14, 2013, s. 337-346.
27. Schlueter A.K., Johnston C.S., *Vitamin C: Overview and Update*, Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine, 16, 2011, s. 49-57.
28. Varadaraju R., Patel P., *Health benefits of vegetables*, International Journal of Chemical Studies, 7, 2019, s. 82-87.
29. Janda K., Kasprzak M., Wolska J., *Witamina C – budowa, właściwości, funkcje i występowanie*, Pomeranian Journal of Life Science, 61, 4, 2015, s. 419-425.
30. Singh P.K., Rao K.M., *Phytochemicals in Vegetables and Health Protective Effects*, Asian Journal of Agriculture and Rural Development, 2, 2012, s. 177-183.
31. Bienkiewicz M., Bator E., Bronkowska M., *Blonnik pokarmowy i jego znaczenie w profilaktyce zdrowotnej*, Probl Hig Epidemiol, 96, 1, 2015, s. 57-63.
32. Slavin J., Green H., *Dietary fibre and satiety*, Nutrition Bulletin, 32, 2007, s. 32-42.
33. Kunzmann A.T., Coleman H.G., Huang W.Y., Kitahara C.M., Cantwell M.M., Berndt S.I., *Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer and incident and recurrent adenoma in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial*, The American Journal of Clinical Nutrition, 102, 2015, s. 881-890.
34. Platta A., *Rola diety bogato resztkowej w profilaktyce i leczeniu zaparcí, otyłości, cukrzycy i chorób układu sercowo-naczyniowego*, Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, 86, 2014, s. 154-166.
35. Pandey R., *Mineral Nutrition of Plants*, [w:] Bahadur B., Venkat Rajam M., Sahijram L., Krishnamurthy K. (red.), *Plant Biology and Biotechnology Springer*, New Delhi 2015, s. 499-538.
36. Laires M.J., Monteiro C.P., Bicho M., *Role of cellular magnesium in health and human disease*, Frontiers in Bioscience, 9, 2004, s. 262-276.
37. Konturek J.S., *Fizjologia człowieka. Wydanie II*, wyd. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2013, s. 565-754.
38. Chasapis C.T., Loutsidou A.C., Spiliopoulou C.A., Stefanidou M.E., *Zinc and human health: an update*, Archives of Toxicology, 86, 2012, s. 521-534.
39. Aydinalp C., Marinova S., *Concentration of Cu and Zn in some fruits and vegetables grown in North western Turkey*, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 18, 2012, s. 749-751.
40. Bosiacki M., Tyksiński W., *Copper, zinc, iron and manganese content in edible parts of some fresh vegetables sold on markets in Poznań*, J. Elem, 14, 1, 2009, s. 13-22.
41. Kuipers S.E., *Trade in Medicinal Plants*, [w:] Bodeker G., Bhat K.K.S., Burley J., Vantomme P. (red.), *Medicinal plants for forest conservation and healthcare*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome 1997, s. 45-59.
42. Schippmann U., Leaman D.J., Cunningham A.B., *Impact of cultivation and gathering of medicinal plants on biodiversity: global trends and issues*, [w:] *Biodiversity and the Ecosystem Approach in Agriculture, Forestry and Fisheries. Ninth Regular Session of the Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture*, FAO, Rome 2002, s. 142-167.
43. Hassan R.B.A., *Medicinal Plants (Importance and Uses)*, Pharmaceut Anal Acta, 3, 2012, e139, doi.org/10.4172/2153-2435.1000e139.
44. Ekor M., *The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety*, Frontiers in Pharmacology, 4, 2014, s. 1-10, doi:10.3389/fphar.2013.00177.
45. Vorster H.H., Gibney M.J., *Food and Nutrition-Related Diseases: The Global Challenge*, [w:] Gibney M.J., Lanham-New S.A., Cassidy A., Vorster H.H. (red.), *Food and Nutrition-Related Diseases*, Wiley-Blackwell, Chicester 2009, s. 350-359.

46. Mohammed A.H., *Importance of Medicinal Plants*, Research in Pharmacy and Health Sciences, 5, 2019, s. 124-125.
47. Missoun F., Bouabdelli F., Baghdad A., Amari N., Djebli N., *Antidiabetic bioactive compounds from plants*, Medical Technologies Journal, 2, 2018, s. 199-214.
48. Boles A., Kandimalla R., Reddy P.H., *Dynamics of diabetes and obesity: Epidemiological perspective*, Biochimica et Biophysica Acta, 1863, 2017, s. 1026-1036.
49. Li W.L., Zheng H.C., Bukuru J., De Kimpe N., *Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus*, Journal of Ethnopharmacology, 92, 2004, s. 1-21.
50. Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H., Poutanen K., *Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism*, International Journal of Molecular Sciences, 11, 2010, s. 1365-1402.
51. Alkhatib A., Tsang C., Tiss A., Bahorun T., Arefanian H., Barake R., Khadir A., Tuomilehto J., *Functional Foods and Lifestyle Approaches for Diabetes Prevention and Management*, Nutrients, 12, 2017, s. 1-18, doi:10.3390/nu9121310.
52. Ditano-Vázquez P., Torres-Peña J.D., Galeano-Valle F., Pérez-Caballero A.I., Demelo-Rodríguez P., Lopez-Miranda J., Katsiki N., Delgado-Lista J., Alvarez-Sala-Walther L.A., *The Fluid Aspect of the Mediterranean Diet in the Prevention and Management of Cardiovascular Disease and Diabetes: The Role of Polyphenol Content in Moderate Consumption of Wine and Olive Oil*, Nutrients, 11, 2019, s. 1-28, doi:10.3390/nu11112833.
53. Gamboa-Gómez C.I., Rocha-Guzmán N.E., Gallegos-Infante J.A., Moreno-Jiménez M.R., Vázquez-Cabral B.D., González-Laredo R.F., *Plants with potential use on obesity and its complications*, EXCLI Journal, 14, 2015, s. 809-831.
54. Chacko S.M., Thambi P.T., Kuttan R., Nishigaki I., *Beneficial effects of green tea: A literature review*, Chinese medicine, 5, 2010, s. 1-9, doi.org/10.1186/1749-8546-5-13.
55. Boeing H., Bechthold A., Bub A., Ellinger S., Haller D., Kroke A., Leschik-Bonnet E., Müller M.J., Oberritter H., Schulze M., Stehle P., Watzl B., *Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases*, European Journal of Nutrition, 51, 2012, s. 637-663.
56. Teodoro A.J., *Bioactive Compounds of Food: Their Role in the Prevention and Treatment of Diseases*, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 2019, s. 1-4
57. Zhou Y., Li Y., Zhou T., Zheng J., Li S., Li H.B., *Dietary Natural Products for Prevention and Treatment of Liver Cancer*, Nutrients, 8, 2016, s. 1-23, doi:10.3390/nu8030156.
58. Oparil S., Acelajado M.C., Bakris G.L., Berlowitz D.R., Cífková R., Dominiczak A.F., Grassi G., Jordan J., Poulter N.R., Rodgers A., Whelton P.K., *Hypertension*, Nature Reviews Disease Primers, 4, 2018, s. 1-48, doi:10.1038/nrdp.2018.14.
59. Sawicka K., Szczyrek M., Jastrzębska I., Prasał M., Zwolak A., Daniluk J., *Hypertension – The Silent Killer*, Journal of Pre-Clinical and Clinical Research, 5, 2011, s. 43-46.
60. Rafieian-Kopaei M., Setorki M., Doudi M., Baradaran A., Nasri H., *Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes*, International journal of preventive medicine, 5, 2014, s. 927-946.
61. Frostegård J., *Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease*, BMC Medicine, 11, 2013, s. 1-13, doi.org/10.1186/1741-7015-11-117.
62. Ciumărnean L., Milaciu M.V., Runcan O., Vesa S.C., Răchis A.L., Negrean V., Perné M.G., Donca V.I., Alexescu T.G., Para I., Dogaru G., *The Effects of Flavonoids in Cardiovascular Diseases*, Molecules, 25, 2020, s. 1-18, doi.org/10.3390/molecules25184320.
63. Prakash B., Kujur A., Singh P.P., Kumar A., Yadav A., *Plants-Derived Bioactive Compounds as Functional Food Ingredients and Food Preservative*, Journal of Nutrition & Food Sciences, 2, 2017, s. 1-7.
64. Carocho M., Morales P., Ferreira I.C.F.R., *Natural food additives: Quo vadis?*, Trends in Food Science and Technology, 45, 2015, s. 284-295.



65. Campêlo M.C.S., Medeiros J.M.S., Silva J.B.A., *Natural products in food preservation*, International Food Research Journal, 26, 2019, s. 41-46.
66. Lourenço S.C., Moldão-Martins M., Alves V.D., *Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications*, Molecules, 24, 2019, s. 1-25, doi.org/10.3390/molecules24224132.
67. Nunes X.P., Silva F.S., da S. Almeida J.R.G., de Lima J.T., de Araújo Ribeiro L.A., Júnior L.J.Q., Filho J.M.B., *Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products*, [w:] Venketeshwer Rao (red.), *Phytochemicals as Nutraceuticals – Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*, InTech, Rijeka 2012, s. 1-20.
68. Mani-López E., Lorenzo-Leal A.C., Palou E., López-Malo A., *Principles of Sensory Evaluation in Foods Containing Essential Oil*, [w:] Seyed Mohammad Bagher Hashemi, Amin Mousavi Khaneghah, Anderson de Souza Sant’Ana (red.), *Essential Oils in Food Processing*, Chemistry, Safety and Applications, Oxford UK 2018, s. 293-326.
69. Ribeir J.S., *Food Additives: Natural Food Dyes*, Annals of Nutrition & Food Science, 3, 2019, s. 1-2.
70. Eggersdorfer M., Wyss A., *Carotenoids in human nutrition and health*, Archives of Biochemistry and Biophysics, 652, 2018, s. 18-26.
71. Gryszczyńska A., Gryszczyńska B., Opala B., *Karotenoidy. Naturalne źródła, biosynteza, wpływ na organizm ludzki*, Postępy Fitoterapii, 2, 2011, s. 127-143.
72. Kabera J.N., Semana E., Mussa A.R., He X., *Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties*, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2, 2014, s. 377-392.
73. Detlaff G., Samaszko-Fiertek J., Madaj J., Dmochowska B., *Kofeina: właściwości i przykłady wykorzystania*, Wiadomości Chemiczne, 72, 7-8, 2020, s. 527-543.
74. Frischknecht P.M., Urmer-Dufek J., Baumann T.W., *Purine alkaloid formation in buds and developing leaflets of Coffea arabica: Expression of an optimal defence strategy?*, Phytochemistry, 25, 3, 1986, s. 613-616, doi:10.1016/0031-9422(86)88009-8.

## Rośliny jako źródło bioaktywnych związków stosowanych w żywności

### Streszczenie

Rośliny stanowią cenne źródło bioaktywnych związków, w tym metabolitów wtórnych. Można je podzielić na trzy podstawowe grupy: terpenoidy, fenole i alkaloidy. W ubiegłych stuleciach metabolity wtórne uważano za związki o nieistotnym znaczeniu, jednak dzięki współczesnym badaniom odkryto, że substancje te mają podstawową funkcję w interakcjach roślina-środowisko, a dzięki kolejnym badaniom wykryto, że metabolity wtórne wykazują właściwości prozdrowotne dla organizmu człowieka. Niektóre z nich mają jednak również właściwości toksyczne. Związki o właściwościach prozdrowotnych są sukcesywnie wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym (składniki leków), kosmetycznym (składniki perfum, środków pielęgnujących) oraz spożywczym jako dodatki do żywności (środki konserwujące, barwniki, substancje zapachowe i smakowe). W latach współczesnych rola roślinnych metabolitów wtórnych w przemyśle spożywczym systematycznie zwiększa się, gdyż wśród społeczeństwa obserwowana jest tendencja do kupowania żywności z naturalnymi prozdrowotnie działającymi dodatkami.

Słowa kluczowe: grzyby, wartości odżywcze i lecznicze, substancje bioaktywne

## Plants as a source of bioactive compounds used in food

### Abstract

Plants are a valuable source of bioactive compounds, including secondary metabolites. They are divided into three main groups: terpenoids, phenols, and alkaloids. Long ago, they were considered junk compounds, but later, thanks to research, it was discovered that these substances had an essential function in plant-environment interaction, and through further research, it was discovered that secondary metabolites exhibit health-promoting properties for the human body. However, some of them also have toxic properties. Compounds with health-promoting properties are successively used in the pharmaceutical industry (components of drugs), cosmetic industry (components of perfumes, emollients), and food industry as food additives (preservatives, dyes, fragrances, and flavors). Nowadays, the role of these compounds in the food industry is constantly increasing, as there is a tendency among the public for buying food with natural additives.

Keywords: fungi, nutritional and medicinal properties, bioactive substances

## **Analiza praktyk logistycznych dostawcy żywności pochodzenia zwierzęcego**

### **1. Wprowadzenie**

Istotnym elementem działalności dystrybucyjnej żywności pochodzenia zwierzęcego jest sposób dostarczania towaru do klienta. Poziom wykonania tej usługi może mieć znaczący wpływ na bezpieczeństwo dostarczanych wyrobów oraz wpływać pozytywnie lub negatywnie na satysfakcję klienta i decyzję o kontynuowaniu współpracy. Podjęto badania mające ocenić poziom oferowanych usług pod kątem bezpieczeństwa dostarczanych wyrobów, a także zgodności tej części działalności z prawodawstwem żywnościowym.

### **2. Wytyczne dotyczące dostarczania towaru do klienta**

Według wymagań prawnych oraz standardów jakościowych żywność musi zachować pełnie swoich cech jakościowych podczas całego cyklu życia – tj. od wytwórcy, aż do konsumenta. W celu zachowania tych cech producent określa m.in. wymagania co do warunków przechowywania. Zachowanie żywności w dedykowanych warunkach, ochrona przed zanieczyszczeniem poprzez brak nanoszenia zanieczyszczeń, ostrożne obchodzenie się z towarem oraz zabezpieczenie opakowań przed zniszczeniem, a także zapewnienie i zachowanie identyfikowalności to podstawowe wymagania dla dystrybutora żywności – w szczególności żywności pochodzenia zwierzęcego [1-7].

Podstawowym wymogiem prawnym jest zapewnienie i utrzymanie łańcucha chłodniczego tj. przechowywanie i transportowanie żywności w warunkach wskazanych przez producenta na etykiecie. Kolejne wymaganie prawne to zabezpieczenie przed zanieczyszczeniem. To wymaganie realizowane jest poprzez: zabezpieczenie wyładunku i załadunku przed wpływami atmosferycznymi, w tym opadami i temperaturą. Żywność należy też chronić przed kurzem i innymi zanieczyszczeniami fizycznymi poprzez stosowanie szczelnych opakowań, torebek, unikanie towaru bez opakowań, a także stosowanie wózków jezdnych – paletowych i pojemnikowych. Dopuszcza się ciągnięcie dostawy bezpośrednio po chodniku, wtedy, gdy najniższy pojemnik stykających się bezpośrednio z podłożem jest pusty, a haczyk pomagający w takiej operacji jest zaczepiany o pojemnik z towarem szczelnie zapakowanym [8-12].

### **3. Cel badań**

Celem przeprowadzonych badań była weryfikacja praktyk logistycznych stosowanych przez badane hurtownie na wysyłce towaru, w transporcie do klientów oraz na przyjęciu przez klienta, a następnie opracowanie wyników i zaproponowanie działań mających na celu usprawnienie dostaw oraz zwiększenie bezpieczeństwa zdrowotnego i jakości żywności.

---

<sup>1</sup> k\_godlewska@wp.pl.

## 4. Zakres badań

Badania zostały przeprowadzone na terenie Warszawy i okolic i obejmowały cztery hurtownie mięsno-wędliniarskie należące do jednego właściciela. W tekście oznaczono je H1, H2, H3, H4 – co oznacza H1 – hurtownia 1 itd.

Kontrolą objęto 11 tras dystrybucyjnych oraz 170 punktów odbioru. Zakres badań dotyczył stosowanych praktyk w czasie procesu dostawy: przez hurtownie, kierowcę oraz klienta.

## 5. Materiał

Materiałem były wyniki z przeprowadzonych badań na wybranych 11 trasach dostaw. Podczas kontroli sprawdzano poprawność dostaw do Klientów i określano ewentualne niezgodności na wybranych trasach o długości od 37,6 km do 208,4 km i minimalnie od 6 do maksymalnie 26 punktów odbioru. Z każdej hurtowni zostały wyznaczone trasy dostaw, podczas których przeprowadzono audyt posługując się listą sprawdzającą. Weryfikację dostaw przeprowadzono w miesiącach ciepłych od kwietnia do lipca 2020 r. Trasy zostały dobrane tak, by były różnorodne pod względem kilometrów, ilości klientów na trasie oraz by były obsługiwane przez pojazdy wyposażone w GPS połączony z odczytem i rejestracją temperatur.

## 6. Metody

Metodą badawczą, która pozwoliła na zebranie danych i opracowanie wyników była check-lista, którą opracowano specjalnie w tym celu. Zebrane wyniki wprowadzano do arkusza kalkulacyjnego Excell, a następnie wykorzystano narzędzia statystyczne dostępne w tym programie do analizy wyników.

W czasie badań oprócz check-listy prowadzono również pomiary temperatury: produktów na początku dostawy, otoczenia na początku dostawy oraz części załadowczej samochodu na początku i na końcu dostawy. Pomiarów dokonywano w każdym punkcie odbioru przy pomocy sprzętu firmy TESTO – termometru z sondą penetracyjną do żywności lub pirometru bezdotykowego. Mierzona temperatura mogła być obciążona błędem, ponieważ produkty były różnego rodzaju, przez co charakteryzowały się różną przewodnością cieplną. Wyniki temperatury w części załadowczej samochodu mogły nie być dokładnym odzwierciedleniem panujących warunków, ponieważ zależały od odległości punktu pomiaru od agregatu (im bliżej, tym niższa temperatura).

Każda hurtownia uzyskała określony % zgodności, na który składały się oceny z poszczególnych działów. Ustalono następujący zakres punktów dla poszczególnych ocen słownych, których użyto do oceny wyników ogółem i w poszczególnych działach:

- a) 90-100% – ocena wzorowa;
- b) 80-89% – ocena bardzo dobra;
- c) 70-79% – ocena dobra;
- d) 60-69% – ocena limit;
- e) 50-59% – ocena źle;
- f) poniżej 50% – ocena bardzo zła.

### 6.1. Opis narzędzia – check-listy

Check-lista składała się z dwóch części. Pierwsza część zawierała 12 pytań dotyczących ogólnych zagadnień na temat samochodu i kierowcy. Druga część check-listy została podzielona na 7 działów oznaczonych liczbami rzymskimi, które zostały po-

dzielone na następujące działy: zagadnienia ogólne, higiena, towar, temperatura, odbiór towaru, waga i etykieta oraz zwrot towaru. Zagadnienia części drugiej zawierały w sumie 43 pytania i dotyczyły praktyk logistycznych spółki i praktyk higienicznych klientów. Do listy dołączona była tabela do mierzenia i zapisu temperatur otoczenia i części załadunkowej pojazdu oraz informacja na temat panujących warunków atmosferycznych w czasie dostawy i podczas powrotu do hurtowni. Na końcu wyznaczono miejsce na uwagi i obserwacje oraz zaproponowanie działań naprawczych dla danego punktu odbioru.

Wszystkie zagadnienia były punktowane na zero lub jeden punkt, gdzie „0” oznaczało brak spełnienia wymagania, a „1” pełne spełnienie wymagań. Za pierwszą część check-listy można było uzyskać maksymalnie 12 punktów, zaś za drugą 38 lub 43 punkty, jeśli klient dokonał zwrotu towaru.

Podczas audytu listę uzupełniano na bieżąco ręcznie, a następnie w biurze wprowadzono uzyskane wyniki do arkusza kalkulacyjnego Excel, za pomocą którego dokonywano obliczeń.

## 7. Omówienie wyników

Wyniki przeprowadzonego badania zostały podzielone zgodnie z check-listą na dobre praktyki logistyczne: hurtowni, kierowców oraz klientów i w takiej kolejności je omówiono

### 7.1. Dobra Praktyka Logistyczna Hurtowni

Pytania dotyczące dobrej praktyki logistycznej zostały zawarte w drugiej części, w dziale „ogólne zagadnienia”. Wszystkie hurtownie razem uzyskały średnią 82,04%, co dało ocenę „bardzo dobrze”. Najwyższą średnią spośród wszystkich hurtowni objętych audytem uzyskała hurtownia 3, zaś najniższą hurtownia 1. Szczegółowe oceny pokazano w tabeli 1 i 2.

Tabela 1. Wyniki dobrej praktyki logistycznej wszystkich hurtowni warszawskich

Hurtownie razem	[%] spełnienia wymagań
Średnia	82,04
Mediana	81,83
Wartość maksymalna	91,67
Wartość minimalna	75,00

Źródło: opracowanie własne

Tabela 2. Wyniki dobrej praktyki logistycznej w poszczególnych hurtowniach warszawskich z podziałem na działy check-listy

Dział	H1 [%]	H2[%]	H3[%]	H4 [%]
Ogólne zagadnienia	54,93	60,00	60,94	58,56
Higiena	63,05	71,43	57,14	71,43
Towar	94,58	100,00	100,00	100,00
Temperatura	0,00	3,33	0,00	0,00
Odbiór towaru	98,93	98,61	98,81	100,00
Waga i etykieta	73,37	91,67	72,65	76,42
Zwrot towaru	63,12	70,00	61,50	63,44

Źródło: opracowanie własne

Analizując wyniki dobrej praktyki logistycznej hurtowni warszawskich można zaobserwować, iż uzyskana średnia z poszczególnych działów była bardzo podobna. Wskazuje to na stosowanie podobnych praktyk dotyczących postępowania przy transporcie produktów przez wszystkie audytowane hurtownie oraz o istnieniu w nich podobnych procedur. Najgorzej został oceniony dział „temperatura”, której nie kontrolowano ani w hurtowniach, gdy towar wyjeżdżał lub wracał w postaci zwrotów konwojenckich, ani w punktach odbioru. Najlepiej oceniono działy: „towar” oraz „odbiór towaru”. Za pozostałe części check-listy pozyskano najwięcej ocen: „dobrze” lub „limit”.

W czasie prowadzonych badań w każdym kontrolowanym samochodzie znajdowała się „Książka mycia i dezynfekcji samochodu”, w której kierowcy zawsze dokonywali zapisów po każdym wykonanym zabiegu. Do wszystkich ksiąg dołączone były aktualne decyzje PIW (Powiatowej Inspekcji Weterynaryjnej) na środek transportu. We wszystkich badanych pojazdach wentylatory i parowniki (sprzęt do chłodzenia) były czyste. W hurtowniach z wyjątkiem hurtowni 1 samochody były wyposażone w haczyk do ciągnięcia pojemników. Niektóre wózki do przewozu pojemników były zniszczone i pokryte rdzą.

Badani kierowcy wyposażeni byli w odzież ochronną i mieli zachowaną odpowiednią czystość odzieży własnej. Kierowcy deklarowali również uczestnictwo w regularnych szkoleniach dotyczących higieny mycia i dezynfekcji samochodu, a także posiadali aktualną książeczkę do celów sanitarno-epidemiologicznych.

W żadnym samochodzie nie było możliwości rejestrowania temperatury w czasie przewozu. Kierowcy sami wpisywali temperaturę części załadunkowej samochodu do karty temperatur, po odczytaniu jej z termometru znajdującego się w kabinie samochodu. Ze względu na to, że czujnik w samochodach umieszczony był blisko agregatu chłodniczego uzyskana temperatura nie zawsze była wiarygodna.

Czystość samochodów oceniali wizualnie i wybiórczo osoby kontrolujące zgodność wydawanego towaru z dokumentem, nie prowadząc zapisów. Tylko w hurtowni 3 prowadzona była kontrola i zapis czystości części załadunkowej pojazdu przed zapakowaniem towaru.

W czasie prowadzenia badań nie stwierdzono żadnych niezgodności dotyczących pojemników z towarem, które zawsze były czyste i nieuszkodzone. Opakowania produktów posiadały czytelne etykiety.

## **7.2. Dobra Praktyka Logistyczna Kierowców**

Pytania dotyczące dobrej praktyki logistycznej kierowców zostały umieszczone w czterech działach pierwszej check-listy: „ogólne zagadnienia”, „higiena”, „odbiór towaru” oraz „zwrot towaru”. Wszyscy kierowcy razem uzyskali średnią 87,13%, co dało ocenę „bardzo dobrze”. Najwyższą średnią spośród wszystkich hurtowni objętych audytem pozyskali kierowcy hurtowni 2, zaś najniższą kierowcy hurtowni 1. Najlepiej ocenionym działem był „odbiór towaru”, a najmniej punktów kierowcy uzyskali z działu „zwrot towaru”. Zestawione wyniki kierowców pokazano w tabeli 3.

Tabela 3. Wyniki dobrej praktyki logistycznej kierowców hurtowni warszawskich. M – wartość średnia, Me – mediana, Max – wartość maksymalna, Min – wartość minimalna

Hurtownie razem [%]				
Dział	M	Me	Max	Min
Ogólne zagadnienia	87,13	85,01	100,00	0,00
Higiena	86,67	100,00	100,00	0,00
Odbiór towaru	99,39	100,00	100,00	76,92
Zwrot towaru	66,67	100,00	100,00	0,00
Razem	84,97	100,00	100,00	0,00

Źródło: opracowanie własne

Kierowcy zgodnie z dobrą praktyką logistyczną zawsze próbowali podjeżdżać z dostawą jak najbliżej punktu odbioru. W niektórych przypadkach nie mogli zaparkować w pobliżu, ponieważ na drodze samochód-sklep był parking, schody, pas zieleni lub sklep znajdował się na targowisku miejskim. Duża odległość do przejścia z dostawą mogła wpływać na powstanie zagrożenia związanego z negatywnym oddziaływaniem warunków atmosferycznych takich jak: deszcz lub wysoka temperatura otoczenia powodujących przerwanie łańcucha chłodniczego. Podczas otwierania części załadunkowej samochodu kierowcy mieli założone ochronne rękawice robocze.

Żaden z kierowców zatrudnionych w spółce lub w firmach wynajętych nie informował hurtowni o zwrocie towaru podczas dostawy. Wszyscy kierowcy wyznaczyli miejsce na samochodzie dla towaru, który nie spełniał wymagań i wracali do hurtowni ze zwrotami, nie sprzedając ich po drodze.

### 7.3. Dobra Praktyka Logistyczna Klientów

W poniższym rozdziale wszystkie praktyki u klientów opisano łącznie bez dzielenia ich na poszczególne hurtownie. Pytania dotyczące dobrej praktyki logistycznej klientów zostały umieszczone w siedmiu działach II części check-listy. Najwyższą średnią 100,00% i ocenę „wzorowo” klienci uzyskali z części dotyczącej „odbioru towaru”, zaś najniższą 0,83% i ocenę „bardzo źle” z części dotyczącej „temperatury”. Według skali dział „towar” oceniono „wzorowo”, dział „waga i etykieta” na ocenę „dobrze”, a „higienę” i „ogólne zagadnienia” na ocenę „źle”. Dział „zwrot towaru” oceniono na „bardzo źle”. Oceny te zestawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Wyniki dobrej praktyki logistycznej klientów hurtowni warszawskich. M – wartość średnia, Me – mediana, Max – wartość maksymalna, Min – wartość minimalna

Hurtownie razem [%]				
Dział	M	Me	Max	Min
Ogólne zagadnienia	51,48	53,05	100,00	0,00
Higiena	50,08	50,00	100,00	0,00
Towar	97,74	100,00	100,00	53,33
Temperatura	0,83	0,00	16,67	0,00
Odbiór towaru	100,00	100,00	100,00	76,92
Waga i etykieta	77,88	83,82	100,00	13,33
Zwrot towaru	22,57	15,27	50,00	3,85

Źródło: opracowanie własne

W 6,72% punktów odbioru nie było zachowanej czystości. W miejscu przyjęcia dostawy znajdowały się brudne pojemniki z nieświeżym towarem, puste kartony, brudna podłoga i ściany. Źródłem negatywnego oddziaływania na jakość towaru były także prace budowlane w pobliżu sklepów i drogi dostarczania towaru z samochodu do sklepu, przez które w powietrzu unosił się kurz, styropian oraz opadające kawałki tynku. W niektórych punktach odbioru pracownicy sklepów stawiali pojemniki z towarem na brudnej podłodze lub wykładali dostarczone asortymenty bezpośrednio na nią.

Rampa wyładowcza była tylko w 8,37% badanych sklepów. Tylko 3,08% klientów hurtowni 1 zawiesiło w miejscu odbioru towaru instrukcje lub procedury postępowania podczas dostawy. Klienci pozostałych hurtowni nie mieli wywieszonych żadnych instrukcji lub procedur. We wszystkich punktach odbioru był dostęp do bieżącej wody. Zainstalowane umywalki do mycia rąk w niektórych miejscach były bardzo małe, co uniemożliwiało mycie pojemników po wyłożeniu z nich towaru.

Wszyscy pracownicy w punktach odbioru mieli zachowaną czystość odzieży oraz wykazywali się wysokim poziomem higieny. Tylko 1,33% odbiorców hurtowni 1 skontrolowało czystość wewnętrzną samochodu, której jednak nigdzie nie odnotowali. W pozostałych hurtowniach nikt nie oceniał czystości skrzyni załadunkowej pojazdu. W czasie prowadzenia badań nie zauważono, by klienci sprawdzali dokumenty kierowcy.

Brak prowadzenia oceny wizualnej jakości dostarczonego towaru oraz oceny organoleptycznej pojemników zauważono podczas 6,77% dostaw. Odbiorcy uzasadniali takie postępowanie zaufaniem do dostawcy i brakiem wcześniej występujących problemów. W przypadku produktu nie spełniającego wymagań zawsze podejmowane były odpowiednie działania: zwrot towaru i korekta faktury. Tylko hurtownia 2 miała klientów, którzy podczas 16,67% dostaw sprawdzili temperaturę części załadunkowej samochodu, poprzez odczytanie jej ze wskazania na termometrze znajdującym się w kabinie kierowcy. Klienci pozostałych hurtowni nigdy nie sprawdzali temperatury produktów lub części załadunkowej pojazdu. Żaden odbiorca nigdy nie monitorował temperatury produktów, nie sprawdzał jej, ani nie zapisywał. Klienci nie wymagali także od kierowców okazania dokumentów, do których wpisywano temperaturę części załadunkowej samochodu.

Odbiór towaru zawsze odbywał się w miejscu zabezpieczonym przed negatywnym wpływem warunków atmosferycznych. Podczas dostaw produkty były pilnowane przez klientów, w celu eliminacji dostępu osób trzecich. Problemem w niektórych punktach odbioru było czekanie na otwarcie sklepu (nawet do 40 minut). Czas dostarczenia towaru bardzo często wydłużał się z powodu kilku dostaw jednocześnie. Klienci w większości przypadków nie myli zwracanych pojemników i oddawali brudne. Stanowiło to duży problem, szczególnie podczas dostaw, którym towarzyszyła wysoka temperatura otoczenia, gdyż bardzo szybko rozprzestrzeniała się woń osocza lub zepsutego mięsa.

W 64,30% punktach odbioru towar był ważony przez personel sklepu lub poproszonego o to kierowcę, który używał jednorazowych rękawic ochronnych służących wyłącznie w tym celu. W czasie większości dostaw rzeczywista waga produktów była zapisywana przez klientów hurtowni, w pozostałych przypadkach odbiorcy podpisywali fakturę pomijając ważenie towaru. Jeśli waga była niezgodna z informacją na fakturze od razu wypisywano dokument będący podstawą do późniejszego wystawienia korekty w hurtowni. Najczęstszym powodem niezgodności wagi produktów były duże

ilości osocza pozostałego w pojemnikach oraz ciężar folii ochronnej. Termin przydatności do spożycia był najczęściej sprawdzany (w 83,33%) przez klientów hurtowni 2, w pozostałych hurtowniach średnio co trzeci odbiorca monitorował ten wyróżnik.

W czasie prowadzonych badań prawie jedna trzecia klientów zwróciła część towaru. Najwięcej zwrotów (w 50% punktach odbioru) było na trasach hurtowni 2, zaś najmniej (7,48%) na trasach hurtowni 3. Klienci hurtowni 1 oraz hurtowni 4 nie przyjęli części towaru podczas 16,39% dostaw. Główną przyczyną zwrotów były: zbyt krótki termin przydatności do spożycia (z hurtowni wyjeżdżał towar nawet z jednodniowym terminem przydatności do spożycia), brak danego produktu na fakturze, przywiezienie większej ilości towaru niż klient zamówił, nieodpowiedni producent danego produktu lub zła jakość organoleptyczna np. zbyt tłusta karkówka bądź kiełbasa nie mająca zdaniem odbiorcy odpowiedniej barwy. Niektóre zwroty spowodowane były zbyt dużą ilością zmagazynowanego towaru w danym sklepie, co stwierdzono na podstawie rozmowy z klientem. Błędy w ilości zamawianego towaru najczęściej wynikały z nieporozumienia w punkcie odbioru pomiędzy osobą zamawiającą, a osobą odbierającą dostarczane produkty. Na podstawie wywiadu z kierowcami można było stwierdzić, że są klienci, którzy zawsze oddają część towaru. Fakt ten może wskazywać na to, iż specjalnie zamawiają więcej towaru, aby móc wybrać na miejscu ten, który najbardziej spełniał ich wymagania.

#### **7.4. Wyniki dotyczące zachowania ciągu chłodniczego**

W czasie przeprowadzonych badań dokonano pomiarów temperatury: produktów na początku dostawy, części załadunkowej samochodu na początku i na końcu dostawy oraz temperatury otoczenia. Szczegółowe wyniki przedstawiono poniżej w tabeli 5 i 6.

Tabela 5. Skuteczność w dostarczaniu towaru do klienta w określonych przedziałach temperaturowych – w podziale na hurtownie – udział w podziale na przedziały temperaturowe bezpieczne dla wszystkich produktów (0-4°C), bezpieczne dla mięsa czerwonego i wędlin (4-7°C) oraz niebezpieczne dla większości produktów (powyżej 7°C)

Hurtownia	TEMPERATURA PRODUKTU W PUNKCIE ODBIORU [%]		
	< 4°C	4-7°C	> 7°C
Hurtownia 1	55,41	43,24	1,35
Hurtownia 2	83,33	16,67	0
Hurtownia 3	83,78	16,21	0
Hurtownia 4	44,44	55,56	0
Hurtownie razem	66,74	32,92	0,34

Źródło: opracowanie własne

Temperaturę poniżej 4°C podczas dostawy do punktów odbioru miało średnio 66,7% produktów, co według skali wskazywało na ocenę „limit”. Z uwagi na konieczność utrzymania łańcucha chłodniczego oraz zagwarantowanie bezpieczeństwa mikrobiologicznego wynikających z przepisów prawnych i procedur spółki, towar podczas dostawy do klienta zawsze powinien mieć temperaturę poniżej 4°C. Wymagania w stosunku do temperatury dostarczanego towaru najlepiej spełniały: hurtownia 4 i hurtownia 2, zaś najgorzej hurtownia 3. Najwięcej produktów było dostarczanych w zakresie temperatur od 4°C do 7°C. Tylko w jednej hurtowni 1 – 1,35% klientów otrzymało towar mający powyżej 7°C. Zgodnie z informacjami zamieszczonymi na etykietach, odbiorcy nie powinni przyjąć produktów drobiowych, których temperatura wynosiła powyżej 4°C.



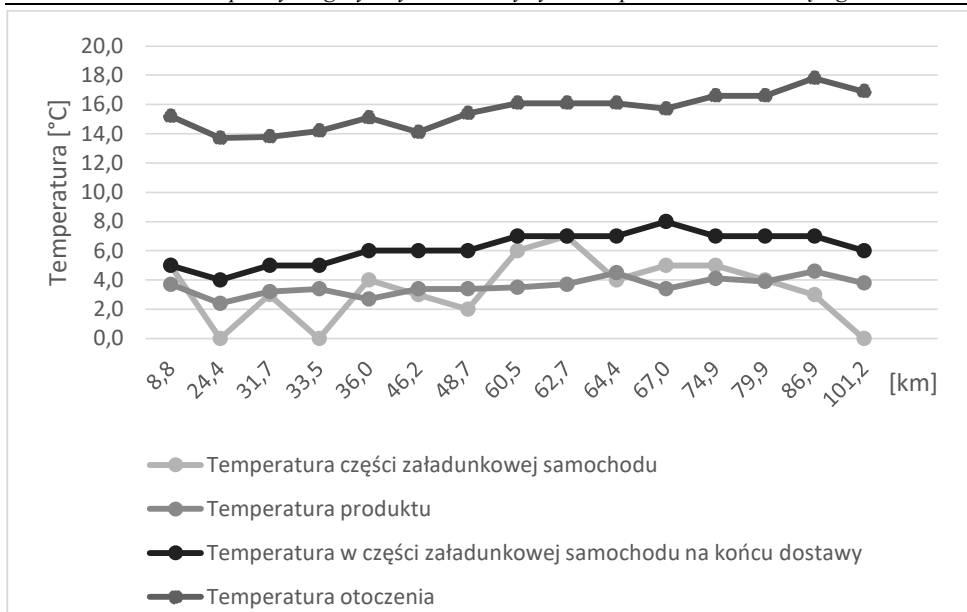
Tabela 6. Wyniki temperatur produktów, otoczenia oraz części załadunkowej samochodu podczas dostaw do klientów dla wszystkich hurtowni

HURTOWNIE RAZEM				
Rodzaj funkcji	Temperatura [°C]			
	części załadunkowej samochodu na początku dostawy	produktu	części załadunkowej samochodu na końcu dostawy	otoczenia
średnia	7,4	5,5	9,1	17,6
mediana	6,8	4,3	9,0	15,5
wartość maksymalna	14,0	7,2	15,0	32,0
wartość minimalna	0,7	-18,9	1,1	4,9

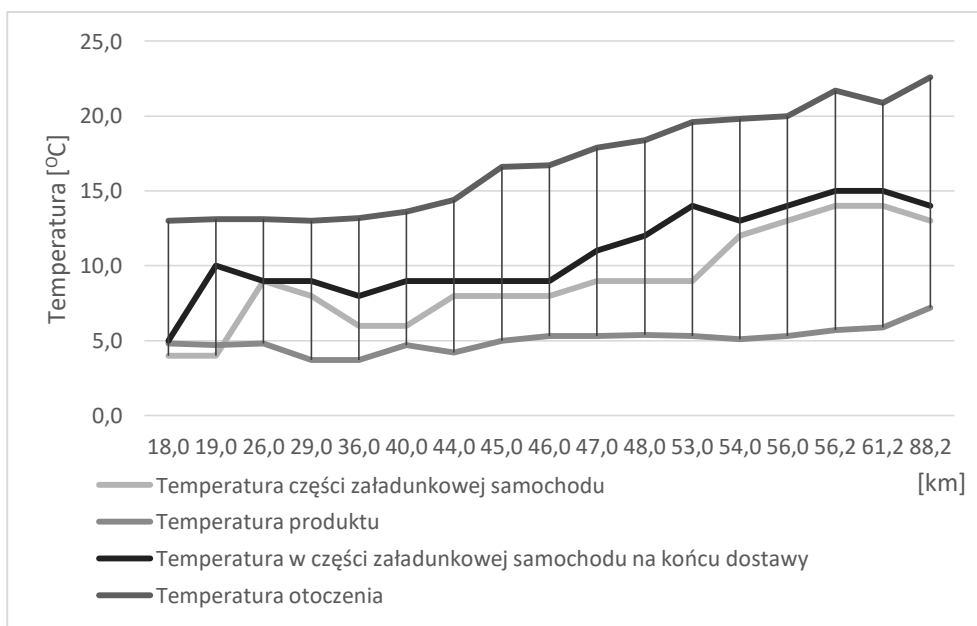
Źródło: opracowanie własne

Średnia temperatura produktów podczas dostawy do klientów wynosiła 5,5°C, zaś mediana 4,3°C. Wartości te przekraczały obowiązkowo wymagane 4°C. Im wyższa była temperatura części załadunkowej samochodu u pierwszego klienta, tym szybciej wzrastała temperatura produktów u kolejnych odbiorców. Dlatego kierowcy powinni jak najszybciej wyjmować towar i zamykać drzwi. Wartości temperatur zależały, także od punktu, w którym je mierzono. Najbliżej agregatu zawsze były najlepsze warunki chłodnicze. Im samochód miał więcej otworów drzwiowych, tym trudniej było utrzymać ciągłość łańcucha chłodniczego. Z powyższych danych wynika, iż towar powinien być segregowany na samochodzie ze względu na rodzaj. Najbliżej agregatu należy ustawiać pojemniki z drobiem, który ma największe wymagania chłodnicze, następnie mięso zwierząt rzeźnych, a najdalej wędliny w opakowaniach.

Temperatura produktów dostarczonych do klientów często przekraczała wymagane 4°C. Jeśli punkty odbioru były blisko siebie to warunki chłodnicze znacznie się pogarszały. Dodatkowym czynnikiem mającym wpływ na problemy z utrzymaniem łańcucha chłodniczego była wysoka temperatura otoczenia. Utrzymanie właściwej temperatury towaru zależało od ilości pojemników na samochodzie, objętości części załadunkowej oraz mocy zainstalowanego agregatu. Duża ilość towaru w części załadunkowej pojazdów utrudniała obieg schłodzonego powietrza, w związku z czym agregaty nie spełniały odpowiednio swoich funkcji. Samochody dostarczające towar miały różne wielkości skrzyni załadunkowych (od 13,31 m<sup>3</sup> do 29,2 m<sup>3</sup>), a zainstalowane na nich agregaty miały moc 1,3 kW lub 1,7 kW. Większość pojazdów posiadała nieszczelne drzwi części załadunkowej, z powodu niekompletnych uszczelek. Ciągły dopływ ciepłego powietrza z otoczenia znacząco podwyższał temperaturę towaru znajdującego się blisko drzwi. Uszczelki w drzwiach powinny być częściej kontrolowane, ponieważ niszczą się podczas ich otwierania i zamykania, a ich szczelność ma duży wpływ na utrzymanie warunków chłodniczych. Szczelna skrzynia załadunkowa znacząco usprawniałaby pracę zainstalowanego agregatu chłodniczego, co mogłoby również wpłynąć na obniżenie kosztów związanych ze zużyciem paliwa na chłodzenie. Różny rozkład temperatur pokazano na wykresach 1 i 2.



Wykres 1. Wykres zależności temperatury od odległości punktów odbioru na trasie najlepiej spełniającej wymagania chłodnicze [opracowanie własne]



Wykres 2. Wykres zależności temperatury od odległości punktów odbioru na trasie najgorzej spełniającej wymagania chłodnicze [opracowanie własne]

Wykresy 1 i 2 przedstawiają zależność temperatury od odległości punktów na trasie najlepiej i najgorzej spełniającej wymagania chłodnicze. Objętość skrzyni załadunkowej samochodu najlepiej i najgorzej utrzymującego niską temperaturę wynosiła odpowiednio 18,08 m<sup>3</sup> i 16,36 m<sup>3</sup> przy mocy agregatu chłodniczy 1,7 kW i 1,3 kW. Samochody

wyruszyły z hurtowni mając podobną temperaturę przestrzeni załadowniczej, ale samochód z większym agregatem zdecydowanie szybciej obniżał temperaturę w czasie transportu. Średnia temperatura skrzyni załadowniczej samochodu z mocniejszym agregatem na początku dostawy wynosiła 3,4°C, zaś drugiego samochodu 9,1°C. Brak szybkiego chłodzenia przestrzeni załadowniczej powodował wzrost temperatury produktów, których średnia na samochodzie spełniającym warunki chłodnicze wahała się od 3,6°C do 5,1°C. Obie trasy cechowała duża ilość blisko położonych punktów odbioru i podobne warunki atmosferyczne (ok. 16°C). Pojazd, w którym temperatura wzrosła bardzo szybko miał nieszczelne drzwi, co było przyczyną ciągłego dostępu ciepłego powietrza atmosferycznego. Dodatkowym utrudnieniem w utrzymaniu ciągłości łańcucha chłodniczego był długi czas załadunku dostawy w hurtowni, przez co produkty podwyższały swoją temperaturę.

Wymagania dotyczące zamontowanego agregatu chłodniczego zależą od wielu kwestii takich jak: grubość ścian materiału izolacyjnego, ilość otworów drzwiowych, ilość towaru, temperatura otoczenia, temperatura części załadunkowej podczas pakowania towaru, początkowa temperatura przewożonych produktów, czas przewozu, odległość punktów odbioru i czas, w jakim drzwi muszą być otwarte. Z tego powodu bardzo ciężko jest podać konkretny wzór na obliczenie mocy agregatu, który zapewniłby utrzymanie odpowiedniej temperatury podczas całej trasy biorąc pod uwagę tylko powierzchnię przestrzeni załadunkowej. Z przeprowadzonych badań wynika jednak, że agregaty o mocy 1,3 kW w porównaniu do 1,7 kW zdecydowanie gorzej spełniały swoją funkcję. Wnioskować można, iż wszystkie samochody powinny mieć agregaty o mocy powyżej 1,3 kW. Niezwykle ważna jest szczelność skrzyni oraz odpowiednia ilość czynnika chłodniczego, które można utrzymać poprzez regularne np. cotygodniowe kontrole stanu technicznego przeprowadzane szczególnie w miesiącach letnich.

## **7.5. Lista najbardziej szokujących praktyk stosowanych przez część klientów na przyjęciu dostawy**

W trakcie prowadzenia badań zaobserwowano zachowania i praktyki bardzo odbiegające od przyjętych standardów higienicznych. Zestawiono je poniżej.

- Pracownicy sklepów wykładali towar z pojemników plastikowych na podłogę, ponieważ twierdzili, że ten sposób sprawdzenia dostarczonego towaru z fakturą jest dla nich wygodny i szybki.
- Towar był układany przez pracowników sklepów lub poproszonych przez nich kierowców hurtowni na podłodze w celu „sprawniejszego” sprawdzenia ilości dostarczonego asortymentu z wykazem pozycji na fakturze.
- W magazynie będącym miejscem przyjęcia dostawy oraz przechowywania produktów w punkcie odbioru chodziły ptaki (gołębie), na które żaden z pracowników sklepu nie zwracał uwagi.
- Przy wejściu do magazynu w punkcie odbioru była strefa zwrotów z pojemnikami, w których znajdowało się nieświeże mięso oraz pozostałości warzyw i owoców o nieprzyjemnym zapachu – gnijącym.
- Mięso świeże bez opakowania ochronnego było przekładane przez kierowcę hurtowni przy użyciu brudnych, materiałowych rękawic roboczych służących do różnych celów, takich jak otwieranie i zamykanie drzwi lub ciągnięcie pojemników

z towarem. Zachowanie to nie przeszkadzało odbiorcom, którzy jak najszybciej chcieli przyjąć towar.

- Pracownicy na przyjęciu dostawy przekładali dostarczony towar do własnych brudnych pojemników, które niekoniecznie przeznaczone były do przechowywania mięsa i przetworów (np. pojemniki do pieczywa znajdujące się bezpośrednio na podłodze).
- W sklepach nie było wyznaczonego miejsca na brudne pojemniki o nieprzyjemnym zapachu, które nigdy nie były myte przez pracowników sklepów i znajdowały się tuż obok pojemników ze świeżym towarem wpływając negatywnie na jego jakość.

## **8. Podsumowanie**

Hurtownie warszawskie są bardzo zróżnicowane pod względem infrastruktury i przystosowania do dystrybucji produktów pochodzenia zwierzęcego.

Kierowcy hurtowni warszawskich byli przeszkoleni przed rozpoczęciem pracy i wiedzę tą wykorzystywali do utrzymywania dobrego kontaktu z klientami. W sporadycznych przypadkach nie przestrzegali oni zasad odpowiedniego postępowania z towarem żywnościowym.

W większości punktów odbioru była zachowana czystość. Miejsca odbioru nie były jednak odpowiednio przystosowane do przyjęcia towaru. Zdecydowana ich większość nie posiadała rampy wyładowniczej oraz osobnego pomieszczenia chłodniczego, które gwarantowałyby utrzymanie łańcucha chłodniczego produktów. Dokładne sprawdzanie wagi było praktykowane tylko przez 66,41% klientów, zaś monitoring terminu przydatności do spożycia przez 42,06%. Odbiorcy prowadzili ogólną ocenę wizualną dostawy. W punktach odbioru nie było osoby, która kiedykolwiek zmierzyłaby temperaturę dostarczanych produktów albo sprawdziła stan czystości samochodu. Praktyki stosowane przez klientów spółki, którym bardzo często najbardziej zależało tylko na czasie skrócenia dostawy, były czasami szokujące. Celem zapobiegania takim sytuacjom należałoby zorganizować szkolenie dla klientów sieci hurtowni oraz specjalne szkolenie dla pracowników działu obsługi klienta i handlowego by również zwracali uwagę klientom w czasie swoich wizyt handlowych.

## **9. Wnioski**

- Z przeprowadzonych badań wynika, że większość badanych punktów odbioru nie przykładała należytej wagi i staranności do higieny w otoczeniu sklepu oraz do zachowania i realizowania Dobrych Praktyk.
- Otoczenie punktów dostawy oraz brak odpowiednich nawyków higienicznych u pracowników sklepów wskazuje na brak wiedzy i umiejętności oraz świadomości w tym zakresie. Powodem prawdopodobnie był brak weryfikacji procesu przyjęcia towaru przez właścicieli sklepów oraz przez Urzędową Kontrolę Żywności (Sanepid).
- Wydaje się, że dla klientów najważniejsza była godzina dostarczenia towaru i długość trwania dostawy. Ważne było również zachowanie odpowiedniej ilości towaru. Temperatura dla większości klientów nie była istotna, co zaskakujące zważywszy, że badania były realizowane w sezonie wiosenno-letnim. Może to świadczyć również o braku należytej staranności w tym obszarze również w trakcie procesu magazynowania i sprzedaży.

- Większość zwrotów konwojenckich dotyczyła nieprawidłowości leżących po stronie hurtowni lub producenta – tj. dużo osocza, krótki termin przydatności do spożycia, za duża ilość towaru.
- Postępowanie kierowców w większości przypadków było zgodne z przyjętymi wymaganiami – notowano nieliczne odstępstwa. Niepokojący jest jednak fakt, że kierowcy na prośbę osób przyjmujących w sklepach łamią zasady GHP, GMP w celu pomocy na przyjęciu towaru.
- Przeprowadzone badania wskazują na niedostatki w zakresie zapewniania bezpieczeństwa żywności na etapie dostarczania towaru do klientów.

## Literatura

1. Godlewska K., *Dobre praktyki w sklepie mięsnym*, Gospodarka Mięsna, luty 2021, s. 14-17.
2. Godlewska K., *Higiena pracowników w sklepie mięsnym*, Gospodarka Mięsna, kwiecień 2021, s. 20-23.
3. Godlewska K., *Wymagania higieniczno-sanitarne względem środków transportu do przewozu mięsa i jego wyrobów*, Rzeźnik Polski 06/131, czerwiec 2010 r., s. 18-20.
4. Godlewska K., *Dobre praktyki w sklepie mięsnym*, Rzeźnik Polski 11/136, listopad 2010 r., s. 18-22.
5. Godlewska K., *Dobra Praktyka Higieniczna w sklepie mięsnym*, Rzeźnik Polski 03/164, marzec 2013r., s. 38-41.
6. Godlewska K., *Dobra Praktyka Sprzedażowa – cz.I.*, Rzeźnik Polski 04/165, kwiecień 2013 r., s. 30-32.
7. Godlewska K., *Dobra Praktyka Sprzedażowa – cz.II.*, Rzeźnik Polski 05/166, maj 2013 r., s. 36-38.
8. Rozporządzenie (WE) Nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29.04.2004 r. w sprawie higieny środków spożywczych. Dz. U. L. 139 z 30.4.2004.
9. Rozporządzeniu (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiającym szczególnie przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego.
10. Godlewska K., *Ocena higieny w sklepach mięsnych na terenie Warszawy, Radomia i Lublina*, [w:] *Przegląd badań z zakresu żywienia i technologii żywności*, Maciąg K., Maciąg M. (red.), Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., Lublin 2019, s. 43-64.
11. Godlewska K., *Niezgodności z kontroli Sanepidów*, Rzeźnik Polski 02/139, luty 2011 r., s. 38-40.
12. Godlewska K., *Podstawy działalności sklepów mięsnych*, Rzeźnik Polski 02/163, luty 2013 r., s. 34-36.

## Analiza praktyk logistycznych dostawcy żywności pochodzenia zwierzęcego

### Streszczenie

Istotnym elementem działalności dystrybucyjnej żywności pochodzenia zwierzęcego jest dostarczanie towaru do klienta. Poziom wykonania tej usługi może mieć znaczący wpływ na bezpieczeństwo dostarczanych wyrobów oraz wpływać pozytywnie lub negatywnie na satysfakcje klienta i decyzję o kontynuowaniu współpracy. Podjęto badania mające ocenić poziom oferowanych usług pod kątem bezpieczeństwa dostarczanych wyrobów i zgodności tego elementu działalności z prawodawstwem żywnościowym.

Według wymagań prawnych oraz standardów jakościowych żywności musi zachować pełnię swoich cech jakościowych podczas całego cyklu życia – tj. od wytwórcy, aż do konsumenta. W celu zachowania tych cech producent określa m.in. wymagania co do warunków przechowywania. Zachowanie żywności w dedykowanych warunkach, ochrona przed zanieczyszczeniem poprzez brak nanoszenia zanieczyszczeń, ostrożne obchodzenie się z towarem oraz zabezpieczenie opakowań przed zniszczeniem, a także zapewnienie i zachowanie identyfikowalności to podstawowe wymagania dla dystrybutora żywności – w szczególności żywności pochodzenia zwierzęcego.

Podstawowym wymogiem jest zapewnienie i utrzymanie łańcucha chłodniczego tj. przechowywanie i transportowanie żywności w warunkach wskazanych przez producenta na etykiecie. Kolejne wymaganie to zabezpieczenie przed zanieczyszczeniem. To wymaganie realizowane jest poprzez: zabezpieczenie wyładunku i załadunku przed wpływami atmosferycznymi, w tym opadami i temperaturą. Żywność należy też chronić przed kurzem i innymi zanieczyszczeniami fizycznymi poprzez stosowanie szczelnych opakowań, torebek, unikanie towaru bez opakowań, a także stosowanie wózków jezdnych – paletowych i pojemnikowych. Dopuszcza się stosowanie ciągnięcia dostawy bezpośrednio po chodniku, wtedy, gdy najniższy pojemnik stykających się bezpośrednio z podłożem jest pusty, a haczyk pomagający w takiej operacji jest zaczepiany o pojemnik z towarem szczelnie zapakowanym.

Celem przeprowadzonych badań była weryfikacja praktyk logistycznych stosowanych przez hurtownie żywności pochodzenia zwierzęcego na etapach: wysyłki towaru, transportu do klientów oraz na przyjęciu przez klienta, a następnie opracowanie wyników i zaproponowanie działań mających na celu usprawnienie dostaw oraz zwiększenie bezpieczeństwa zdrowotnego i jakości żywności.

Słowa kluczowe: logistyka żywności, przemysł mięsny, temperatura chłodnicza

## **The analyse of the logistic practices in supplier meat and meat products**

### **Abstract**

The main source of animal origin distribution activity is the delivery of goods to the customer. The level of performance for this service may affect the copies delivered and the services provided by the customer and collaboration services. Research was undertaken to assess the quality of services offered in terms of the safety of the products supplied and compliance of this element of activity with food legislation.

Amendments to the regulation and regulation of the quality of its products, which must be met by the changes, fully change the quality of life – i.e. from the producer to the consumer. In order to maintain these characteristics, the manufacturer specifies, among others storage requirements. Preserving food in targeted conditions, protection against contamination by inhibiting abuse, Care waking up with the goods and ensuring protection against preservation, as well as ensuring and ensuring the availability of food for the procedure for the distributor – in particular food of animal origin.

The basic security is the provision and maintenance of maintenance, i.e. Accounts and transport in food products for producers on the label. Another requirement to do before contaminated. This requirement is carried out by: unloading and prior to loading the influences on the influences, including precipitation and temperature. Due to the fact that it is packaging, packaging, no goods without packaging, as well as other mobile packaging – pallet and compression. It is allowed to draw supplies directly on the sidewalk, then when standing the office in direct contact with the opening is empty, the hook that helps in such an activity is leading to the consignment with the container with the connection.

In order for research to be carried out to obtain an overtake commodity, a supply of food could be acquired, and then stockpiled and proposed procedures could be carried out to improve the delivery and delivery of food and food.

Keywords: food logistic, meat industry, cooling temperature

## Wybrane olejki eteryczne stosowane w medycynie i kosmetologii

### 1. Wprowadzenie

Rośliny są bogatym źródłem związków chemicznych, tj. metabolitów pierwotnych i wtórnych, które są powszechnie używane do produkcji leków, kosmetyków i środków czystości. W związku z ciągłym rozwojem medycyny, nauk chemicznych, przemysłu kosmetycznego oraz wzrostem zapotrzebowania na środki higieny, wykorzystanie substancji czynnych pochodzenia roślinnego zaczęło odgrywać coraz większą rolę. Kosmetyki to niezbędne środki naszego codziennego życia. Obecnie obserwuje się stały wzrost zainteresowania zarówno kosmetykami jak i produktami leczniczymi pochodzenia naturalnego [1-3]. Olejki eteryczne stanowią ważną grupę metabolitów wtórnych roślin, które powstają na skutek zachodzących w roślinie procesów życiowych. Wytwarzane są w różnych organach roślinnych, tj. korzeniach, kłączach, liściach, kwiatach, owocach, nasionach oraz cebulach i zlokalizowane są w tworach egzogennej lub endogennej tkanki wydzielniczej. Olejki eteryczne były cenionymi składnikami leków i kosmetyków starożytnych Greków i Rzymian, a także ludów Dalekiego i Środkowego Wschodu [3-6].

### 2. Cel pracy

Celem niniejszej pracy było przedstawienie charakterystyki wybranych olejków eterycznych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym i przeciwzapalnym. Ponadto w niniejszej pracy ukazano zastosowanie wtórnych metabolitów roślin, jakimi są olejki eteryczne w lecznictwie i kosmetologii.

### 3. Olejki eteryczne – charakterystyka i właściwości

#### 3.1. Co to są olejki eteryczne?

Olejki eteryczne (EO) są heterogenną grupą zazwyczaj lotnych substancji chemicznych o charakterystycznym zapachu. Ich skład jest bardzo różnorodny, gdyż mogą zawierać nawet ponad 2000 substancji. Pod względem chemicznym są mieszaniną wielu związków i dzielą się na olejki terpenowe, w skład których wchodzi

---

<sup>1</sup> magdalena.walasek@up.lublin.pl, Katedra Warzywnictwa i Zielarstwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Doświadczalna 50A, 20-280 Lublin, <https://www.up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> malgorzata.kusmierz@op.pl, Międzywydziałowe Koło Naukowe „Planta Medica”, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://www.up.lublin.pl/>.

<sup>3</sup> ewa.zalewska@up.lublin.pl, Katedra Warzywnictwa i Zielarstwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Doświadczalna 50A, 20-280 Lublin, <https://www.up.lublin.pl/>.

<sup>4</sup> grazyna.zawislak@up.lublin.pl, Katedra Warzywnictwa i Zielarstwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Doświadczalna 50A, 20-280 Lublin, <https://www.up.lublin.pl/>.

<sup>5</sup> robert.gruszecki@up.lublin.pl, Katedra Warzywnictwa i Zielarstwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Doświadczalna 50A, 20-280 Lublin, <https://www.up.lublin.pl/>.

monoterpenowe, seskwiterpenowe i diterpenowe oraz olejki nieterpenowe, zawierające zwłaszcza substancje będące pochodnymi fenylopropanu. Do najbardziej znanych związków chemicznych, które wchodzi w skład olejków należą m.in. estry, ketony, aldehydy, alkohole, fenole, laktony i tlenki. Obecnie znanych jest około 300 różnych typów olejków. Ich skład chemiczny może być bardzo zróżnicowany, bowiem w jednym olejku może znajdować się od 20 nawet do 400 różnych komponentów, ale dominujący jest zazwyczaj jeden składnik, który nadaje EO charakterystyczny zapach. Ponadto ich skład może być zróżnicowany zarówno pod względem ilościowym jak i jakościowym, na co wpływa wiele różnych czynników. Wśród nich bardzo ważna jest przede wszystkim metoda pozyskiwania, następnie warunki, metoda i rejon uprawy ziół, dojrzałość rośliny, termin i pora dnia zbioru oraz sposób suszenia surowca roślinnego. Olejki eteryczne są substancjami ciekłymi, oleistymi, mazistymi (tylko niektóre mogą z czasem się zestalić, czego przykładem jest olejek anyżowy – *Anisi oleum*). Świeże olejki eteryczne zazwyczaj są bezbarwne, ale z czasem ulegają utlenieniu i mogą być żółtawe, lekko brunatne, zielonkawe czy niebieskie – jak jest w przypadku olejków, których głównym składnikiem jest azulen. Dlatego też powinny być przechowywane w niskiej temperaturze w specjalnych, szczelnie zamkniętych pojemnikach wykonanych ze szkła oranżowego. Olejki eteryczne są substancjami rozpuszczalnymi w alkoholu etylowym, eterze i olejach, a nierozpuszczalnymi w wodzie [1, 3, 7-11].

Olejki eteryczne uzyskuje się różnymi metodami m.in. poprzez tłoczenie na zimno, hydrodestylację, destylację z parą wodną lub poprzez ekstrakcję odpowiednio dobranym rozpuszczalnikiem. Niektóre olejki pozyskuje się również poprzez ekstrakcję przy zastosowaniu tłuszczu [7, 10, 12, 13].

Bogaty i zróżnicowany chemicznie skład EO decyduje o ich wielokierunkowej aktywności biologicznej. Zazwyczaj dominującymi składnikami są terpeny, które wykazują m.in. działanie przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe (przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwprątkowe), antyseptyczne, przeciwwirusowe, rozgrzewające oraz relaksująco-uspokajające. Ze względu na przyjemny zapach EO wykorzystywane są w aromaterapii, są składnikami płynów pielęgnujących, kremów, balsamów, mydeł, szamponów. Szczególnie ważne dla kosmetologii jest występowanie w olejkach związków azulenowych i tymolowych, bowiem wpływają one na możliwość wykorzystania ich w różnego rodzaju infekcjach skóry, a ponadto działają wspomagająco w korygowaniu blizn i cellulitu [9, 14].

## 3.2. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych

### 3.2.1. Aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza

Właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze EO potwierdzają liczne badania, a szczególnie te które dotyczą oddziaływania olejków na wzrost i rozwój kolonii bakterii i grzybów chorobotwórczych dla człowieka m.in. dla gatunków takich jak: *Candida albicans*, *C. rugosa*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oryzae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* oraz *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Saccharomyces* spp. i *Fusarium* spp. [6, 15-18]. Przykładem olejku o szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego jest olejek eukaliptusowy otrzymywany z *Eucalyptus globulus*. Wykazuje on działanie zarówno bakteriobójcze jak i bakteriostatyczne wobec



szczepów bakterii izolowanych bezpośrednio od pacjentów z infekcją górnych dróg oddechowych, w tym wobec *Haemophilus influenzae*, *H. parainfluenzae* oraz *Stenotrophomonas maltophilia* i *Streptococcus pneumoniae* [19]. Innym przykładem wykorzystania działania antybakteryjnego olejków eterycznych jest zastosowanie ich w celu ograniczenia wzrostu bakterii w jamie ustnej odpowiedzialnych za rozwój próchnicy. W badaniach Jeong i in. [20] wykazano, że zastosowanie roztworu nanoemulsji olejku cytrynowego hamuje dojrzewanie wielogatunkowych biofilmów w jamie ustnej oraz namnażanie się kwaśnych bakterii odpowiedzialnych za rozwój próchnicy. Dlatego też badania te wskazują na możliwość zastępowania tradycyjnych antybiotyków i syntetycznych związków o działaniu przeciwbakteryjnym substancjami antybakteryjnymi pochodzenia roślinnego.

Działanie przeciwdrobnoustrojowe EO jest wykorzystywane także w produkcji kosmetyków, ponieważ bardzo ważnym aspektem wszystkich preparatów kosmetycznych jest ich czystość mikrobiologiczna. Odpowiednie procedury produkcji kosmetyków, nowe technologie i dobrane opakowania zapewniają zachowanie czystości i stabilności kosmetyków. Jednakże do kontaminacji kosmetyków różnymi drobnoustrojami dochodzi zazwyczaj po ich otwarciu. Zanieczyszczeniami mogą być zarówno bakterie jak i grzyby znajdujące się w otaczającym nas środowisku. Mikroorganizmy te mogą doprowadzać do rozkładu preparatów kosmetycznych, tj. zawartych w nim związków biologicznie czynnych i substancji odżywczych, zmiany zapachu, koloru czy konsystencji. Ponadto zanieczyszczenie kosmetyku powoduje skrócenie jego przydatności terapeutycznej [1, 6, 21, 22]. W związku z powyższym produkty te zawierają związki konserwujące, których zadaniem jest zahamowanie rozwoju drobnoustrojów, co prowadzi do ograniczenia ilości wytwarzanych przez nie toksycznych metabolitów wtórnych. Zarówno mykotoksyny jak i produkty przemiany bakterii, mogą mieć właściwości chorobotwórcze dla człowieka i prowadzić do pojawienia się różnych zmian chorobowych skóry i błon śluzowych [23, 24]. Jednakże chemiczne środki konserwujące stosowane w kosmetykach mogą same wywoływać działania niepożądane, takie jak: trądzik, przebarwienia i stany zapalne skóry oraz powodować kontaktowe reakcje alergiczne [24-26]. Z tego też względu EO, dzięki swoim właściwościom przeciwdrobnoustrojowym i antyseptycznym, znalazły zastosowanie w kosmetykach jako naturalne komponenty konserwujące. Olejki eteryczne stosowane jako konserwanty są bezpieczne, zazwyczaj dobrze tolerowane, nie wykazują toksyczności, a dodatkowo często charakteryzują się przyjemnym zapachem. Ponadto działają oczyszczająco, odświeżająco i łagodząco na skórę. Ich działanie konserwujące potwierdzono licznymi badaniami naukowymi, z tego też względu stanowią dobrą alternatywę dla syntetycznych substancji konserwujących [6, 24]. W badaniach Sieradzkiej i Milnerowicz [27] wykazano, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa wielu olejków eterycznych i wyciągów roślinnych często przewyższa działanie sztucznych konserwantów, co pozwala na częściowe lub całkowite wykluczenie ostatnich ze składu kosmetyków. Ponadto w badaniach wykazano również, że stężenie 2,5% olejków eterycznych oraz stosowanie mieszaniny olejków wykazuje znacznie większą skuteczność aniżeli syntetyczne konserwanty [27, 28].

### 3.2.2. Aktywność przeciwpłątkowa

Rośliny i surowce z nich pozyskane wykazują różnorodne działanie, wśród nich występują także takie, których metabolity wtórne posiadają aktywność przeciwpłątkową. *Mycobacterium tuberculosis* są to prątki, które wywołują gruźlicę, jednak obecnie uzyskały one odporność niemal na wszystkie znane i stosowane środki przeciwdrobnoustrojowe. Dlatego też niezmiernie ważne jest poszukiwanie nowych substancji mogących mieć zastosowanie w leczeniu i zapobieganiu gruźlicy. W badaniach przeprowadzonych przez Jayapal i in. [29] zostało ocenione działanie olejku eterycznego otrzymanego metodą destylacji wodnej z liści *Ocimum sanctum* L. wobec dziewięciu izolatów klinicznych *M. tuberculosis*. Badanie wykazało skuteczność analizowanego olejku eterycznego wobec wszystkich izolatów klinicznych. Skuteczność na poziomie MIC = 9,52 µg ml<sup>-1</sup> (ang. *minimum inhibitory concentration* – najmniejsze stężenie środka biobójczego) wobec szczepu prątków *M. tuberculosis* wykazał także olejek eteryczny pozyskany z łodyg *Cordia batesii* L. [29, 30].

### 3.3. Aktywność przeciwwirusowa

W ostatnich latach, szczególnie ze względu na małą ilość preparatów przeciwwirusowych oraz na możliwość wystąpienia tzw. oporności na preparaty przeciwwirusowe prowadzone są badania nad wykorzystaniem ekstraktów roślinnych i olejków eterycznych pozyskiwanych z roślin w ograniczaniu chorób wirusowych. Wśród dostępnych danych literaturowych najwięcej informacji dotyczących możliwości ograniczania chorób wirusowych dotyczy czynników chorobotwórczych powodujących opryszczkę, do których należą wirusy z grupy herpes, tj. HSV-1 i HSV-2. Są to przede wszystkim badania *in vitro*, w których określano wartość IC<sub>50</sub> (*inhibitory concentration*), tj. parametru oznaczającego zahamowanie przez badany olejek eteryczny rozwoju wirusa o 50%. Zazwyczaj olejki eteryczne bada się w szerokim zakresie stężeń, wynoszącym od 0,00001 do 0,1%. Mechanizm działania przeciwwirusowego nie jest do końca jeszcze poznany ale przypuszcza się, że olejki eteryczne niszczą powłokę strukturalną wirusa, która otacza związki potrzebne do absorpcji komórek gospodarza. Ponadto wykazano, że działanie hamujące w odniesieniu do wirusa opryszczki zwykłej – HSV (ang. *human simplex virus*), następuje jeszcze przed lub w trakcie absorpcji, ale już nie po dostaniu się wirusa do komórek gospodarza. Jednym z dobrze przebadanych olejków w stosunku do wirusów z grupy herpes, tj. HPV-2 (ang. *human papilloma virus*) jest olejek melisowy. Ponadto działanie przeciwwirusowe wykazano również dla olejku uzyskanego z szałwii. Główny składnik tego olejku – izoborneol oraz inne monoterpeny wchodzące w skład tego olejku, tj. 1,8-cyneol i tujon, powodowały inaktywację wirusa brodawczaka ludzkiego podtyp 1 – HPV-1 poprzez interakcję z lipidami kapsydu oraz zahamowanie replikacji i procesu glikozylacji polipeptydów wirusa [31, 32]. Wśród roślin, z których pozyskane olejki eteryczne, również wykazują działanie przeciwwirusowe w stosunku do wirusów z grupy herpes wymienia się *Juniperus oxycedrus* (jałowca kolczastego), *Cedrus libani* (cedr libański), *Artemisia douglasiana* (kąkol kalifornijski), *Aloysia gratissima* i *Eupatorium patens* [33, 34].

Naukowo zostały również potwierdzone właściwości przeciwwirusowe, w stosunku do wirusów z grupy herpes olejków goździkowego, herbacianego i eukaliptusowego [35-37].

### 3.4. Działanie przeciwzapalne

Bardzo ważną cechą niektórych EO jest ich aktywność przeciwzapalna i immunoregulacyjna. Wykazano bowiem, że po podaniu doustnym, mogą one hamować syntezę mediatorów procesów zapalnych i reakcji obronnych organizmu [3, 38]. Jednym ze znanych, najstarszych, olejków eterycznych wykazującym takie właściwości jest olejek imbirowy. Na podstawie badań Funka i in. [39] wykazano, że za takie oddziaływanie odpowiedzialne są związki fenolowe występujące w olejku, które nadają mu charakterystyczny smak. Związki te, tj. gingerole, wykorzystywane są w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS). Eksperymentalnie wykazano, że po podaniu samicom szczurów olejek ten powodował zmniejszenie intensywności oraz częstotliwość występowania objawów [39]. Podobnie również w licznych badaniach *in vitro* i *in vivo* wykazano, że terpenowe składniki EO, zarówno mono-, jak i seskwiterpeny, wykazują właściwości przeciwzapalne i immunoregeneracyjne [38, 40]. Wyniki badań EO stosowanych w medycynie chińskiej wskazują, że regulują one poziom cyklooksygenazy (COX) oraz indukują syntezę tlenku azotu (iNOS) i różnych cytokin pojawiających się w procesie zapalnym. Eksperymentalnie wykazano również, że monotereny: germakren D,  $\alpha$ -bisabolol, trans-nerolidol, farnesol, D-limonen, terpinen i  $\beta$ -karofylen oraz octan cytronelolu były bardzo efektywne i obniżały aktywność enzymu 5-lipooksygenazy (5-LOX), biorącego udział w procesie zapalnym. Natomiast słabszym oddziaływaniem względem tego enzymu charakteryzowały się terpeny, takie jak  $\alpha$ -pinen oraz octan geranylu [41, 42].

Ponadto na podstawie badań *in vitro* (model myszy) wykazano również właściwości immunoregulujące EO. Właściwości takie wykazały olejek lawendowy i herbaciany. Pierwszy z nich wzmacniał odporność poprzez stymulację wytwarzania przeciwciał, nasilenie angiogenezy w śledzionie oraz zwiększenie ilości i aktywności granulocytów. Ponadto eksperymentalnie wykazano również, że olejki te stosowane w terapii osób cierpiących na bakteryjne infekcje dróg oddechowych powodowały złagodzenie objawów chorobowych [41-43].

Najnowsze doniesienia literatury wskazują, iż olejki eteryczne mają coraz większe zastosowanie w wielu dziedzinach życia człowieka. Według badaczy Aungtikun i Soonwera [44] EO otrzymane z roślin z rodzaju *Cinnamomum* spp. wykazują dużą skuteczność w walce z dorosłymi osobnikami komarów (*Aedes aegypti* i *A. albopictus*). Badacze wykorzystali olejki z kory *Cinnamomum verum*, *C. cassia*, *C. loureiroi* a także wyizolowali ich główny składnik, czyli aldehyd cynamonowy. Doświadczalnie wykazano, iż zarówno olejki eteryczne jak i ich pojedynczy składnik mogą być skutecznie stosowane do walki z dorosłymi osobnikami komarów. Ponadto, mieszanina olejków składająca się z 2,5% *C. verum*, 2,5% *C. cassia* i 1% aldehydu cynamonowego, miała największą aktywność owadobójczą, gdzie śmiertelność wyniosła 100%. Przeprowadzone badania wskazują, że zarówno aldehyd cynamonowy jak i mieszanina olejków eterycznych otrzymanych z roślin rodzaju *Cinnamomum* spp. mogą być stosowane jako skuteczne środki owadobójcze [44].

Bardzo interesujące jest wykorzystywanie olejku eterycznego otrzymanego z *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietsw. jako sensorycznego dodatku do pasz dla wszystkich zwierząt. Dodatek ten jest stosowany w celu aromatyzacji pożywienia i zgodnie z najnowszymi badaniami jest bezpieczny dla zwierząt [45].

Równie ważnym aspektem użycia EO jest możliwość ich wykorzystania w ochronie roślin, zarówno jako insektycydów, fungicydów jak też herbicydów. Jak wykazały badania Tworkoskiego [46] olejki: cynamonowy, goździkowy, tymiankowy oraz uzyskany z cząbrzu ogrodowego, w warunkach laboratoryjnych powodowały obumarcie tkanek kilku gatunków pospolitych chwastów. W powyższych badaniach olejek cynamonowy wykazywał najwyższą aktywność szczególnie w stosunku do pospolitego chwastu, jakim jest mniszek lekarski [46]. Ustalono, że główny komponent eugenol, który stanowi 84% tego olejku, odznaczał się silnymi właściwościami chwastobójczymi. Wysoce aktywne w ograniczaniu kiełkowania chwastów jak i wzrostu siewek są olejki eteryczne roślin należących do rodziny *Lamiaceae*, co jest bardzo ważne zarówno dla upraw konwencjonalnych jak i ekologicznych [47, 48].

Kolejnym bardzo ważnym aspektem działania olejków eterycznych jest możliwość wykorzystania ich jako ekologicznych – naturalnych środków ochrony roślin. Substancje te mogą być wykorzystywane nie tylko jako naturalne fungicydy i insektycydy w walce z fitofagami, ale również jako herbicydy ograniczające występowanie określonych gatunków chwastów na plantacjach ziół [49, 50-54].

### 3.5. Przegląd wybranych olejków eterycznych

#### 3.5.1. Olejki cytrusowe

Spośród olejków pozyskiwanych z roślin cytrusowych za najcenniejsze uznaje się pomarańczowy, cytrynowy, grejpfrutowy i bergamotowy. Olejki te pozyskuje się w wyniku tłoczenia na zimno owocni oraz metodą destylacji z parą wodną kwiatów i młodych gałązek drzew i krzewów cytrusowych. Olejki te charakteryzują się bardzo silnym działaniem pobudzającym i odświeżającym co jest wykorzystywane przy poczuciu apatii, rozbicia i braku motywacji do działania [55]. Pierwsze wzmianki o właściwościach leczniczych i zastosowaniu owoców cytrusowych pochodzą z 1732 roku, w którym to nastąpiło odkrycie leczniczych właściwości cytrusów przeciwko skorbutowi. Początkowo uprawę drzew cytrusowych prowadzono w Chinach, stąd też kraj ten uważany jest za ich praojczyznę. Z Chin jeszcze p.n.e. uprawa drzew cytrusowych rozszerzyła się do Persji i Palestyny, a następnie do Północnej Afryki, Grecji, Włoch. W połowie XVIII w. pierwsze plantacje pojawiły się w Kalifornii i Brazylii. Początkowo owoców cytrusowych używano tylko w perfumerii, a następnie w przemyśle spożywczym. Olejki te charakteryzują się specyficznym, świeżym zapachem [55, 56].

Obecnie jednym z najpopularniejszych olejków cytrusowych stosowanych w kosmetologii oraz aromaterapii jest olejek grejpfrutowy. Olejek ten jest otrzymywany z owocni grejfruta (*Citrus paradisi* L.), który pochodzi z Indii. Pierwszy opis rośliny ukazał się w 1715 roku, a jego nazwa pochodzi od słów *grape* – grono i *fruit* – owoc, co związane jest z wyglądem grona owoców zawieszonych na drzewie [55]. Olejek grapefruitowy jest żółtą lub różową (izraelski) cieczą pozyskiwaną metodą tłoczenia na zimno. Olejek ma świeży cytrusowy, gorzko słodki zapach z nutą gorzkiej pomarańczy. W skład olejku wchodzi – w części lotnej limonen (80-95%), mircen (0,8-2%),  $\alpha$ -pinen (0,2-1,6%),  $\gamma$ -terpinen (0,1-0,8%). Charakterystyczny zapach olejku pochodzi przede wszystkim od aldehydów alifatycznych, tj. oktanalu, nonanalu, dekanalu, undekanalalu i dodekanalu oraz pochodnych tlenowych monoterpenów, cytronellalu, neralu, geranialu, aldehydu perillowego oraz  $\alpha$ -,  $\beta$ -sinensalu i notkatonu. Gorzki smak olejku

pochodzi również od notkatonu. Zróźnicowanie składu chemicznego warunkuje jego szerokie zastosowanie, bowiem wykazuje działanie tonizujące, przeciwdepresyjne, przeciwbólowe i moczopędne. Wskazany jest również przy bólach migrenowych, ponadto pomaga w walce z nadwagą i cellulitem [56]. Jak wykazały badania Viuda – Martos i wsp. [57] olejek ten charakteryzuje się właściwościami przeciwrzybiczymi, bowiem spośród badanych olejków cytrusowych najsilniej ogranicza wzrost grzybów z rodzaju *Penicillium*, tj. *P. chrysogenum* i *P. verrucosum*. Natomiast w badaniach Deng i wsp. [58] olejek wykazał wysoką skuteczność bakteriobójczą i grzybobójczą w stosunku do badanych bakterii i grzybów.

### 3.5.2. Olejek lawendowy

Surowcem zielarskim, będącym źródłem olejku lawendowego są świeże lub suszone wierzchołki kwitnących roślin lawendy, pochodzących z upraw oraz ze stanu naturalnego. Głównymi producentami olejku lawendowego są Francja i Bułgaria [55].

Rodzaj *Lavandula* sp. obejmuje ponad 30 różnych gatunków oraz wiele odmian i hybryd. Lawenda wąskolistna *Lavandula angustifolia* Mill. (*L. officinalis* Chaix lub *L. vera*), nazywana zwyczajowo lawendą lekarską ma największe znaczenie w pozyskiwaniu olejku. Z uwagi na unikalną aktywność biologiczną olejku lawenda lekarska należy do najczęściej uprawianych roślin z rodzaju *Lavandula* sp. [59]. Świeże kwiaty zawierają 1,5% olejku eterycznego, a suszone 2,9%. Głównymi składnikami olejku z polskiej lawendy są linalol (27-35%), octan linalilu (14-22%), octan lawandulilu (4-6%),  $\alpha$ -terpineol (2-5%),  $\beta$ -kariofilen (1-5%), (Z)- $\beta$ -ocymen (1-4%), octan okt-1-en-3-ylu (1-4%), terpinen-4-ol (1-3%), octan geranylu (1-3%) [55]. Natomiast dominującymi składnikami olejku destylowanego z liści są: epi- $\alpha$ -kadinol (17,8%), krypton (10,4%), 1,8-cyneol (7,3%) i tlenek kariofilenu (7,2%). Skład jakościowy i ilościowy olejku lawendowego jest zmienny i uwarunkowany ontogenezą rośliny [60].

W literaturze wspomina się również o olejku lawandynowym i spikowym. Olejek lawandynowy pozyskiwany jest z krzyżówki lawendy wąskolistnej i lawendy szerokolistnej (spiki). Mieszaniec ten charakteryzuje się bujnym wzrostem i dużą plennością. Ponadto jest bardzo wytrzymały na suszę i mróz. Głównymi składnikami olejku lawandynowego są linalol (20-40%), octan linalilu (15-30%), 1,8-cyneol (5-15%) i kamfora (5-15%) [55].

Olejek spikowy jest otrzymywany z wysuszonego ziela lawendy szerokolistnej, która jest krzewem wysokości 90 cm o owłosionych, łopatkowatych liściach i niebieskofioletowych kwiatach zebranych na szczytach łodyg w luźne nibykłosy. Głównymi składnikami olejku są linalol (25-45%), 1,8-cyneol (25-35%) i kamfora (10-25%). Związki te razem z lawandulolem oraz octanem linalilu i lawandulilu nadają olejkowi nutę zapachową kwiatowo-kamforową [55].

Jednak najcenniejszym olejkiem, mającym najszerze zastosowanie jest olejek lawendowy [55]. W aromaterapii zaleca się stosowanie tylko i wyłącznie czystego, naturalnego olejku lawendowego [56]. Z 1 tony surowca otrzymuje się dwukrotnie mniej olejku lawendowego niż spikowego i trzykrotnie mniej niż lawandynowego. Podobnie kształtują się ceny. Olejek lawendowy jest dwukrotnie droższy od spikowego i trzykrotnie od lawandynowego [55]. To wyjaśnia, dlaczego próbuje się wprowadzać na rynek olejek lawandynowy i spikowy jako zamienniki dla olejku lawendowego.

Olejek lawendowy znalazł zastosowanie w lecznictwie. Stosowany jest w terapii zaburzeń snu, w zaburzeniach żołądkowych, w reumatyzmie i migrenie. Ponadto, pobudza wydzielanie żółci i działa ochronnie na wątrobę, a także przeciwbólowo, rozkurczowo i moczopędnie. Olejek jest używany do inhalacji w depresji, w stanach napięcia nerwowego, bezsenności oraz w zakażeniach dróg oddechowych. W przeprowadzonych badaniach laboratoryjnych wykazano, iż wśród ocenianych bakterii Gram-ujemnych największą wrażliwość na olejek lawendowy wykazały *Bacteroides vulgatus* i *B. uniformis*. Olejek odznaczał się również aktywnością wobec ziarniaków z gatunku *Peptostreptococcus anaerobius*. Oprócz właściwości przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych olejek lawendowy oraz wyciągi z lawendy działają przeciwwirusowo, a także insektobójczo [61].

Olejki o zapachu lawendy są szeroko wykorzystywane w przemyśle perfumeryjnym i kosmetycznym. Produktom chemii gospodarczej nadaje efekt świeżości i czystości. Olejek lawendowy jest używany do produkcji perfum, wód toaletowych, wód kolońskich, eleganckich kosmetyków i dobrych mydeł. W większości męskich wód kolońskich, toaletowych i płynach po goleniu lawenda stanowi podstawową nutę zapachową.

Olejek spikowy i lawandynowy jako tańsze substytuty olejku lawendowego służą do aromatyzowania tanich kosmetyków – mydeł, soli i płynów do kąpieli, szamponów oraz produktów chemii gospodarczej (odświeżacze powietrza, detergenty, środki dezynfekujące) [55].

### 3.5.3. Olejek jaśminowy

Do produkcji olejku jaśminowego wykorzystywane są trzy gatunki jaśminu (syn: jaśminek): jaśmin lekarski (*Jasminum officinale* L.), jaśmin wielkokwiatowy (*J. grandiflorum* (L.) Ait.) i jaśmin wielkolistny (*J. sambac* (L.) Ait.). W celu uzyskania olejku o jak najwyższej jakości kwiaty zbiera się wcześniej rano, najczęściej do godziny 10, gdyż jego zawartość jest wówczas największa. Poprzez ekstrakcję świeżych kwiatów odpowiednim rozpuszczalnikiem lotnym, najczęściej eterem naftowym lub heksanem otrzymuje się czerwonobrazową, półstałą substancję określaną jako konkret jaśminowy. Substancja ta wykorzystywana jest przede wszystkim do perfumowania kosmetyków oraz do otrzymywania absolutu jaśminowego. Absolut jaśminowy, czyli absolutny olejek jaśminowy otrzymywany jest poprzez przeprowadzenie wielokrotnej, alkoholowej ekstrakcji konkrety jaśminowego w podwyższonej temperaturze oraz wymrażania zanieczyszczeń, m.in. wosków. Czysty absolut jaśminowy jest bardzo cenioną esencją zwłaszcza w przemyśle perfumeryjnym. Olejek jaśminowy stosowany jest jako afrodyzjak, natomiast w aromaterapii wykorzystuje się go do aromatyzowania pomieszczeń oraz łagodzenia napięć, wywołania efektu uspokajającego i przeciwbólowego. Szczególnie ważne jest działanie na układ nerwowy, gdyż powoduje wyciszenie, niweluje stres, relaksuje, poprawia nastrój i dodaje pewności siebie. Jaśmin działa odprężająco, rozluźniająco, pobudzająco, także na mięśnie. Po rozcieńczeniu w odpowiednim oleju np. jojoba można go stosować do masażu mięśni kręgosłupa czy też karku [55, 56, 62]. Olejek jaśminowy wykorzystywany jest do produkcji wysokiej jakości perfum oraz wykwinnych kosmetyków. Przy czym w przemyśle perfumeryjnym i kosmetycznym stosowany jest głównie olejek pozyskiwany z jaśminu lekarskiego [62]. W tańszych produktach kosmetycznych najczęściej wykorzystywane są syntetyczne kompozycje jaśminowe. Ze względu na wysoką cenę tego olejku jest on rzadko stosowany w medycynie oraz aromaterapii [63, 64].

### 3.5.4. Olejek z drzewa sandałowego

Sandałowiec biały (*Santalum album* L.) jest to niewielkie drzewo rosnące na obszarze kontynentu indyjskiego, które służy do otrzymywania olejku sandałowego. Olejek eteryczny jest pozyskiwany poprzez destylację z parą wodną kory sandałowca i jest zaliczany do grupy najcenniejszych i najstarszych produktów wykorzystywanych w przemyśle perfumeryjnym [55, 56].

Olejek z drzewa sandałowego ma charakterystyczny łagodny zapach drewna z delikatną nutą zwierzęcą, jednocześnie jest bardzo trwałym zapachem. Wykorzystywany jest na szeroką skalę w przemyśle perfumeryjnym, zarówno do produkcji kosmetyków dla mężczyzn jak i dla kobiet. Głównymi składnikami olejku wschodnioindyjskiego, czyli pozyskiwanego z drzewa sandałowca białego rosnącego na obszarach Wschodnich Indii są (+) -(Z)- $\alpha$ -santalol i (-) -(Z)- $\beta$ -santalol [55]. Natomiast olejek zachodnioindyjski charakteryzuje się obecnością walerianolu oraz alkoholi seskwiterpenowych – różnych izomerów eudesmolu oraz elemolu, jako głównych składników [65]. Olejek zachodnioindyjski ma balsamiczny zapach i ze względu na inne składniki czynne wykazuje odmienne działanie lecznicze. Olejek ten wykazuje działanie antyseptyczne – stosowany jest w pielęgnacji skóry natomiast w aromaterapii wykorzystywany jest jako środek rozluźniający, relaksacyjny i odprężający [66].

Jednak pod nazwą olejek z drzewa sandałowego znany jest i wykorzystywany zarówno w przemyśle perfumeryjnym, kosmetologii oraz aromaterapii olejek z drzewa sandałowego rosnącego w Indiach Wschodnich. Wykazuje on działanie kojące, uspokajające, ale także ma silne właściwości mikrobójcze. Stosowany jest w leczeniu chorób infekcyjnych górnych dróg oddechowych oraz w problemach skórnych. Łagodzi napięcia nerwowe, w aromaterapii stosowany głównie w zwalczaniu efektów długotrwałego stresu, lęku, bowiem pomaga wyciszyć i uspokoić organizm człowieka. Stosowany także w medytacjach, gdyż pozwala odnaleźć spokój, koncentrację i wewnętrzną harmonię. Ze względu na silne działanie antyseptyczne i przeciwzapalne stosowany jest także w leczeniu trądziku, wypryskowych zmian skórnych, w łuszczycy czy w podrażnieniach skóry. Bardzo silnie regeneruje skórę i łagodzi świąd w przebiegu np. atopowego zapalenia skóry. Olejek z drzewa sandałowego w kosmetologii ma bardzo szerokie zastosowanie w pielęgnacji skóry oraz w produkcji ekskluzywnych perfum i wód toaletowych. Często występuje w połączeniu z olejkiem różanym, lawendowym czy też bergamotowym. Jednak ze względu na wysoką cenę często jest zastępowany olejkiem z drzewa herbacianego [55, 56].

### 3.5.5. Olejek szalwiowy

Spośród wielu gatunków szalwii należących do rodziny jasnotowatych (Lamiaceae) uprawianych jako rośliny ozdobne, trzy gatunki, tj. szalwia lekarska (*Salvia officinalis* L. syn. *S. grandiflora*), szalwia muszkatołowa (*S. sclareae* L. syn. *Sclarea vulgaris* Mill.) i szalwia hiszpańska (*S. lavandulaefolia* Vahl.) wykorzystywane są do produkcji olejku szalwiowego. Nazwa rośliny pochodzi z języka łacińskiego, gdzie *salvare* oznacza leczyć, a *officina* – apteka [55].

### 3.5.5.1. Olejek z szalwii lekarskiej

Szałwia lekarska jest rozgałęzionym półkrzewem wysokości do 70 cm, o lancetowatych srebrzystych liściach i białych lub fioletowych dwuwargowych kwiatach. Olejek szalwiowy jest otrzymywany z liści lub ziela zebranego w czasie kwitnienia. Jest cieczą o żółtym kolorze i korzenno-ziółowym smaku z nutą kamfory. Ciekawy jest sposób pozyskiwania olejku bowiem otrzymywany jest na drodze destylacji z przegrzaną parą wodną podsuszonego surowca roślinnego. Do głównych składników olejku należą bicykliczne monoterpenowe ketony, tj.  $\alpha$ -tujon (15-45%) i  $\beta$ -tujon (2-30%) oraz kamfora (2-25%) i 1,8-cyneol (2-20%) oraz występujące w mniejszej ilości węglowodory monoterpenowe:  $\beta$ -pinen (1-15%),  $\alpha$ -pinen (1-7%), kamfen (1-7%), limonen (1-4%) oraz węglowodory seskwiterpenowe:  $\alpha$ -humulen (0-20%) i  $\beta$ -kariofilen (1-15%). Ponadto składnikami olejku są również tlenowe terpeny, tj. wiridiflorol (0-10%), borneol (0-8%) i octan bornylu (0-4%). Olejek ten ma bardzo charakterystyczny świeży zapach o lekko ziołowej nucie, za który odpowiedzialny jest tujon [55]. Zawartość  $\beta$ -tujonu w olejku może być zróżnicowana i dlatego też wyróżnia się dwa chemotypy w obrębie gatunku. Pierwszy, tj. olejek o niskiej zawartości  $\beta$ -tujonu – od 0 do 10%, który jest produkowany m.in. w Polsce. Drugi typ olejku charakteryzuje się wysoką zawartością  $\beta$ -tujonu, która wynosi od 10 do 30%. Te olejki pozyskiwane są m.in. na Litwie, Jordanii, w Turcji czy Rumunii [55, 56, 67]. W związku z dużą zawartością terpenów olejek z szalwii wykazuje znaczne właściwości przeciwzapalne i przeciwbakteryjne, a także przeciwgrzybicze, które od stuleci znajdują zastosowanie zarówno w farmacji jak i w medycynie [18, 67]. Zawarte w olejku związki biologicznie czynne wykazują wszechstronne działanie m.in. przeciwzapalne, ściągające, moczopędne, przeciwbólowe, odświeżające oraz rozkurczowe na przewód pokarmowy. Charakteryzują się także szerokim spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej, gdyż działają na wiele gatunków bakterii i grzybów, w tym: *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella infantis*, *S. aureus*, *Campylobacter coli*, *Proteus vulgaris*, *B. cereus*, *Aspergillus flavus* oraz na wiele innych gatunków drobnoustrojów należących do rodzajów: *Enterobacter*, *Candida*, *Saccharomyces* i *Fusarium* [18, 55, 67, 68]. Olejek ten również wykorzystywany jest w przemyśle perfumeryjnym i kosmetycznym – wchodzi w skład maseczek o działaniu oczyszczającym i ściągającym. Ponadto jest popularną przyprawą kuchenną. Jednakże należy pamiętać, że zawarty w nim tujon jest substancją toksyczną, dlatego długotrwałe przyjmowanie doustne, np. naparów z szalwii, może powodować działania niepożądane m.in. wymioty, oszołomienie, a nawet psychozę [4, 55].

### 3.5.5.2. Olejek z szalwii muszkatołowej

Kolejnym gatunkiem szalwii służącym do produkcji olejku jest szalwia muszkatołowa zwana również szalwia królewską. Roślina ta znana jest już od czasów starożytnych jako „lek na wszystkie choroby”. Szalwia muszkatołowa jest dwuletnią rośliną rosnącą w krajach basenu Morza Śródziemnego oraz w Alpach. Olejek z tego gatunku szalwii jest otrzymywany ze świeżych kwiatostanów. Na jego zawartość w roślinie mają wpływ warunki uprawy, bowiem u roślin uprawianych na ziemiach mniej bogatych w składniki pokarmowe ilość olejku jest znacznie większa. Natomiast warunki uprawy nie wpływają na skład olejku. Olejek eteryczny otrzymywany jest ze świeżego surowca metodą destylacji z przegrzaną parą wodną. Jest cieczą o słodkim, ziołowo-korzennym zapachu z ambrową nutą i jasnooliwkowej barwie. Do głównych związków



chemicznych wchodzących w jego skład należą octan linalilu (45-75%) i linalol (10-25%). Związki te mają lekki, kwiatowy, lawendowy zapach. Ponadto, w skład olejku wchodzi  $\alpha$ -terpineol, octan geranylu, octan nerylu oraz mircen, limonen,  $\beta$ -ocymen,  $\beta$ -kariofilen i germakren D. Również z liści tej rośliny pozyskiwany jest olejek, jednakże ma on nieco inny skład. Olejek z szalwii muszkatołowej jest wykorzystywany w przemyśle perfumeryjnym, zazwyczaj jako składnik kompozycji zapachowych przeznaczonych dla mężczyzn, szczególnie w połączeniu z olejkami bergamotowym, mandarynkowym, cytrynowym i galbanowym. Olejek ten występuje również w różnego rodzaju damskich kompozycjach zapachowych, szczególnie w połączeniu z olejkami bergamotowym, neroli, kolendrowym, akacjowym i cytrynowym. Olejek ma właściwości antystresowe, poprawia nastrój, działa uspokajająco i nasennie, ponadto działa przeciwbólowo i rozkurczowo, a w większych dawkach euforyzująco. Bogaty skład, a zwłaszcza zawartość terpenów warunkuje jego właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Jako remedium o silnych właściwościach antyseptycznych jest wykorzystywany w stanach zapalnych gardła i górnych dróg oddechowych. Oprócz ww. właściwości olejek szalwiowy wykazuje również działanie przeciwbólowe, obniża ciśnienie tętnicze krwi, poprawia trawienie, łagodzi objawy menopauzy, reguluje cykl miesięczkowy oraz wzmacnia system immunologiczny. Ponadto wykorzystywany jest do pielęgnacji tłustej cery, skóry głowy, wykazuje właściwości antyoksydacyjne przez co opóźnia starzenie skóry i zmniejsza wypadanie włosów. Polecany jest do leczenia depresji oraz jako afrodyzjak, szczególnie w mieszance z innymi olejkami m.in. z olejkami sandałowym i pieprzowym [55, 56].

### **3.5.5.3. Olejek z szalwii hiszpańskiej**

Olejek ten jest produktem destylacji podszuszonego surowca z parą wodną, którym jest ziele szalwii hiszpańskiej (*Salvia lavandulae folia* Vahl.). W porównaniu do poprzednich dwóch olejków szalwiowych, olejek ten jest jasnożółtą cieczą o świeżym eukaliptusowo-kamforowym zapachu, zawierającym ostrą sosnową nutę. Do głównych składników olejku należą 1-8 cyneol (10-40%) i kamfora (10-40%). Ponadto w olejku występują: linalol, octan  $\alpha$ -terpinylu,  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -pinen, mircen, limonen, borneol, octan linalilu, octan bornylu i octan sabinyli. W skład olejku wchodzi również tujon, ale wg wymagań Farmakopei Polskiej jego zawartość nie może być większa niż 0,5%. Olejek ten jest wykorzystywany do aromatyzowania środków czystości, mydeł czy odświeżaczy powietrza [55, 68].

### **3.5.6. Olejek miętowy**

Olejek miętowy to nazwa zwyczajowa olejku eterycznego otrzymywanego ze świeżych, nadziemnych, kwitnących części mięty pieprzowej (*Mentha x piperita* L.) poprzez destylację z parą wodną. Jest to bezbarwna, jasnożółta lub jasnozielonkawo-żółta ciecz o charakterystycznym dosyć silnym zapachu i smaku, wywołująca uczucie zimna [68, 69]. Olejek miętowy jest substancją farmakopealną, która jest stosowana zarówno w medycynie tradycyjnej, aromaterapii, kosmetologii jak i w medycynie konwencjonalnej. Według Farmakopei Polskiej VIII [68] zawartość głównego składnika olejku czyli mentolu powinna wynosić od 30% do 55%. Do innych związków występujących w olejku należą m.in.: menton (14-32%), cyneol (3,5-14%) czy octan mentylu (2,8-10%).

Olejek z mięty pieprzowej jest jednym z najpopularniejszych i najszerzej wykorzystywanych olejków. Wykazuje on szerokie działanie farmakologiczne, bowiem ma właściwości chłodzące, działa przeciwzapalnie, przeciwbólowo, odkażająco, rozkurczowo i uspokajająco. Jako jeden z niewielu olejków eterycznych używany jest wewnętrznym, przy czym nie może być stosowany w takiej formie u dzieci poniżej 8. roku życia [55, 69]. Doustnie jest podawany w problemach trawiennych, w zaburzeniach funkcjonowania przewodu pokarmowego, dróg żółciowych oraz wątroby. Jest on także składnikiem wielu preparatów leczniczych stosowanych w problemach trawiennych. W medycynie wykorzystywany jest także w przeziębieniu, w leczeniu chorób górnych dróg oddechowych, jamy ustnej, gardła czy też jako środek przeciwbólowy. Olejek miętowy wykazuje bardzo dobrą skuteczność w łagodzeniu bólów głowy poprzez wcieranie go w skronie oraz w czoło, jednak Europejska Agencja Leków [69] nie zaleca stosować go w takiej postaci u dzieci i młodzieży poniżej 18. roku życia.

W aromaterapii wykazuje działanie antyseptyczne, przeciwbólowe, uspokajające, orzeźwiająca i odświeżająca. Stosowany jest jako składnik mieszanek rozluźniających i relaksacyjnych. W kosmetologii stosowany jest do masażu, inhalacji i kąpieli. Łagodzi migrenowe bóle głowy, napięcia nerwowe, zmęczenie spowodowane stresem a także wykorzystywany jest w leczeniu przeziębienia, ponieważ udrażnia nos, łagodzi kaszel i katar [55]. W medycynie tradycyjnej stosowany jest także do odświeżania i odkażania jamy ustnej. W tym celu stosowana jest płukanka bądź też zakraplany jest bezpośrednio na język. W przemyśle można spotkać olejek otrzymany z mięty polnej (*M. arvensis*), jednak wykazuje on słabsze działanie i jest gorzej tolerowany przez organizm niż olejek z mięty pieprzowej [56].

### 3.5.7. Olejek hyzopowy

Olejek eteryczny z hyzopu lekarskiego (*Hyssopus officinalis* L.) otrzymywany jest w procesie destylacji z parą wodną wysuszonych nadziemnych części roślin, najczęściej ziela [70-72]. W obrębie gatunku wyróżnia się trzy formy o zróżnicowanej barwie kwiatów: niebieskiej (f. *cyaneus* Alef.), różowej (f. *ruber* Mill.) i białej (f. *albus* Alef.). Najbardziej znaną formą i szeroko rozpowszechnioną w uprawie jest hyzop o kwiatach niebieskich. Skład olejku eterycznego jest zmienny, a jednym z czynników różnicujących jego skład jest barwa kwiatów [73]. Głównymi składnikami olejku hyzopowego są: izopinokamfon (22,5-28,7%), pinokamfon (11,4-17,9%),  $\beta$ -pinen (6,6-12,0%), elemol (5,0-7,5%), gercacren D (3,1-6,9%), and bicylogercacren (2,5-4,3%) [72]. Baj i in. [73] zauważyli, iż olejek z form hyzopu o kwiatach białych zawierał głównie pinokamfon i  $\beta$ -pinen, zaś olejek z roślin o kwiatach różowych miał nieco inny skład i był bogaty w pinokamfon i izopinokamfon. Skład jakościowy i ilościowy olejku hyzopowego może być również modyfikowany fazą rozwojową zbieranej rośliny [74, 75]. W badaniach Zawislak [74] wykazano, iż udział  $\beta$ -pinenu, składnika wykorzystywanego w produkcji kosmetycznej i spożywczej, był największy na początku kwitnienia hyzopu (10,8%), a następnie zmniejszał się i pod koniec sierpnia osiągnął poziom 7,0%. Istotne jest zatem, wskazanie najkorzystniejszego okresu zbioru ziela hyzopu (na fazę początkowego kwitnienia), zwłaszcza gdy jego surowiec używany będzie jako naturalne źródło aromatu [72].

Wysoka aktywność przeciwdrobnoustrojowa olejku hyzopowego została potwierdzona wobec *Staphylococcus pyogenes*, *S. aureus*, *C. albicans*, *E. coli*, *Salmonella*

*enteritidis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria ivanovii*, *L. innocua* i *Bacillus spizizenii* [70, 76]. Olejek nie wykazał działania przeciwbakteryjnego wobec *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella aerogenes* i *Staphylococcus epidermidis* [76]. Według Baj i in. [73], jego działanie olejku zależy od formy hyzopu, z jakiej jest destylowany. Olejek uzyskany z hyzopu o kwiatach różowych wykazał największą aktywność bakteriobójczą wobec bakterii Gram-dodatnich: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogens*, *S. pneumoniae* i *S. mutant*. W literaturze opisywane są również właściwości przeciwwirusowe olejku hyzopowego [77]. Ponadto wskazywane jest działanie biobójcze na pasożyty roślin (*Phytomonas davidi* i *Meloidogyne javanica*) i ludzi (*Trypanosoma cruzi*) [78]. Może również działać fitotoksycznie na rośliny uprawne, hamując kiełkowanie nasion pszenicy i gorczyicy białej [79].

Olejek hyzopowy z uwagi na działanie aseptyczne, przeciwwirusowe i antibakteryjne polecany jest w bólu gardła, zapaleniu oskrzeli, grypie oraz w leczeniu przeziębień. W przemyśle kosmetycznym stanowi surowiec zapachowy, jest składnikiem mydeł i perfum. Z uwagi na działanie odprężające stosowany jest do masażu i kąpieli relaksujących, pomagających usunąć stany lękowe, napięcie i stres [80]. Dzięki szerokiemu spektrum działania olejek hyzopowy jest często stosowany w aromaterapii w formie inhalacji oraz do masażu. W mieszankach aromaterapeutycznych dobrze harmonizuje z olejkami lawendowym, rozmarynowym, geraniowym, szalwii muskatołowej oraz olejkami cytrusowymi. Przedawkowanie olejku hyzopowego może spowodować drgawki, dlatego należy go stosować w umiarkowanych ilościach [55].

#### 4. Podsumowanie

Olejki eteryczne stanowią bardzo liczną grupę metabolitów wtórnych występujących w roślinach. Charakteryzują się działaniem przeciwbakteryjnym, przeciwwirusowym, przeciwgrzybiczym, przeciwzapalnym. Ze względu na liczne działania stosowane są w medycynie tradycyjnej do leczenia różnego rodzaju chorób skóry, układu oddechowego czy też pokarmowego, w aromaterapii oraz w produkcji kosmetyków jako ich naturalne konserwanty. EO działają zarówno na grzyby jak i na bakterie Gram-dodatnie, Gram-ujemne, w tym również na szczepy izolowane klinicznie oraz na różnego rodzaju wirusy czy też na prątki *Mycobacterium tuberculosis*. Olejki: cynamonowy, goździkowy, tymiankowy oraz olejek uzyskany z cząbrku ogrodowego wykazują zdolność do niszczenia populacji chwastów i mogą być stosowane jako naturalne środki ochrony roślin.

#### Literatura

1. Adaszyńska M., Swarczewicz M., *Olejki eteryczne jako substancje aktywne lub konserwanty w kosmetykach*, Wiad. Chem., 66 (1-2), 2012, s. 139-158.
2. Dudka K., Baran M., Karpik E., *Roślinne metabolity wtórne i ich zastosowanie w kosmetyce*, [w:] *Przegląd wybranych prac z zakresu enzymologii*, Zdunek B., Olszówka M. (red.), Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju Tygiel, 2016, s. 99-124.
3. Tulin N., Pawlicka K., Kurhałuk N., *Wybrane składniki roślinne w produkcji kosmetyków naturalnych*, Słupskie Prace Biologiczne, 15, 2018, s. 135-148.
4. Brud W.S., Konopacka I., *Pachnąca apteka*, Comes, 1992, s. 67-71.
5. Konopacka-Brud I., Brud W., *Aromaterapia dla każdego*, Vital, 2009.
6. Kaniewski R., Pniewska I., Świejkowski M., *Możliwości wykorzystania olejków eterycznych, ze szczególnym uwzględnieniem olejku konopnego jako substancji aktywnych i środków konserwujących kosmetyki*, Post Fitoter., 17(2), 2016, s. 125-129.

7. Lucchesi M., Chemat F., Smajda J., *Solvent-free microwave extraction of Essentials oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro- distillation*, J. Chromatogr. A, 1043(2), 2004, s. 323-327.
8. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., *Biological effect of essentials oils – a review*, Food Chem. Toxicol., 46, 2008, s. 446-475.
9. Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., Mnif W., *Essential Oils Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities, A Critical Review*, Medicines (Basel), 3(4), 2016, s. 25.
10. Rassem H.H.A., Nour A.H., Yunus R.M., *Techniques for extraction of essential oil from plants: A review*, Aust. J. Basic & Appl. Sci., 10(16), 2016, s. 117-127.
11. Kohlmünzer S., *Farmakognozja. Podręcznik dla studentów farmacji*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2021, s. 542-543.
12. Kołodziejczyk A., *Naturalne związki organiczne*, PWN, Warszawa 2003.
13. Wang L., Weller C.L., *Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants*, Trends Food Sci. Technol., 17, 2006, s. 300-312.
14. Marwicka J., Niemyska K., Podraza S., *Terapeutyczne właściwości aromaterapii*, Kosmetologia Estetyczna, 6/4, 2015.
15. Özkan M., Erkman O., *Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant Spice*, Eur. Food Res. Technol., 212 (6), 2001, s. 658-660.
16. Souza E.L., Montenegro Stamford T.L., de Oliveira Lima E., *Sensitivity of spoiling and pathogen food-related bacteria to Origanum vulgare L. (Lamiaceae) essential oil*, Braz. J. Microbiol., 37, 2006, s. 527-532.
17. Kunicka-Styczyńska A., Sikora M., Kalemba D., *Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetics preservative systems*, J Appl Microbiol., 107(6), 2009, s. 1903-1911.
18. Hać-Szymańczuk E., Lipińska E., Chlebowska-Śmigiel E., *Porównanie działania przeciwdrobnoustrojowego olejków eterycznych z szalwii (Salvia officinalis L.) i oregano (Origanum vulgare L.)*, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 577, 2014, s. 53-62.
19. Cermelli C., Fabio A., Fabio G., Quaglio P., *Effect of Eucalyptus Essentials oil on respiratory bacteria and viruses*, Curr. Microbiol., 56, 2008, s. 89-92.
20. Jeong Y.J., Kim H.E., Han S.J., Choi J.S., *Antibacterial and antibiofilm activities of cinnamon essential oil nanoemulsion against multi-species oral biofilms*, Scientific Reports, 11(1), 2021, s. 5911.
21. Orus P., Leranoz S., *Current trends in cosmetic microbiology*, Int. Microbiol., 8, 2005, s. 77-79.
22. Budzyńska A., Kaczmarek A., *Drobnoustroje występujące w surowcach kosmetycznych i kosmetykach*, [w] *Mikrobiologia w kosmetologii*, Gospodarek E., Mikucka A. (red.), PZWL, Warszawa 2013.
23. Uter W., Yazar K., Kratz E.M., Mildau G., Lidén C., *Couple d'exposure to ingredients of cosmetic products: II, Preservatives. Contact Dermatitis*, 70(4), 2014, s. 219-226.
24. Bojarowicz H., Fronczak P., Krysiński J., *Czy kosmetyki mogą nie zawierać konserwantów?*, Hygeia Public Health, 53(2), 2018, s. 124-131.
25. Szybiak J., Wiechuła D., *Problemy skórne związane ze stosowaniem kosmetyków*, Prz. Dermatol., 100(6), 2013, s. 392-399.
26. De Groot A., Schmidt E., *Essential Oils, Part IV: Contact Allergy, Dermatitis*, 27(4), 2016, s. 170-175.
27. Sieradzka E., Milnerowicz H., *Wybrane zagadnienia z chemii kosmetycznej dla studentów kosmetologii*, Wyd. AWF we Wrocławiu, Wrocław 2013.

28. Herman A., *Comparison antimicrobial activity of a essential oils, plant extracts and methylparaben in cosmetic emulsions: 2-months study*, Indian Journal of Microbiology, 54(3), 2014, s. 361-364.
29. Jayapal V., Vidya Raj C.K., Muthaiah M., Chadha V.K., Brammachary U., Selvaraj S., Easow J.M., *In-vitro anti-Mycobacterium tuberculosis effect of essential oil of Ocimum sanctum L. (Tulsi/Basil) leaves*, Indian Journal of Tuberculosis, Article in Press, 2021.
30. Tiam E.R., Bikobo D.S.N., Ndassa I.M., Nyameck II N.M., Zintchem A.A., Ayong L., Diboué P.H.B., Ndjakou B.L., Mbing J.N., Pegnyemb D.E., *Experimental and computational studies of an antiplasmodial derivative of allantoin; antimycobacterial essential oil from Cordia batesii WERNHAM (Boraginaceae)*, BMC Chemistry, 15(1), 2021, s. 15.
31. Sivropoulou A., Nikolaou C., Papanikolaou E., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., *Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of Salvia fruticosa Essentials oil*, J. Agric. Food Chem., 45, 1997, s. 3197-3201.
32. Armaka M., Papanikolaou E., Sivropoulou A., Arsenakis M., *Antiviral properties of isoborneol, a potent inhibitor of herpes simplex virus type 1*, Antiviral Res., 43, 1999, s. 79-92.
33. García C.C., Talarico L., Almeida N., Colombres S., Duschatzky C., Damonte E.B., *Virucidal activity of Essentials oils from aromatic plants of San Luis, Argentina*, Phytother. Res., 17, 2003, s. 1073-1075.
34. Kim S.S., Oh O.J., Min H.Y., Park E.J., Kim Y., Park H.J., Han Y.N., Lee S.K., *Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells*, Life Sci., 73, 2003, s. 337-348.
35. Tragoolpua Y., Jatisatienr A., *Anti-herpes simplex virus activities of Eugenia caryophyllus (Spreng.) Bullock & S.G. Harrison and Essentials oil, eugenol*, Phytother Res., 2007, 21(12), s. 1153-1158.
36. Chaieb K., Hajlaoui H., Zmantar T., Kahla-Nakbi A.B., Rouabhia M., Mahdouani K., Bakhrouf A., *The chemical composition and biological activity of clove essential oil, Eugenia caryophyllata (Syzygium aromaticum L. Myrtaceae): a short review*, Phytother Res., 21(6), 2007, s. 501-506.
37. Usachev E.V., Pyankov O.V., Usacheva O.V., Agranovski I.E., *Antiviral activity of tea tree and eucalyptus oil aerosol and vapour*, J Aerosol Sci, 59, 2013, s. 22-30.
38. Zuo X., Gu Y., Wang C., Zhang J., Zhang J., Wang G., Wang F., *A Systematic Review of the Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Properties of 16 Essential Oils of Herbs*, Evid Based Complement Alternat Med., 7, 2020, s. 887-892.
39. Funk J.L., Frye J.B., Oyarzo J.N., Chen J., Zhang H., Timmermann B.N., *Anti-Inflammatory Effects of the Essential Oils of Ginger (Zingiber officinale Roscoe) in Experimental Rheumatoid Arthritis*, Pharma Nutrition, 4(3), 2016, s. 123-131.
40. Patil K.R., Mahajan U.B., Unger B.S., *Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals*, Int J Mol Sci., 20(18), 2019, s. 4367.
41. Baylac S., Racine P., *Inhibition of 5-lipoxygenase by essential oils and other natural fragrant extracts*, Int. J. Aromather., 13, 2003, s. 138-142.
42. Król S.K., Skalicka-Woźniak K., Kardefen-Szerszeń M., Stepulak A., *Aktywność biologiczna i farmakologiczna olejków eterycznych w leczeniu i profilaktyce chorób infekcyjnych*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 67, 2013, s. 1000-1007.
43. Konopacka-Brud I., *Immunotropowe działanie olejków eterycznych z drzewa herbacianego (Melaleuca alternifolia) i lawendowego (Lavandula angustifolia)*, Aromaterapia, 7, 2001, s. 20-21.
44. Aungtikun J., Soonwera M., *Improved adulticidal activity against Aedes aegypti (L.) and Aedes albopictus (Skuse) from synergy between Cinnamomum spp. Essential oils*, Sci Rep., 11(1), 2021, s. 4685.

45. Bampidis V., Azimonti G., Bastos M.D.L., Christensen H., Kouba M., Kos Durjava M., López-Alonso M., López Puente S., Marcon F., Mayo B., Pechová A., Petkova M., Ramos F., Sanz Y., Villa R.E., Woutersen R., Brantom P., Chesson A., Westendorf J., Gregoretti L., Manini P., Dusemund B., *Safety and efficacy of an essential oil from *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Letsw. for all animal species*, EFSA Journal, 17(12), 2019, s. 5909.
46. Tworkoski T., *Herbicide effects of Essential oils*, Weed Science, 50(4), 2002, s. 425-431.
47. Sarić-Krsmanović M., Gajić Umiljendić J., Radivojević L., Šantrić L., Potočnik I., Đurović-Pejčev R., *Bio-herbicidal effects of five essential oils on germination and early seedling growth of velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.)*, Journal of Environmental Science and Health, Part B, 54(4), 2019, s. 247-251.
48. De Mastro G., El Mahdi J., Ruta C., *Bioherbicidal Potential of the Essential Oils from Mediterranean Lamiaceae for Weed Control in Organic Farming*, Plants (Basel), 20, 10 (4), 2021, s. 818.
49. Aleksandrowicz M., *Higiena produkcji. Monitorowanie warunków środowiska*, Mat. Konferencyjne: Bezpieczeństwo mikrobiologiczne preparatów kosmetycznych. Nowoczesne konserwanty, Warszawa 2011.
50. Wielgusz K., Heller K., Byczyńska M., *Ocena fungistatycznego działania olejku eterycznego z konopi w zaprawach nasiennych w zależności od zastosowanej formacji*, Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 57(4), 2012, s. 183-187.
51. Salem M.Z.M., Zidan Y.E., Mansour M.M.A., El Hadidi N.M.N., Abo Elgat W.A.A., *Antifungal activities of two essential oils used in the treatment of the commercial woods deteriorated by five common mold fungi*, International Biodeterioration&Biodegradation, 106, 2016, s. 88-96.
52. Nazzaro F., Fratianni F., Coppola R., Feo V.D., *Essential Oils and Antifungal Activity*, Pharmaceuticals, 10(4), 2017, s. 86.
53. D'agostino M., Tesse N., Fripiat J.P., Machouart M., Debourgogne A., *Essential oils and their natural active compounds presenting antifungal properties*, Molecules, 24, 2019, s. 3713.
54. Palla F., Bruno M., Mercurio F., Tantillo A., Rotolo V., *Essential Oils as Natural Biocides in Conservation of Cultural Heritage*, Molecules, 25(3), 2020, s. 730.
55. Góra J., Lis A., *Najcenniejsze olejki eteryczne. Część 1.*, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, 2019, s. 53-55.
56. Färber S., Mayer A., *Olejki aromatyczne – w domowej apteczce*, Wydawnictwo Purana, 2016, s. 24-25.
57. Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J.A., *Antibacterial activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils*, Journal of Food Safety, 28(4), 2008, s. 567-576.
58. Deng W., Liu K., Cao S., Sun J., Zhong B., Chun J., *Chemical Composition, Antimicrobial, Antioxidant, and Antiproliferative Properties of Grapefruit Essential Oil Prepared by Molecular Distillation*, Molecules, 5, 25(1), 2020, s. 217.
59. Adaszyńska-Skwirzyńska M., Swarczewicz M., *Skład chemiczny i aktywność biologiczna lawendy lekarskiej*, Wiad. Chem., 68(11-12), 2014, s. 1074-1093.
60. Nurzyńska-Wierdak R., Zawisłak G., *Chemical composition and antioxidant tactivity of lavender (*Lavandula angustifolia* mill.) above ground parts*, Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 15(5), 2016, s. 225-241.
61. Kędzia A., Hołderna-Kędzia E., Wiśniewska J., *Działanie olejku lawendowego (*Oleum Lavandulae*) na bakterie beztlenowe*, Post Fitoter, 19(3), 2018, s. 170-175.
62. Cisowski W., Fecka I., *Konkret i absolut jaśminowy Borgis*, Postępy Fitoterapii, 4, 2012, s. 231-239.
63. Anonis D.P., *Flower Oils and Floral Compounds in Perfumery*, Allured Publ., Carol Stream, 1993, s. 91-103.

64. Lawless J., *The Encyclopedia of Essential Oils*, Thorsons, 2002, s. 111-113.
65. Kucharska M., Szymańska J.A., Wesołowski W., Frydrych B., Bruchajzer E., *Analiza lotnych składników wybranych olejków eterycznych o działaniu relaksacyjnym*, *Medycyna Pracy*, 70(2), 2019, s. 229-247.
66. Vican P., *Olejki eteryczne. 65 roślin leczniczych*, Bauer-Weltbild, Warszawa 2010.
67. Abu-Darwish M.S., Cabral C., Ferreira I.V., Gonçalves M.J., Cavaleiro C., Cruz M.T., Al-bdour T.H., Salgueiro L., *Essential Oil of Common Sage (Salvia officinalis L.) from Jordan: Assessment of Safety in Mammalian Cells and Its Antifungal and Anti-Inflammatory Potential*, *Bio Med Research International*, 2013, s. 9.
68. *Farmakopea Polska*, PTF, Warszawa 2008.
69. EMA, 2021, <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/menthae-piperitae-aetheroleum>, dostęp 23.06.2021r.
70. Kizil S., Haşimi N., Tolan V., Kiliç E., Karataş H., *Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Hyssop (Hyssopus officinalis L.) Essential Oil*, *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*, 38 (3), 2010, s. 99-103.
71. Jahantigh O., Najafi F., Badi H.N., Khavari-Nejad R.A., Sanjarian F., *Essential oil composition of Hyssop (Hyssopus officinalis L.) under salt stress at flowering stage*, *Journal of Essential Oil Research*, 28, 2016.
72. Zawiaślak G., *Essential Oil Composition of Hyssopus officinalis L. Grown in Poland*, *JEOBP*, 19 (3), 2016, s. 699-705.
73. Baj T., Głowniak I., Kowalski R., Malm A., *Chemical composition and microbiological evaluation of essential oil from Hyssopus officinalis L. with white and pink flowers*, *Open Chem.*, 16, 2018, s. 317-323.
74. Zawiaślak G., *The chemical composition of Essentials hyssop oil depending on plant growth stage*, *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 12(3), 2013, s. 161-170.
75. Kizil S., Güler V., Kirici S., Turk M., *Some Agronomic Characteristics And Essential Oil Composition Of Hyssop (Hyssopus officinalis L.) Under Cultivation Conditions*, *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 15(6), 2016, s. 193-207.
76. Aćimović M., Varga A., Cvetković M., Lato P., Lonćar B., Ignatov M., Zeremski T., *Chemical composition of hyssop cv. 'Domći ljubićasti' essential oil and its antimicrobial activity*, *Ratar. Povrt*, 58(1), 2021, s. 23-30.
77. Reichling J., Schnitzler P., Suschke U., Saller R., *Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties – an overview*, *Forsch. Komplementärmedizin*, 16(2), 2009, s. 79-90.
78. Hamida N.B., Martinez-Diaz R.A., Hela M., Msaada K., Ouerghi Z., Andres M.F., Gonzalez-Coloma A., *Effect of salinity on the antiparasitic activity of hyssop Essentials oil*, *J. Essent. Oil Res.*, 32, 2020, s. 69-78.
79. Jop B., Krajewska A., Wawrzyńczak K., Polaszek K., Synowiec A., *Phytotoxic Effect of Essential Oil from Hyssop (Hyssopus officinalis L.) against Spring Wheat and White Mustard*, *Proceedings*, 68, 2021.
80. Michaliski J.A., Zielińska D., *Przegląd olejków eterycznych pozyskiwanych z roślin z rodziny jasnотowatych (Lamiaceae) i ich własności*, *Pol J Cosmetol*, 18(1), 2015, s. 16-24.

## Olejki eteryczne stosowane w medycynie i kosmetyce

### Streszczenie

Olejki eteryczne są jedną z najbardziej rozpowszechnionych grup metabolitów wtórnych występujących w świecie roślin. Bogaty i zróżnicowany chemicznie skład EO warunkuje ich wielokierunkową aktywność biologiczną. Zazwyczaj dominującymi składnikami EO są terpeny, które wykazują m.in. działanie przeciwpalne, przeciwdrobnoustrojowe (przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwprątkowe), antyseptyczne, przeciwwirusowe, rozgrzewające oraz relaksujące. Działanie przeciwpalne warunkuje możliwość ich wykorzystania w leczeniu różnego rodzaju stanów zapalnych skóry. W tym celu stosowane są przede

wszystkim olejki zawierające w swym składzie azuleny, czyli olejek krwawnikowy czy też rumiankowy. Jedną z najbardziej znanych aktywności olejków jest ich działanie przeciwdrobnoustrojowe. Najnowsze badania wskazują, iż mogą one być z powodzeniem stosowane jako naturalne konserwanty kosmetyków oraz stanowią bardzo ważną grupę naturalnych antybiotyków. Przykładem olejku o szerokim spectrum działania przeciwbakteryjnego jest olejek szalwiowy. Najnowsze dane literaturowe wskazują, iż olejki eteryczne wykazują także działanie przeciwprątkowe, stwarza to duże nadzieje na wykorzystanie ich w leczeniu gruźlicy. Ponadto istnieje możliwość ich zastosowania w ochronie roślin, zarówno jako insektycydów, fungicydów jak też herbicydów.

Słowa kluczowe: olejki eteryczne, kosmetologia, zioła, medycyna

## **Essential oils used in medicine and cosmetology**

### **Abstract**

Essential oils are one of the most abundant widespread groups of secondary metabolites found in the plant world. The rich and diverse of chemical composition determines their multidirectional biological activity. Typically, the dominant components of essential oils are terpenes, which have anti-inflammatory, antimicrobial (antibacterial, antifungal, antimycobacterial), antiseptic, antiviral, warming and relaxing activity. Their anti-inflammatory effect determines the possibility of using them in the treatment of various types of skin inflammations. For this purpose, mainly oils containing azulenes are used, including yarrow or chamomile oil. One of the best known activities of oils is their antimicrobial activity. The latest research shows that they can be successfully used as natural preservatives of cosmetics and constitute a very important group of natural antibiotics. An example of an oil with a broad spectrum of antibacterial activity is sage oil. The latest literature data show that essential oils also show anti-mycobacterial activity, which raises high hopes for their use in the treatment of tuberculosis. Moreover, they can be used in plant protection, both as insecticides, fungicides and herbicides.

Keywords: essential oils, cosmetology, herbal, medicine



## Pierwiastki ziem rzadkich w środowisku

### 1. Wprowadzenie

Pierwiastki ziem rzadkich (REE) są grupą siedemnastu pierwiastków, które mają charakterystyczne i zróżnicowane właściwości chemiczne, magnetyczne oraz luminescencyjne. Ich cechy sprawiają, iż są one niezwykle przydatne w wielu branżach, w tym w zaawansowanych technologiach [1]. Metale ziem rzadkich to ich nazwa zwyczajowa. Pomimo swojej nazwy pierwiastki ziem rzadkich nie są rzadkością w składzie skorupy ziemskiej. W skład tej grupy wchodzi dwa skandowce (skand i itr) oraz wszystkie lantanowce (lantan, cer, prazeodym, neodym, promet, samar, europ, gadolin, terb, dysproz, holm, erb, tul, iterb i lutet). Lantanowiec cer (Ce) jest najbardziej rozpowszechnionym pierwiastkiem ziem rzadkich w skorupie ziemskiej. Jego zawartości są większe w porównaniu do miedzi (Cu) czy ołowiu (Pb). Z kolei koncentracja innych REE w skorupie ziemskiej jest względnie podobna do koncentracji metali podlegających przemysłowej eksploatacji, takich jak nikiel (Ni), miedź (Cu), chrom (Cr), cynk (Zn), lub ołów (Pb). Nawet rozpowszechnione w najmniejszej ilości REE, jak tul (Tm) i lutet (Lu) są w przybliżeniu około 200 razy bardziej rozpowszechnione niż złoto (Au) [2].

Pierwiastki ziem rzadkich (REE) stosowane są obecnie coraz powszechniej w różnych sektorach gospodarki (przemysłowym, usługowym, rolniczym). Przykłady produktów zawierających REE obejmują katalizatory, magnesy trwałe, światłowodowy, oświetlenie oraz wyświetlacze telefonów komórkowych lub laptopów. Wiele komponentów i produktów zawierających REE jest używanych w przemyśle obronnym, farmaceutycznym, biotechnologicznym a także kosmicznym [1]. Wzrastające zapotrzebowanie na strategiczne zasoby pierwiastków ziem rzadkich wywołane rozwojem technologicznym społeczeństwa spowodowało wzrost intensywności ich wydobywania i przeróbki. Ponadto w krajach, które nie posiadają łatwego dostępu do źródeł tego surowca, priorytetem stało się poszukiwanie alternatywnych źródeł jego pozyskiwania [3]. Jak wynika z badań naukowych szacuje się, iż Chiny dysponują największymi naturalnymi zasobami pierwiastków ziem rzadkich i realizują ponad 90% światowego zapotrzebowania na surowce ziem rzadkich [4].

Ze względu na wzrost wydobywania minerałów ziem rzadkich chińskie rezerwy drastycznie spadły. Ponadto, wydobywanie powierzchniowe i wymywanie pierwiastków z hałd poprzemysłowych spowodowały poważne szkody w środowisku. Długoterminowe skutki i szkody wynikające z intensyfikacji wykorzystania REE w przemyśle nie zostały jak dotychczas ustalone [5].

---

<sup>1</sup> ssiebielec@iung.pulawy.pl, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach.

<sup>2</sup> gs@iung.pulawy.pl, Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach.

<sup>3</sup> dgmur@iung.pulawy.pl, Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach.

Polska nie posiada własnych zasobów surowcowych REE, które mogłyby zaspokoić krajowy sektor gospodarczy. W naszym kraju występują minerały pierwiastków ziem rzadkich, jednak ich występowanie w postaci ubogich złóż ogranicza się do rejonu Szklarskiej Poręby, Sudetów oraz okolic Białegostoku. Złoża te związane są przede wszystkim z monacytem, ksenotymem, apatytem oraz karbonatytami [6]. Surowce pierwiastków ziem rzadkich zaliczane są w krajach Unii Europejskiej do surowców krytycznych [6]. Uwagę zwraca stale rosnący deficyt surowcowy krajów Europy i związane z tym niebezpieczeństwa dla konkurencyjności gospodarki w stosunku do Chin, Indii oraz innych krajów [6].

Szczególne znaczenie w gospodarce mają tzw. zielone technologie, które w założeniu mają zapewniać bezpieczeństwo środowiskowe. Coraz częściej pojawiają się na rynku rozwiązania w postaci samochodów elektrycznych, paneli słonecznych czy turbin wiatrowych, gdzie REE są szeroko stosowane, co zwiększa popyt na te pierwiastki. Naukowcy podkreślają, iż należy jednak podjąć badania w kierunku poszukiwań alternatywy dla pierwiastków ziem rzadkich oraz ich odzysku. Na świecie naukowcy prowadzą badania w celu znalezienia dobrych zamienników REE w różnych technologiach, jednak jak do tej pory nie ma przełomu w żadnej z technologii opartych na REE [7]. Istnieje potrzeba opracowania strategii eksploatacji pierwiastków ziem rzadkich, aby w sposób zrównoważony nimi gospodarować oraz zapobiegać szkodom środowiskowym związanym z eksploatacją zasobów REE. Właściwe systemy recyklingu są uważane za obiecujące możliwości odzysku REE. Zastosowanie REE w różnych gałęziach przemysłu, a także w rolnictwie stale rośnie, co może prowadzić do nadmiernego wzrostu stężeń tych pierwiastków w środowisku, potencjalnie prowadząc do problemów w prawidłowym funkcjonowaniu ekosystemów. Koniecznym wydaje się również podjęcie ścisłego monitoringu występowania REE w środowisku. Celem pracy był przegląd obecnego wykorzystania REE oraz ocena ich wpływu na ekosystem glebowy oraz rośliny, związanego z ich coraz powszechniejszym występowaniem w środowisku.

## 2. Wykorzystanie pierwiastków ziem rzadkich w najnowszych technologiach

Pierwiastki ziem rzadkich odgrywają niezwykle istotną rolę w najnowszych technologiach tzw. branży high-tech. Przemysł wysokiej technologii (ang. *high-tech industry*) jest to gałąź przemysłu wykorzystująca najnowsze osiągnięcia naukowe, zarówno techniczne, jak i technologiczne. Według Głównego Urzędu Statystycznego zaawansowana technologia to dziedziny i wyroby odznaczające się aktywnością badawczo-rozwojową oraz wysokim poziomem innowacyjności, ale jednocześnie krótkotrwałym cyklem życia wyrobów, co generuje duże ilości odpadów [8].

Jak dotychczas, w większości zastosowań technologicznych nie udało się zastąpić pierwiastków ziem rzadkich. Dla przykładu, europ – srebrzystobiały metal z grupy lantanowców, jest stosowany jako czerwony luminofor w odbiornikach telewizyjnych, nie mając żadnego znanego zamiennika [9]. Lantan stosowany jest jako dodatek do stopów metali. Jest wykorzystywany w produkcji katod w ogniach paliwowych, w akumulatorach oraz urządzeniach w branży medycznej. Cer, miękki i szary metal, ze względu na swoje niepowtarzalne cechy został wykorzystany do produkcji katalizatorów oraz w nowoczesnych kineskopach. Z kolei erb często wykorzystywany jest jako barwnik szkła np. w okularach przeciwsłonecznych. Ważne rolę w produkcji samochodów,

w tym w ich elektrycznych wersjach odgrywają neodym i itr. Kluczową rolę w zastosowaniach medycznych pełni lutet [10].

Metale ziem rzadkich znalazły zastosowanie w produkcji szkła, ceramiki, proszków polerskich oraz w metalurgii. Ich właściwości sprawiły, że są obecnie niezbędne również przy produkcji barwników, nawozów oraz włókien izolacyjnych. Pierwiastki ziem rzadkich stosowane są w klasach czystości. W USA, Japonii i Europie Zachodniej stosowane są związki ultraczyste, podczas gdy w Chinach częściej używane są stopy metali ziem rzadkich [3].

Dane statystyczne wskazują, iż w ciągu ostatnich trzech dekad nastąpiła eksplozja w zastosowaniu REE i ich stopów w urządzeniach technologicznych, takich jak pamięć komputera, płyty DVD, akumulatory, magnesy, telefony komórkowe, oświetlenie LED, dodatki do szkła, materiały fluorescencyjne, panele słoneczne [11].

Wśród kluczowych pierwiastków dla tzw. „zielonych technologii” są: neodym, prazeodym, dysproz i terb, które są wykorzystywane do produkcji magnesów trwałych. Magnesy te są stosowane w generatorach turbin wiatrowych i silnikach trakcyjnych pojazdów elektrycznych. Znajdują również zastosowanie w podzespołach elektronicznych oraz w różnego rodzaju silnikach [12]. Chociaż istnieją różne typy magnesów trwałych, magnesy z użyciem REE są najczęściej używane ze względu na ich wyjątkowe właściwości. Pod względem właściwości dorównują im tylko magnesy tzw. samarowo-kobaltowe, które są jednak znacznie droższe. Magnesy trwałe produkowane przy użyciu REE zostały opracowane w 1984 roku przez General Motors i Sumitomo Corporation. Neodym i prazeodym zwiększają siłę magnetyczną, podczas gdy dysproz i terb poprawiają odporność na rozmagnesowanie, szczególnie w bardzo wysokich temperaturach [13]. Z danych literaturowych wynika, iż nowoczesne samochody w swojej masie zawierają do kilkunastu kilogramów metali ziem rzadkich. Obecność REE wpływa ponadto pozytywnie na niektóre elementy wykorzystane do produkcji pojazdów, w tym szczególnie części metaliczne, które powinny cechować się twardością oraz odpornością na pękanie [3]. W mechanice samochodowej REE wykorzystywane są także do produkcji silników elektrycznych, katalizatorów oraz wyświetlaczy LED [3, 14].

Dutt i in. [15] przewidują, że globalny popyt na pierwiastki ziem rzadkich ma ciągle wzrastać, z kolei Graede sugeruje, iż wystąpi ryzyko braków kilku metali w najbliższej przyszłości [16]. Te oszacowania odnoszą się głównie do obszarów: ryzyka dostaw i wrażliwości na ograniczenia dostaw oraz konsekwencji dla środowiska. Rosnący globalny popyt na te pierwiastki w największym stopniu wiąże się z ich wykorzystaniem w zielonych technologiach tj. zastosowaniach takich jak samochody hybrydowe, elektryczne akumulatory samochodowe i turbiny wiatrowe.

Niewątpliwie pierwiastki ziem rzadkich są kluczowymi elementami przechodzenia na niskoemisyjną, bardziej nowoczesną i ekologiczną gospodarkę. Jednak oprócz pozytywnej strony tych zmian pojawia się problem związany z rosnącym wydobyciem pierwiastków ziem rzadkich, które stanowi zagrożenie środowiskowe. Dodatkowo, w procesie rafinacji wykorzystywane są silne związki chemiczne, takie jak kwas siarkowy oraz kwas fluorowodorowy. Czyste metale ziem rzadkich lub ich tlenki uzyskiwane są dopiero w czasie przeróbki kopaliny poza zakładem górniczym, co wiąże się z dużymi ilościami materiału odpadowego [17].

### 3. Wpływ pierwiastków ziem rzadkich na mikroorganizmy i ekosystem glebowy

Na zawartość pierwiastków ziem rzadkich w glebach wpływają skały macierzyste z jakich powstały gleby, uziarnienie, proces wietrzenia oraz procesy glebotwórcze. Wpływ na ich koncentrację mają również poziom materii organicznej oraz presje antropogeniczne. Poziom REE w środowisku glebowym jest zasadniczo średnią ważoną stężeń REE w minerałach, z których gleba powstała. W większości przypadków, obecność REE w glebie jest związana z ich obecnością w takich minerałach, jak apatyt i cyrkon. Związki REE z materią organiczną gleby, fosforanami, glinokrzemianami i wodorotlenkami są istotne dla określenia dróg i tempa ich migracji oraz biodostępności w glebach [18].

Na początku badań nad mobilnością REE zakładano, że pierwiastki ziem rzadkich w glebach są bardzo mało mobilne. Nesbitt [19] wykazał procesy mobilizacji REE w wyniku zmian pH gleby oraz procesów wietrzenia minerałów. Duddy [20] wykazał, że pierwiastki ziem rzadkich gromadzą się w głębszych partiach gleby wytworzonej ze skał wulkanicznych. Następnie Nesbitt i Markovics zbadali rozwój profilu glebowego i wykazali, że REE oraz wiele metaloidów gromadziło się w głębszych i mniej zwietrzałych częściach profili glebowych [21]. Udokumentowali również wypłukiwanie pierwiastków ziem rzadkich do głębszych warstw gleby oraz ich transport w wyniku erozji powierzchniowej. Niektórzy badacze potwierdzili, że mobilność REE w glebie jest kontrolowana przez wartości pH [22, 23]. Drogi migracji REE są liczne, obejmują procesy związane z ich pobieraniem przez rośliny, erozję, wymywanie czy adsorpcję.

W niektórych regionach świata działalność wydobywcza pierwiastków ziem rzadkich spowodowała poważne zanieczyszczenie środowiska, a w szczególności ekosystemów glebowych. Zawartości REE w glebie na obszarach górniczych w Chinach osiągnęły ponad 200 razy większe wartości niż naturalne poziomy w skorupie ziemskiej dla większości REE [24]. Wciąż nieliczne są doniesienia literaturowe na temat wpływu pierwiastków ziem rzadkich na mikrobiotę glebową. Wydaje się, że REE mogą mieć wpływ na rozwój mikroorganizmów. Drobnoustroje są zdolne do adsorpcji jonów metali ziem rzadkich [25]. Badania Luo i in. nad wpływem egzogennej itru na strukturę mikrobiologiczną gleby, wykazując negatywny wpływ pierwiastka na chemiczne i biologiczne właściwości gleby [26]. Autorzy udokumentowali wpływ itru na ograniczenie parametrów charakteryzujących bogactwo gatunkowe mikroorganizmów (liczba OTU oraz indeks Shannona) oraz zwiększenie indeksu Simpsona, co wskazuje na niską różnorodność mikrobiologiczną gleby. W badaniach stwierdzono również, iż najbardziej tolerancyjnymi w stosunku do egzogennej itru typami bakterii były proteobakterie i *Bacteroidetes*, a najbardziej wrażliwymi bakterie Gram-ujemne *Verrucomicrobia* [26]. Chao i in. przeanalizowali próbki glebowe pobrane z różnych punktach opuszczonych kopalni REE pod kątem struktury, zmienności i współwystępowania zbiorowisk drobnoustrojów glebowych [27]. Badania genetyczne metodą sekwencjonowania Illumina ukierunkowanego na geny 16S rRNA wykazały, że głównym czynnikiem wpływającym na strukturę mikroorganizmów było bogactwo gatunkowe zbiorowiska roślinnego, a następnie zmienność zawartości węgla całkowitego i azotu, a w dalszej kolejności występowanie pierwiastków ziem rzadkich. Nadmierne nagromadzenie pierwiastków ziem rzadkich może mieć również toksyczny wpływ na zbiorowiska makrofauny glebowej. Dla przykładu, rodziny owadów *Carabidae* i *Dermaptera*

są stosunkowo wrażliwe na poziom pierwiastków ziem rzadkich w glebie, w związku z tym można je potencjalnie wykorzystać jako wskaźniki zanieczyszczenia gleby tymi pierwiastkami [28].

Intensywna produkcja rolnicza, w tym stosowanie nawozów fosforowych, oraz niewłaściwa gospodarka odpadami są uznane za istotne przyczyny przedostawania się REE do środowiska i gleby [29]. Obecne zrozumienie roli różnych produktów fosforowych jako nośników pierwiastków ziem rzadkich w glebach jest wciąż w fazie wstępnej. W badaniach Ramos i in. oceniono koncentraty fosforytowe używane jako surowce w Ameryce Południowej, a także produkty końcowe (w tym nawozy fosforowe, fosforan dwuwapniowy i fosfogips) pod względem zawartości REE [30]. Poziom zawartości REE w surowcach i produktach końcowych był bardzo zmienny. Na zawartość i skład REE w produktach końcowych największy wpływ miało ich pochodzenie [30]. Otero i in. scharakteryzowali 27 nawozów stosowanych w Hiszpanii [31]. W ich badaniach oznaczono pierwiastki główne i śladowe, w tym pierwiastki ziem rzadkich. Nawozy wieloskładnikowe stosowane do nawożenia dolistnego miały niską zawartość metali ciężkich. Natomiast nawozy stosowane do nawożenia bazowego i pogłównego zawierały więcej zarówno pierwiastków ziem rzadkich, jak i metali ciężkich.

#### **4. Rola pierwiastków ziem rzadkich w promowaniu wzrostu roślin**

Wpływ określonych pierwiastków na procesy wzrostu roślin od dawna jest przedmiotem zainteresowania naukowców zajmujących się agronomią i fizjologią roślin. Jak wynika z danych literaturowych, pierwiastki ziem rzadkich (REE) mogą pozytywnie wpływać na plonowanie roślin uprawnych. Oprócz celowego wykorzystania w rolnictwie, pierwiastki ziem rzadkich są wprowadzane do gleby wraz z nawozami fosforowymi. Pierwsze zastosowania pierwiastków ziem rzadkich w rolnictwie miały miejsce w Chinach, a ich stosowanie miało na celu zwiększenie wydajności upraw i poprawę wydajności inwentarza żywego (np. produkcja jaj lub rozwój psiat) [32].

Riberio i in. badali wpływ pierwiastków ziem rzadkich zawartych w nawozach fosforowych na plony roślin strączkowych w Brazylii [33]. Doświadczenia polowe przeprowadzono z dwoma roślinami (fasola zwyczajna i soja). Autorzy wnioskowali, że REE obecne w nawozach fosforowych zwiększały efektywność plonowania roślin strączkowych. Zatem dobór nawozów fosforowych pod kątem pierwiastków towarzyszących może mieć wpływ na plony roślin uprawnych. La i Ce mogą wpływać na pobieranie i akumulację składników odżywczych, a z kolei wysokie stężenia tych pierwiastków mogą hamować wydłużanie korzeni pszenicy [34]. Z kolei badania de Oliveiry i in. wykazały, iż niskie poziomy La stymulują szybkość fotosyntezy i zawartość chlorofilu oraz wzrost biomasy korzeni i pędów roślin uprawnych [35]. Celem pracy Carpenter i in. była ocena fitotoksyczności i pobierania przez rośliny pierwiastków ziem rzadkich, takich jak: praeodym, neodym, samar, terb, dysproz i erb [36]. W badaniach stwierdzono ograniczony wpływ REE na kiełkowanie nasion i szybkość kiełkowania. Wpływ na biomasę nadziemną i podziemną był wyraźny, a nagromadzenie REE przez rośliny było większe w częściach podziemnych niż w tkankach nadziemnych. Większość badań dotyczyła wpływu na rośliny rosnące w glebie o niskich zawartościach REE [37-39]. Brakuje natomiast doniesień typowo toksykologicznych, dotyczących wpływu zanieczyszczenia gleby REE na rośliny [40]. Doniesienia z Chin, gdzie nawozy REE są regularnie stosowane w uprawie polowej, informują o pozytywnych

skutkach różnych REE dla metabolizmu roślin, ich wzrostu oraz plonów [41]. Jednak wiele z tych pozytywnych efektów obserwuje się tylko przy małych dawkach REE, a negatywne skutki stają się widoczne w miarę zwiększania dawek [42]. W doświadczeniu wazonowym badano wpływ lantanu i mieszanin pierwiastków ziem rzadkich na ich akumulację w roślinach kukurydzy. Zastosowanie mieszanin pierwiastków ziem rzadkich spowodowało istotny wzrost ich zawartości w korzeniach. Podobnie było w przypadku indywidualnego wprowadzenia La do gleby. Nastąpił istotny przyrost zawartości La w korzeniach i wierzchołkach roślin [43]. W ostatnich latach rośnie zainteresowanie zastosowaniem pierwiastków ziem rzadkich również w produkcji roślin leczniczych. Dane literaturowe wskazują, że REE mają różnorodny wpływ na kiełkowanie nasion, wzrost korzeni, wielkość biomasy, produkcję wtórnych metabolitów oraz pobieranie poszczególnych pierwiastków przez rośliny lecznicze. Mają efekty promujące przy niskich stężeniach, podczas gdy negatywne skutki występują przy stosunkowo wysokich poziomach REE w glebie. Naukowcy jednoznacznie stwierdzają, iż należy kontynuować badania pod kątem wpływu REE na plony roślin uprawnych. Niektóre domniemane funkcje REE, na przykład zdolność do hamowania pobierania szkodliwych pierwiastków przez rośliny, mogą być teoretycznie rozwiązaniem w uprawie roślin, które mają tendencję do akumulacji metali ciężkich [42].

## **5. Podsumowanie**

Pierwiastki ziem rzadkich są kluczowe dla rozwoju nowoczesnych technologii. Ich wzrastające wydobycie oraz wykorzystanie przemysłowe powodują wzbogacenie gleb w REE w regionach przemysłowych. Są również składnikami nawozów fosforowych a także są badane pod kątem zastosowania jako dodatki do pasz i stymulanty rozwoju roślin. Z reguły pierwiastki ziem rzadkich w niskich stężeniach pozytywnie wpływają na wzrost roślin, zwiększając produkcję biomasy. Takie cechy jak lepsza struktura i architektura roślin, również zostały powiązane z obecnością pierwiastków ziem rzadkich w glebie. REE gromadzą się zarówno w korzeniach, jak i częściach nadziemnych roślin. W miarę zwiększania dawek REE, widoczny jest ich negatywny wpływ na rośliny, który obejmuje ograniczenie plonowania roślin, słabszy rozwój korzeni, ograniczone pobieranie składników pokarmowych a także uszkodzenia chloroplastów. Ważnym elementem badania wpływu pierwiastków ziem rzadkich na ekosystem glebowy jest ocena ich wpływu na różnorodność mikroorganizmów. Chociaż badania wykazują pozytywny wpływ REE na wzrost roślin, wiele pytań dotyczących ich skutków dla życia biologicznego w glebie pozostaje bez odpowiedzi.

## **Podziękowania**

Praca zrealizowana w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki OPUS, nr projektu 2019/35/B/ST10/03244. „Badanie środowiskowych skutków występowania pierwiastków ziem rzadkich oraz antymonu i wanadu w glebach i odpadach”. Kierownik projektu: dr hab. Grzegorz Siebielec, prof. IUNG. Okres realizacji: lata 2020-2023.

## Literatura

1. Mehmood M., *Rare Earth Elements – A Review*, Journal of Ecology & Natural Resources, 2018, doi: 10.23880/jenr-16000128.
2. Porowski A., *Pierwiastki ziem rzadkich (REE) w wodach termalnych: występowanie, Pochodzenie, znaczenie i Perspektywy badań w Polsce*, Technika Poszukiwań Geologicznych Geotermia, Zrównoważony Rozwój, 2016, 1, s. 89-102.
3. Podbiera-Matysik K., Gorazda K., Wzorek Z., *Kierunki zastosowania i pozyskiwania metali ziem rzadkich*, Czasopismo Techniczne. Chemia, 2012, 16, s.147-156.
4. Charalampides G., Vatalis K.I., Apostoplos B., Nikolas B.P., *Rare Earth Elements: Industrial Applications and Economic Dependency of Europe. International Conference on Applied Economics (ICOAE)*, Procedia Economics and Finance, 2015, 24, s. 126-135.
5. Wang L., Liang T., *Geochemical fractions of rare earth elements in soil around a mine tailing in Baotou, China*, Scientific Reports, 2015, doi: 10.1038/srep12483.
6. Radwanek-Bąk B., *Zasoby kopalin Polski w aspekcie oceny surowców krytycznych Unii Europejskiej*, Gospodarka Surowcami Mineralnymi – Mineral Resources Management, 2011, 27(1), s. 5-19.
7. Balaram V., *Rare earth elements: A review of applications, occurrence, exploration, analysis, recycling, and environmental impact*, Geoscience Frontiers, 2019, 10(4), s. 1-20.
8. Ratajczak-Mrozek M., *Specyfika przedsiębiorstw zaawansowanych technologii (high-tech)*, Przegląd organizacji, 2011, 2, s. 1-4, doi: 10.33141/po.2011.02.0.
9. Haxel G.B., Hedrick J.B., Orris G.J., *Rare Earth Elements – Critical Resources for High Technology*, 2002, doi: 10.3133/fs08702.
10. Całus Moszko J., Białęcka B., *Potencjał i zasoby metali ziem rzadkich w świecie oraz w Polsce*, Prace Naukowe GIG Górnictwo i Środowisko, 2012, 4, s. 61-72.
11. Balaram V., *Current advances in the miniaturization of analytical instruments applications in cosmochemistry, geochemistry, exploration and environmental sciences*, Spectroscopy, 2016, 31(10), s. 40-44.
12. Seaman J., *Rare earths and China: A review of changing criticality in the new economy*, Notes de l'Ifri, Ifri, Paris. <https://policycommons.net/artifacts/1406180/rare-earths-and-china/2020446/>, 27.08.2021.
13. Roskill, *Rare Earths: Market outlook to 2020 (15<sup>th</sup> edition)*, Roskill, London 2015.
14. Kong L., Hu H., Wang T., Huang D., Fu J., *Synthesis and surface modification of the nanoscale cerium borate as lubricant additive*, Journal of Rare Earths, 2011, 29 (11), s. 1095-1099.
15. Dutt T., Kim K.H., Uchimiya M., Kwon E.E., Jeon B.H., Deep A., Yun S.T., *Global demand for rare earth resources and strategies for green mining*, Environmental Research, 2016, 50, s. 182-190.
16. Graede T., *Metals Used in High-Tech Products Face Future Supply Risks*, PNAS, 2015.
17. Nieć M., *Pierwiastki ziem rzadkich – surowiec w Polsce niepożądany? Uwagi na temat stanowienia Prawa geologicznego i górniczego*, Zeszyty Naukowe Instytutu Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią Polskiej Akademii Nauk, 2018, 106, s. 127-132.
18. Aide M.T., Aide C., *Rare Earth Elements: Their Importance in Understanding Soil Genesis*, International Scholarly Research Network ISRN Soil Science, 2012, doi:10.5402/012/783876.
19. Nesbitt H.W., *Mobility and fractionation of rare earth elements during weathering of a granodiorite*, Nature, 1979, 279, s. 20-210.
20. Duddy L.R., *Redistribution and fractionation of rare-earth and other elements in a weathering profile*, Chemical Geology, 1980, 30, s. 363-381.

21. Nesbitt H.W., Markovics G., *Weathering of granodioritic crust, long-term storage of elements in weathering profiles, and petrogenesis of siliciclastic sediments*, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1997, 61, s. 1653-1670.
22. Pazand K., Javanshir A.R., *Rare earth element geochemistry of spring water, north western Bam, NE Iran*, *Applied Water Science*, 2014, 4, s. 1-9.
23. Migaszewski Z.M., Galuszka A., Migaszewski A., *The study of rare earth elements in farmer's well waters of the Podwiśniówka acid mine drainage area (South-Central Poland)*, *Environmental Monitoring and Assessment*, 2014, 186, s.1609-1622.
24. Liang T., Li K., Wang L., *State of rare earth elements in different environmental components in mining areas of China*, *Environmental Monitoring and Assessment*, 2014, 186, s. 1499-1513.
25. Tang S., Zheng C., Chen M., Du W., Xu X., *Geobiochemistry characteristics of rare earth elements in soil and ground water: a case study in Baotou, China*, *Science Reports*, 2020, doi:10.1038/s41598-020-68661-4.
26. Luo C., Deng Y., Liang J., Zhu S., Wei Z., Guo X., Luo X., *Exogenous rare earth element-yttrium deteriorated soil microbial community structure*, *Journal of Rare Earths*, 2018, 36, s. 430-439.
27. Chao Y., Liu W., Chen Y., Chen W., Zhao L., Ding Q., Wang S., Tang Y.T., Zhang T., Qiu R.L., *Structure, Variation, and Co-occurrence of Soil Microbial Communities in Abandoned Sites of a Rare Earth Elements Mine*, *Environmental Science and Technology*, 2016, 50, s. 11481-11490.
28. Li., Hong M., Yin X., Liu J., *Effects of the accumulation of the rare earth elements on soil macrofauna community*, *Journal of Rare Earths*, 2010, 28(6), s. 957-964.
29. Zhang S., Shan X.Q., *Speciation of rare earth elements in soil and accumulation by wheat with rare earth fertilizer applications*, *Environmental Pollution*, 2001, 112, s. 395-405.
30. Ramos S.J., Dinali G.S., de Carvalhob S.T., Chavesc L.C., Siqueiraa J.O., Guilhermeb L.R.G., *Rare earth elements in raw materials and products of the phosphate fertilizer industry in South America: Content, signature, and crystalline phases*, *Journal of Geochemical Exploration*, 2016, 168, s. 177-186.
31. Otero N., Vitòria L., Soler A., Canalas A., *Fertiliser characterisation: Major, trace and rare earth elements*, *Applied Geochemistry*, 2005, 20 (8), s. 1473-1488.
32. Tommasi F., Thomas P.J., Pagano G., Perono A.G., Oral R., Lyons D.M., Toscanesi M., Trifuoggi M., *Review of Rare Earth Elements as Fertilizers and Feed Additives: A Knowledge Gap Analysis*, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2020, doi:10.1007/s00244-020-00773-4.
33. Ribeiro P.G., Dinali G.S., Boldrin P.F., de Carvalho T.S., de Oliveira C., Ramos S.J., Siqueira J.O., Moreira C.G., Guilherme L.R.G., *Rare earth elements (REEs) rich-phosphate fertilizers used in brazil are more effective in increasing legume crops yield than their rees-poor counterparts*, *International Journal of Plant Production*, 2021, 15, s. 1-11.
34. Hu X., Ding Z., Chen Y., Wang X., Dai L., *Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings*, *Chemosphere*, 2002, 48, s. 621-629.
35. de Oliveira C., Ramos S.J., Siqueira J.O., Faquin V., de Castro E.M., Amaral D.C., Techio V.H., Coelho L.C., e Silva P.H., Schnug E., Guilherme L.R., *Bioaccumulation and effects of lanthanum on growth and mitotic index in soybean plants*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 122, s. 136-144.
36. Carpenter D., Boutin C., Allison J.E., Parsons J.L., Ellis D.M., *Uptake and Effects of Six Rare Earth Elements (REEs) on Selected Native and Crop Species Growing in Contaminated Soils*, *PLoS One*, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0129936.
37. Markert B., Li Z.D., *Natural background concentrations of rare-earth elements in a forest ecosystem*, *Science of the Total Environment*, 1991, 103, s. 27-35.



38. Fu F., Akagi T., Shinotsuka K., *Distribution pattern of rare earth elements in fern: implication for intake of fresh silicate particles by plants*, Biological Trace Element Research, 1998, 64, s. 13-26.
39. França E.J., De Nadai Fernandes E.A., Turra C., Bacchi M.A., Elias C., Tagliaferro F., Sileno Tagliaferro F., Moreira C.F., Ribeiro A.P., *Survey of lanthanoids in plants from a tropical region*, International Journal of Environmental Research and Public Health, 2011, 5 (1-2), s. 32-48.
40. Diatloff E., Smith F.W., Asher C.J., *Effects of lanthanum and cerium on the growth and mineral nutrition of corn and mungbean*, Annals of Botany, 2008, 101, s. 971-982.
41. Pang X., Li D., Peng A., *Application of rare-earth elements in the agriculture of China and its environmental behavior in soil*, Environmental Science and Pollution Research, 2002, 9(2), s. 143-148.
42. Zhang C., Li Q. Zhang M., Zhang N., Li M., *Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants*, Acta Pharmaceutica Sinica B, 2013, 3(1), s. 20-24.
43. Xu X., Zhu W., Wang Z., Witkamp G.J., *Accumulation of rare earth elements in maize plants (*Zea mays L.*) after application of mixtures of rare earth elements and lanthanum*, Plant and Soil, 2003, 252, s. 267-277.

## Pierwiastki ziem rzadkich w środowisku

### Streszczenie

Wzrastające zapotrzebowanie na pierwiastki ziem rzadkich, wywołane rozwojem nowych technologii, spowodowały wzrost intensywności ich wydobycia i przeróbki. Pierwiastki ziem rzadkich są kluczowe dla transformacji do niskoemisyjnej i bardziej nowoczesnej gospodarki. Z drugiej strony pojawia się problem związany ze wzrastającą dyspersją tych pierwiastków w środowisku. Z tego powodu w publikacji przedstawiono zakres wykorzystania pierwiastków ziem rzadkich w gospodarce, drogi ich rozprzestrzeniania oraz ich wpływ na ekosystem glebowy oraz rozwój roślin. Przegląd literatury wskazuje, że z reguły pierwiastki te w niskich stężeniach pozytywnie wpływają na wzrost roślin, zwiększając produkcję biomasy. W miarę zwiększania dawek REE, widoczny jest ich negatywny wpływ na rośliny. Wiele pytań dotyczących oddziaływania REE na życie biologiczne w glebie pozostaje bez odpowiedzi.

Słowa kluczowe: pierwiastki ziem rzadkich, gleba, mikroorganizmy, promowanie wzrostu

## Rare earth elements in the environment

### Abstract

The growing demand for rare earth elements, stimulated by the development of new technologies, results in an increase in the intensity of their extraction and processing. These elements are key to the transition to a low-carbon and more modern economy. On the other hand, there is a problem with the increasing dispersion of REE in the environment. For this reason, the publication covers the use of rare earth elements in the economy, the routes of their spread and their impact on the soil ecosystem and plant growth. A review of the literature shows that, in general, these elements in low concentrations have a positive effect on plant growth, increasing the production of biomass. As the doses of REE are increased, their negative effect on plants are observed. Many questions regarding the impact of REE on soil biology remain unanswered.

Keywords: rare earth elements, soil, microorganisms, growth promoting

## Wpływ biokompozytów zawierających nanocząstki srebra na efektywność zakażenia tytoniu (*Nicotiana L.*) wirusem mozaiki pomidora (ToMV)

### 1. Wprowadzenie

Nanocząstki metali znajdują szerokie zastosowania w licznych gałęziach przemysłu [1]. Owe nanostruktury mogą stanowić składnik m. in. nawozów [2] oraz być surowcem do produkcji innowacyjnych preparatów przeciwdrobnoustrojowych wykorzystywanych w medycynie oraz weterynarii [3]. Nanocząstki srebra posiadają wymiary zbliżone do 100 nm a liczba atomów tworzących ich struktury jest zmienna. Różnorodność kształtów oraz wielkość uzyskiwanych nanostruktur wynika z zastosowanej metody ich syntezy [4]. Jedną z najbardziej popularnych metod otrzymywania nanosrebra jest synteza chemiczna opierająca się na zredukowaniu srebra metalicznego z jego soli w roztworze wodnym przy użyciu substancji o charakterze redukującym przykładowo ksylozy oraz środków hamujących agregację nowopowstałych cząstek (np.: polimerów) [5]. Biopolimery to cząsteczki pochodzenia naturalnego zbudowane z wielu podjednostek złączonych przy pomocy wiązań kowalencyjnych. Ich cenną właściwością jest zdolność rozkładu do podstawowych związków takich jak dwutlenek węgla oraz woda, co czyni je przykładem związków biodegradowalnych, bezpiecznych dla środowiska naturalnego [6]. Biopolimerowe tworzywa mogą stawać się nośnikami określonych substancji takich jak olejki eteryczne oraz wspomniane już wcześniej nanostruktury [7]. Alginian sodu jako polimer pochodzenia naturalnego wykazuje wysokie właściwości hydrofilowe oraz wysoką zdolność wiązania wody. Zbudowany jest z reszt kwasu  $\alpha$ -L-gulonowego oraz kwasu  $\beta$ -D-mannuronowego, które to cząsteczki złączone są dzięki obecności wiązań glikozydowych [8].

Tytoń (*Nicotiana L.*) należy do rodziny psiankowatych (*Solanaceae*). Liczne gatunki z tego rodzaju stanowią ważne rośliny modelowe, wykorzystywane w badaniach z zakresu biologii molekularnej oraz wirusologii [9]. W Polsce uprawa tytoniu ma duże znaczenie ekonomiczne ze względu na wykorzystanie tej rośliny w różnych gałęziach

---

<sup>1</sup> miloszr131@gmail.com, Koło Naukowe Biotechnologów „Helisa”, Sekcja Botaniki i Fizjologii Roślin, Koło Naukowe Ogrodników, Sekcja Botaniki i Ekologii, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, <https://urk.edu.pl/>.

<sup>2</sup> lidia.krzeminska-fiedorowicz@urk.edu.pl, Katedra Chemii, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, [https://wtz.urk.edu.pl/Katedra\\_Chemii.html](https://wtz.urk.edu.pl/Katedra_Chemii.html).

<sup>3</sup> gohar.khachatryan@urk.edu.pl, Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, [https://wtz.urk.edu.pl/Katedra\\_Analzy\\_i\\_Oceny\\_Jakosci\\_Zywnosci.html](https://wtz.urk.edu.pl/Katedra_Analzy_i_Oceny_Jakosci_Zywnosci.html).

<sup>4</sup> piotr.danda@urk.edu.pl, Katedra Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, <https://wbio.urk.edu.pl/index/site/6942/>

<sup>5</sup> zbigniew.gajewski@urk.edu.pl, Katedra Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, <https://wbio.urk.edu.pl/index/site/6942>.

gospodarki. Liście tytoniu stanowią surowiec w przemyśle tytoniowym, a także w produkcji środków ochrony roślin. Spośród krajów Unii Europejskiej Polska jest wiodącym producentem tytoniu [10]. Kluczowym zagadnieniem w uprawie roślin użytkowych jest możliwość otrzymania surowca wysokiej jakości, zdrowego i odpornego na działanie patogenów, gdyż wywołane infekcje stanowią wciąż jeden z podstawowych problemów w rolnictwie. Liczną grupę patogenów porażających rośliny uprawne stanowią wirusy. Ich obecność w roślinach można potwierdzić stosując różne metody diagnostyczne takie jak testy molekularne, biologiczne (zakażenie roślin testowych), bądź serologiczne jak DAS ELISA [11].

W grupie wirusów infekujących przedstawicieli rodziny *Solanaceae*, jednym z groźniejszych i będącym podstawową przyczyną strat w światowej produkcji pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill.) jest wirus mozaiki pomidora (ToMV) [12], klasyfikowany do rodzaju *Tobamovirus*. Zakażenie nim dokonuje się prawie wyłącznie na drodze mechanicznej transmisji [13].

Potrzeba ograniczenia negatywnych skutków porażenia roślin uprawnych wirusem ToMV powoduje, że wciąż podejmowane są próby wprowadzenia innowacyjnych rozwiązań, które pozwoliłyby na skuteczne zahamowanie infekcji tym patogenem. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań dotyczących efektywności zakażeń i wystąpienia objawów infekcji powodowanych przez ToMV u tytoniu, po zastosowaniu roztworów biodegradowalnych żeli alginianowych zawierających nanocząstki srebra.

## 2. Cel pracy

Celem pracy była ocena wpływu biokompozytów zawierających nanocząstki srebra (AgNPs) na efektywność zakażenia roślin tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum* L.) wirusem mozaiki pomidora ToMV.

Ze względu na typowy dla tego wirusa sposób transmisji, podjęte badania miały za zadanie wyjaśnić, czy i w jakim stopniu zastosowanie roztworów z nanocząstkami srebra, pozyskanymi przez zastosowanie ksylozy jako reduktora, może ograniczyć lub powstrzymać infekcję roślin wskaźnikowych poddanych mechanicznej inokulacji wirusem. Sprawdzono wpływ pokrycia liści żelami z AgNPs na efektywność wystąpienia zakażeń lokalnych. Dla stwierdzenia działania substancji czynnych pojawiających się w roślinach w wyniku zastosowania biokompozytów zawierających AgNPs na możliwość namnażania i transportu ToMV w tkankach. Efektywność zakażeń sprawdzono również na roślinach reagujących objawami systemicznymi (efektywność zakażenia systemicznego).

Dodatkowym celem pracy było sprawdzenie bezpośredniego wpływu żelu z AgNPs na cząsteczki wirusa (wpływu na infekcyjność wirusa w inokulacie z dodatkiem żelu).

## 3. Materiały i metody

### 3.1. Synteza żeli zawierających nanocząstki srebra

Żele z nanocząstkami srebra (AgNPs) zsyntetyzowano w alginianie sodu (1,5%), do którego, po skleikowaniu, dodano roztwór azotanu(V)srebra oraz roztwór ksylozy jako reduktor, tak aby uzyskać dwa stężenia nanosrebra 50 ppm i 100 ppm. Dodatkowo przygotowano żel zawierający alginian sodu bez dodatku nanocząstek srebra. Następnie próbki rozcieńczono wodą destylowaną w stosunku objętościowym (1:10) co spowodowało uzyskanie dwóch stężeń doświadczalnych nanocząstek srebra w alginianie sodu: 5 ppm oraz 10 ppm. Charakterystykę właściwości fizykochemicznych otrzymanych biożeli przedstawiono w pracy [14].

### **3.2. Ocena efektywności zakażenia mechanicznego**

Na ogłowione rośliny *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi w fazie czterech dobrze wykształconych liści właściwych naniesiono przy pomocy opryskiwacza ręcznego badane roztwory z AgNPs. Opryski wykonano w godzinach przedpołudniowych, w zależności od kombinacji na 24 h, oraz na 2 h przed mechanicznym zakażeniem, nanosząc na każdą z roślin po 10 ml roztworu. Rośliny kontrolne na 2 h przed zakażeniem opryskiwano taką samą objętością wody destylowanej. Jako źródło wirusa wykorzystano zamrożone liście z porażonych ToMV roślin *Nicotiana tabacum* cv. Samsun. Rozmrożoną tkankę liści rozstarto w wodzie destylowanej w proporcji 1 : 5. Zakażenie przeprowadzono nanosząc równomiernie inokulat zawierający ToMV przy pomocy delikatnego pędzelka na powierzchni całych liści. Po tygodniu od zakażenia zliczono liczbę nekrotycznych plamek powstałych na zakażonych liściach tytoniu.

### **3.3. Ocena bezpośredniego wpływu substancji czynnych żeli z AgNPs na wirusa ToMV**

Rośliny *N. tabacum* cv. Xanthi zakażano bez wcześniejszego opryskiwania, nanosząc przy pomocy pędzelka, mieszaniną inokulatu z ToMV (przygotowaną jak we wcześniejszym opisie) w stosunku 1 : 1 z: nierozcieńczonym roztworem alginianu zawierającym AgNPs (100 ppm), z substancją stanowiącą podłoże (żel z alginianem) bez AgNPs (Alg) i jako kontrolą z wodą destylowaną. Po 7 dniach od zakażenia zliczono liczbę nekrotycznych plamek na zakażonych liściach.

### **3.4. Ocena wpływu roztworu z AgNPs na efektywność zakażeń systemicznych**

Na tym etapie doświadczenia użyto roślin *Nicotiana tabacum* cv. Samsun, reagujących na obecność ToMV systemicznie. Rośliny podzielono na 3 grupy po 10 sztuk. Na 20 roślin naniesiono przy pomocy opryskiwacza ręcznego po 10 ml roztworu z AgNPs (10 ppm) odpowiednio 24 h i 2 h przed zakażeniem. Trzecią grupę (kontrola) na 2 h przed zakażeniem opryskiwano wodą destylowaną. Wszystkie rośliny tuż przed zakażeniem opylono równomiernie karborundem 300 mesh. Inokulat z ToMV (przygotowany jak w opisie powyżej) nanoszono na rośliny palcem. Po zakażeniu liście roślin splukiwano wodą. Po 14 dniach od zakażenia wirusem ToMV liczono rośliny wykazujące objawy zakażenia. Aby zweryfikować stan zdrowotny badanych roślin przeprowadzono test immunoserologiczny DAS ELISA wg metodyki opracowanej przez Clarka i Adamsa [15] z zastosowaniem surowicy Anti-ToMV firmy LOEWE (Niemcy). Odczytów ekstynkcji dla fali 405 nm ( $A_{405}$ ) dokonano przy użyciu wielokanałowego czytnika – Labsystems Multiskan MS. Jako pozytywne przyjęto próbki dla których wartość zmierzonej ekstynkcji była wyższa niż wartość progowa (średnia dla roślin stanowiących kontrolę negatywną plus 3 wartości odchylenia standardowego).

### **3.5. Analiza statystyczna**

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono przy zastosowaniu programu Statistica w wersji 13,3. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). W celu porównania średnich stosowano test post-hoc Duncana. Istotność różnic określono przy  $p = 0,05$ .

## 4. Wyniki

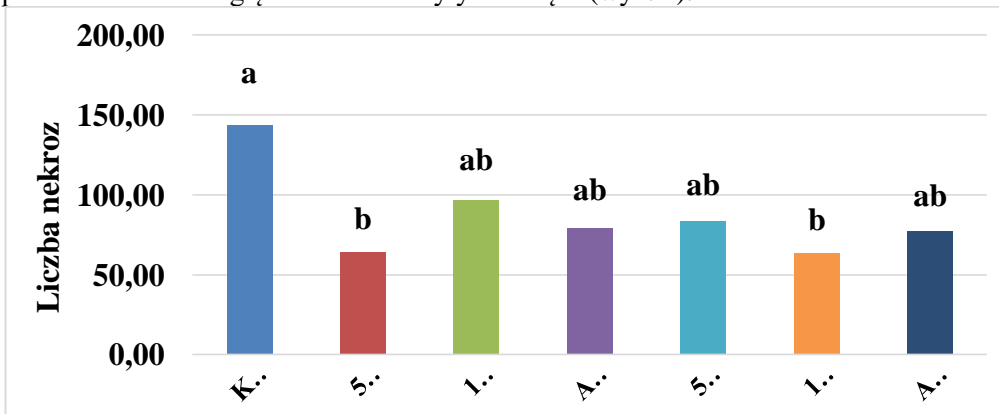
### 4.1. Efektywność zakażenia mechanicznego

Na wszystkich zakażonych mechanicznie wirusem ToMV roślinach *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi zaobserwowano na liściach charakterystyczne objawy infekcji w formie lokalnych nekrotycznych plamek (fot. 1).



Fotografia 1. Liść tytoniu *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi z lokalnymi zmianami nekrotycznymi [opracowanie własne]

W tej grupie roślin, we wszystkich kombinacjach opryskiwanych roztworem alginianu sodu, niezależnie od obecności w roztworze nanocząstek srebra oraz ich stężenia, stwierdzono niższą względem kontroli liczbę nekroz (wyk. 1). W przypadku większości kombinacji ich liczba zmalała o 33,0-46,5%, nie były to jednak różnice statystycznie istotne w porównaniu z kontrolą. W przypadku roślin opryskiwanych 2 h przed zakażeniem roztworem zawierającym AgNPs w stężeniu 5 ppm, oraz opryskiwanych 24 h przed zakażeniem roztworem w stężeniu 10 ppm, redukcje nekroz były na podobnym poziomie, i wynosiły odpowiednio 55,4 i 55,7%. W obydwu tych przypadkach różnice względem kontroli były znaczące (wyk. 1).



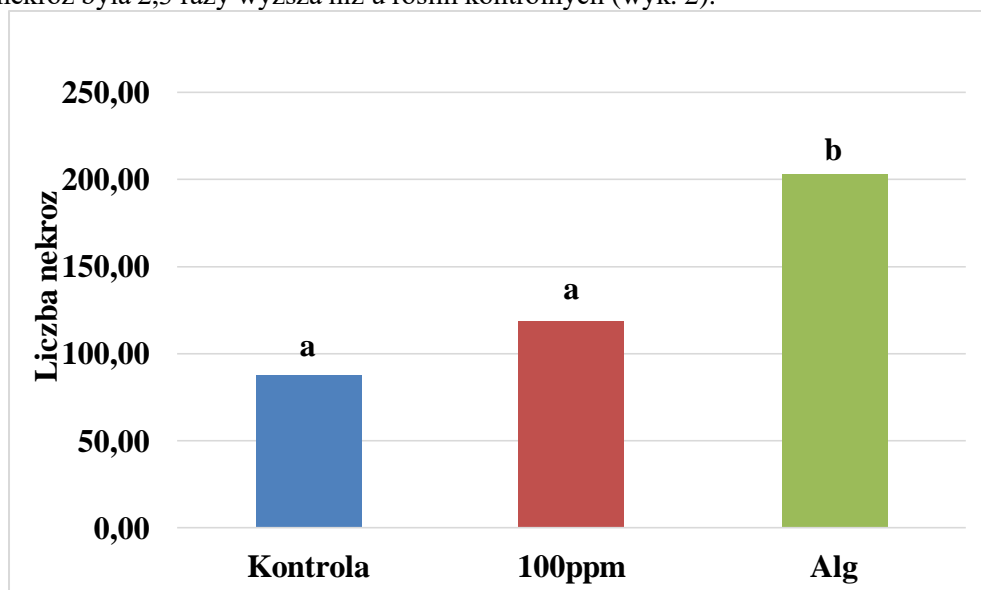
Wykres 1. Efektywność mechanicznego zakażenia wirusem ToMV, mierzona liczbą nekroz na liściach *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi po zastosowaniu różnych wariantów oprysków żelami z AgNPs. Średnie w kombinacjach oznaczonech tymi samymi symbolami literowymi nie różnią się istotnie w teście Duncana ( $p = 0,05$ ) [opracowanie własne]

Legenda (Wyk. 1-2 oraz Tab. 1):

- Kontrola – rośliny traktowane wodą destylowaną;
- 5 ppm/2 h – rośliny opryskiwane 2 godziny przed zakażeniem roztworem żeli z AgNPs o stężeniu 5 ppm (pozyskanych przez zastosowanie ksylozy jako reduktora);
- 10 ppm/2 h – rośliny opryskiwane 2 godziny przed zakażeniem roztworem żeli z AgNPs o stężeniu 10 ppm (pozyskanych przez zastosowanie ksylozy jako reduktora);
- Alg/2 h – rośliny opryskiwane 2 godziny przed zakażeniem roztworem alginianu sodu bez AgNPs;
- 5 ppm/24 h – rośliny opryskiwane 24 godziny przed zakażeniem roztworem żeli z AgNPs o stężeniu 5 ppm (pozyskanych przez zastosowanie ksylozy jako reduktora);
- 10 ppm/24 h – rośliny opryskiwane 24 godziny przed zakażeniem roztworem żeli z AgNPs o stężeniu 10 ppm (pozyskanych przez zastosowanie ksylozy jako reduktora);
- Alg/24 h – rośliny opryskiwane 24 godziny przed zakażeniem roztworem alginianu sodu bez AgNPs
- Alg – rośliny traktowane roztworem alginianu sodu bez AgNPs;
- 100 ppm – rośliny traktowane roztworem AgNPs o wyjściowym stężeniu 100 ppm (pozyskanych przez zastosowanie ksylozy jako reduktora);

## 4.2. Wpływ substancji czynnych żeli z AgNPs na wirusa

Objawy infekcji ToMV w formie lokalnych nekroz zaobserwowano u wszystkich zakażonych roślin. Stwierdzono zwiększenie się średniej liczby nekroz w porównaniu z kontrolą (wyk. 2). Na roślinach zakażonych mieszaniną inokulatu z żelem zawierającym AgNPs w stężeniu 100ppm było ich więcej o 35% w porównaniu z kontrolą. Różnice między tymi kombinacjami nie były istotne. Istotnie różniły się jednak średnie dla roślin kontrolnych oraz roślin zakażonych mieszaniną inokulatu i roztworu alginianu sodu nie zawierającego nanocząstek srebra. U tak traktowanych roślin średnia liczba nekroz była 2,3 razy wyższa niż u roślin kontrolnych (wyk. 2).



Wykres 2. Efektywność mechanicznego zakażenia wirusem ToMV, mierzona liczbą nekroz na liściach *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi po zastosowaniu różnych roztworów inokulatu. Średnie w kombinacjach oznaczonych tymi samymi symbolami literowymi nie różnią się istotnie w teście Duncana ( $p = 0,05$ )

[opracowanie własne]

### 4.3. Wpływ roztworu z AgNPs na efektywność zakażeń systemicznych

Na wszystkich zakażanych roślinach *Nicotiana tabacum* cv. Samsun niezależnie od sposobu traktowania zaobserwowano objawy infekcji ToMV. W tym przypadku były to jednak objawy systemiczne, w formie mozaiki na liściach (fot. 2). Były one u wszystkich roślin prawie identyczne (słabe różnice dotyczyły ich intensywności między poszczególnymi roślinami). Dla wszystkich roślin (po 5 z każdej kombinacji), u których obecność wirusa w tkankach potwierdzano testem DAS ELISA, wynik był pozytywny. Uwzględniając jednakowe objawy oraz wyniki testu serologicznego uznano, że we wszystkich roślinach, niezależnie od zastosowanej dawki czy czasu aplikacji AgNPs, doszło do namnażania się i przemieszczania wirusa w tkankach (skuteczność zakażenia 100%) (tab. 1).

Tabela 1. Udział roślin *Nicotiana tabacum* cv. Samsun wykazujących objawy systemiczne oraz roślin z potwierdzoną testem DAS ELISA obecnością wirusa ToMV. [opracowanie własne]

Sposób traktowania	Liczba testowanych roślin	Liczba roślin z objawami systemicznymi	Liczba roślin testowanych DAS ELISA	Liczba roślin z pozytywnym wynikiem testu DAS ELISA	Udział roślin zakażonych [%]
Kontrola	10	10	5	5	100
10 ppm/2 h	10	10	5	5	100
10 ppm/24 h	10	10	5	5	100



Fotografia 2. Liść tytoniu *Nicotiana tabacum* cv. Samsun wykazujący charakterystyczne dla infekcji ToMV objawy systemiczne w formie mozaiki [opracowanie własne]

## 5. Dyskusja wyników

Nanocząstki różnorodnych pierwiastków są w dzisiejszym świecie jednym z ważnych tematów podejmowanych badań naukowych. Ze względu na swoje właściwości przeciwdrobnoustrojowe [3, 14, 16], w tym również przeciwwirusowe [17, 18], nanocząstki zwłaszcza te pozyskane według zasad „zielonej chemii” mogą stawać się potencjalnym surowcem do tworzenia nowoczesnych środków hamujących rozprzestrzenianie się

zakażeń wirusowych wśród organizmów żywych. W niektórych pracach np. [16, 18], wskazuje się na możliwość zastosowania nanocząstek metali w ramach zabiegów agrotechnicznych do ochrony roślin. Jeśli chodzi o możliwości zapobiegania infekcji wirusami wśród roślin, testowane są między innymi nanocząstki: złota (AuNPs), dwutlenku tytanu (TiO<sub>2</sub>) czy tlenku żelaza (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) [19]. Pozytywne efekty stwierdzano po zastosowaniu nanocząstek tlenku cynku (ZnONPs), w przypadku których poza złagodzeniem objawów zakażenia wirusami mozaiki tytoniu (TMV) czy mozaiki pomidora (ToMV) [20-22], stwierdzono dodatkowo stymulujący efekt cynku na wzrost i jakość roślin [20]. Część prac opisuje możliwe działanie antywirusowe na roślinach po aplikacji AgNPs. Ich zastosowanie okazało się skuteczne w ograniczeniu infekcji takimi wirusami jak np.: wirus Y ziemniaka (PVY), wirus żółtej mozaiki jęczmienia (BYMV), wirus brązowej plamistości pomidora (TSWV) czy *Sunhemp rosette virus* (SHRV) [19, 20]. Właściwości antywirusowe i mechanizmy działania nanocząstek w roślinach zakażonych wirusami nie są do końca poznane [3, 20, 21]. Najczęściej sugeruje się aktywowanie mechanizmów obronnych rośliny (indukowanie nabytej odporności systemicznej, SAR), zahamowanie replikacji kwasów nukleinowych wirusa, a także bezpośrednie oddziaływanie nanocząstek na wiriony, ich agregacja oraz uszkodzenie białek kapsydu [20-22]. Wcześniej, opisywane w literaturze badania na temat możliwego wpływu nanocząstek srebra na ToMV, dotyczyły możliwości wzbudzenia ogólnoustrojowej oporności nabytej w roślinach pomidora [23]. We wspomnianym przypadku nanocząstki aplikowane były jednak w postaci wodnego roztworu bez dodatkowych komponentów.

W niniejszej pracy zbadano efektywność infekcji wywołanej ToMV na roślinach tytoniu opryskiwanych AgNPs zawieszonymi w alginianie sodu jako nośniku niezależnie od sposobu aplikacji, i zastosowanego stężenia nanosrebra nie udało się wyeliminować zakażeń ToMV. Wszystkie inokulowane rośliny wykazywały lokalne lub systemiczne objawy infekcji w zależności od zastosowanej rośliny testowej. W opisanych kombinacjach i przy zastosowanych stężeniach nie jest to metoda skuteczna. Wszystkie rośliny *Nicotiana tabacum* cv. Samsun wykazały objawy systemiczne w formie mozaiki na liściach. Świadczy to, że obecność różnych kompozytów wchodzących w skład żelu, nawet jeżeli potencjalnie zostaną pobrane przez roślinę, nie jest w stanie zahamować namnażania się wirusa w tkankach.

W przypadku wirusów przenoszących się mechanicznie, a do tej grupy należy ToMV, szczególnie ważne jest potencjalne oddziaływanie różnych substancji, które albo mogą oddziaływać bezpośrednio na cząstki wirusa, lub znajdując się na powierzchni liścia mogą tworzyć warstwę ochronną utrudniającą lub uniemożliwiającą wniknięcie wirusa do rośliny. Zakażenie liści *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi mieszaniną inokulatu ToMV z alginianem sodu spowodowało bardzo wysokie zwiększenie liczby nekrotycznych plamek (wyk. 2). Aplikacja żelu w roztworze nie dopuściła do wytworzenia warstwy ochronnej na liściach, a dodatkowo ułatwiała zakażenie. Możliwy mechanizm to zmiana napięcia powierzchniowego i łatwiejsza penetracja inokulatu na powierzchni epidermy liścia. Efektywność zakażenia po zastosowaniu inokulatu z tym samym żelem, ale wzbogaconym o AgNPs była już znacznie niższa. W tym przypadku nie można już wykluczyć działania AgNPs, nawet bezpośrednio na cząsteczki wirusa. Inny typ reakcji obserwowano w przypadku aplikacji żeli, na dobę, lub 2 h przed zakażeniami, kiedy żele te mogły wytworzyć już ochronną błonkę na powierzchni liści (wyk. 1).



Wówczas, (także po zastosowaniu alginianu sodu bez dodatku nanosrebra) efektywność zakażenia mierzona liczbą nekroz, była zawsze obniżona względem kontroli (o co najmniej 33,0%). Najbardziej skuteczne okazało się opryskiwanie roślin 24 godziny przed zakażeniem roztworami żeli z AgNPs o stężeniu 10 ppm, co spowodowało obniżenie liczby nekroz o 55,7%. W tym przypadku zastosowany roztwór żeli prawdopodobnie wytworzył po upływie doby warstwę ochronną znacząco ograniczającą liczbę miejsc infekcji wirusa na powierzchni liścia (liczbę zranień w obrębie epidermy). Dodatkowo uwalniane z żelu nanocząstki srebra mogły oddziaływać na przebieg procesu infekcji lub nawet bezpośrednio na cząsteczki wirusa.

## 6. Wnioski

Pomimo pojawiających się informacji o skuteczności działania nanocząstek srebra na niektóre wirusy roślinne (np. SHRV, BYMV, PVY) nie stwierdzono, aby aplikowane w alginianie sodu jako nośniku, były skuteczne względem wirusa mozaiki pomidora (ToMV). Na roślinach tytoniu zaobserwowano jedynie częściowy efekt ograniczenia infekcji mechanicznej tym patogenem. Był on prawdopodobnie spowodowany wytworzeniem przez biokomponenty żeli ochronnej warstwy na powierzchni liścia i wzmacniany dodatkowo obecnością nanocząstek srebra, pozyskanych w tym przypadku przez zastosowanie ksylozy jako reduktora.

## Podziękowanie

Autorzy pracy pragną złożyć podziękowanie Pani dr hab. inż. Barbarze Nowak z Katedry Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, za udostępnienie izolatu wirusa ToMV na potrzebny przeprowadzenia niniejszego doświadczenia.

## Literatura

1. Jung A., *Nanocząstki w zastosowaniach medycznych – kierunek przyszłości?* /*Nanoparticles in medical applications – a direction of the future?*, *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*, 10 (2), 2014, s. 104-110.
2. Jaskulska I., Jaskulski D., *Efekty stosowania nanocząstek srebra i miedzi w nawozach dolistnych*, *Przemysł Chemiczny*, T. 99, nr 2, 2020, s. 250-253.
3. Bekier A., Krzyżowska M., Sadowska B., *Nanocząstki metali – wykorzystanie w leczeniu zakażeń*, *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika*, 67 (4), 2018, s. 875-888.
4. Siemieniec J., Kruk P., *Synteza nanocząstek srebra oraz złota metodami zielonej chemii*, *Chemik*, 67, 10, 2013, s. 842-847.
5. Wolska I.K., Markowska K., Wypij M., Golińska P., Dahm H., *Nanocząstki srebra, synteza i biologiczna aktywność*, *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych, Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika*, 66(1), 2017, s. 125-138.
6. Sionkowska A., Lewandowska K., *Projekt pn. Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych, realizowany w ramach Podziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki*, 2016.
7. Jamróz E., *Charakterystyka folii otrzymanych z biopolimerów z dodatkiem olejków eterycznych*, *Polimery*, 62, nr 6, 2017, s. 428-433.
8. Kępska D., Olejnik Ł., *Algi – przyszłość z morza*, *Chemik*, 68, 11, 2014, s. 967-97.
9. Bindler G., Plieske J., Bakaher N., Gunduz I., Ivanov N., Van der Hoeven R., Ganai M., Donini P., *A high density genetic map of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) obtained from*

- large scale microsatellite marker development*, Springer, Theor Appl Genet, 123, 2011, s. 219-230.
10. Szwałec A., Mundała P., Kędzior R., *Zróżnicowanie zawartości Cd, Pb, Zn i Cu w liściach Tytoniu szlachetnego (Nicotiana tabacum L.) uprawianego w rejonie Proszowic*, Acta Scientiarum Polonorum Formatio Circumiectus 15 (4), 2016, s. 331-341.
  11. Pindl A., Nowak B., Gajewski Z., Hanus-Fajerska E., Cebularz-Urban T., Sitek E., *Od komórki do rośliny – Rola badań cytologiczno-anatomicznych w produkcji ogrodniczej/ From cell to plant – the role of cytological and anatomical research in horticultural production*, EPISTEME, 20, t. I, 2013, s. 163-176, ISSN 1895-4421.
  12. Khoshkhatti N., Eini O., Koolivand D., Pogiatis A., John N., Klironomos N.J., Pakpour S., *Differential Response of Mycorrhizal Plants to Tomato bushy stunt virus and Tomato mosaic virus Infection*, Microorganisms, 8, 2020, 2038; doi:10.3390/microorganisms 8122038.
  13. Alon, D.M., Hak H., Bornstein, M., Pines G., Spiegelman Z., *Differential Detection of the Tobamoviruses Tomato Mosaic Virus (ToMV) and Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) Using CRISPR-Cas12a*, Plants 10, 2021, 1256, <https://doi.org/10.3390/plants10061256>.
  14. Rutkowski M., Krzemińska-Fiedorowicz L., Lenart-Boroń A., *Oznaczanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych nanokomponentów zawierających nanocząstki srebra wobec mikroorganizmów izolowanych z błon śluzowych jamy ustnej psów i kotów*, [w:] *Technologie XXI wieku – aktualne problemy i nowe wyzwania. Tom 1*, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, 2020.
  15. Clark M., Adams A., *Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses*, Journal of General Virology 34, 1977, s. 475-483.
  16. Sobczak-Kupiec A., Tyliszczak B., Burgiel Z.J., Malina D., Bialik-Wąs K., Wzorek Z., *Nanocząstki srebra jako składniki preparatów agrochemicznych*, Przemysł Chemiczny, T. 93, nr 10, 2014, s. 1730-1733.
  17. Galdiero S., Falanga A., Vitiello M., Cantisani M., Marra V., Galdiero M., *Silver Nanoparticles as Potential Antiviral Agents*, Molecules 16, 2011, s. 8894-8918, <https://doi.org/10.3390/molecules16108894>.
  18. Elbeshehy E.K.F., Elazzazy A.M., Aggelis G., *Silver nanoparticles synthesis mediated by new isolates of Bacillus spp., nanoparticle characterization and their activity against Bean Yellow Mosaic Virus and human pathogens*, Frontiers in Microbiology 6, 453, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00453>, 2015.
  19. Vargas-Hernandez M., Macias-Bobadilla I., Guevara-Gonzalez R.G., Rico-Garcia E., Ocampo-Velazquez R.V., Avila-Juarez L., Torres-Pacheco I., *Nanoparticles as potential antivirals in agriculture*, Agriculture, 10, 2020, 444, doi:10.3390/agriculture10100444.
  20. Abdelkhalek A., Al-Askar A.A., *Green Synthesized ZnO Nanoparticles Mediated by Mentha Spicata Extract Induce Plant Systemic Resistance against Tobacco Mosaic Virus*, Applied Sciences, 10, 2020, 5054, doi:10.3390/app10155054.
  21. Cai L., Liu C., Fan G., Liu C., Sun X., *Preventing viral disease by ZnONPs through directly deactivating TMV and activating plant immunity in Nicotiana benthamiana*, Environmental Science: Nano, 6, 2019, s. 3653-3669.
  22. Sofy A.R., Sofy M.R., Hmed A.A., Dawoud R.A., Alnaggar A.E., Alnaggar A.M., Soliman A.M., El-DougDoug N.K., *Ameliorating the Adverse Effects of Tomato mosaic tobamovirus Infecting Tomato Plants in Egypt by Boosting Immunity in Tomato Plants Using Zinc Oxide Nanoparticles*, Molecules, 26, 2021, 1337, <https://doi.org/10.3390/molecules 26051337>.
  23. El-DougDoug N.K., Bondok, A.M., El-DougDoug, K.A., *Evaluation of Silver Nanoparticles as Antiviral Agent Against ToMV and PVY in Tomato Plants*, Middle East Journal of Applied Sciences, 08, 2018, s. 100-111.

## Wpływ biokompozytów zawierających nanocząstki srebra na efektywność zakażenia tytoniu (*Nicotiana L.*) wirusem mozaiki pomidora (ToMV)

### Streszczenie

Nanocząstki metali wykazują innowacyjne właściwości biologiczne, które umożliwiają ich interdyscyplinarne zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu i nauki. Wirus mozaiki pomidora ToMV jest patogenem przenoszącym się kontaktowo i wywołującym zmiany chorobowe na liściach infekującym liczne rośliny uprawne, zwłaszcza z rodziny *Solanaceae*, takie jak pomidor zwyczajny. Celem doświadczenia była ocena wpływu biokompozytów zawierających nanocząstki srebra (AgNPs) na efektywność zakażenia roślin tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum L.*) wirusem mozaiki pomidora ToMV. Żele z nanosrebrem (AgNPs) zsyntetyzowano w alginianie sodu (1,5%), do którego po skleikowaniu, dodano roztwór azotan(V) srebra oraz roztwór ksylozy jako reduktor, tak aby uzyskać dwa stężenia nanosrebra 50 ppm i 100 ppm i dodatkowy roztwór bez AgNPs. Rozcieńczonymi 10-krotnie roztworami tych żeli 2 oraz 24 h przed zakażeniem opryskiwano rośliny *N. tabacum* cv. Samsun oraz cv. Xanthi. Część roślin zakażano mieszaniną inokulatu i roztworu żelu (1 : 1). Po 7 i 14 dniach od zakażenia ToMV liczono rośliny wykazujące objawy infekcji. Objawy stwierdzono u wszystkich zakażonych roślin. W przypadku *N. tabacum* cv. Xanthi różne były ilości nekrotycznych plamek na liściach. Znaczące (o 132%) zwiększenie liczby nekroz względem kontroli stwierdzono po zakażeniu mieszaniną inokulatu i alginianu sodu bez AgNPs. W pozostałych kombinacjach zaobserwowano nieznaczną redukcję liczby nekrotycznych plamek. Najsilniejszy efekt (ograniczenie liczby nekroz o 55,7%) wystąpił u roślin opryskiwanych 24 godziny przed zakażeniem roztworem zawierającym wyjściowo 100 ppm AgNPs. Zaobserwowany efekt jest prawdopodobnie spowodowany wytworzeniem na powierzchni liścia ochronnej warstwy i wzmacniany obecnością AgNPs, co ogranicza efektywność mechanicznego zakażenia wirusem ToMV.

Słowa kluczowe: AgNPs, biopolimery, alginian sodu, wirusy roślinne, ToMV

## The influence of biocomposites containing silver nanoparticles on the efficiency of infection of tobacco (*Nicotiana L.*) with Tomato mosaic virus (ToMV)

### Abstract

Metal nanoparticles exhibit innovative biological properties that enable their interdisciplinary application in many branches of industry and science. Tomato mosaic virus ToMV is a contact pathogen that causes lesions on leaves and infects numerous crops, especially from the *Solanaceae* family, such as Common tomato. The aim of the experiment was to evaluate the effect of biocomposites containing silver nanoparticles (AgNPs) on the effectiveness of infection of noble tobacco (*Nicotiana tabacum L.*) plants with ToMV tomato mosaic virus. Gels with nanosilver (AgNPs) were synthesized in sodium alginate (1.5%), to which, after gluing, a solution of silver nitrate (V) and a xylose solution as a reducing agent were added to obtain two concentrations of nanosilver 50 ppm and 100 ppm and an additional solution without AgNPs. Plants of *N. tabacum* cv. Samsun and cv. Xanthi were sprayed 2 and 24 hours before infection with diluted 10-fold solutions of these gels. Part of the plants were infected with the mixture of inoculum and gel solution (1 : 1). Plants showing symptoms of infection were counted 7 and 14 days after ToMV infection. Symptoms were found in all infected plants. In the case of *N. tabacum* cv. Xanthi had different numbers of necrotic spots on the leaves. A significant (132%) increase in the number of necroses compared to the control was found after infection with the mixture of inoculum and sodium alginate without AgNPs. In the remaining combinations, a slight reduction in the number of necrotic spots was observed. The strongest effect (reduction in the number of necroses by 55.7%) occurred in plants sprayed 24 hours before the infection with a solution containing 100 ppm of AgNPs initially. The observed effect is probably caused by the formation of a protective layer on the leaf surface and enhanced by the presence of AgNPs, limiting the effectiveness of mechanical ToMV infection.

Keywords: AgNPs, biopolymers, sodium alginate, plant viruses, ToMV

## Wybrane rośliny lecznicze stosowane w medycynie

### 1. Wstęp

Ludzie od wieków starali się wykorzystywać uzdrawiającą moc ziół w leczeniu różnych schorzeń i dolegliwości [1-5]. Wykorzystanie roślin w lecznictwie określa się jako fitoterapia, lub ziołolecznictwo. Aktualnie znanych jest więcej niż 2,5 tysiąca roślin, które uznawane są za lecznicze [6]. Powstają z nich surowce, znajdujące zastosowanie w profilaktyce schorzeń i różnych dolegliwości oraz wspomaganiu terapii, a także w podstawowym leczeniu. Oddziałują na cały organizm, przywracając równowagę w ciele w taki sposób, by jego organy odzyskały optymalną sprawność [7]. Produkty roślinne kojarzone są zazwyczaj jako bezpieczne w zastosowaniu, warto jednak wiedzieć, iż niektóre z nich mogą być toksyczne dla organizmu człowieka. Rośliny, które zawierają alkaloidy tropanowe wywołują halucynacje, drgawki, trudności z oddychaniem, śpiączkę i zgon [8]. Tym samym, ważne jest ich właściwe dawkowanie, znajomość warunków, jakie muszą być spełnione, aby określona roślina była skuteczna w zastosowaniu i zarazem bezpieczna dla człowieka. Przykładowo, niekiedy podczas zażywania pewnych ziół należy unikać słońca [9] albo chronić wybrane części ciała takie jak oczy [10-12]. Ocena bezpieczeństwa preparatu pochodzenia roślinnego może stwarzać pewne trudności, ze względu na zmienność składu surowca, na które rzutują pochodzenie geograficzne roślin, gdyż to może wpłynąć na kumulację w nich związków toksycznych [13], ich warunki wzrostu, a także różne metody procesów produkcyjnych. Uważa się, iż procesy, takie jak ekstrakcja, mogą znacząco zmienić skład surowca roślinnego oraz wpłynąć na bezpieczeństwo jego stosowania [14]. Stąd fitochemiczna charakterystyka składników pochodzenia roślinnego ma istotne znaczenie dla oceny ich bezpieczeństwa. Każdą analizę należy traktować indywidualnie, biorąc pod uwagę posiadane dane dotyczące charakterystyki badanych roślin, a więc ich skład mineralny, zawartość substancji aktywnych, takich jak flawonoidy, garbniki, zawartość białek, aminokwasów, frakcji olejowej, kwasów tłuszczowych, węglowodanów prostych i złożonych czy błonnika. Niezwykle istotne w ocenie bezpieczeństwa jest określenie toksyczności rośliny [15]. Obecnie opracowano system oceny potencjalnej toksyczności substancji chemicznych, służy do tego określenie tzw. progu toksyczności TTC (*threshold of toxicological concern*), który pozwala na ocenę bezpieczeństwa substancji chemicznych. Większość z nich, przy pewnym poziomie, nie wykazuje żadnych niekorzystnych efektów zdrowotnych. Gdy jednak substancja zostanie użyta w ilościach przekraczających określone (bezpieczne) dawki, mogą pojawić się różne efekty niepożądane [16]. Występuje sześć klas toksyczności substancji chemicznych, dla których ustalono dawki śmiertelne dla człowieka. Najwyższy stopień toksyczności reprezentują związki zaliczone do klas I i II. Określono je jako nadzwyczaj toksyczne i silnie toksyczne [17-19].

---

<sup>1</sup> aleksandra.galuszka@interia.pl, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Lublinie.

W historii fitoterapii zdarzały się pomyłki związane z zamianą rośliny leczniczej na trującą. Często dochodzi do pomyłki przypadkowo, szczególnie u dzieci, które spożywających części roślin przyciągających uwagę barwą i kształtem [20]. Dlatego, ważna jest wiedza w zakresie bezpiecznego stosowania roślin w terapiach różnych schorzeń i dolegliwości.

Celem niniejszej pracy jest charakterystyka substancji roślinnych działających leczniczo oraz dziesięciu wybranych produktów roślinnych wykorzystywanych w terapii dolegliwości i schorzeń występujących u człowieka.

## 2. Substancje lecznicze w roślinach

O istotnej wartości i przydatności leczniczej surowców roślinnych decyduje ilość i jakość substancji czynnych w nich zawartych. Roślinne produkty lecznicze, takie jak wyciągi, zioło-miody i mieszanki zawierają pewną najsilniej działającą substancję – charakterystyczną dla danej rośliny (substancja główna) oraz tzw. ciała balastowe, do których należą np.: fitosterole, tłuszcze, białkowce, cukrowce, sole mineralne, kwasy organiczne i nieorganiczne, aktywne enzymy, barwniki, prowitaminy, witaminy, żywice, śluz, dekstryny, pektyny, saponiny, niektóre garbniki i lektyny. Substancje te cechuje bardzo dobra przyswajalność (biodostępność). Ciała balastowe wywierają również wpływ leczniczy, choć mniejszy niż substancja główna. Ich wpływ jest zazwyczaj prebiotyczny, odżywczy, ogólnie tonizujący bądź wpływający na korzystne samopoczucie. Niekiedy ich obecność jest wręcz niezbędna, by substancja główna mogła spełnić swoje zadanie, jak na przykład:

- działanie witaminy C, która znajduje się we wszystkich roślinach w obecności flawonoidów – flawonoidy przedłużają i wzmacniają działanie kwasu askorbinowego, są dla niego czynnikiem ochronnym (hamują nadmierną aktywność oksydazy askorbinianowej); naturalnie występująca witamina C, znajdująca się w roślinach, dzięki flawonoidom działa wielokrotnie silniej od tej, która jest wytworzona syntetycznie;
- wspólne działanie glikozydów, saponin i flawonoidów zawartych w niektórych roślinach (np. w konwalii, kokoryczce, naparstnicy) – saponiny ułatwiają wchłanianie się glikozydów z jelit do krwi; flawonoidy, sole mineralne oraz saponiny wpływają na większą tolerancję organizmu na glikozydy i powodują bardziej efektywne oddziaływanie na mięsień sercowy, w porównaniu z działaniem czystych glikozydów wyosobnionych z roślin, spośród wielu substancji bądź glikozydów wytworzonych syntetycznie.

Związki występujące w roślinach leczniczych oraz ich wpływ na organizm ludzki:

- alkaloidy – mają działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze (szczególnie te wyizolowane z kozłka lekarskiego), przeciwbólowe, pobudzające ośrodkowy układ nerwowy (OUN), działają nasennie oraz psychotropowo, odurzająco, miejscowo znieczulająco, zwężająco na naczynia krwionośne; przy małych dawkach działają leczniczo, przy większych są toksyczne; przykładem tych związków stosowanych w lecznictwie jest morfina (uzyskana z opium, czyli z mlecza maku lekarskiego), wykorzystywana jako silny lek przeciwbólowy (jednocześnie posiada silne działanie narkotyczne, częste stosowanie może być przyczyną uzależnień);
- glikozydy – są wykorzystywane w lecznictwie jako środki nasercowe, przeczyszczające oraz ściągające; przykładem tych związków są tzw. glikozydy nasercowe,

które zalecane są w przypadku niewydolności krążenia (występują w naparstnicy purpurowej, naparstnicy wełnistej, miłku wiosennym, konwalii majowej) oraz tzw. glikozydy antrachinonowe – o działaniu przeczyszczającym (występują w kruszynie pospolitej, rzewieniu dłoniastym);

- śluz – posiadają działanie powlekające i osłaniające; przykładem roślin zawierających śluz są nasiona: kozieradki, lnu, podbiału, ślazu, prawoślazu i dziewanny;
- gorycze – to substancje, które cechuje gorzki smak; wykorzystywane są jako środki wpływające korzystnie na łaknienie oraz przebieg trawienia (występują w: dziurawcu, krwawniku, piołunie, korzeniu mniszka i podróznika w liściu bobrka trójlistnego);
- olejki eteryczne – to złożone mieszaniny substancji lotnych, posiadające różny charakter chemiczny; wykorzystywane są w różnych problemach zdrowotnych (np.: dolegliwości bólowe głowy konieczność działania rozkurczowego); ich oddziaływanie zależy od rodzaju olejku (np.: lawendowy działa uspokajająco, cedrowy sprawdzi się w przypadku osób z chorobami układu krążenia i układu pokarmowego, eukaliptusowy wykorzystywany jest do inhalacji w leczeniu nieżyty nosa)
- flawonoidy – łagodnie pobudzają wydalanie moczu i ułatwiają usuwanie z organizmu jonów sodowych i chlorkowych [21]; mają działanie przeciwzapalne (jasnota biała, fiołek trójbarwny, arnika górską), moczopędne (skrzyp polny, pietruszka zwyczajna, brzoza brodawkowata, nawłóć pospolita), wzmacniające na naczynia krwionośne (miłorząb japoński, ruta zwyczajna); są związkami występującymi m.in. w owocach (przede wszystkim cytrusowych), warzywach (pomidorach, papryce i brokułach), roślinach strączkowych (np. soi), herbacie, yerba mate i czerwonym winie.

### 3. Roślina jako produkt leczniczy

Według danych WHO, około 40% wszystkich preparatów stosowanych w praktyce medycznej stanowią te, pochodzenia roślinnego. W Polsce szacuje się, że jest to 30% [22]. Szczególnie często preparaty pochodzenia roślinnego stosuje się w leczeniu schorzeń i dolegliwości kobiecego układu rozrodczego (ok. 80%), pokarmowego (ok. 74%), górnych dróg oddechowych (ok. 73%), krążenia (ok. 72%) i skóry (70%). Rośliny lecznicze i produkty na bazie nich, stanowią podstawowy środek wspomagający łagodzenie różnych dolegliwości w warunkach domowych. W polskim prawie farmaceutycznym, lek roślinny został po raz pierwszy zdefiniowany dość późno, ponieważ dopiero w 2001 roku [23]. Aby fitoterapia była skuteczna i bezpieczna leczenie powinien prowadzić lekarz [24].

Do grupy tradycyjnych produktów leczniczych roślinnych zalicza się te, które spełniają następujące kryteria:

- posiadają wskazania właściwe wyłącznie dla tradycyjnego produktu leczniczego z uwagi na swój skład oraz przeznaczenie, mogą być stosowane bez nadzoru lekarza w celach leczniczych, diagnostycznych lub monitorowania terapii, a także spełniają kryteria określające produkt leczniczy wydawany bez przepisu lekarza;
- przeznaczone do stosowania tylko i wyłącznie w określonej mocy oraz sposobie dawkowania;
- przeznaczone do stosowania tylko i wyłącznie doustnego, zewnętrznego bądź do inhalacji;

- pozostawały w tradycyjnym stosowaniu w okresie co najmniej 30 lat poprzedzających datę złożenia wniosku przez producenta, w tym co najmniej 15 lat w państwie członkowskim Unii Europejskiej lub w EFTA (Europejskie Stowarzyszenie Wolnego Handlu, do którego należą państwa: Lichtenstein, Islandia, Norwegia, Szwajcaria);
- istnieją wystarczające dane, które określają ich tradycyjne zastosowanie, zasady bezpieczeństwa stosowania i mają potwierdzoną skuteczność, w oparciu o długotrwałe obserwacje i doświadczenia w stosowaniu w lecznictwie [22].

## 4. Wybrane produkty roślinne stosowane w lecznictwie

### 4.1. Melaleuka skrętolistna (*Melaleuca alternifolia*)

Roślina inaczej nazywana jest „drzewem herbacianym” klasyfikowana jest do rodziny Mirtowatych. Najważniejszymi składnikami biologicznie aktywnymi są  $\gamma$ - i  $\alpha$ -terpinen,  $\alpha$ -terpineol, 1,8-cyneol, p-cymen,  $\alpha$ -pinen i limonen, terpinen-4-ol [25]. Z „drzewa herbacianego” najczęściej wykorzystuje się olejek (Tea Tree Oil), który pozyskuje się metodą destylacji parowej z liści rośliny. Posiada silne działanie przeciwbakteryjne [26] oraz przeciwgrzybiczne (np.: jest skuteczny w zwalczaniu zakażenia bakteryjne oraz grzybiczych jamy ustnej); posiada charakter lipofilowy, dzięki czemu dobrze penetruje w głąb skóry, dlatego znajduje zastosowanie w leczeniu chorób skóry (trądziku, łupieżu, łuszczycy, łojotokowym zapaleniu skóry, stwardnieniach, odciskach, grzybicy stóp i skóry głowy, drożdżycy paznokci, w terapii owrzodzeń cukrzycowych i żyłakowych, w zakażonych ranach, oparzeniach, alergiach kontaktowych, wypryskach atopowych, czyrakach i zanokcicy). Właściwości terapeutyczne olejku z „drzewa herbacianego” wykorzystywane są do leczenia ran, bólów głowy, przeziębień oraz schorzeń układu oddechowego [27]. Stwierdzono również jego skuteczne działanie w kierunku niszczenia wirusów opryszczki i grypy, roztocza w kurzu domowym, które są częstą przyczyną alergii; działa łagodząco na skórę przy objawach po ukąszeniach owadów; wykazuje również właściwości uspokajające, a także miejscowo znieczulające [28].

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję produktu i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków; nie zaleca się stosowania u dzieci poniżej 6. roku życia, u kobiet w ciąży i karmiących; nie należy stosować go na z otwarte rany.

### 4.2. Glistnik jaskółcze ziele (*Chelidonium majus*)

W lecznictwie wykorzystuje się ziele oraz korzeń rośliny. Składnikami aktywnymi są: alkaloidy izochinolinowe. Posiada działanie silnie rozkurczowe, uspokajające, przeciwlękowe, przeciwbólowe, przeciwgrzybiczne, przeciwzapalne, żółciotwórcze i żółciopędne. Wykorzystywany jest w leczeniu niektórych dolegliwości związanych z okresem przekwitania [29]. Zaobserwowano, iż stosowany ponad 3-4 dni powoduje obniżenie ciśnienia tętniczego krwi, oraz znosi objawy kołatania serca.

Alkaloidy wyizolowane z glistnika jaskółcze ziele (chelidoniny, sangwinaryny, chelerytryny, koptyzyny) posiadają właściwości cytotoksyczne. Chelerytyna, sangwinaryna i koptyzyna wbudowując się w strukturę DNA, izolowanego z komórek chłoniaka, powodują jej uszkodzenie, co prowadzi do apoptozy. Cytotoksyczność rzeczo-

nych alkaloidów wiąże się również z blokowaniem oddychania komórkowego, co prowadzi do śmierci komórki [30].

Zalecane dawki: średnia dawka dobową dla dorosłych i dzieci powyżej 12. roku życia to 1,2-3,6 g surowca, 125-700 mg standaryzowanego wodno-alkoholowego wyciągu odpowiadającego 9-24 mg alkaloidów (w przeliczeniu na chelidoninę), 2-4 ml nalewki (1:10) 3 razy dziennie lub 1-2 ml wyciągu płynnego (1:1) 3 razy dziennie [31].

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków przyjmowania zioła; glistnik należy do ziół silnie działających, mogących wywołać zatrucie, dlatego zaleconych dawek nie wolno przekraczać; nie stosować przy jaskrze [32], u dzieci, kobiet w ciąży oraz karmiących; jeżeli zbierane są samodzielnie zioła, należy to robić w rękawicach, ze względu, iż po kontakcie ze skórą, glistnik wywołuje silne reakcje uczuleniowe.

### 4.3. Szałwia lekarska (*Salvia officinalis*)

W lecznictwie wykorzystuje się ziele, a konkretnie, liście [33]. Liście oraz ziele szalwii zawierają takie same, choć różniące się ilościowo substancje czynne. W liściach występuje 1-2,5% olejku eterycznego, zawierającego tujon (do 50%), cyneol (do 15%), kamfora (do 8%), borneol, octan borneolu i pinen. Same liście zawierają dodatkowo gorzki lakton karnozol, do 8% garbników (w tym kwas rozmarynowy), triterpeny, saponiny, garmakranikol, flawonoidy, kwasy organiczne, witaminy B<sub>1</sub>, P, C, karoten, związki żywiczne i sole mineralne.

Wyciąg z liści szalwii posiada działanie ściągające na błony śluzowe, żółciopędne, przeciwzapalne, antybakteryjne, moczopędne, przeciwgrzybicze, przeciwcukrzycowe, przeciwskurczowe; hamują laktację, wydzielanie potu i łju; działają tonująco i uspokajająco; preparaty szalwii mogą być zalecane kobietom w każdej fazie przekwitania [34-36]. Substancje czynne zawarte w szalwii mogą być wykorzystane w leczeniu choroby Alzheimera [37].

Zalecane dawki: Według komisji E dawki dobowe doustne wynoszą: liść w naparach 4-6 g; olejek 0,1- 0,3 g; nalewka 2,5-7,5 g [32].

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków; przy dłuższym podawaniu przetworów z szalwii i w nadmiernych dawkach może dojść do zatrucia organizmu – możliwe objawy to: ośpienie, drgawki, nudności, bóle i zawroty głowy [32].

### 4.4. Dziurawiec (*Hypericum perforatum*)

Surowcem zielarskim są młode pędy i kwiaty. Pędy ścina się tuż przed kwitnieniem roślin, gdyż w czasie i po kwitnieniu ulegają zdrewnieniu i mają dużo mniejszą wartość leczniczą. Kwiaty wyskubuje się z łodyg i suszy rozpostarte cienką warstwą.

Składnikami aktywnymi są: hyperycyna (czerwony barwnik), flawonoidy, hyperozyd, rutyna i kwercetyna, garbniki, hyperforyna (pozyskiwana z nasion), olejki eteryczne, żywice, kwasy organiczne, pektyny, cholinę, sole mineralne, cukry, witaminy A i C [38].

Najważniejsze schorzenia, w których stosowany jest dziurawiec to schorzenia układu pokarmowego, skóra, trudno gojące się rany, układ nerwowy.

Posiada działanie kojące, ściągające, moczopędne (działanie hyperozydu), uszczelniające naczynia włosowate (co daje rutyna i kwercetyna), przeciwbiegunkowe i bakteriostatyczne (dzięki garbnikom), antybiotyczne (działanie hyperforyny) [39],



ponadto działa regulacyjnie na metabolizm, usprawnia proces trawienia, pracę wątroby, pęcherzyka żółciowego i trzustki, działa korzystnie w stanach zmęczenia, przeciążenia emocjonalnego oraz zaburzeniach miesiączkowania; dziurawiec wykorzystywany jest do leczenia trądziku, łojotoku, trudno gojących się ran [40].

Zalecane dawki: adekwatnie do zaleceń przy schorzeniu, którego leczenie ma wspomagać zioło.

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję zioła i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków; jest to substancja fotouczulająca, więc należy unikać ekspozycji słonecznych po zażyciu.

#### **4.5. Krwawnik pospolity (*Achillea millefolium*)**

W lecznictwie wykorzystuje się kwiatostan rośliny w postaci wysuszonej. Wartościowym składnikiem ziela jest olejek eteryczny, którego najwięcej znajduje się w roślinie w kwietniu, w kolejnych miesiącach jego ilość maleje [41]. Składnikami aktywnymi krwawnika są: olejki eteryczne (zawierające azulen, cyneol, pinen, borneol, seskwiterpeny), flawonoidy, garbniki, kwasy (mrówkowy, octowy, izowalerianowy, kapronowy, salicylowy), triterpeny, śluzы, żywice [42], sole mineralne, cholina, miedź, cynk [43], żelazo, siarka, witaminy A, C i K.

Wykazuje działanie: przeciwbakteryjne, żółciotwórcze, przeciwzapalne, antyseptyczne, przeciwkrwotoczne, wiatropędne, spazmolityczne; posiada właściwości przeciwkrwotoczne, (właściwość wykorzystywana przy chorobach przewodu pokarmowego [44] i w nadmiernym krwawieniu miesięcznym oraz w przypadku mięśniaków macicy, które również objawiają się nadmiernym krwawieniem); działa rozkurczowo na mięśnie gładkie narządu rodnego, oraz chroni wątrobę przed uszkodzeniem toksycznym; właściwości przeciwskurczowe mają znaczenie w chorobach gastroenterologicznych; olejek krwawnikowy zawiera również związki goryczkowe, które pobudzają łaknienie oraz zwiększają wydzielanie żółci [45].

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję zioła i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków, np. zawrotów głowy, nudności.

#### **4.6. Malina właściwa (*Rubus idaeus*)**

W lecznictwie wykorzystywany jest świeży owoc lub poddany obróbce termicznej bądź liofilizacji.

Składnikami aktywnymi są: polifenole (kwasy fenolowe, flawonoidy wraz z antocyjanami), witaminy A i C oraz tokoferole, karotenoidy, kwasy organiczne, wapń, selen i wiele innych. W lecznictwie jest wykorzystywany jako środek regulujący pracę układu pokarmowego i przemianę materii [46], i wspomagający funkcje fizjologiczne organizmu (za sprawą fitamin); badania naukowe potwierdzają działanie prewencyjne składników bioaktywnych występujących w świeżych owocach i produktach przetworzonych w stosunku do wielu chorób cywilizacyjnych [47] oraz przeciwnowotworowe [46]; polifenole hamują powstawanie wolnych rodników, które niekorzystnie utleniają w organizmie wiele związków i uszkodzają: białka, lipidy, błony komórkowe, enzymy i materiał genetyczny [48].

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję produktu i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków, np. wysypka na skórze, nudności i inne.

#### 4.7. Nagietek lekarski (*Calendula officinalis*)

Jako produkt leczniczy najczęściej wykorzystywany jest kwiat, w rzadszych przypadkach wykorzystuje się też liście i nasiona.

Substancje aktywne to: saponiny triterpenowe pochodne kwasu oleanolowego (kalendulozydy), alkohole triterpenowe, flawonoidy, karotenoidy (głównie luteina i zeaksantyna) [49]. Posiada działanie przeciwzapalne, przeciwwgrzybiczne i przeciwbakteryjne, a także immunostymulujące, działa także przeciwskurczowo oraz zwiększa wydzielanie soku żołądkowego, ułatwia gojenie się ran [50]. Zastosowanie kwiatu nagietka znajduje się w przypadku stanów zapalnych i zakaźnych skóry i błon śluzowych oraz ich uszkodzeniach – rany, wrzody, kontuzje, stłuczenia, otarcia [16], odmrożenia, oparzenia, owrzodzenia podudzi oraz zapalenia błon śluzowych jamy ustnej, gardła lub pochwy [51] – występujące w kwiecie nagietka karotenoidy i  $\beta$ -karoten jako witamina A odpowiadają za właściwy wzrost nabłonka, przez co, przyspieszają procesy bliznowacenia i przeciwdziałają nadmiernemu łuszczeniu się naskórka [49]. Liście nagietka wykorzystywane są w leczeniu żylaków (głównie w Indiach); przeprowadzone badania wykazują, że można wykorzystywać także nasiona nagietka, jako środek wspomagający redukcję tkanki tłuszczowej [52]. Nagietek stosowany zewnętrznie przy uszkodzeniach skóry, takich jak: rany, wysypki, stłuczenia, otarcia, żyłaki odbytu, oparzenia czy odmrożenia. Na błony śluzowe nagietek stosowany jest jako środek przeciwzapalny i bakteriobójczy [49].

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję zioła i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków.

#### 4.8. Głóg dwuszyjkowy (*Crataegus laevigata*)

Jako produkt leczniczy wykorzystuje się liście i owoce. Substancje aktywne rośliny to: antocyjany i flawonoidy.

Antocyjany (zawarte w liściach, kwiatach i owocach głogu) mają powinowactwo do mięśnia sercowego, zaś flawonoidy wspomagają ten efekt. Badania wykazują że prawdopodobny mechanizm działania surowców z głogu polega na hamowaniu aktywności fosfodiesterazy cAMP, biosyntezy tromboksanu i stymulacji biosyntezy prostacyklin, a także na zmniejszeniu przepuszczalności błon komórkowych dla sodu, potasu i ATP-azy [53]; preparaty z głogu wzmacniają siłę skurczu mięśnia sercowego i jest to działanie wynikające z bezpośredniego pobudzenia receptorów  $\beta_1$  oraz z poprawy energetycznego metabolizmu w mięśniu sercowym; wyciągi z liści i owoców działają w ten sposób, że skracają czas między kolejnymi skurczami mięśnia sercowego (jest to tzw. efekt chronotropowy dodatni), zwiększają przewodzenie w układzie przewodzącym w mięśniu sercowym oraz zmniejszają pobudliwość komór serca [53].

Zalecane dawki: wg wskazań producenta.

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję zioła i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków; w przypadku chorób serca, niedociśnienia należy skonsultować z lekarzem bezpieczeństwo przyjmowania głogu.

#### 4.9. Babka lancetowata (*Plantago lanceolata*)

W lecznictwie wykorzystywane są liście rośliny oraz korzenie i owoce z nasionami.

Substancje aktywne to: w korzeniu – irydoidy (aukubina), aminy (np. cholina), enzymy, cukrowce, goryczki, kwasy, witaminy, białka, tłuszcze, sole mineralne i wiele

innych; w liściach – polisacharydy śluzowe, irydooidowy glikozyd – aukubinę, flawonoidy (np. apigeninę), alkohol 6-wodorotlenowy sorbitol, karoten, garbniki, alkaloidy, katalpol, wit. K, alkohol – mannitol, kwasy (cytrynowy krzemowy, oleanolowy), pektyny, enzymy proteolityczne, sole (cynku, krzemu, molibdenu, potasu, żelaza, miedzi, magnezu, manganu, sodu, boru, glinu, wapnia, fosforu), cholinę, adeinę, wit. z grupy B, ksantofil; w owocach z nasionami olej tłusty w śluzu, cukrowiec – planteozę i białka aleuronowe [54].

Ziele wykazuje działanie przeciwzapalne, moczopędne, antyseptyczne, wykrztuśne, osłaniające, przeciwkaszlowe, przeciwrzodowe, regulujące przemianę materii, trawienie i przyspieszające gojenie ran oraz odbudowujące naskórek; tonizujące ogólnie, uodparniające, przeciwwirusowe, pobudzające apetyt i przeciwbrzękowe; polisacharydy śluzowe zawarte w roślinie stymulują odporność organizmu oraz osłaniają śluzówkę przewodu pokarmowego, sok z babki lancetowatej wykazuje działanie przeciwbakteryjne w stosunku do wielu popularnych drobnoustrojów chorobotwórczych, co stawia go w rzędzie surowców przeciwbakteryjnych i przeciwwirusowych (odpowiada za to w dużej mierze aukubina, której przypisuje się nie tylko właściwości przeciwzapalne i przeciwbakteryjne, ale i spazmolityczne) [55]. Owoce posiadają właściwości lekko przeczyszczające; kłącza z korzeniami likwidują suchy, bójący kaszel, regulują wypróżnienia żółciopędnie, przyspieszają gojenie się wrzodów, mają działanie przeciwkamicze oraz odtruwające.

Zalecane dawki: brak wskazań.

Zasady bezpiecznego stosowania: należy zwrócić uwagę na tolerancję zioła i występowanie ewentualnych niepożądanych skutków;

#### 4.10. Miłek wiosenny, zwany inaczej gorzykwiatem (*Adonis vernalis*)

W lecznictwie wykorzystuje się ziele miłka.

Substancje aktywne to: glikozydy kardenolidowe (wśród nich najważniejszą jest adonitoksyna oraz pochodne strofantydyny oraz cymarynę), dodatkowo zawiera jeszcze flawonoidy, adonitol i adonilid.

Działanie związane jest z zawartym w roślinie glikozydów nasercowych (kardenolidy), które powodują zwiększenie skurczu mięśnia sercowego, przez co następuje wydłużenie czasu między kolejnymi skurczami mięśnia sercowego, zmniejszenie przewodzenia w układzie przewodzącym mięśnia sercowego zwiększenie pobudliwości komór serca; stosowany w łagodnej niedomodze serca, tachykardii pochodzenia nerwowego, skurczach przedwczesnych serca, poinfekcyjnym osłabieniu serca [56, 57].

Zalecane dawki: uznane w lecznictwie preparaty z miłka wiosennego stosowane są wyłącznie pod ścisłą kontrolą kardiologa [57], który decyduje o dawkowaniu

Zasady bezpiecznego stosowania: nie wolno stosować zioła poza kontrolą lekarską, zmieniać zaleconych dawek; **jest niebezpieczną trucizną**; świeży, jak i suszony może powodować zatrucia; trucizny zawarte w miłku oddziałują przede wszystkim na serce oraz przewód pokarmowy; w wyniku spożycia toksycznej dawki miłka pojawia się odczucie goryczy w ustach, drgawki, niebezpieczny spadek ciśnienia tętniczego przy jednoczesnej przyspieszonej akcji serca oraz nudności; może pojawić się biegunka, skurcz, paraliż, nagły spadek temperatury ciała, a także zaburzenia widzenia; w skrajnych przypadkach i może dojść do zatrzymania akcji serca.

## 5. Podsumowanie

Preparaty roślinne stanowią bardzo bogate źródło różnych związków wpływających różnicowany sposób na organizm ludzki. Zainteresowanie nimi jest znaczne i często uważa się, iż są one bezpieczne w zastosowaniu. Nie wszystkie wykorzystywane w lecznictwie rośliny można jednak stosować bez zachowania odpowiednich dawek. Niezbędna jest wiedza o bezpieczeństwie ich stosowania. Substancje ziołowe mogą być łatwe w przedawkowaniu, zwłaszcza gdy stosowane są w formie naturalnej. Pewne niebezpieczeństwo stanowi też konieczność zażywania tradycyjnych farmaceutyków w związku z występowaniem schorzeń. Stosując substancje pochodzenia roślinnego, bez względu na drogę jego przyjęcia oraz postać, należy wcześniej uzyskać poradę lekarza lub farmaceuty.

## Literatura

1. Klimuszko A.C., *Wróćmy do ziół leczniczych*, Oficyna Wydawnictwa Rytm, Warszawa 2020.
2. Poletini B., Mancini P., *Ziola nowa encyklopedia. Właściwości i zastosowanie w odżywianiu, leczeniu i kosmetyce*, Wydawnictwo Jedność, Kielce 2019, 384.
3. Easley T., Horne S., *Ziola, które leczą. Nowoczesna roślinna apteka w twoim domu*, Wydawnictwo Kobiece, Białystok 2019.
4. Iz J., Überhuber E., *Leki z Bożej Apteki. XXI*, Wydawnictwo Nowe Spojrzenia, Warszawa 2014, 270.
5. Chrzanowska A., *Święte zioła poleskich znachorek*, Vol. 3 R-Ż. Wydawnictwo Ars Scripti-2, Białystok 2014.
6. Rutkowski L., *Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006.
7. Pursell J., *Lecznicze rośliny dziko rosnące*, Wydawnictwo Vital, Białystok 2017.
8. Żuraw B., Haratym W., Tietze M., Weryszko-Chmielewska E., *Rośliny dziko rosnące o właściwościach toksycznych*, Alergoprofil 2014, Vol. 10, Nr 1, s. 19-27.
9. Nikiel A., *Przegląd surowców roślinnych o działaniu fotoczułującym i itotoksycznym*. Kosmetologia Estetyczna, 3/2017, s. 231-238.
10. Sulborska A., Haratym W., Matysik-Woźniak A., Weryszko-Chmielewska E., Rejda R., *Rośliny toksyczne niebezpieczne dla oczu*, Alergoprofil 2016, Vol. 12, Nr 1, s. 17-22.
11. Tietze M., Weryszko-Chmielewska E., *Rośliny o właściwościach toksycznych stosowane do dekoracji pomieszczeń*, Alergoprofil 2012, 8(4), s. 8-13.
12. Haratym W., Weryszko-Chmielewska E., Matysik-Woźniak A., *Rośliny drzewiaste o właściwościach toksycznych*, Alergoprofil 2013, 9 (3), s. 6-12.
13. Jędrzejko K., Tajer A., *Ocena naturalnych zasobów roślin naczyniowych na terenie ośrodków rekreacyjno-wypoczynkowych „Źródła Boliny Południowej” Katowice, „Wesola Fala” Mysłowice oraz „Park Zadole” Katowice ze szczególnym uwzględnieniem gatunków leczniczych*, Annales Academiae Medicae Silesiensis 2009, 63, 5, s. 25-40.
14. Olczyk M., Geszprych A., *Rośliny jadalne i lecznicze z rodzaju Sorbus L.*, Postępy Fitoterapii 2017, 18(4), s. 278-285.
15. Żuraw B., Tietze M., Weryszko-Chmielewska E., *Rośliny ozdobne o właściwościach toksycznych uprawiane w ogrodach*, Alergoprofil 2013, Vol. 9, Nr 2, s. 11-19.
16. Gryś A., Łowicki Z., Grysczyńska A., Kania M., Parus A., *Rośliny zielarskie w leczeniu chorób skóry – bezpieczeństwo i zastosowanie*, Postępy Fitoterapii 3/2011, s. 191-196.
17. Sadowska A., *Rakotwórcze i trujące substancje roślinne*, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2004.
18. Bohne B., Dietze P., *Rośliny trujące*, Wydawnictwo Bellona, Warszawa 2008.
19. Jaraczewska W., Kruszewska S., *Zatrucia w domu i otoczeniu. Zapobieganie i pomoc przedlekarska*, Ostre Zatrucia Informacja Ekspresowa 2003, 2, s. 1-14.

20. Stefanowicz-Hajduk J., Hajduk A., Ochocka J.R., Sejn J., *Zatrucia roślinami wyższymi występującymi w Polsce*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2006, 3(39), s. 271-276.
21. Bacler B., *Zasoby gatunkowe cennych roślin leczniczych powiatu włoszczowskiego Część I – macznica lekarska *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng*, Annales Academiae Medicae Silesiensis. 2009, 63, 3, s. 33-37.
22. Horoszkiewicz- Hassan M., *Stosowanie leków roślinnych w praktyce pediatrycznej*, *Pediatrics i Medycyna Rodzinna* 2010, 6 (4), s. 328-331.
23. Ustawa z dnia 6 września 2001 r. *Prawo farmaceutyczne*, Dz.U. 2001 nr 126, poz. 1381.
24. Kapczyński W., *Fitoterapia we współczesnym postępowaniu leczniczym w ginekologii i położnictwie*, *Postępy Fitoterapii* 2/2000, s. 10-16.
25. Kędzia B., Jerzy Alkiewicz J., Han S., *Znaczenie olejku z drzewa herbacianego w fitoterapii. Cz. I. Skład olejku i jego właściwości biologiczne*, *Postępy Fitoterapii* 2/2000, s. 36-40.
26. Wyszowska-Kolatko M., Koczurkiewicz P., Wójcik K., Pękała E., *Rośliny lecznicze w terapii chorób skóry*, *Postępy Fitoterapii* 3/2015, s. 184-12.
27. Kędzia B., Alkiewicz J., Łasecka K., Han S., Bugaj U., Podstawski Z., *Zastosowanie składu inhalacyjnego opartego na olejku z drzewa herbacianego (Tea Tree Oil) w leczeniu przewlekłych, infekcyjnych nieżytów górnych dróg oddechowych*, *Przewodnik Lekarza*, 2003, 6, 5, s. 146-153.
28. Pazyar N., Yaghoobi R., Bagherani N., Kazerouni A., *A review of applications of tea tree oil in dermatology*, *International Journal of Dermatology* 2013, 52, s. 784-790.
29. Migas P., Heyka M., *Glistnik jaskółcze ziele (*Chelidonium majus* L.) we współczesnej terapii – wskazania i bezpieczeństwo stosowania*, *Postępy Fitoterapii* 3/2011, s. 208-218.
30. Trąba C., Rogut T., Wolański P., *Rośliny dziko występujące i ich zastosowanie: przewodnik po wybranych gatunkach*, Wydawnictwo Stowarzyszenie na Rzecz Rozwoju i Promocji Podkarpacia Pro Carpathia, Rzeszów 2012.
31. *Monographs, Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products*, Stuttgart 2003.
32. Różański H., *Fitoterapia – dolegliwości okresu przekwitania*, *Lek w Polsce Drug in Poland*. Nr 11.2006, s. 87-104.
33. Senderski M.E., *Prawie wszystko o ziołach*, Wydawnictwo Mateusz Senderski, Podkowa Leśna 2015, s. 598-603.
34. Nocolak-Palczewska A., *Leksykon roślin leczniczych*, Wydawnictwo MedPharm, Wrocław 2010, s. 451-4.
35. Kosiński M., Krzyściak-Kosińska R., *Atlas ziół*, Wydawnictwo Pascal, Bielsko-Biała 2008.
36. Kędzia A., *Aktywność olejku szalwiowego wobec bakterii beztlenowych*, *Postępy Fitoterapii* 2006, 2, s. 66-70.
37. Zdrojewicz Z., Pypno D., Bugaj B., Cabała K., Waracki M., *Próby zastosowania szalwii w leczeniu zaburzeń poznawczych i choroby Alzheimerera*, *Postępy Fitoterapii* 2015, (16)4, s. 263-267.
38. Cybula M., Wszelaki M., Wszelaki N., *Dziurawiec, roślina nie(d)oceniona?*, *Postępy Fitoterapii* 1-2/2005, s. 50-52.
39. Główniak K., Widelski J., *Dziurawiec jego wszechstronne zastosowanie*, *Panacea*, lipiec-grudzień 2017, s. 5-7.
40. Turek S., *Ziele dziurawca zwyczajnego – składniki czynne i potencjalne zastosowania lecznicze*, *Postępy Fitoterapii* 3-4/2005, s. 80-86.
41. Bączek K., Kosakowska O., Przybył J., Kuczerenko A., Piuro-Jarubacka E., Weglarz Z., *Zróżnicowanie chemiczne dziko rosnących populacji krwawnika pospolitego (*Achillea millefolium* L.)*, *Polish Journal of Agronomy* 2013, 15, s. 89-94.
42. Różański H., *Wstęp do ziołarstwa i fitoterapii. Obraz podstawy profilaktyki chorób metodami naturalnymi w ujęciu holistycznym i współczesnym*, Maszynopis recenzowany, Krosno 1990-1994.
43. Kowalczyk B., *Trądzik*, *Panacea – Leki Ziołowe*, 2007, 4, s. 20-21.
44. Kaczmarczyk P., *Samoleczenie w dolegliwościach wątroby*, *Panacea* 2014, 4, s. 16-18.

45. Nowak K., Ogonowski J., Szulc K., *Krwawnik i olejek krwawnikowy, właściwości i zastosowanie*, Chemik, 2010, 64, 2, s. 103-110.
46. Krauze-Baranowska M., Majdan M., Kula M., *Owoce maliny właściwej i maliny zachodniej źródłem substancji biologicznie aktywne*, Postępy Fitoterapii 2014, 1, s. 32-39.
47. Markowski J., Płocharski W., Pytasz U., Rutkowski K., *Owoce, warzywa, soki – ich kaloryczność i wartość odżywcza na tle zapotrzebowania na energię i składniki odżywcze. Cz. 1. Kaloryczność i mit o wpływie na otyłość*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo - Warzywny 2012, 9, s. 24-27.
48. Baranowska A., Radwańska K., Zarzecka K., Gugala M., Mystkowska I., *Właściwości prozdrowotne owoców maliny właściwej (Rubus idaeus L.)*, Problemy Higieny i Epidemiologii 2015, 96, 2, s. 406-409.
49. Moksa K., Teległów A., *Zioła zalecane przez świętą Hildegardę w pielęgnacji skóry*, Postępy Fitoterapii 2021, 22, 1, s. 61-69.
50. Dzida K., Skubij N., Tymoszek K., Staszczak A., *Właściwości lecznicze i walory dekoracyjne nagietka lekarskiego (Calendula officinalis L.)*, Annals of Horticulture 2019, 26, 3, s. 13-2.
51. Mohammad S.M., Kashani H.H., *Pot marigold (Calendula officinalis) medicinal usage and cultivation*, Scientific Research and Essays 2012, 7(14), s. 1468-1472.
52. Muley B.B., Khadabadi S.S., Banarase N.B., *Phytochemical constituents and pharmacological activities Calendula officinalis Linn (Asteraceae)*, Tropical Journal of Pharmaceutical Research 2009, 8 (5), s. 455-65.
53. Chatterjee S.S., Koch E., Jaggy H., Krzeminski T., *In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen zur kardioprotektiven Wirkung von oligomeren Procyanidinen in einem Crataegus-Extrakt aus Blättern mit Blüten*, Arzneimittel Forschung – Drug Research. 1997, 47, s. 821-825.
54. Prus A., Gryś A., *Babka lancetowata (Plantago Lancelota L.) – właściwości lecznicze*, Postępy fitoterapii. 3/2010, s. 162-165.
55. Błęcha K., *Fitoterapia i suplementacja diety w chorobach górnego odcinka przewodu pokarmowego*, Postępy Fitoterapii 2019, 20(2), s. 118-125.
56. Weiss R.F., Fintelmann V., *Herbal Medicine*, Wydawnictwo Thieme, New York 2000.
57. Nowak G., *Surowce roślinne stosowane w chorobach układu krążenia i serca*, Herba Polonica 2009, Vol. 55 No 2, s. 100-120.

## Wybrane rośliny lecznicze stosowane w medycynie

### Streszczenie

Obecnie znanych jest więcej niż 2,5 tysiąca roślin o właściwościach leczniczych. Pomimo, że zioła generalnie uważane są za bezpieczne w zastosowaniu, to jednak nie wszystkie gatunki i nie w każdym stężeniu mogą być stosowane w terapii ludzi. Dlatego ważne jest, by znać działanie stosowanych roślin leczniczych, współdziałanie z przyjmowanymi tradycyjnymi preparatami medycznymi oraz bezpieczne dawkowanie. Należy również wiedzieć, czy dany produkt można zastosować zewnętrznie (np. na skórę, włosy, paznokcie), wewnętrznie (doustnie bądź wziewnie) i czy obydwie drogi aplikacji są właściwe. Zawartość (ilość) i jakość substancji czynnych zawartych w surowcu decyduje o wartości i przydatności leczniczej konkretnego gatunku.

Słowa kluczowe: zioła, rośliny lecznicze, produkty roślinne

## Selected seed plants used in medicine

### Abstract

Currently, more than 2,500 plants with medicinal properties are known. Although herbs are considered safe to use, not all, and not in all concentrations, meet these beliefs. Therefore, it is important to know the effects of the medicinal plants used, the interaction with the traditional medicinal preparations taken and safe dosing. It is important to know whether the product can be applied externally (e.g. to the skin, hair or nails), internally (orally or inhaled) or both. The quantity and quality of active substances contained in them determine the significant value and therapeutic usefulness of plant raw materials.

Keywords: herbs, medicinal plants, plant products

## **Herbata chińska (*Camellia sinensis* L. Kuntze) jako roślina o cennych walorach terapeutycznych**

### **1. Wstęp**

Herbata chińska (*Camellia sinensis* L. Kuntze) jest rośliną, z której liści i pąków sporządza się napar potocznie nazywany herbatą. Jest to niezwykle popularny napój spożywany zarówno w Polsce, jak i na całym świecie. Ze względu na zróżnicowany proces technologiczny obróbki surowca roślinnego jakim jest krzew herbaty chińskiej uzyskuje się odpowiednio przygotowane liście i pączki, które są wykorzystywane do sporządzania odpowiednich naparów. Chen Chuan ze względu na sposób obróbki surowca wyodrębnił herbatę zieloną, czarną, czerwoną oraz białą [1]. W Polsce najpopularniejsze są herbaty czarna oraz zielona, których udział w rynku światowym wynosi odpowiednio 78% oraz 20%. Dawniej herbata była uznawana za używkę, obecnie natomiast dzięki intensywnemu rozwojowi badań nad jej właściwościami terapeutycznymi, potwierdza się jej dobroczynne działanie na organizm człowieka [2, 3]. W liściach herbaty chińskiej znajduje się około 300 różnych związków, dzięki którym może ona wspomagać utrzymanie prawidłowej masy ciała, hamować rozwój nowotworów, procesów neurodegeneracyjnych oraz miażdżycy naczyń krwionośnych. Właściwości te wynikają z obecności w jej składzie chemicznym substancji biologicznie czynnych, takich jak: alkaloidy purynowe czy flawonoidy, katechiny, garbniki, aminokwasy, a także dzięki zawartości makroelementów oraz wielu witamin [4, 5].

### **2. Cel pracy**

Celem niniejszej pracy było określenie procentowej zawartości substancji czynnych, takich jak: flawonoidy, fenolokwasy i garbniki w czterech rodzajach herbat – zielonej, czarnej, czerwonej i białej. Ponadto, dokonano oznaczenia poziomu aktywności antyoksydacyjnej badanych substancji roślinnych a także oceniono czy jakość surowca jest związana z jego ceną. W niniejszej pracy przedstawiono również charakterystykę poszczególnych herbat oraz ich zróżnicowanie.

### **3. Historia odkrycia herbaty chińskiej**

Herbata pochodzi z południowych Chin. Historii powstania tego napoju towarzyszy wiele legend, jednak pierwsze udokumentowane informacje datuje się na około II wiek naszej ery. Obecnie za największe źródło informacji odnośnie herbaty chińskiej uważana jest trzytomowa praca pt.: „Chajjing”, która została napisana w VI wieku przez Lu Yu. Prezentowane dzieło zawiera historię oraz opis technologii uprawy, sposobu sporządzania, a także wskazówki jak przyrządzony napar prawidłowo pić. Lu Yu podniósł spożywanie herbaty do rangi sztuki, która to była dalej rozpowszechniana w innych

---

<sup>1</sup> malgorzata.kusmierz@op.pl, Międzywydziałowe Koło Naukowe „Planta Medica”, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://www.up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> magdalena.walasek@up.lublin.pl, Katedra Warzywnictwa i Zielarstwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Doświadczalna 50A, 20-280 Lublin, <https://www.up.lublin.pl/>.

krajach. Doniesienia naukowe wskazują, iż od XV wieku herbata upowszechniła się także w Japonii. Uważano tam, że ceremonia picia tego napoju wywołuje pozytywne doświadczenia estetyczne, które określano jako uczucie lekkości, piękna, spokoju i relaksu. Współcześnie w Japonii napar z liści krzewu *C. sinensis* jest istotnym elementem kultury, ponieważ tradycyjnie w każdym domu gościa wita się podając mu filiżankę herbaty.

Na przestrzeni wieków import tego surowca do Europy oraz Ameryki spowodował wytworzenie się nowych krajowych tradycji i zwyczajów związanych z jej spożywaniem. Szczególnie dostrzec można to w Anglii, gdzie istnieje tradycja picia popołudniowej herbaty [6, 7].

#### **4. Charakterystyka i uprawa**

Herbata chińska (*C. sinensis* L. Kuntze) jest wiecznie zielonym krzewem z rodziny herbatowatych, należącym do rodzaju *Camellia* (kamelia). Roślina ta dorasta do 3-4 m wysokości, wytwarza biało-żółte kwiaty o średnicy 2,5-10 cm, które kwitną wiosną i zimą. Liście są mięsiste, błyszczące i wydłużone o długości 4-15 cm i szerokości 2-5 cm. Młode liście mają kolor jasnozielony i są pokryte od spodu białym meszkiem, natomiast starsze są gładkie i ciemnozielone. Krzew wytwarza owoce, które pękając wzdłuż przegród spleaszczonych torebek uwalniają po 5-6 nasion [2].

Roślinę tę uprawia się głównie w Azji a jej największymi producentami są Chiny, Japonia, Kambodża oraz Sri Lanka. Krzew *C. sinensis* preferuje klimat monsunowy, tropikalny i subtropikalny oraz silne nasłonecznienie. W stanie naturalnym występuje w Indiach, Wietnamie oraz Birmie, spotykany jest również w krajach strefy podzwrotnikowej a najlepiej rośnie na plantacjach położonych na wysokości 2000 metrów nad poziomem morza [2]. Rodzaj gleby oraz jej pH decyduje o jakości herbaty, przy czym wartość pH powinna zawierać się w przedziale od 4,5 do 6, gdyż niewłaściwy odczyn sprzyja rozwojowi zanieczyszczeń mikrobiologicznych. Z kolei temperatura gleby powinna wynosić 20-25°C, natomiast optymalna temperatura powietrza to 18-30°C. Równomiernie rozłożone i obfite opady deszczu oraz podwyższona wilgotność są najkorzystniejszymi warunkami wodnymi w uprawie herbaty chińskiej [8].

#### **5. Technologia przetwarzania surowca a rodzaj herbaty**

##### **5.1. Herbata zielona**

Herbatę zieloną uzyskuje się poprzez proces łagodnego wytrawiania młodych liści krzewu parą wodną na etapie ich wędnięcia, w wyniku czego następuje dezaktywacja enzymów. Kolejnym etapem jest suszenie liści, podczas którego odparowanie wody powoduje ich skręcenie [9-11].

##### **5.2. Herbata czarna**

Herbata czarna jest otrzymywana w wyniku czterech etapów obróbki liści i pąków liściowych zebranych z krzewu herbaty chińskiej. Surowiec poddany jest początkowo wędnięciu, następnie jest rolowany, po czym zachodzi najważniejszy etap, czyli proces całkowitej fermentacji, dzięki któremu liście ciemnieją. Ostatnim etapem jest suszenie surowca [12-14].



### 5.3. Herbata czerwona

Herbatę czerwoną uzyskuje się w wyniku przeprowadzenia częściowej fermentacji surowca. Proces ten zostaje przerwany, gdy na końcach liści zostanie zaobserwowany charakterystyczny czerwony kolor [15, 16].

### 5.4. Herbata biała

Herbata biała pozyskiwana jest z pąków liściowych, które zbiera się zazwyczaj wiosną. Poddaje się je działaniu pary wodnej, która zatrzymuje aktywność enzymów. Ostatnim etapem jest suszenie pąków [15, 17].

## 6. Skład chemiczny i działanie terapeutyczne herbaty chińskiej

Herbata chińska zawiera liczne związki biologicznie czynne, m.in.: polifenole z grupy flawanoli (katechiny, epigalokatechiny, galusanepigalokatechiny, galusanepikatechiny, epikatechinę, galokatechinę), flawonoidy (kemferol, kwercetynę, mirisetynę), kwasy fenolowe (kwas galusowy, p-kumarowy, kawowy) oraz pochodne kwasu kawowego (kwas chlorogenowy, teogalinę). Herbata jest także źródłem alkaloidów purynowych (kofeiny, teobrominy, teofiliny), aminokwasów (teaniny), witamin (C, E, B oraz K) oraz jonów fluoru, glinu i potasu [18, 19].

Walory terapeutyczne herbaty zależą od zawartości składników biologicznie czynnych. Herbata czarna pobudza organizm, zwiększa koncentrację, działa redukująco na stres i zmniejsza ciśnienie krwi, usprawnia pracę żołądka, zapobiega i ogranicza ryzyko wystąpienia nowotworów. Stosując okłady z przygotowanego naparu można zmniejszyć opuchliznę wokół oczu oraz ich zaczerwienienie. Zielona herbata natomiast działa przeciwbakteryjnie, przeciwwirusowo i przeciwwrzodowo. Redukuje poziom cholesterolu i działa oczyszczająco, gdyż pomaga pozbyć się szkodliwych toksyn z organizmu [5, 20, 21]. Z kolei czerwona przyspiesza metabolizm i pomaga w zredukowaniu nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej, działa również moczopędnie. Biała natomiast silnie pobudza organizm. Podobnie jak opisane wcześniej inne rodzaje, również usuwa toksyny z organizmu, ułatwia koncentrację oraz hamuje namnażanie się komórek nowotworowych. Dodatkowo spożywanie jej powoduje opóźnienie procesu starzenia się skóry, wspomaga system immunologiczny organizmu oraz działa stabilizująco na układ nerwowy [5, 22, 23].

## 7. Materiał wykorzystany do badań

W badaniach wykorzystano cztery rodzaje herbat: zieloną, czarną, czerwoną i białą. Analizie poddano trzy herbaty z danego rodzaju charakteryzujące się różną ceną (tab. 1). Wykorzystano produkty zakupione w sklepie spożywczym, których cena jest niska, bądź średnia oraz jeden produkt „premium” o wyższej cenie, który można zakupić w sklepie specjalistycznym – herbaciarni. Herbaty poddane analizie to:

- Herbaty zielone: Big-active, Zielona Oolong oraz Zielona Sir Roger. Herbata Big-active w saszetkach została kupiona w sklepie spożywczym w cenie 5 zł/100 g. Herbatę Oolong – liściastą zakupiono w herbaciarni za 25 zł/100 g. Z kolei herbata Sir Roger będąca również herbatą liściastą, kosztowała 16 zł/100 g i została nabyta w sklepie spożywczym.
- Herbaty czarne: Loyd, Minutka, Yunnan Golden Tips. Liściasta Herbata Loyd została kupiona w sklepie spożywczym w cenie: 7,5 zł/100 g. W sklepie spo-

żywym nabyto również herbatę czarną w saszetkach Minutka o wartości 3,9 zł/100 g, natomiast herbatę liściastą Yunnan Golden Tips zakupiono w sklepie specjalistycznym, a jej cena wynosiła 70 zł/100 g.

- Herbaty czerwone: Pu-erh liściasta została kupiona w herbaciarni w cenie 35 zł/100 g, Pu-rh Auchan liściasta nabyta w sklepie spożywczym za 7 zł/100 g oraz herbata w saszetkach Biofix dostępna również w sklepie spożywczym w cenie 13 zł/100 g.
- Herbaty białe: liściasta White Monkey zakupiona w herbaciarni w cenie 32 zł/100 g. W sklepie spożywczym kupiono natomiast herbatę liściastą Mayo w cenie 14 zł/100 g oraz Teekanne White w saszetkach, której cena wynosi 24 zł/100 g.

## 8. Metodyka badań

W badanym materiale oznaczono zawartość flawonoidów w przeliczeniu na hiperozyd i kwercetynę oraz ilość fenolokwasów w przeliczeniu na kwas kawowy zgodnie z metodyką podaną w Farmakopei Polskiej VI [24]. Do wykonania badań określających zawartość garbników wykorzystano natomiast metodykę podaną w Farmakopei Polskiej X [25].

Określono także aktywność antyoksydacyjną zdefiniowaną jako procent inhibicji wolnych rodników DPPH, według metody podanej przez Yen i Chen [26]. Wyliczenie procentu inhibicji wolnych rodników DPPH wykonano według wzoru podanego przez Rossi i in. [27]. Zasada oznaczenia polega na kolorymetrycznym pomiarze stopnia zredukowania ilości wolnych rodników DPPH.

## 9. Wyniki

Wyniki przeprowadzonych badań zostały przedstawione w tabeli 1. Wykonane analizy z zastosowaniem herbaty zielonej wykazały największą zawartość garbników i kwasów fenolowych oraz najwyższą aktywność antyoksydacyjną w przypadku herbaty liściastej Oolong zakupionej w herbaciarni. Zawartość flawonoidów w herbacie liściastej zielonej Sir Roger nabytej w sklepie spożywczym była porównywalna do zawartości tych związków w herbacie zielonej Oolong, natomiast produkt ten zawierał najmniej kwasów fenolowych w odniesieniu do pozostałych analizowanych herbat. Aktywność antyoksydacyjna analizowanej herbaty była stosunkowo wysoka (60%) i porównywalna do aktywności produktu Big-Active. Warto zauważyć, że najmniejszą zawartość garbników i flawonoidów oraz najniższy procent inhibicji DPPH wykazano dla zielonej herbaty w saszetkach Big-active zakupionej w sklepie spożywczym.

W przypadku herbat czarnych herbata liściasta Loyd zakupiona w sklepie spożywczym charakteryzowała się największą zawartością kwasów fenolowych. Najwyższa aktywność antyoksydacyjna (83,3%) została natomiast odnotowana dla herbaty liściastej Yunnan Golden Tips. Badania wykazały także, iż ten surowiec zawiera najmniejszą ilość kwasów fenolowych oraz garbników w odniesieniu do pozostałych analizowanych produktów. Z kolei zawartość flawonoidów była porównywalna do ilości tych związków w herbacie Loyd. Największą procentową zawartość garbników oraz flawonoidów zaobserwowano w herbacie w saszetkach Minutka. Herbata ta charakteryzowała się natomiast najniższym poziomem aktywności antyoksydacyjnej.

Wykonane badania z zastosowaniem herbaty czerwonej dowodzą, iż największą aktywność antyoksydacyjną oraz największą zawartość garbników i kwasów fenolowych charakteryzuje się herbata liściasta Pu-erh zakupiona w herbaciarni. Herbata liściasta

Pu-erh nabyta w sklepie spożywczym wykazała największą ilość flawonoidów. Najmniejszą zawartość kwasów fenolowych, garbników i flawonoidów oraz najniższą aktywność antyoksydacyjną odnotowano dla herbaty czerwonej w saszetkach zakupionej w sklepie spożywczym.

Największą procentową zawartość kwasów fenolowych, garbników oraz flawonoidów spośród herbat białych uzyskała herbata liściasta White Monkey zakupiona w herbaciarni, natomiast najwyższy poziom inhibicji DPPH herbata liściasta Mayo nabyta w sklepie spożywczym. Z kolei produkt ten zawierał najmniejszą zawartość kwasów fenolowych oraz flawonoidów w porównaniu do pozostałych herbat białych (tab. 1).

Tabela 1. Procentowa zawartość związków biologicznie czynnych w herbatach

Nazwa herbaty	% inhibicji DPPH	% zawartości flawonoidów w przeliczeniu na		% zawartość kwasów fenolowych	% zawartość garbników
		hiperozyd	kwercetynę		
Zielona <i>Big-active</i> Sklep spożywczy 5 zł/100 g	59,4	1,3	0,9	1,6	2,0
Zielona <i>Oolong</i> Sklep specjalistyczny 25 zł/100 g	65,5	1,5	1,0	1,8	2,3
Zielona <i>Sir Roger</i> Sklep spożywczy 16 zł/100 g	60,0	1,5	1,0	1,4	2,2
Czarna <i>Loyd</i> Sklep spożywczy 7,5 zł/100 g	60,3	1	0,7	1,7	2,3
Czarna <i>Minutka</i> Sklep spożywczy 3,9 zł/100 g	35,0	1,3	0,9	1,1	2,5
Czarna <i>Yunnan Golden Tips</i> Sklep specjalistyczny 70 zł/100 g	83,3	1,0	0,7	0,6	2,0
Czerwona Pu-erh Sklep specjalistyczny 35 zł/100 g	64,9	0,9	0,7	1,7	1,1
Czerwona Pu-erh Auchan Sklep spożywczy 7 zł/100 g	62,1	1,0	0,7	1,0	1,0
Czerwona Pu-erh Biofix Sklep spożywczy 13 zł/100 g	60,2	0,8	0,6	0,7	1,0
Biała <i>White Monkey</i> Sklep specjalistyczny 32 zł/100 g	34,1	1,8	1,3	2,5	7,7
Biała <i>Mayo</i> Sklep spożywczy 14 zł/100 g	41,2	1,0	0,7	1,0	3,8
Biała <i>Teekanne</i> Sklep specjalistyczny 24 zł/100 g	40,5	1,6	1,1	1,5	3,5

Źródło: Opracowanie własne

## 10. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań porównujących cztery rodzaje herbat: zieloną, czarną, czerwoną oraz białą zróżnicowanych zarówno pod względem jakości, dostępności jak i ceny stwierdzono, że zawierają one wiele związków biologicznie czynnych tj. garbniki, kwasy fenolowe, flawonoidy, przy czym ich zawartość jest mocno zróżnicowana.

Produkty, które zostały zakupione w sklepach specjalistycznych charakteryzują się najwyższą jakością o czym świadczy wysoka zawartość substancji biologicznie czyn-

nych analizowanych w niniejszej pracy. Można więc wnioskować, że herbaty o wyższej cenie wykazują lepszą jakość. Wyjątek stanowiła herbata czarna, w przypadku której produkt w saszetkach zakupiony w sklepie spożywczym charakteryzował się relatywnie dobrymi wynikami w porównaniu do dwóch pozostałych rodzajów herbat.

Największą procentową zawartość garbników, kwasów fenolowych oraz flawonoidów spośród wszystkich analizowanych produktów wykazano dla herbaty czerwonej liściastej Pu-erh zakupionej w sklepie specjalistycznym, natomiast najwyższą aktywność antyoksydacyjną zanotowano dla herbaty czarnej liściastej Yunnan Golden Tips. Oba przedstawione powyżej produkty zostały zakupione w herbaciarni.

Herbata chińska zawiera liczne składniki biologicznie aktywne, które są odpowiedzialne za jej walory terapeutyczne. Potrzebne są jednak dalsze badania i analiza składu chemicznego większej liczby produktów dostępnych w sprzedaży. Należy podnosić świadomość konsumentów, aby wybierali produkty najwyższej jakości, ponieważ wpływają one korzystnie na stan zdrowia człowieka.

## Literatura

1. Karwowska K., *Wykorzystanie liści krzewu herbacianego w przemyśle spożywczym i kosmetycznym*, Kosmetologia Estetyczna, nr 5, 2016, s. 493.
2. Matysek-Nawrocka M., Cyrankiewicz P., *Substancje biologicznie aktywne pozyskiwane z herbaty, kawy i kakao oraz ich zastosowanie w kosmetykach*, Postępy Fitoterapii, nr 2, 2016, s. 139-144.
3. Czernicka M., Zaguła G., Puchalski Cz., Cebulak T., Kapusta I., *Ocena wartości zdrowotnej naparów wysokogatunkowych herbat liściastych białych i zielonych w oparciu o analizę zawartości fluorków, kofeiny i składu mineralnego*, Bromat. chem. toksykol. – XLVIII, nr 4, 2015, s. 667-676.
4. Dmowski P., Śmiechowska M., Deja B., *Wpływ warunków zaparzania na zawartość garbników oraz wybranych parametrów barwy herbaty*, Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, nr 68, 2011, s. 5-12.
5. Ostrowska J., *Herbaty naturalne źródło antyoksydantów*, Gazeta Farmaceutyczna, nr 1, 2008, s. 46-50.
6. <https://www.konesso.pl/Historia-herbaty-blog-pol-1457007216.html>, data dostępu 06.06.2021.
7. Michael Hall C., Sharples L., Mitchell R., Macionis N., Cambourne B., *Food Tourism Around the World Development, management and markets*, Butterworth-Heinemann, Oxford 2003.
8. Dmowski P., Śmiechowska M., Steinka I., *Wpływ zawartości związków bioaktywnych na mikrobiologiczne zanieczyszczenie herbaty*, Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, nr 61, 2009, s. 5-14.
9. Świdzki F., Waszkiewicz-Robak B., *Towaroznawstwo żywności przetworzonej z elementami technologii*, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2012.
10. Dmowski P., Śmiechowska M., Łabędzki A., *Znaczenie opakowań w kształtowaniu jakości herbat*, Bromat. Chem. Toksykol. – XVII, nr 3, 2009, s. 431-435.
11. Błaszak B., Hodyl J., Majewska K., Szulc J., *Wpływ sposobu przygotowywania zielonej herbaty na zawartość składników aktywnych*, Inżynieria przetwórstwa spożywczego, nr 1(21), 2017, s. 9-12.
12. Waszkiewicz-Robak B., *Kawa, herbata, kakao*, Towaroznawstwo żywności przetworzonej z elementami technologii, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2012, s. 524-535.
13. Hać-Szymańczuk E., Fiziar M., Cegiełka A., Piwowarek K., Misiura S., *Porównanie jakości mikrobiologicznej herbat czarnych, zielonych, czerwonych dostępnych na rynku warszawskim*, Zeszyty problemowe Postępów Nauk Rolniczych, nr 591, 2017, s. 33-42.

14. Błaszak B., Feldheim J., Hodyl J., Szulc J., *Wpływ sposobu przygotowania naparów czarnej herbaty na zawartość wybranych składników aktywnych*, Inżynieria Przetwórstwa Spożywczego, 1(25), nr 2018, s. 5-9.
15. Miazga-Sławińska M., Grzegorzczak A., *Herbaty – rodzaje, właściwości, jakość i zafalszowania*, KOSMOS Problemy nauk biologicznych, nr 63(3), 2014, s. 473-479.
16. Stańczuk A., *Właściwości zdrowotne wybranych gatunków herbat*, Bromat. Chem. Toksykol., nr 4, 2010, s. 498-504.
17. Franczyk E., Górecka D., Korczak J., *Towaroznawstwo żywności pochodzenia roślinnego*, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2011.
18. Całka J., Zasadowski A., Juranek J., *Niektóre aspekty leczniczego działania zielonej herbaty*, Bromat. Chem. Toksykol.–XLI, nr 1, 2008, s. 5-14.
19. Kania M., Baraniak J., *Wybrane właściwości biologiczne i farmakologiczne zielonej herbaty (Camellia sinensis(L.) O.Kuntze)*, Borgis–Postępy Fitoterapii, nr 1, 2011, s. 34-40.
20. Kałwa K., Wyrostek J., *Ocena zawartości związków biologicznie aktywnych w herbacie zielonej i czarnej*, Inżynieria Przetwórstwa Spożywczego, nr 2/4 (26), 2018, s. 15-21.
21. Michalak-Majewska M., *Właściwości herbaty. Część I. Znaczenie żywieniowe*, Nauka Przyn. Technol., nr 5.6, 2011, s. 114.
22. Plust D., Czerniejewska-Surma B., Domiszewski Z., Binkiewicz G., Subda R., Wesołowski T., *Jakość wybranych herbat białych*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, nr 3(76), 2011, s. 90-97.
23. Piszcz P., Marciniak I., Głód B. K., *Właściwości antyoksydacyjne herbat*, Camera Separatoria, nr 9 (1), 2017, s. 36-45.
24. *Farmakopea Polska VI*, PTF, Warszawa 2002.
25. *Farmakopea Polska X*, PTF, Warszawa 2014.
26. Yen G.C., Chen H.Y., *Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity*, J. Agric. Food Chem, nr 43, 1995, s. 27-32.
27. Rossi M., Giussani E., Morelli R., Scalzo R., Nani R.C., Torreggiani D., *Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice*, Food Research International, nr 36, 2003, s. 999-1005.

## Herbata chińska (*Camellia sinensis* L. Kuntze) jako roślina o cennych walorach terapeutycznych

### Streszczenie

Herbata chińska (*Camellia sinensis* L. Kuntze) jest gatunkiem rośliny pochodzącym z południowych Chin, której właściwości lecznicze i prozdrowotne znane są od wieków. Wielokierunkowe działanie herbaty spowodowało, że napar z jej liści jest obecnie jednym z najpopularniejszych napojów spożywanych zarówno w Polsce, jak i na całym świecie. Ze względu na technologię wytwarzania uzyskuje się kilka rodzajów herbat. Walory terapeutyczne herbaty zależą od ilości ważnych pod względem właściwości prozdrowotnych związków biologicznie czynnych takich jak: fenolokwasy, flawonoidy czy też garbniki. Herbata chińska wspomaga utratę masy ciała, obniża cholesterol, działa normalizująco na ciśnienie krwi i przeciwzapalnie, jest również napojem pobudzającym pamięć i zdolności poznawcze, dzięki zawartości kofeiny. Celem badań była ocena zawartości polifenoli, garbników oraz aktywności antyoksydacyjnej, a także wykazanie zależności pomiędzy koncentracją głównych składników aktywnych a rodzajem herbat dostępnych na polskim rynku.

Badania przeprowadzono na 4 rodzajach herbaty chińskiej: czarnej, zielonej, czerwonej oraz białej różniących się ceną i dostępnością. Porównano procentową ilość substancji czynnych odpowiadających za istotne właściwości. Na tej podstawie oceniono czy jakość surowca ma powiązanie z ceną produktów. Przebadano herbaty w saszetkach oraz sypane zakupione w sklepach spożywczych, a także herbaty liściaste zakupione w herbaciarni. Otrzymane rezultaty pozwalają stwierdzić, że herbaty dostępne w specjalistycznych sklepach częściej posiadają lepszą jakość i ich cena ma przełożenie na wyższą jakość tych produktów.

Słowa kluczowe: aktywność antyoksydacyjna, polifenole, garbniki, flawonoidy, właściwości prozdrowotne

## **Chinese tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) as a plant of valuable the therapeutic values**

### Abstract

Chinese tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) is a plant species from southern China, whose healing and health-promoting properties have been known for centuries. The multidirectional effects of tea have made the infusion of its leaves one of the most popular drinks consumer both in Poland and around the world. Due to the manufacturing technology, several types of tea are obtained. The therapeutic value of tea depends on the amount of biologically active compounds important for health, such as phenolic acids, flavonoids and tannins. Tea promotes weight loss, lowers cholesterol, normalizes blood pressure and anti-inflammatory effects, and is also a memory and cognitive stimulating drink due to its caffeine content.

The aim of this study was to evaluate the content of polyphenols, tannins and antioxidant activity as well as to show the relation between the concentration of main active components and the type of teas available on Polish market.

The study was conducted on 4 types of Chinese tea: black, green, red and white differing in price and availability. The percentage of active substances responsible for significant properties were compared. On this basis, it was assessed whether the quality of raw material is related to the price of products. Sachet and loose-leaf teas bought in grocery stores as well as loose-leaf teas bought in tea shops were tested. The obtained results allow concluding that teas available in specialized shops are more often of better quality and a higher price corresponds to a higher quality.

Keywords: antioxidant activity, polyphenols, tannins, flavonoids, health-promoting properties

# Wpływ dodatku odpadowych granulowanych łupin orzecha oraz kolb kukurydzy na właściwości mechaniczne kompozytów cementowych i betonów

## 1. Wstęp

Współczesna technologia kompozytów cementowych w coraz to większym stopniu opiera się na koncepcji wprowadzania na etapie projektowania dodatków materiałów odpadowych. Stosowane są głównie odpady syntetyczne, metalowe, stopy (w tym pochodzenia powojennego, tj. żelazoniklowy). Innym źródłem surowców odpadowych powstałych w procesach produkcyjnych są granulaty oraz proszki generowane w technologii obróbki CNC w branży motoryzacyjnej, zbrojeniowej (stal pancerna), przetwórstwa tworzyw sztucznych (PP, ABS, PE, PET, PUR, PCV), recyklingu odpadów szklanych (opakowania żywności) [1-4].

Innowacyjnym podejściem, już na etapie projektowania ilościowego i jakościowego składu receptur kompozytów opartych na spoiwie cementowym, jest uwzględnianie wpływu zastosowania dodatków materiałów odpadowych organicznych na właściwości mieszanek cementowych, stwardniałych kompozytów oraz na ich parametry cieplne i akustyczne [5, 6]. Często jednak materiały organiczne są niedocenianym źródłem nowego typu modyfikatora (domieszki modyfikującej) wpływającego na zmianę właściwości reologicznych mieszanek cementowych czy mineralno-asfaltowych [7, 8]. Materiał odpadowy organiczny (określany często mianem odpadu rolniczego) w postaci popiołu z kukurydzy zastosowano jako częściowy zamiennik cementu (w ilości 17,5%) w strukturze zielonego betonu – eko kompozytu (wykazano wzrost wytrzymałości betonu na ściskanie zawierającego popiół z kukurydzy w odniesieniu do próbek referencyjnych wykonanych na spoiwie cementowym) [9]. Popiół z kukurydzy okazał się dobrym substytutem cementu ograniczającym potrzebę jego produkcji co w niedalekiej przyszłości może przyczynić się do zmniejszenia emisji gazów CO<sub>2</sub> powodujących istotny problem globalnego zanieczyszczenia środowiska.

Odpad w postaci granulatu pozyskanego z mielenia i frakcjonowania kolb kukurydzy pełnił rolę zamiennika kruszywa w zaprawach cementowych (alternatywa dla kruszywa drobnego mineralnego). Przeprowadzone badania wykazały bardzo dobre właściwości termoizolacyjne zapraw ze stosem okrucowym zaprojektowanym z frakcji granulatów kolb kukurydzy [10, 11].

Z grupy możliwych do zastosowania dodatków odpadowych w technologii kompozytów cementowych (betony zwykłe, keramzytobetony modyfikowane odpadami) można wykorzystać granulaty (kruszywo organiczne), popioły pozyskane z procesów przetwarzania łupin orzechów oraz pestek owocowych (włoskiego lub nerkowca) [12, 13]. Popiół powstały z wypalania łupin nerkowca wpłyną korzystnie na wzrost

<sup>1</sup> waldemar.lasica@wat.edu.pl, Zakład Budownictwa Ogólnego, Instytut Inżynierii Lądowej, Wydział Inżynierii Lądowej i Geodezji, Wojskowa Akademia Techniczna, www.wat.edu.pl.

<sup>2</sup> marcin.malek@wat.edu.pl, Zakład Budownictwa Ogólnego, Instytut Inżynierii Lądowej, Wydział Inżynierii Lądowej i Geodezji, Wojskowa Akademia Techniczna, www.wat.edu.pl.

urabialności mieszanki betonowej (popiół CNSA spełniał wymagania dla materiałów pucolanowych). Próbkki kompozytowe modyfikowane popiołem z łupin nerkowca wykazywały przyrosty wytrzymałości na ściskanie, rozciąganie przy zginaniu oraz rozłupywaniu (optymalny poziom zastąpienia spoiwa cementowego wyniósł 15,0%). Stwierdzono również zwiększoną trwałość betonu modyfikowanego popiołem łupin nerkowca (wyższa odporność na działanie siarczanów).

Celem pracy jest określenie wpływu dodatków granulowanych materiałów odpadowych w postaci mielonych łupin orzecha oraz kolb kukurydzy na wytrzymałość mechaniczną kompozytów cementowo-szklanych oraz tradycyjnych betonów.

## **2. Metodyka projektowania**

Głównym założeniem etapu projektowania składu receptury referencyjnej było uzyskanie kompozytu cementowo-szklanego wysokiej wytrzymałości na ściskanie powyżej 60 MPa ( $f_{ck} > 60$  MPa po 28 dniach dojrzewania). Trwałość kompozytu związana była ze spełnieniem wymagań dla klas ekspozycji XC4, XD3, XF3. Uwzględniono również możliwość stosowania dodatków odpadowych organicznych powyżej 5,0% zaprojektowanej ilości (masy) spoiwa cementowego. Wytypowane materiały odpadowe obejmowały frakcje granulatów szkła sodowego jako jedyne go składnika tworzącego stos okruszowych kompozytu. Frakcje granulatów szkła wynikały z grubości ścianek opakowań po produktach spożywczych, tj. granulowane, mielone szkło postkonsumpcyjne. Uwzględniono możliwość wykonania mieszanek kompozytowych dla dwóch klas konsystencji S1 oraz S2, założony stopień napowietrzenia w zakresie 4,0-5,5%. Właściwości reologiczne mieszanki modyfikowano przy zastosowaniu domieszki chemicznej płynnej (regulacja lepkości plastycznej cementu specjalnego).

Etap komponowania składu (dobór ilościowy oraz jakościowy składników mieszanki) poprzedzono dokonaniem przeglądu współczesnych metod projektowania kompozytów modyfikowanych materiałami pozyskanymi w procesach recyklingu surowców odpadowych (mieszanek betonowych wieloskładnikowych, eko-betony, mieszanki typu SCC, betonów HPC oraz VHPC). Przeanalizowano starsze metody projektowania kompozytów betonowych, w szczególności metody analityczno-doświadczalne, metoda trzech oraz czterech równań, metoda Paszkowskiego pojedynczego otulenia. Rozważaniom poddano również metodę objętościową, uwzględniającą udział kruszyw lekkich odpadowych oraz metodę iteracyjną projektowania szczelnego stosu okruszowego [14].

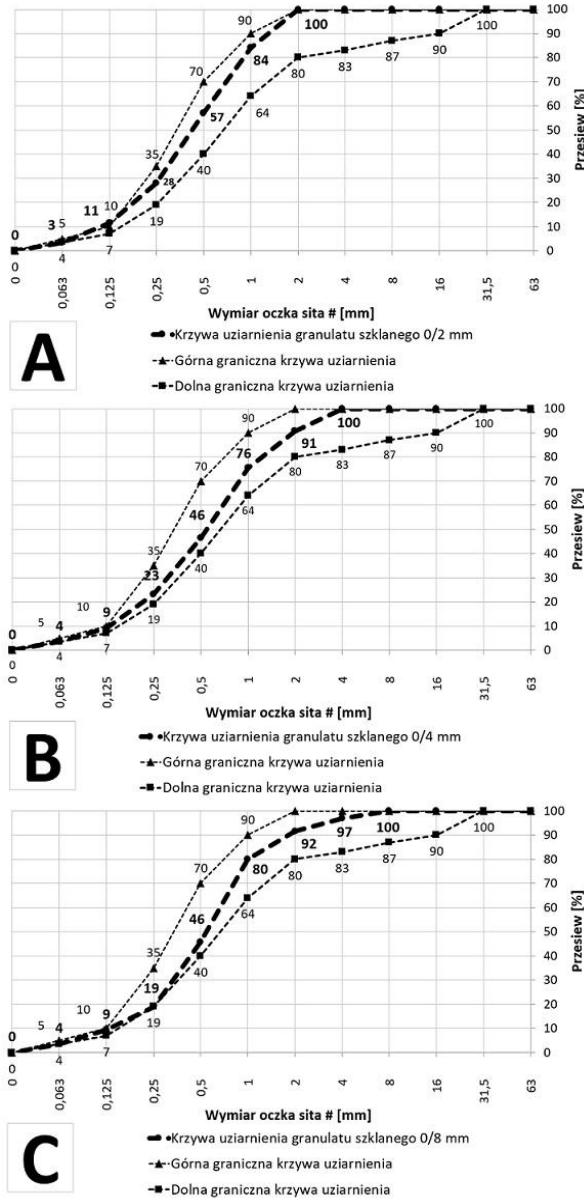
Odnosząc się do wymienionych metod projektowania składu mieszanek na spoiwie cementowym, wykorzystano metodę czterech równań z korektą ostatecznego składu receptury wynikającą z uzyskanych wyników badań laboratoryjnych (metoda analityczno-doświadczalna, stos okruszowy zaprojektowany w odniesieniu do normowych krzywych granicznych uziarnienia mieszanki drobnoziarnistych – piaskobetony oraz betony o podwyższonym punkcie piaskowym  $P_p > 90,0\%$ ) [15].

Frakcje, jakie zaproponowano do zaprojektowania stosu okruszowego kompozytu cementowo-szklanego to granulaty szkła sodowego 0/2,0 mm; 0/4,0 mm; 2,0/4,0 mm oraz 0/8,0 mm wraz z dodatkiem mączki szklanej o uziarnieniu 0/200  $\mu\text{m}$  (uszczelnienie oraz zapewnienie ciągłości struktury wewnętrznej kompozytu, doziarnienie stosu okruszowego). Założenia dla stosu okruszowego 0/2,0 mm dotyczyły procentowej zawartości poszczególnych frakcji: 0/0,063 mm – 4,0-5,0%; 0,063/0,125 mm – 8,0-11,0%; 0,125/0,250 mm – 25,0-33,0%, punkt piaskowy  $P_p = 91,0-100\%$ , dla stosu



zaprojektowanego z grupy frakcji 0/4,0 mm: 0/0,063 mm – 4,0-4,5%; 0,063/0,125 mm – 9,0-10,0%; 0,125/0,250 mm – 21,0-32,0%, punkt piaskowy Pp = 85,0-95,0% oraz dla grup frakcji 0/8,0 mm: 0/0,063 mm – 4,5-5,0%; 0,063/0,125 mm – 9,0-10,0%; 0,125/0,250 mm – 19,0-25,0%, punkt piaskowy Pp = 85,0-95,0% [16, 17].

Przykłady zaprojektowanych krzywych uziarnienia dla poszczególnych stosów okruszowych kompozytów cementowo-szklanych referencyjnych przedstawiono na rysunku 1.



Rysunek 1. Zaprojektowane krzywe stosów okruszowych szklanych sodowych. A – krzywa uziarnienia stosu okruszowego 0/2,0 mm, B – krzywa uziarnienia stosu okruszowego 0/4,0 mm, C – krzywa uziarnienia stosu okruszowego 0/8,0 mm [opracowanie własne]

Pierwszym wzorem wykorzystanym przy projektowaniu składu był wzór wytrzymałościowy, tzw. wzór R. Fereta uwzględniający zawartość powietrza w mieszance (p), poziom wytrzymałości betonu (kompozytu cementowo-szklanego po 28 dniach dojrzewania) od ilorazu ilości spoiwa cementowego do ilości aktywatora reakcji hydratacji ( $c/(w+p)$ ) jako wody zarobowej. Wykorzystano współczynnik (a) o wartości 0,5; dotyczący jakości granulatu szklanego (jako kruszywo łamane z odłamami muszlowymi bez porów kapilarnych, granulaty o zmiennej wartości gęstości zależny od typu szkła) oraz klasy cementu niskoalkalicznego (spoiwo jako cement portlandzki biały oraz szary CEM I, klasy wytrzymałościowej 52,5 R NA SR 5, wysokiej wytrzymałości wczesnej, odporny na siarczan) [18].

Drugi wzór dotyczył potrzeby spełnienia warunku szczelności kompozytu cementowo-szklanego, weryfikował poprawność doboru ilościowego wszystkich składników zawartych w 1,0 m<sup>3</sup> mieszanki kompozytowej tj. woda zarobowa, spoiwo cementowe, stos okruszowy szklany, dodatki w postaci granulatów organicznych (kruszone kolby kukurydzy i łupiny orzecha włoskiego), włókna celulozowe oraz domieszki chemiczne (wzór uwzględniający sumy objętości składników - sumy absolutne).

Trzeci wzór (warunek jednorodności, wyznaczenie zawartości wody w mieszance) odnosił się do założonej klasy konsystencji S1/S2 mieszanki kompozytowej wynikającej z rodzaju użytego spoiwa cementowego (miałkość, klasa wytrzymałościowa) oraz procentowej zawartości frakcji (rozkład procentowy frakcji) w całym stosie okruszowym, zastosowanie wskaźników wodożądności ( $w_k$  – wodożądność grup frakcji granulatów szklanych,  $w_c$  – cementu,  $w_d$  – dodatków w postaci granulatów organicznych odpadowych) według tablicy Stern'a dla frakcji granulatów szkła sodowego, mielonych kolb kukurydzy i łupin orzecha włoskiego oraz dla spoiwa cementowego [19, 20].

Czwarty wzór, określający warunek objętości zaprawy dla kompozytów cementowo-szklanych zaprojektowanych ze stosem okruszowym szklany grup frakcji 0/8,0 mm (granulat łamany gruby otoczony warstwą zaprawy cementowo-szklanej).

Końcowy skład receptury referencyjnej jak również modyfikowanej dodatkami granulatów oraz zawierającej włókna organiczne, ustalono analityczno-doświadczalnie z wprowadzeniem niezbędnych korekt gwarantujących uzyskanie założonych wymagań wytrzymałości oraz trwałości kompozytu cementowo-szklanego.

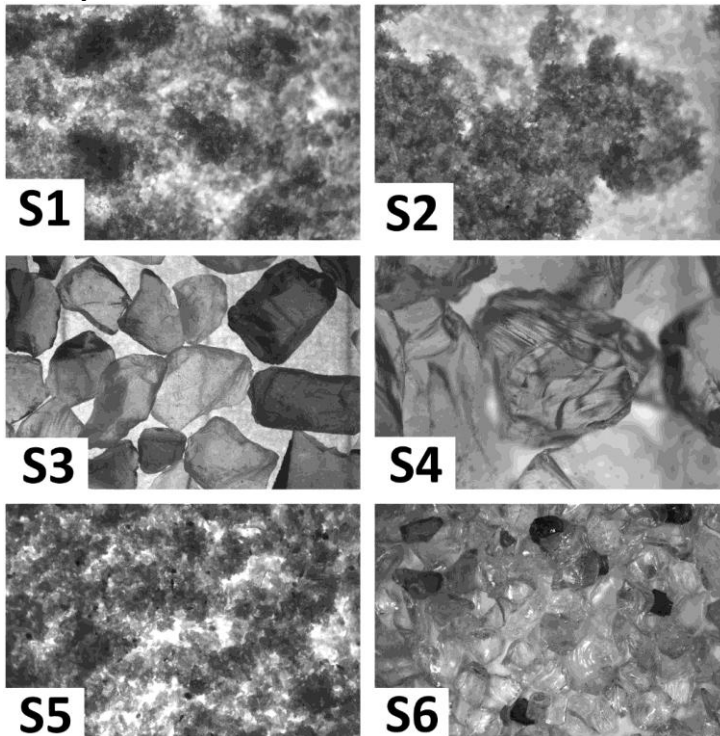
### **3. Charakterystyka składników**

Głównymi składnikami, stanowiącymi 71,0-77,0% objętości struktury kompozytu cementowo-szklanego, są grupy frakcji granulatów szklanych sodowych barwy zielonej, brązowej oraz bezbarwne o gęstości właściwej 2500 kg/m<sup>3</sup> (skład chemiczny: CaO > 8,0%, MgO < 4,0%, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> < 0,2%, SiO<sub>2</sub> > 65,0%, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> > 0,5% oraz Na<sub>2</sub>O > 14,0%). Zaprojektowano stopy okruszowe kompozytów z grupy frakcji 0/2,0 mm (stos złożony z grup frakcji 0/1,0 mm oraz frakcji 1,0/2,0 mm), stos okruszowy o uziarnieniu 0/4,0 mm (stos złożony z grup frakcji 0/2,0 mm oraz frakcji 2,0/4,0 mm) oraz stos okruszowy o uziarnieniu 0/8,0 mm (stos złożony z grup frakcji 0/4,0 mm oraz frakcji 4,0/8,0 mm). Granulaty grup frakcji 0/8,0 mm oraz frakcji 4,0/8,0 mm pozyskano metodą kruszenia i mielenia w bębnie kulowym stłuczki szklanej sodowej (szkło postkonsumpcyjne, tj. słoiki, butelki oraz opakowania szklane po produktach spożywczych pozbawionych etykiet papierowych, syntetycznych oraz nadruków). Tłuczone, kruszone oraz mielone szkło poddano procesowi przesiewania mechanicznego w celu rozfrakcjonowania

mieszaniny powstałych pyłów szklanych, drobnych i grubych frakcji szkła, ziaren niekształtnych (zawartość 4,0%) oraz nadziaren soczewkowych (etap określania składu granulometrycznego oraz rozkładu cząstek w analizowanej objętości próbki szkła sodowego). Szkło grupy frakcji 0/1,0 mm oraz frakcji 1,0/2,0 mm otrzymano metodą mechanicznego rozdrabniania szkła za pomocą kruszarek szczękowych (pozyskane z zakładu recyklingu stłuczki szklanej oraz od producenta materiałów obróbki strumieniowej). Granulaty szklane otrzymane metodą mechanicznego kruszenia w kruszarkach szczękowych zawierały ziarna o muszlowych przełomach z wyraźnymi ostrymi krawędziami bez mikrorrys.

Materiałem doziarniającym stos okruczowy, uszczelniającym strukturę wewnętrzną kompozytu stanowiła mączka szklana sodowa o uziarnieniu 0/200  $\mu\text{m}$  (frakcje: 0/125  $\mu\text{m}$  oraz 125/200  $\mu\text{m}$ ) o gęstości właściwej 2500  $\text{kg/m}^3$  (skład chemiczny:  $\text{CaO} > 8,0\%$ ,  $\text{MgO} < 4,0\%$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3 < 0,2\%$ ,  $\text{SiO}_2 > 65,0\%$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3 > 2,0\%$  oraz  $\text{Na}_2\text{O} > 14,0\%$ ).

Przykłady zastosowanych frakcji granulatów szklanych oraz mączki szklanej sodowej przedstawiono na rysunku 2.



Rysunek 2. Frakcje granulatów szklanych, S1 – mączka szklana 0/200  $\mu\text{m}$  (powiększenie 30x), S2 – mączka szklana 0/200  $\mu\text{m}$  (powiększenie 45x), S3 – frakcja szkła 2,0/4,0 mm (powiększenie 45x), S4 – frakcja 1,0/2,0 mm (powiększenie 45x), S5 – frakcja szkła 0/0,063 mm (powiększenie 45x), S6 – frakcja szkła 1,0/2,0 mm (powiększenie 10x) [opracowanie własne]

Jako materiał wiążący wszystkie składniki w strukturze kompozytu użyto spoiwa hydraulicznego w postaci cementu portlandzkiego białego oraz szarego CEM I klasy wytrzymałościowej 52,5 R NA SR5 (spoiwo charakteryzujące się wysoką wytrzymałością końcową, szybki przyrost wytrzymałości początkowej, cement niskoalkaliczny,

odporny na działanie siarczanów, gęstość właściwa  $3100 \text{ kg/m}^3$ , powierzchnia właściwa wynosząca  $4554 \text{ cm}^2/\text{g}$ , zawartość  $\text{SO}_3 = 3,0\%$ ,  $\text{Cl} = 0,082\%$ , zawartość alkaliów  $\text{Na}_2\text{Oeq} \leq 6,0\%$ , wskaźnik wodożądności  $29,3\%$ ).

Składnikiem warunkującym przebieg reakcji hydratacji spoiwa cementowego był aktywator w postaci wody zarobowej spełniającej wymagania normowe dla mieszanek betonowych. Użyta woda wykazywała wartość  $\text{pH} > 7,4$  (temperatura wody  $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ), pozbawiona była zanieczyszczeń organicznych oraz tłuszczów.

Zapewnienie wymaganych właściwości reologicznych mieszanek cementowo-szklanych wiązało się z użyciem domieszek chemicznych płynnych. Bazy chemiczne domieszek upłynniających/uplastyczniających oparte były na modyfikowanych roztworach eterów polikarboksylowych (gęstość  $1,05 \text{ g/cm}^3$ , wartość  $\text{pH} = 5,0$ ) zapewniających klasę konsystencji S1 dla niskiego wskaźnika wodno-cementowego (konieczność użycia domieszki wynikała z wysokiego wskaźnika wodożądności oraz nasiąkliwości granulatu mielonych kolb kukurydzy frakcji  $0/250 \mu\text{m}$ ). Wysoka zawartość procentowa frakcji drobnych granulatu szklanego sodowego wymagała zastosowania domieszki upłynniającej (zawartość jonów chlorkowych  $\leq 0,1\%$ , zawartość alkaliów  $\leq 1,0\%$ ). Również wysoki stopień zmielenia spoiwa zdecydował o wprowadzeniu tej domieszki w celu efektywnego zwilżenia ziaren cementu.

Dodatki organiczne odpadowe, jakie użyto do modyfikacji składu referencyjnego kompozytu cementowo-szklanego, to jednofrakcyjne granulaty pozyskane z procesów mielenia, oczyszczania, płukania i frakcjonowania kolb kukurydzy, łupin orzecha włoskiego oraz włókna celulozowe. Odpad w postaci frakcji  $0/250 \mu\text{m}$  granulatu kolb kukurydzy posiadał ostrokrawędziowe ziarna, gęstość właściwą wynoszącą  $0,9 \text{ g/cm}^3$ , ciężar nasypowy równy  $0,7 \text{ g/cm}^3$  oraz twardość w skali Mohsa o wartości 4,5; granulaty łupin orzecha włoskiego frakcji  $2,4/4,0 \text{ mm}$  o gęstości właściwej w zakresie  $1,0-1,2 \text{ g/cm}^3$ , ciężarze nasypowym wynoszącym  $0,7 \text{ g/m}^3$  oraz twardości w skali Mohsa w zakresie 3,0-3,5.

Przykłady zastosowanych odpadowych materiałów organicznych w postaci granulatów mielonych kolb kukurydzy i łupin orzecha włoskiego oraz włókien celulozowych przedstawiono na rysunku 3.

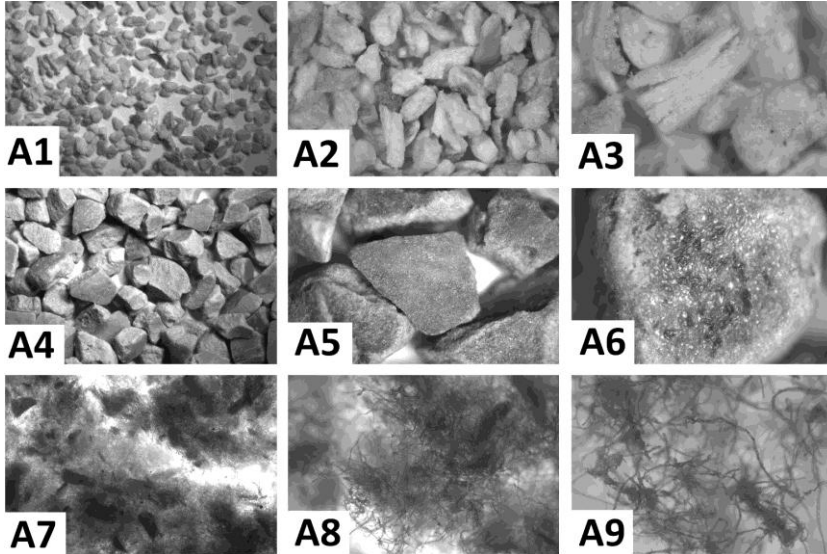
Włókna celulozowe (zawierające pył celulozowy) charakteryzowały się następującymi parametrami: współczynnik przewodzenia ciepła ( $\lambda$ ) w zakresie  $0,039-0,042 \text{ W/m}\cdot\text{K}$ , barwa biała oraz szara, gęstość nasypowa  $20-35 \text{ g/dm}^3$ , długość włókien  $0,9-1,1 \text{ mm}$ , grubość w zakresie  $0,045-0,047 \text{ mm}$  oraz wartość  $\text{pH} = 7,5$ .

#### **4. Metodyka badawcza**

Badania laboratoryjne wytrzymałości mechanicznej próbek stwardniałego kompozytu referencyjnego, jak i modyfikowanych materiałami organicznymi zostały przeprowadzone w zakresie statycznego oddziaływania obciążenia. Procedury badawcze, pielęgnację próbek kompozytowych oraz weryfikację prawidłowości pracy maszyny wytrzymałościowej odniesiono do wymagań normowych wytrzymałości betonu towarowego [21-23].

Klasę konsystencji mieszanki cementowo-szklanej określono metodą opadu stożka pomiarowego. W metodzie tej użyto stalowej formy stożkowej (stożek Abramsa) o dolnej i górnej średnicy podstaw odpowiednio  $200 \text{ mm}$  oraz  $100 \text{ mm}$ , wysokości wynoszącej  $300 \text{ mm}$  z dwoma uchwytnymi [24]. Mieszanek cementowo-szklaną, cemen-

towo-granitową układano trzema warstwami wewnątrz wypoziomowanej formy, każda warstwa grubości 100 mm wewnątrz formy stożkowej wcześniej zwilżonej wodą. Każdą warstwę mieszanki poddawano zagęszczaniu poprzez 25-krotne sztychowanie prętym stalowym normowym o długości 600 mm, średnicy 16 mm (zagęszczanie każdej warstwy mieszanki z 1,0-2,0 cm przenikania pręta do warstwy niższej). Trzecia warstwa mieszanki została wyrównana z rantem formy stożkowej. Czas napełniania, usunięcia stożka Abramsa oraz dokonanie odczytu wartości opadu mieszanki z dokładnością do 1,0 cm ustalono na 140-150 sekund.



Rysunek 3. Przykłady odpadowych granulatów oraz włókien organicznych. A1, A2, A3 – granulát mielonych kolb kukurydzy frakcji 0/250  $\mu\text{m}$  (powiększenie 7x, 20x, 45x), A4, A5, A6 – granulát mielonych łupin orzecha włoskiego frakcji 2,4/4,0 mm (powiększenie 7x, 20x, 45x), A7, A8, A9 – włókna celulozowe długość 0,9-1,1 mm (powiększenie 7x, 20x, 45x) [opracowanie własne]

Zawartość porów powietrznych w mieszance kompozytowej cementowo-szklanej zbadano za pomocą metody ciśnieniowej przy użyciu porozymetru o objętości zarobu wynoszącym 8,0 litrów [25]. Mieszankę kompozytową, po zakończonym etapie mieszania składników, ułożono pięcioma warstwami do pojemnika porozymetru z jednoczesnym zagęszczaniem na stole wibracyjnym (zagęszczanie mechaniczne w czasie 30 sekund). Zagęszczoną mieszankę wyrównano z rantem pojemnika, oczyszczono obrzeża cylindra z nadmiaru mieszanki kompozytowej, zwilżono wodą uszczelkę zapewniającą szczelne połączenie z nadstawką górną urządzenia ciśnieniowego. Dokonano próby szczelności połączenia w wyniku wprowadzenia wody przez otwarte zawory porozymetru. Odczytano na manometrze wskazania procentowej zawartości powietrza w mieszance.

Podstawowym badaniem, jakie przeprowadzono na próbkach sześciennych po 14 i 28 dniach dojrzewania, było określenie wytrzymałości na ściskanie [26, 27]. Próbki kompozytu cementowo-szklanego zabezpieczono przed uszkodzeniami mechanicznymi oraz oddziaływaniem wibracji, dojrzewanie odbywało się w stałej temperaturze otoczenia  $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  w wypełnionej wodą paletoskrzyni wyposażonej w termostat zapewniający stabilne warunki pielęgnacji próbek (cyrkulacja wody o temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$ ). Przed roz-

poczęciem procedury badania stwardniałego kompozytu przeprowadzono weryfikację prawidłowości pracy maszyny wytrzymałościowej dla zakresu obciążenia do 5000 kN (maszyna typu Testing 5000 kN wraz z zestawem trawers do badania wytrzymałości na zginanie próbek belkowych wielkowymiarowych, klasa dokładności 1 maszyny z hydraulicznym układem pracy tłoka) oraz sprawdzono dokładność wykonania próbek (usunięcie zaczynu cementowego z powierzchni wraz ze szlifowaniem, kontrola dopuszczalnych odchyłek wymiarowych próbek oraz masy). Przed etapem ściskania, próbki zostały umieszczone i wycelowane w pionowej przestrzeni roboczej tłoka maszyny wytrzymałościowej. Powierzchnia górna oraz dolna próbki sześcienniej została dodatkowo zabezpieczona płytami pilśniowymi grubości 3,2 mm ograniczającymi wpływ negatywnego oddziaływania sił tarcia. Badanie przeprowadzono z prędkością przyrostu naprężeń w czasie wynoszących 0,5 MPa/s (wartość jednostajnego przyrostu obciążenia równego 112,5 kN przypadającego na 225 cm<sup>2</sup> powierzchni próbki w czasie 1 sekundy). Zastosowano obciążenie wstępne wynoszące 5,0% wartości projektowanej wytrzymałości na ściskanie a następnie rozpoczęto etap ściskania do zniszczenia próbki. Określono prawidłowość oraz przyjętą formę zniszczenia próbki sześcienniej (rysy pionowe wraz z wykruszeniami oraz odpryskami bocznymi, zniszczenie w kształcie przeciwnie skierowanych połączonych wspólnym wierzchołkiem dwóch ostrosłupów). Zarejestrowano maksymalną wartość siły niszczącej oraz wyznaczono wartość wytrzymałości na ściskanie ( $f_{c,cube}$ ) dla każdej próbki poddanej statycznej próbie ściskania.

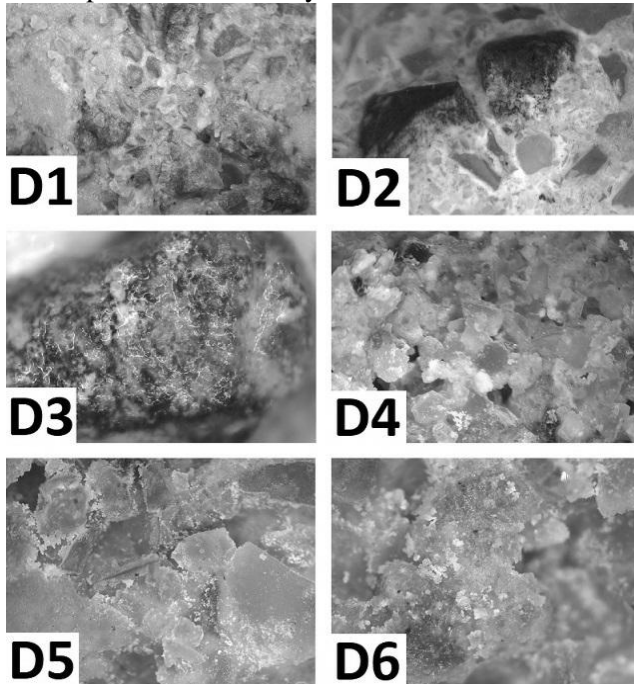
Próbki sześciennie 150x150x150 mm poddano badaniu określającemu wytrzymałość na rozciąganie, tzw. próba brazylijska [28]. Próba statycznego rozłupywania została przeprowadzona w specjalistycznej przystawce stalowej stanowiącej wyposażenie pionowej przestrzeni roboczej maszyny wytrzymałościowej typu Testing 5000 kN. Przygotowana próbka sześcienna (zweryfikowana pod kątem poprawności wymiarów oraz jakości powierzchni, szlifowanie nadlewów kompozytu, kontrola masy próbki) została zamocowana oraz wycelowana względem osi pionowej przystawki rozłupującej (dokonano regulacji wysokości położenia sprężyn zapewniających poziome ustawienie górnej części przystawki do rozłupywania). Zastosowano przekładki wykonane z płyty pilśniowej grubości 3,2 mm dla górnej oraz dolnej powierzchni próbki (pasma górne oraz dolne płyty pilśniowej bezpośrednio pod powierzchniami cylindrycznymi generującymi obciążenie liniowe). Wartość przyrostu obciążenia liniowego ustalono na 0,5 kN/s do momentu zniszczenia próbki (forma zniszczenia w postaci pojedynczej rysy pionowej powstałej w wyniku płaszczyzny oddziaływania naprężeń rozciągających). Na podstawie zarejestrowanych wartości sił niszczących określono wytrzymałość na rozciąganie ( $f_{ct}$ ) próbek kompozytu cementowo-szklanego referencyjnego oraz modyfikowanego granulatami mielonych kolb kukurydzy i łupin orzecha włoskiego oraz włóknami celulozowymi.

Statyczną próbę statycznego trzypunktowego zginania przeprowadzono na próbkach belkowych 40x40x160 mm za pomocą maszyny wytrzymałościowej ZDM-10 z napędem mechanicznym wyposażonej w przystawkę w formie trawersy do trzypunktowego oraz czteropunktowego zginania próbek belkowych [29]. Badaniom podlegały próbki kompozytowe po 14 i 28 dniach dojrzewania w warunkach normowych. Przed rozpoczęciem etapu zginania dokonano weryfikacji kształtu i wymiarów przekroju i długości całkowitej belek, usunięto zaczyn cementowy z powierzchni próbek. Osioły rozstaw podpór z rolkami umożliwiającymi swobodny kąt obrotu

ustalono na 120 mm a siłę skupioną przyłożono w połowie rozpiętości przęsła. Przyjęto model belki jednoprzęsłowej, swobodnie podpartej statycznie, wyznaczalnej dla trzypunktowego zginania pojedynczą siłą skupioną, zakończonej rolką obrotową. Zastosowano sterowanie wartością prędkości przemieszczenia w czasie wynoszące 5 mm/min. Na podstawie zarejestrowanej siły niszczonej określono wartość wytrzymałości na rozciąganie ( $f_{ct2}$ ) dla statycznej próby trzypunktowego ściskania próbek kompozytowych. Wszystkie badane próbki charakteryzowały się prawidłową formą zniszczenia w postaci pojedynczej rysy pionowej propagującej w miejscu przyłożenia siły skupionej.

Zakończona statyczna próba zginania trzypunktowego próbek belkowych 40x40x160 mm umożliwiła wykonanie badania określającego wytrzymałość na ściskanie ( $f_c$ ) próbek połówek belkowych 40x40x80 mm. Próbki zostały zamocowane w specjalistycznej przystawce wyposażonej w górną oraz dolną płytkę ściskającą, każda o powierzchni 1600 mm<sup>2</sup>. Dokonano weryfikacji odchyłek wymiarowych wszystkich próbek połówek belek. Badanie statycznej próby ściskania przeprowadzono za pomocą maszyny wytrzymałościowej typu Testing 5000 kN wraz z przystawką do określania wytrzymałości na ściskanie (przystawka dwukolumnowa z górną ruchomą powierzchnią generującą obciążenie). Prędkość przyrostu siły w czasie ustalono na 0,5 kN/s do momentu zniszczenia próbki. Na podstawie zarejestrowanej wartości siły niszczonej (odczyt wartości maksymalnej siły) wyznaczono wytrzymałość na ściskanie dla próbek połówek belek kompozytowych.

Przykłady przełomów próbek kompozytowych cementowo-szklanych badanych po 28 dniach dojrzewania przedstawiono na rysunku 4.



Rysunek 4. Przełomy próbek belkowych oraz sześciennych. D1, D2, D3 – przełomy próbek sześciennych oraz belkowych wraz z granulem frakcji 2,4/4,0 mm łupin orzecha włoskiego (powiększenie 7x, 10x, 45x); D4, D5, D6 – przełomy próbek sześciennych oraz belkowych wraz z granulem frakcji 0/250  $\mu$ m mielonych kolb kukurydzy (powiększenie 7x, 10x, 45x) [opracowanie własne]

Parametry cieplne kompozytu cementowo-szklanego, cementowo-granitowego referencyjnego oraz modyfikowanego materiałami organicznymi, zostały zbadane metodą niestacjonarną (nieustalony strumień cieplny) za pomocą przenośnego zestawu złożonego z sady powierzchniowej typu IPS 1100 dla materiałów twardych, połączonej z urządzeniem pomiarowym rejestrującym typu Isomet 2114 [30-32]. Podstawowe parametry cieplne jakie określono, to współczynnik przewodzenia ciepła ( $\lambda$ ), ciepło właściwe materiału ( $cp$ ) oraz dyfuzyjność cieplna ( $a$ ). Zakres pomiarowy parametrów cieplnych rejestratora Isomet 2114 określono na  $0,3 \div 2,0$  W/m·K (pomiarzy prowadzone w warunkach środowiskowych w pracowni to  $22,0^{\circ}\text{C}$  oraz wilgotność względna powietrza 48,0%). Próbkę przed badaniem zostały poddane suszeniu do stałej masy w suszarce laboratoryjnej. Wszystkie próbki sześciennie  $150 \times 150 \times 150$  mm podlegające badaniu (powierzchnie bez obecności porów powietrznych oraz odsłoniętych ziaren granulatu, unikanie miejsc wykruszonego zaczynu cementowego) spełniały warunek minimalnej grubości materiału wynoszący 60 mm (badanie stwardniałych próbek sondą powierzchniową w kierunku równoległym oraz prostopadłym układania trzech warstw mieszanki o grubości 50 mm w formie poliuretanowej). Całkowity czas trwania pojedynczego badania określającego wszystkie parametry cieplne materiału kompozytowego wraz z odczytaniem wyników obejmował zakres 25-35 minut.

## **5. Analiza wyników**

Serie badanych próbek w zakresie wytrzymałości mechanicznej oraz reologicznych określono następującymi oznaczeniami: Ref-p1 do Ref-p3 – próbki referencyjne wykonane jako kompozyt cementowo-szklany bez modyfikacji dodatkami organicznymi, Ref-p4 do Ref-p7 – próbki referencyjne wykonane jako kompozyt betonowy bez modyfikacji dodatkami organicznymi, Mod1-p1 do Mod1-p3 – serie próbek modyfikowanych dodatkiem granulatu łupin orzecha włoskiego frakcji 2,4/4,0 mm w ilości 5,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod1-p4 do Mod1-p7 – serie próbek betonowych modyfikowanych dodatkiem granulatu łupin orzecha włoskiego frakcji 2,4/4,0 mm w ilości 5,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; próbki serii Mod2-p1 do Mod2-p3 – modyfikowane w składzie granulatem łupin orzecha włoskiego frakcji 2,4/4,0 mm w ilości 7,5% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; próbki betonowe serii Mod2-p4 do Mod2-p7 – modyfikowane w składzie granulatem łupin orzecha włoskiego frakcji 2,4/4,0 mm w ilości 7,5% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod3-p1 do Mod3-p3 – seria próbek kompozytu cementowo-szklanego modyfikowanego dodatkiem granulatu kolb kukurydzy frakcji  $0/250$   $\mu\text{m}$  w ilości 5,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod3-p4 do Mod3-p7 – seria próbek betonowych modyfikowanych dodatkiem granulatu kolb kukurydzy frakcji  $0/250$   $\mu\text{m}$  w ilości 5,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod4-p1 do Mod4-p3 – seria próbek kompozytu cementowo-szklanego modyfikowanego dodatkiem granulatu kolb kukurydzy frakcji  $0/250$   $\mu\text{m}$  w ilości 7,5% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod4-p4 do Mod4-p7 – seria próbek betonowych modyfikowanych dodatkiem granulatu kolb kukurydzy frakcji  $0/250$   $\mu\text{m}$  w ilości 7,5% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; seria próbek Mod5-p1 do Mod5-p3 – modyfikowane domieszką włókiem celulozowych długości 0,9-1,1 mm w ilości 2,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego oraz seria próbek betonowych Mod5-p4 do Mod5-p7 – modyfikowane domieszką włókiem celulozowych długości 0,9-1,1 mm w ilości 2,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego. Próbki betonowe zostały

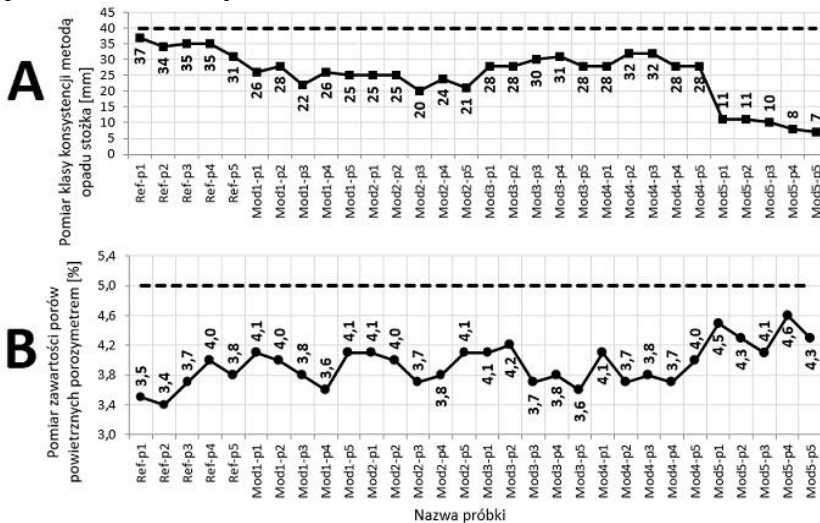


wykonane ze spoiwa cementowego, kruszywa łamanego w postaci grupy frakcji 0/4,0 mm granitu płukanego oraz domieszek chemicznych płynnych jak dla kompozytu cementowo-szklanego.

Klasę konsystencji mieszanki cementowo-szklanej, cementowo-granitowej referencyjnej oraz modyfikacji materiałowych granulata organicznymi określono metodą opadu stożka pomiarowego. Wszystkie badane próbki uzyskały klasę konsystencji S1. Seria próbek Ref-p1 do Ref-p7 wykazała wartość opadu w przedziale 31-37 mm (średnia wartość opadu stożka wyniosła 34 mm), próbki modyfikowane dodatkiem granulatu kolb kukurydzy w ilości 5,0% oraz 7,5% zaprojektowanej masy cementu uzyskały odpowiednio wartość opadu w przedziale 22-28 mm (seria próbek Mod1-p1 do Mod1-p7, średnia wartość opadu stożka wyniosła 25 mm) oraz 20-25 mm dla próbek serii Mod2-p1 do Mod2-p7 ze średnią wartością opady stożka równą 23 mm. Wartości opadów w zakresach 28-31 mm oraz 2-31 mm uzyskały odpowiednio serie próbek Mod3-p1 do Mod3-p7 oraz Mod4-p1 do Mod4-p7. Najmniejszą wartość opadu stożka pomiarowego ustalono dla próbek modyfikowanych domieszką włókien celulozowych w zakresie 7-11 mm (seria próbek Mod5-p1 do Mod5-p7 ze średnią wartością opadu stożka wynoszącą 9,0 mm).

Zawartość porów powietrznych dla mieszanki kompozytu cementowo-szklanego, cementowo-granitowej referencyjnej oraz modyfikowanego dodatkiem granulatu organicznych określono za pomocą badania porozymetrem. Zakres napowietrzenia dla próbek mieszanki referencyjnej (seria Ref-p1 do Ref-p7) ustalono na 3,4÷4,0%. Próbki serii Mod1-p1 do Mod1-p7 oraz Mod2-p1 do Mod2-p7 uzyskały odpowiednio zakresy napowietrzenia wynoszące 3,6-4,1% oraz 3,7-4,1%; seria próbek Mod3-p1 do Mod3-p7 oraz Mod4-p1 do Mod4-p7 uzyskały odpowiednio zakresy napowietrzenia 3,6-4,2% oraz 3,7-4,1%; przedział napowietrzenia dla serii próbek Mod5-p1 do Mod5-p7 ustalono na 4,1-4,6%.

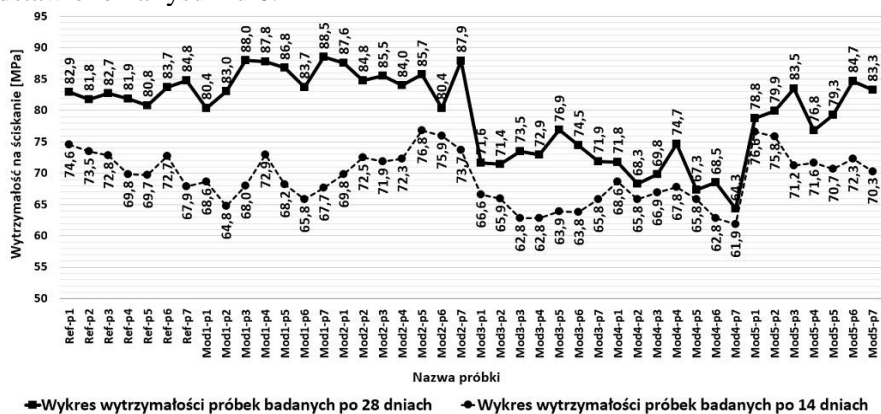
Wyniki badań zawartości porów powietrznych oraz wartości opadu stożka pomiarowego przedstawiono na rysunku 5.



Rysunek 5. Właściwości mieszanki cementowo-szklanej, cementowo-granitowej referencyjnej oraz modyfikowanej materiałami odpadowymi organicznymi. A – wartość opadu stożka pomiarowego, B – zawartość procentowa porów powietrznych [opracowanie własne]

Wartości wytrzymałości na ściskanie próbek sześciennych 150x150x150 mm określono po upływie 14 i 28 dni dojrzewania kompozytu w odniesieniu do procedur badawczych zgodnie z normą dotyczącą badania wytrzymałości próbek betonowych. Próbki referencyjne kompozytu cementowo-szklanego, cementowo-granitowe uzyskały średnią wartość wytrzymałości równą 82,7 MPa określoną po upływie 28 dni dojrzewania (seria próbek Ref-p1 do Ref-p7). Próbki serii Mod1-p1 do Mod1-p7, tj. modyfikowane dodatkiem granulatu łupin orzecha włoskiego uzyskały średnią wytrzymałość wynoszącą 85,5 MPa co stanowiło przyrost wytrzymałości o 3,0%, próbki serii Mod2-p1 do Mod2-p7 uzyskały średnią wartość wytrzymałości 85,1 MPa (wzrost wytrzymałości o 3,0% w odniesieniu do serii próbek Ref-p1 do Ref-p7). Spadek wytrzymałości na ściskanie wykazały wszystkie pozostałe modyfikacje próbek referencyjnych materiałami odpadowymi w postaci granulatu kolb kukurydzy oraz włókien celulozowych. Największą wartość spadku wytrzymałości wynoszącą 16,0% ustalono dla próbek serii Mod4-p1 do Mod4-p7 (średnią wartość wytrzymałości ustalono 69,2 MPa). Seria próbek Mod3-p1 do Mod3-p7 uzyskała średnią wartość wytrzymałości na ściskanie wynoszącą 73,2 MPa (spadek wytrzymałości o 11,0%), seria próbek kompozytu cementowo-szklanego modyfikowanego dodatkiem włókien celulozowych Mod5-p1 do Mod5-p7 wykazała spadek średniej wartości wytrzymałości o 2,0%. Podobne zależności spadków oraz wzrostów średniej wartości wytrzymałości na ściskanie ustalono dla próbek badanych po upływie 14 dni dojrzewania kompozytu cementowo-szklanego modyfikowanego granulataami oraz włóknami organicznymi. Wartości przyrostu wytrzymałości na ściskanie próbek sześciennych określono w zakresie 1,5-20,8 MPa między 14 i 28 dniem dojrzewania kompozytu.

Wyniki badań wytrzymałości na ściskanie określonej po 14 i 28 dniach dojrzewania przedstawiono na rysunku 6.

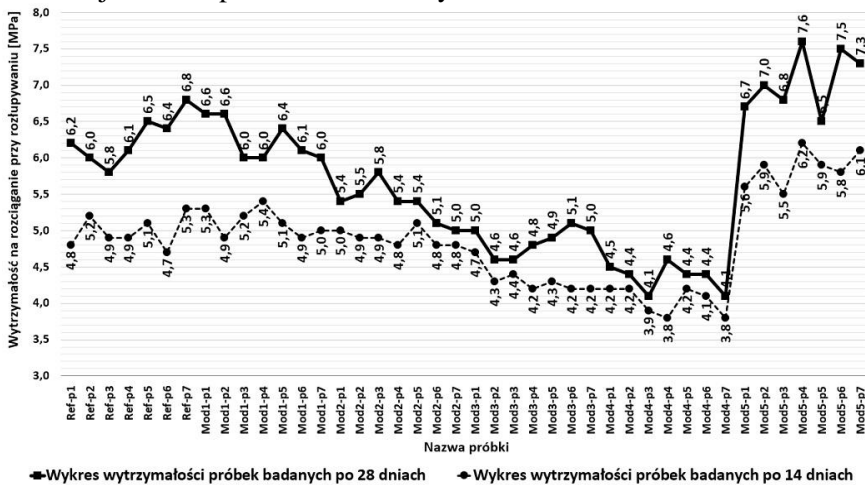


Rysunek 6. Wyniki badań próbek 150x150x150 mm określające wytrzymałość na ściskanie [opracowanie własne]

Wytrzymałość na rozciąganie przy rozłupywaniu (metoda brazylijska) została określona dla próbek sześciennych o wymiarach 150x150x150 mm po 14 i 28 dniach dojrzewania kompozytu cementowo-szklanego oraz cementowo-granitowego. Średnią wartość wytrzymałości na rozciąganie przy rozłupywaniu dla próbek referencyjnych ustalono na 6,3 MPa (seria próbek Ref-p1 do Ref-p7). Próbki serii Mod1-p1 do Mod1-p7

uzyskały średnią wartość wytrzymałości na rozciąganie równą 6,2 MPa (2,0% spadek średniej wartości wytrzymałości oscylujący w granicach błędu pomiarowego maszyny wytrzymałościowej), wartości wytrzymałości dla serii Mod2-p1 do Mod2-p7 określono na 5,4 MPa co stanowiło spadek o 14,0% względem serii próbek Ref-p1 do Ref-p7. Najmniejszą średnią wartość wytrzymałości na rozciąganie przy rozłupywaniu ustalono dla serii próbek Mod4-p1 do Mod4-p7 wynoszącą 4,4 MPa (spadek wytrzymałości na rozciąganie wynoszący 30,0% względem serii referencyjnej Ref-p1 do Ref-p7), seria próbek Mod3-p1 do Mod3-p7 uzyskała średnią wartość wytrzymałości określoną na 4,9 MPa (spadek średniej wartości wytrzymałości na rozciąganie o 22,0%). Wzrost średniej wartości wytrzymałości na rozciąganie odnotowano dla próbek serii Mod5-p1 do Mod5-p7 wynoszący 7,1 MPa co stanowiło przyrost wartości wytrzymałości o 0,8 MPa względem serii próbek Ref-p1 do Ref-p7 (przyrost wytrzymałości o 13,0%). Na podstawie przeprowadzonych badań wytrzymałości na rozciąganie przy zginaniu po 14 dniach na próbkach sześciennych, największą wartość wytrzymałości wykazały próbki serii Mod5-p1 do Mod5-p7 wynoszącą średnio 5,9 MPa (przyrost wartości wytrzymałości o 18,0% względem serii próbek referencyjnych Ref-p1 do Ref-p7 oraz o 47,5% przyrostu wartości wytrzymałości na rozciąganie w odniesieniu do serii próbek Mod4-p1 do Mod4-p7 modyfikowanych granulatem kolb kukurydzy).

Wyniki badań wytrzymałości na rozciąganie przy rozłupywaniu określonej po 14 i 28 dniach dojrzewania przedstawiono na rysunku 7.

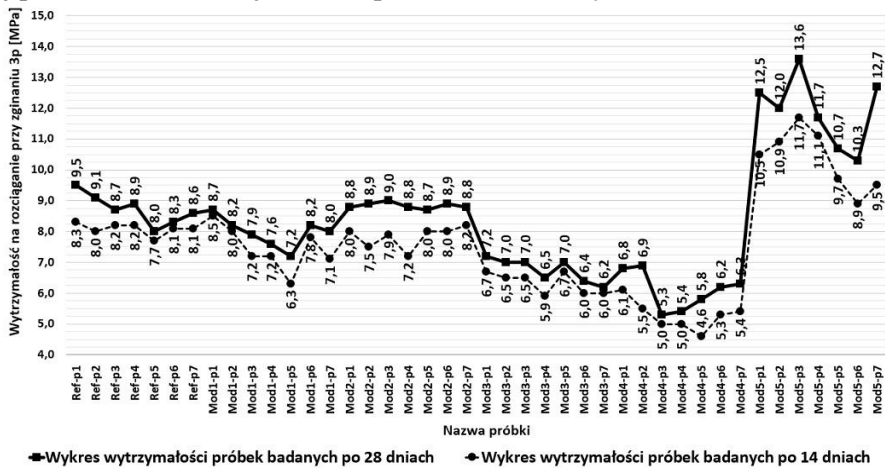


Rysunek 7. Wyniki badań próbek 150x150x150 mm określające wytrzymałość na rozciąganie przy rozłupywaniu (metoda brazylijska) [opracowanie własne]

Próbki belkowe kompozytowe o wymiarach 40x40x160 mm zostały poddane statycznej próbie zginania trzypunktowego określającego średnią wartość wytrzymałości na rozciąganie. Seria próbek referencyjnych Ref-p1 do Ref-p7, badanych po 14 dniach dojrzewania, uzyskała średnią wartość wytrzymałości równą 8,1 MPa a po 28 dniach dojrzewania wyniosła 8,7 MPa (przyrost średniej wartości wytrzymałości o 7,0%). Próbki kompozytowe modyfikowane dodatkiem granulatu łupin orzecha włoskiego uzyskały odpowiednio wartości wytrzymałości na rozciąganie 8,0 MPa po 28 dniach dojrzewania; 7,4 MPa po 14 dniach dojrzewania (seria próbek Mod1-p1 do Mod1-p7; przyrost średniej wartości wytrzymałości o 8,0%) oraz 8,8 MPa po

28 dniach dojrzewania; 7,8 MPa po 14 dniach dojrzewania (seria próbek Mod2-p1 do Mod2-p7; przyrost średniej wartości wytrzymałości o 11,0%). Największą średnią wartość wytrzymałości uzyskała seria próbek Mod5-p1 do Mod5-p7 wynoszącą 11,9 MPa co stanowiło wzrost wytrzymałości o 37,0% względem serii Ref-p1 do Ref-p7 po 28 dniach dojrzewania próbek kompozytowych. Najmniejszą średnią wartość wytrzymałości na rozciąganie, zarówno po 14 jak i 28 dniach dojrzewania, uzyskały próbki serii Mod4-p1 do Mod4-p7 wynoszącą odpowiednio 6,1 MPa oraz 5,3 MPa. Próbki serii Mod3-p1 do Mod3-p7 uzyskały średnią wartość wytrzymałości równą odpowiednio 6,8 MPa oraz 6,3 MPa co stanowiło przyrost wytrzymałości o 7,0% między 14 dniowym okresem badań próbek belkowych.

Wyniki badań wytrzymałości na rozciąganie przy zginaniu trzypunktowym określonej po 14 i 28 dniach dojrzewania przedstawiono na rysunku 8.

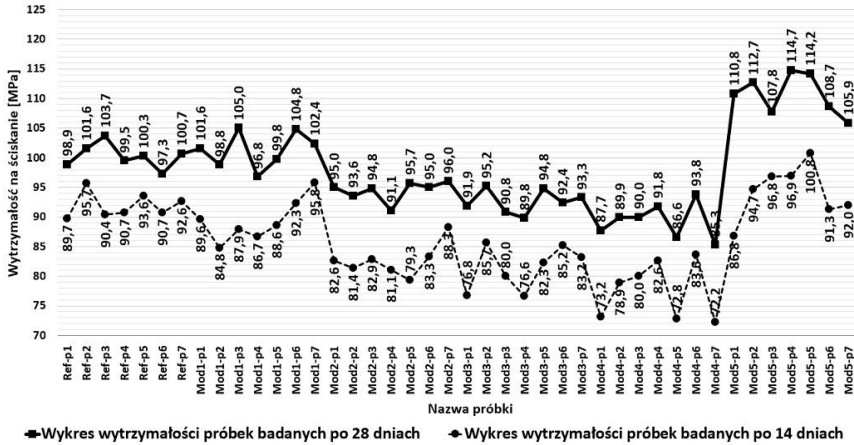


Rysunek 8. Wyniki badań próbek 40x40x160 mm określające wytrzymałość na rozciąganie przy zginaniu trzypunktowym [opracowanie własne]

Półowki próbek belkowych 40x40x160 mm zostały poddane statycznej próbie ściskania. Średnia wartość wytrzymałości na ściskanie próbek serii Ref-p1 do Ref-p7 wyniosła 91,9 MPa po upływie 14 dni dojrzewania kompozytu oraz 100,3 MPa po 28 dniach dojrzewania. Najmniejszą średnią wartość wytrzymałości na ściskanie uzyskały próbki serii Mod3-p1 do Mod3-p7 (92,6 MPa po 28 dniach dojrzewania, spadek wytrzymałości o 8,0%) oraz Mod4-p1 do Mod4-p7 (89,3 MPa po 14 dniach dojrzewania, spadek wytrzymałości o 11,0%). Największą średnią wartość wytrzymałości ustalono dla próbek modyfikowanych włóknami celulozowymi (seria próbek Mod5-p1 do Mod5-p7), średnia wartość wytrzymałości po 14 i 28 dniach dojrzewania wyniosła 94,2 MPa oraz 110,7 MPa (odpowiednio wzrost wytrzymałości na ściskanie o 3,0% oraz 10,0% względem próbek serii Ref-p1 do Ref-p7). Seria próbek Mod1-p1 do Mod1-p7 uzyskała średnią wartość wytrzymałości równą 89,4 MPa oraz 101,3 MPa (odpowiednio spadek wytrzymałości o 3,0% oraz wzrost wytrzymałości o 1,0% względem próbek serii Ref-p1 do Ref-p7). Dodatek granulatu kolb kukurydzy w ilości 7,5% zaprojektowanego spoiwa cementowego wpłynął na spadek wytrzymałości na ściskanie badanej serii próbek Mod2-p1 do Mod2-p7 o 6,0% (średnia wartość wytrzymałości na ściskanie wyniosła 94,5 MPa, próbki badane po 28 dniach dojrzewania)

oraz o 10,0% dla próbek badanych po 14 dniach dojrzewania kompozytu (średnia wartość wytrzymałości na ściskanie wyniosła 82,7 MPa).

Wyniki badań wytrzymałości na ściskanie określonej po 14 i 28 dniach dojrzewania przedstawiono na rysunku 9.



Rysunek 9. Wyniki badań próbek 40x40x80 mm określające wytrzymałość na ściskanie [opracowanie własne]

Jako dodatkowe badanie w zakresie właściwości cieplnych materiału, wykonano pomiary określające parametry cieplne próbek kompozytowych cementowo-szklanych referencyjnych oraz modyfikowanych dodatkami organicznymi określono na podstawie pomiarów sondą powierzchniową próbek sześciennych 150x150x150 mm.

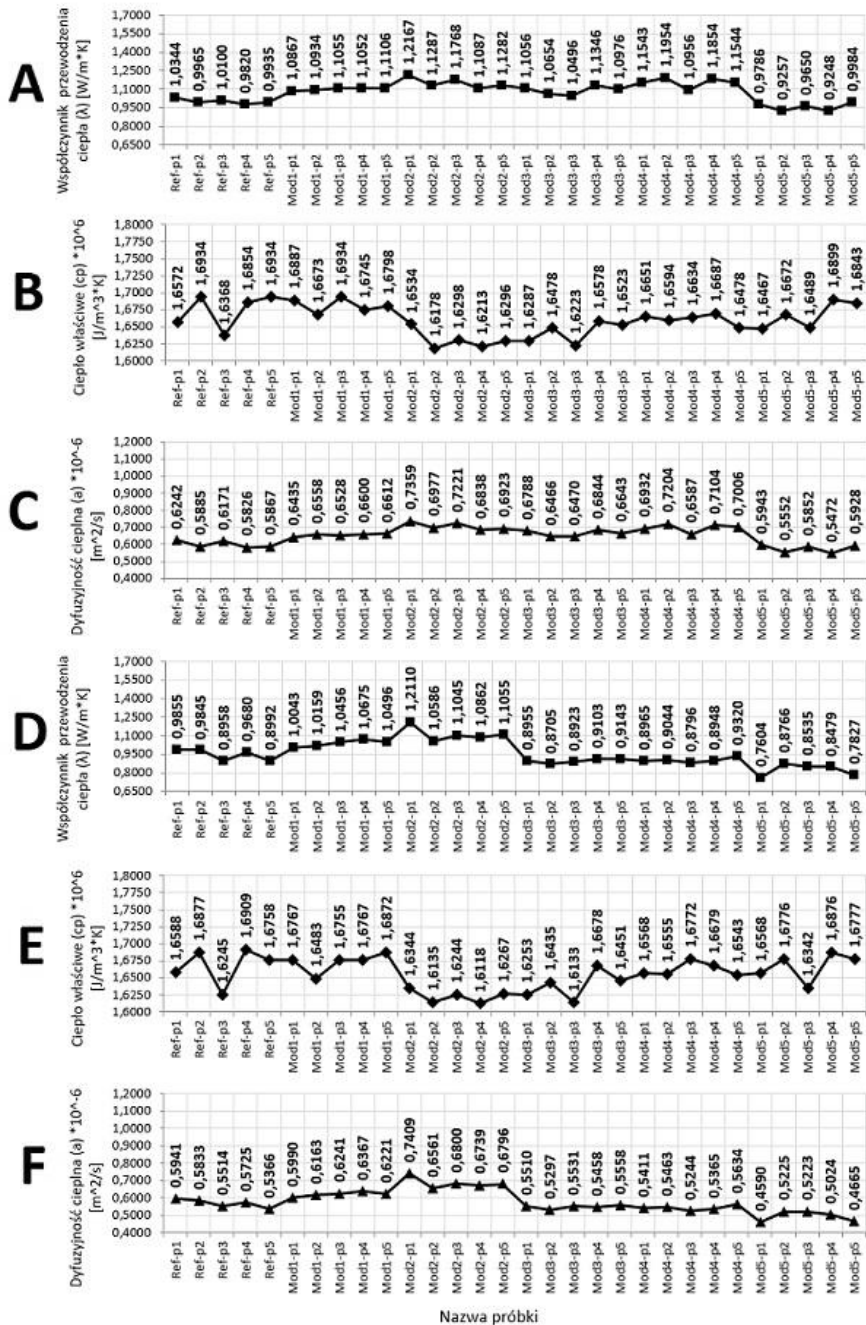
Serie badanych próbek w zakresie właściwości cieplnych określono następującymi oznaczeniami: Ref-p1 do Ref-p5 – próbki referencyjne wykonane jako kompozyt cementowo-szklany bez modyfikacji dodatkami organicznymi, Mod1-p1 do Mod1-p5 – serie próbek modyfikowanych dodatkiem granulatu łupin orzecha włoskiego frakcji 2,4/4,0 mm w ilości 5,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod2-p1 do Mod2-p5 – próbki modyfikowane w składzie granulatem łupin orzecha włoskiego frakcji 2,4/4,0 mm w ilości 7,5% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod3-p1 do Mod3-p5 – próbki kompozytu cementowo-szklanego modyfikowanego dodatkiem granulatu kolb kukurydzy frakcji 0/250  $\mu\text{m}$  w ilości 5,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod4-p1 do Mod4-p5 – próbki kompozytu cementowo-szklanego modyfikowanego dodatkiem granulatu kolb kukurydzy frakcji 0/250  $\mu\text{m}$  w ilości 7,5% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego; Mod5-p1 do Mod5-p5 – próbki modyfikowane domieszką włókiem celulozowych długości 0,9-1,1 mm w ilości 2,0% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego.

Dokonano pomiaru wartości współczynnika przewodzenia ciepła ( $\lambda$ ), ciepła właściwego ( $c_p$ ) oraz współczynnika dyfuzyjności cieplnej ( $a$ ) po 14 i 28 dniach dojrzewania próbek. Próbki referencyjne (seria Ref-p1 do Ref-p5) uzyskały średnią wartość współczynnika ( $\lambda$ ) równą 0,9466 W/m $\cdot$ K (badane po 28 dniach dojrzewania) oraz 1,0033 W/m $\cdot$ K (badane po 14 dniach dojrzewania). Średnią wartość ciepła właściwego ( $c_p$ ) dla serii próbek Ref-p1 do Ref-p5 po 14 i 28 dniach dojrzewania kompozytu ustalono odpowiednio na 1,6675 $\cdot$ 10<sup>6</sup> J/m<sup>3</sup> $\cdot$ K oraz 1,6732 $\cdot$ 10<sup>6</sup> J/m<sup>3</sup> $\cdot$ K, średnią wartość

*Wpływ dodatku odpadowych granulowanych lupin orzecha oraz kolb kukurydzy  
na właściwości mechaniczne kompozytów cementowych i betonów*

dyfuzyjności cieplnej ( $\alpha$ ) dla próbek referencyjnych określono na  $0,5676 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$  (po 28 dniach dojrzewania próbek) oraz  $0,5998 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$  (po 14 dniach dojrzewania próbek).

Wyniki badań parametrów cieplnych kompozytu cementowo-szklanego referencyjnego oraz jego modyfikacji materiałowych przedstawiono na rysunku 10.



Rysunek 10. Wyniki badań na próbkach 150x150x150 mm. A, B, C – wartości ( $\lambda$ ,  $c_p$ ,  $\alpha$ ) po 14 dniach dojrzewania kompozytu; D, E, F – wartości ( $\lambda$ ,  $c_p$ ,  $\alpha$ ) po 28 dniach dojrzewania kompozytu [opracowanie własne]

Najniższą średnią wartość ( $\lambda$ ) ustalono dla serii próbek Mod5-p1 do Mod5-p5 (modyfikowane domieszką włókien celulozowych) równą 0,8242 W/m·K oraz 0,9585 W/m·K, średnia wartość ( $cp$ ) po 14 i 28 dniach dojrzewania próbek równa odpowiednio  $1,6674 \cdot 10^6$  J/m<sup>3</sup>·K oraz  $1,6668 \cdot 10^6$  J/m<sup>3</sup>·K, średnia wartość dyfuzyjności cieplnej ( $a$ ) badana po 14 i 28 dniach dojrzewania próbek równa odpowiednio  $0,5750 \cdot 10^{-6}$  m<sup>2</sup>/s oraz  $0,4945 \cdot 10^{-6}$  m<sup>2</sup>/s.

## 6. Podsumowanie

Dodatek w postaci granulatu kolb kukurydzy wpłynął na zwiększenie wodożądności stosu okrucowego (znaczna nasiąkliwość oraz złożona, rozbudowana powierzchnia właściwa ziaren kukurydzy) co powodowało konieczność zastosowania domieszki chemicznej, silnie upłynniającej, na bazie wodnego roztworu modyfikowanych polimerów. Modyfikacja dodatkiem granulowanych łupin orzecha włoskiego nie wpłynęła w istotny sposób na wzrost wodożądności mieszanki, jednocześnie ograniczono dozowanie domieszki chemicznej o około 30,0% względem mieszanek modyfikowanych dodatkiem granulatu mielonych kolb kukurydzy. Największą wartość wodożądności określono dla mieszanek kompozytowych modyfikowanych domieszką włókien celulozowych. Mieszanki zawierające w swoim składzie dodatek włókien celulozowych wymagały zastosowania zwiększonego dozowania domieszki chemicznej upłynniającej o około 40,0% względem mieszanek referencyjnych. Kierując się zasadą minimalnego (zalecanego optymalnego) dozowania domieszek chemicznych w składzie receptur mieszanek kompozytowych, najkorzystniejszym rozwiązaniem jest modyfikacja składu referencyjnego dodatkiem granulatu mielonych łupin orzecha włoskiego lub kolb kukurydzy.

Przeprowadzone badania laboratoryjne w zakresie wytrzymałości mechanicznej wykazały nieznaczny wzrost wytrzymałości dla próbek modyfikowanych dodatkiem granulatu mielonych łupin orzecha włoskiego. Próbkę sześcienną (modyfikowaną granulatem łupin orzecha włoskiego w ilości 5,0% lub 7,5% zaprojektowanej masy spoiwa cementowego) badane podczas statycznej próby ściskania kompozytu, wykazały wzrost wytrzymałości o 3,0% względem serii próbek referencyjnych (wysoka wytrzymałość ziaren mielonych łupin orzecha włoskiego, zamknięte pory kapilarne pyłem powstałym w technologii kruszenia łupin, rozbudowana powierzchnia właściwa ziaren). Modyfikacje struktury wewnętrznej kompozytu dodatkiem granulatu mielonych kolb kukurydzy wpływały na spadek wytrzymałości na ściskanie w zakresie 8,0-11,0% względem próbek referencyjnych (niska wytrzymałość mechaniczna ziaren granulatu mielonych kolb kukurydzy, wysoka nasiąkliwość, pochłanianie wody niezbędnej w procesie hydratacji, dłuższy czas wiązania i twardnienia kompozytu cementowo-szklanego).

Właściwości cieplne kompozytu cementowo-szklanego uległy poprawie w wyniku zastosowania w składzie dodatku granulatu mielonych łupin orzecha włoskiego lub włókien celulozowych. Najkorzystniejsze parametry cieplne uzyskały próbki kompozytowe z dodatkiem włókien celulozowych, które obniżyły wartość współczynnika przewodzenia ciepła o 13,0% względem próbek referencyjnych (bardzo niska wartość współczynnika ( $\lambda$ ) celulozy w zakresie 0,039-0,042 W/m·K oraz wpływ zwiększonej procentowej zawartości porów powietrznych w strukturze kompozytu). Efektem modyfikacji składu referencyjnego materiałami organicznymi było obniżenie wartości współczynnika przewodzenia ciepła ( $\lambda$ ). Modyfikacja struktury kompozytów cementowo-szklanych włóknami celulozowymi może stanowić korzystne rozwiązanie wpływające na wzrost właściwości cieplnych materiału.

## Literatura

1. Małek M., Jackowski M., Łasica W., Dydek K., Boczkowska A., *An experimental study of possible post-war ferronickel slag waste disposal in Szklary (Lower Silesian, Poland) as partial aggregate substitute in concrete: characterization of physical, mechanical, and thermal properties*, *Materials*, 14(10), 2552.
2. Małek M., Jackowski M., Łasica W., Kadela M., *Characteristics of recycled polypropylene fibers as an addition to concrete fabrication based on portland cement*, *Materials*, 13(8), 1827.
3. Jackowski M., Małek M., Życiński W., Łasica W., Owczarek M., *Characterization of new recycled polymer shots addition for the mechanical strength of concrete*, *Materiali in tehnologije/Technology and technology*, 54, 2020, 3, s. 355-358.
4. Małek M., Jackowski M., Łasica W., Kadela M., *Influence of polypropylene, glass and steel fiber on the thermal properties of concrete*, *Materials* 2021, 14, 1888.
5. Pinto J., Vieira B., Pereira H., Jacinto C., Vilela P., Paiva A., Pereira S., M.C.F. Cunha V., Varum H., *Corn cob lightweight concrete for non-structural applications*, *Construction and Building Materials*, 34, 2012, s. 346-351.
6. Hamada H.M., Thomas B.S., Tayeh B., Yahaya F.M., Muthusamy K., Yang J., *Use of oil palm shell as an aggregate in cement concrete: A review*, *Construction and Building Materials*, 265, 2020, s. 120357.
7. Tantri A., Nayak G., Kamath M., Shenoy A., K. Shetty K., *Utilization of cashew nut-shell ash as a cementitious material for the development of reclaimed asphalt pavement incorporated self compacting concrete*, *Construction and Building Materials*, Volume 301, 27 September 2021, 124197.
8. Uchoa A.F.J., Rocha W.S., Feitosa J.P.M., Brito D.H.A., Gondim L.M., Ricardo N.M.P.S., Soares J.B., Soares S.A., *Exploiting epoxidized cashew nut shell liquid as a potential bio-additive to improve asphalt binder performance*, *Journal of Cleaner Production*, Volume 314, 10 September 2021, 128061.
9. Aswin M., Nola L., Maranatha E.S., *Study on concrete compressive strength due to the cement substitution partially by corncob ash*, *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, 1122, 2021, 012025.
10. Adebisi O., Taiwo A.M., Julius O.B., Olusola A.E., *Partial replacement of cement with corn cob ash – a review*, *Global Scientific Journals: Volume 7, Issue 11, November 2019*, ISSN 2320-9186.
11. Arici E., Celik E., Kelestemur O., *An analysis of the engineering properties of mortars containing corn cob ash and polypropylene fiber using the Taguchi and Taguchi-based Grey Relational Analysis methods*, *Case Studies in Construction Materials*, 15, 2021, e00625.
12. Oyebisi S., Igba T., Oniyide D., *Performance evaluation of cashew nutshell ash as a binder in concrete production*, *Case Studies in Construction Materials*, 11, 2019, e00293.
13. Zwicky D., *Mechanical properties of organic-based lightweight concretes and their impact on economic and ecological performances*, *Construction and Building Materials*, 245, 2020, 118413.
14. Deja J., *Beton. Technologie i metody badań*, Stowarzyszenie Producentów Cementu, Kraków 2020, ISBN 978-83-61331-34-6.
15. Jamroży Z., *Beton i jego technologie*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2015, ISBN 978-83-01-18210-6.
16. Dondolewski H., Januszewski M., *Betony cementowe. Zagadnienia wybrane*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2008, ISBN 978-83-204-3428-6.
17. Gantner E., Chojczak W., *Materiały budowlane. Spoiwa, kruszywa, zaprawy, betony. Ćwiczenia laboratoryjne*, Oficyna wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2013, ISBN 978-83-7814-020-7.



18. Zieliński K., *Podstawy technologii betonu*, Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, Wydanie IV uzupełnione, Poznań 2015, ISBN 978-83-7775-353-8.
19. Świtoński A., *Użytkowe betony konstrukcyjne. Modele kształtowania struktury i właściwości*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2018, ISBN: 978-83-01-20033-6.
20. Życiński W., Małek M., Jackowski M., Łasica W., Owczarek M., *Study of the workability and mechanical properties of concrete with added ground corncobs*, *Materials in technology / Materials and technology* 54, 2020, 4, s. 479-483.
21. PN-EN 206+A1:2016-12, *Beton – Wymagania, właściwości, produkcja i zgodność*, Polski Komitet Normalizacyjny.
22. PN-B-06265:2018-10, *Beton – Wymagania, właściwości, produkcja i zgodność – Krajowe uzupełnienie PN-EN 206+A1:2016-12*, Polski Komitet Normalizacyjny.
23. PN-EN 12390-2:2019-07, *Badania betonu – Część 2: Wykonywanie i pielęgnacja próbek do badań wytrzymałościowych*, Polski Komitet Normalizacyjny.
24. PN-EN 12350-2:2019-07, *Badania mieszanki betonowej – Część 2: Badanie konsystencji metodą opadu stożka*, Polski Komitet Normalizacyjny.
25. PN-EN 12350-7:2019-08, *Badania mieszanki betonowej – Część 7: Badanie zawartości powietrza – Metody ciśnieniowe*, Polski Komitet Normalizacyjny.
26. PN-EN 12390-3:2019-07, *Badania betonu – Część 3: Wytrzymałość na ściskanie próbek do badań*, Polski Komitet Normalizacyjny.
27. PN-EN 12390-4:2020-03, *Badania betonu – Część 4: Wytrzymałość na ściskanie – Wymagania dla maszyn wytrzymałościowych*, Polski Komitet Normalizacyjny.
28. PN-EN 12390-6:2011, *Badania betonu – Część 6: Wytrzymałość na rozciąganie przy rozłupywaniu próbek do badań*, Polski Komitet Normalizacyjny.
29. PN-EN 12390-5:2019-08, *Badania betonu – Część 5: Wytrzymałość na zginanie próbek do badań*, Polski Komitet Normalizacyjny.
30. IEEE 442-IEEE Guide for Thermal Resistivity Measurements of Soils and Backfill Materials.
31. ASTM D 5334 Standard Test Method for Determination of Thermal Conductivity of Soil and Soft Rock by Thermal Needle Probe Procedure.
32. ASTM D 5930 Standard Test Method for Thermal Conductivity of Plastics by means of Transient Line- Source Technique.

## **Wpływ dodatku odpadowych granulowanych łupin orzecha oraz kolb kukurydzy na właściwości mechaniczne kompozytów cementowych i betonów**

### **Streszczenie**

Tematem prezentacji jest przedstawienie wpływu dodatku granulatów odpadowych pochodzenia roślinnego na właściwości reologiczne, parametry cieplne materiału oraz na wytrzymałość mechaniczną kompozytów cementowych i betonów wysokich wytrzymałości. Jako składniki odpadowe, modyfikujące strukturę wewnętrzną kompozytów, zastosowano granulaty mielonych łupin orzecha włoskiego, kolb kukurydzy oraz włókna celulozowe. Dodatki materiałów odpadowych wykazywały znaczący wpływ na zmianę właściwości reologicznych mieszanek cementowych i betonowych, tj. zmianę klasy konsystencji, urabialności oraz czasu zagęszczania. Granulaty odpadowe wykorzystano jako zamiennik konwencjonalnych kruszyw w składzie kompozytów oraz betonów. Scharakteryzowano składniki odpadowe w postaci granulatów oraz włókien, kruszywo w postaci przetworzonej stłuczki szklanej sodowej wraz z mączką szklaną stanowiące stos okruczowy, spoiwa cementowe, dodatki mineralne o właściwościach pucolanowych w postaci popiołu lotnego krzemionkowego i wapiennego oraz domieszki chemiczne, płynne modyfikujące właściwości mieszanek cementowych i betonowych. Przedstawiono wyniki badań w zakresie wytrzymałości mechanicznej, tj. wytrzymałość na ściskanie, rozciąganie przy zginaniu oraz rozłupywaniu jak również badania w zakresie parametrów cieplnych kompozytów, tj. współczynnik przewodzenia ciepła, dyfuzyjność cieplna oraz ciepło właściwe materiału. Wymieniono korzyści płynące z modyfikacji materiałami odpadowymi struktury wewnętrznej kompozytów cementowych oraz w betonach.

Słowa kluczowe: odpady organiczne, kompozyt, cement, granulaty szklane, recykling

## **Effect of the addition of waste granulated nut shells and corn cobs on the mechanical properties of cement composites and concretes**

### **Abstract**

The theme of the presentation is to present the effect of the addition of waste granules of plant origin on the rheological properties, thermal parameters of the material and on the mechanical strength of cement composites and high strength concretes. As waste constituents modifying the internal structure of composites, granules of ground walnut shells, corn cobs and cellulose fibres were used. The additions of waste materials have had a significant impact on the change in the rheological properties of cement and concrete mixtures, i.e. the change in consistency, working class and compaction time. Waste granules were used as a replacement for conventional aggregates in composites and concrete. Waste constituents in the form of granules and fibres, aggregates in the form of processed sodium glass culleccids together with glass meal constituting a crumb pile, cement binders, mineral additives with pozzolan properties in the form of silica and lime ash and liquid chemical admixtures modifying the properties of cement and concrete mixtures have been characterised. The results of the mechanical strength tests, i.e. compressive strength, bending and split tensile strength, as well as tests on the thermal parameters of the composites, i.e. heat conductivity, thermal diffusion and specific heat of the material were presented. The benefits of modifying the internal structure of cement composites and concretes with waste materials were listed.

Keywords: organic waste, composite, cement, glass granulate, recycling

# Cienkowarstwowa chromatografia cieczowa alkaloidów z zastosowaniem nowego odczynnika wywołującego

## 1. Wprowadzenie

Dzięki rozwojowi techniki oraz wielu metod badawczych w ostatnich dziesięcioleciach, badacze z różnych dziedzin nauki uzyskali dostęp do usprawnionych metod analitycznych. Dla biologów, chemików, biochemików, biotechnologów, przedstawicieli nauk farmaceutycznych i medycznych badanie różnorodnych substancji stało się znacznie prostsze dzięki różnym analizom chromatograficznym. Metodę badawczą jaką jest chromatografia cieczowa LC (kolumnowa) zapoczątkował rosyjski botanik Michaił Cwiet w 1906 roku, kiedy to postanowił rozdzielić mieszaninę barwników roślinnych na kolumnie wypełnionej węglanem wapnia [1]. W kolejnych latach technika ta była rozwijana i doskonalona. W 1941 roku za prace nad chromatografią bibułową Archer Martin i Richard Synge otrzymali nagrodę Nobla. Kolejnym przełomowym zdarzeniem było wynalezienie cienkowarstwowej chromatografii cieczowej przez Stahla w 1956 roku, był on twórcą podstaw teoretycznych i metodycznych tej metody analitycznej.

Wśród metod chromatograficznych cieczowych wyróżnić można chromatografię cieczową LC, chromatografię bibułową PC, chromatografię cienkowarstwową (z normalnym układem faz – adsorpcyjną, z odwróconym układem faz – podziałową i wysokociśnieniową HP-TLC), wysokosprawną chromatografię cieczową HPLC (z normalnym układem faz – adsorpcyjną i podziałową, z odwróconym układem faz – podziałową, jonowymienną, wykluczania przestrzennego SEC, żelową GPC i fluidalną SFC oraz FPLC i UHPLC). W najnowocześniejszych wersjach metody techniki chromatograficzne zostały sprzężone z technikami masowymi czego przykładem jest chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas LC-MS oraz z tandemową spektrometrią mas LC-MS/MS.

Chromatografia cienkowarstwowa w ostatnich dziesięcioleciach stała się dla chemików zajmujących się chemią organiczną i biochemików ważnym narzędziem jako szybka, sprawna, a jednocześnie tania metoda analizy w pracy laboratoryjnej.

Cienkowarstwowa chromatografia cieczowa (TLC) to metoda analityczna komplementarna do wysokosprawnej chromatografii kolumnowej. Do podstawowych zalet chromatografii cienkowarstwowej zaliczyć należy cechy wymienione poniżej:

- detekcja odbywa się na każdym etapie rozwijania chromatogramu;
- pozwala na śledzenie przebiegu reakcji chemicznej, gdyż z jej pomocą można monitorować/obserwować przemianę substratu w produkt/-ty reakcji;
- szybka metoda analityczna pozwalająca na obserwację związków;
- możliwa jest obserwacja stopnia rozdzielania poszczególnych składników mieszaniny na każdym etapie rozdziału;

---

<sup>1</sup>joankur@amu.edu.pl, Zakład Produktów Bioaktywnych, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

- umożliwia oznaczenie obecności/ identyfikację związku lub danej grupy związków w próbce o nieznanym składzie na zasadzie porównania z wzorcami;
- stosowana jest do wstępnego doboru faz dla układów kolumnowych ze względu na małe zużycie rozpuszczalników;
- możliwe jest jednoczesne rozdzielanie kilku różnych próbek;
- w zależności od potrzeb wykonać można elucję jednokierunkową bądź dwukierunkową;
- możliwe jest zatrzymanie procesu rozdziału w każdej chwili;
- zastosowanie próbek bez wcześniejszego oczyszczania;
- wstępne szybkie oszacowanie czy w badanej próbce zawarty jest określony poszukiwany składnik, a na tej podstawie stosować można bardziej kosztowne metody np. HPLC;
- sprawne wykonanie analizy w porównaniu z innymi metodami analitycznymi;
- płytki z obrazem rozdzielonych substancji można przechowywać;
- selektywne zwizualizowanie plamek;
- bardzo ważny jest też czas rozwijania chromatogramu, który jest znacznie krótszy w porównaniu z chromatografią kolumnową [2].

W chemii organicznej do wykonania takiej analizy stosuje się odpowiednio dobrane płytki TLC, eluent (rozpuszczalnik organiczny/nieorganiczny lub mieszaninę rozpuszczalników), a także właściwy dla danych związków sposób detekcji. Gdy rozdzielane substancje są barwne, a ich zabarwienie jest trwałe, wtedy efekt rozdziału na płytce widoczny jest bez konieczności zastosowania dodatkowych działań. Jednak, gdy rozdzielone na płytce TLC związki nie są barwne lub ich zabarwienie jest nietrwałe, wówczas należy zastosować lampę UV lub odpowiednio dobrany odczynnik wywołujący, w wyniku czego następuje uwidocznienie miejsc znajdowania się plamek od poszczególnych składników/związków na płytce TLC.

## **2. Metody chromatograficzne stosowane do analizy alkaloidów**

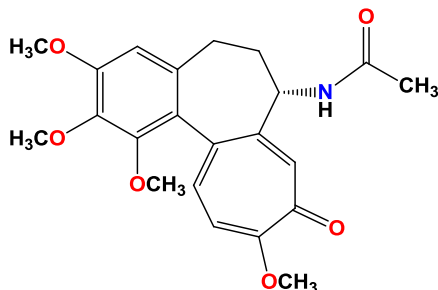
Alkaloidy stanowią bardzo obszerną grupę związków organicznych pochodzenia naturalnego. Ich modyfikacje mogą prowadzić do nowych związków o ciekawych właściwościach biologicznych. W związku z tym, że istnieje wiele różnorodnych grup alkaloidów nie ma jednej uniwersalnej metody na przeprowadzanie analizy TLC.

Do pracy z grupą związków organicznych pochodzenia naturalnego jaką są alkaloidy stosuje się różne metody chromatograficzne jak cienkowarstwowa chromatografia cieczowa TLC [3-5], chromatografia kolumnowa, wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC.

Zastosowanie cienkowarstwowej chromatografii cieczowej TLC do detekcji związków odbywa się następująco:

- przygotowanie badanej próbki poprzez rozpuszczenie w odpowiednim rozpuszczalniku;
- naniesienie roztworu próbki za pomocą kapilary na warstwę chromatograficzną;
- dobranie odpowiedniej fazy;
- rozwinięcie chromatogramu;
- identyfikacja substancji na warstwie chromatograficznej;
- jakościowa i/bądź ilościowa interpretacja chromatogramu [2].

W pracy laboratoryjnej związanej z otrzymywaniem nowych pochodnych alkaloidów istotny jest odpowiedni dobór odczynnika wywołującego do uwidocznienia substratów/produktów na płytkach TLC w czasie prowadzenia reakcji. Jedną z interesujących grup są alkaloidy kolchicynowe. Kolchicyna będąca przedstawicielem grupy alkaloidów kolchicynowych została przedstawiona na rysunku 1.



Rysunek 1. Budowa cząsteczki kolchicyny jako przedstawiciela alkaloidów kolchicynowych [opracowanie własne]

Przez ostatnie lata były rozwijane różne metody chromatograficzne do ilościowego oznaczania kolchicyny lub też pozostałych alkaloidów kolchicynowych [6-8], takie jak: chromatografia HPLC dla kolchicyny oraz produktów hydrolizy i fotodekompozycji [9], HPLC dla oznaczania składników suchych ekstraktów rodzaju *Colchicum* sp. [10, 11] oraz HPLC kolchicyny w płynach biologicznych [12], chromatografia cieczowa [13], chromatografia HP-TLC do oznaczenia kolchicyny w różnych formułach [14], TLC z użyciem densytometru [15]. Połączenie separacji chromatograficznej na warstwie krzemionki i oznaczania densytometrycznego *in situ* wydzielonych związków daje w rezultacie wysoce wydajną, szybką, dokładną i stosunkowo niedrogą metodę, eliminującą ewentualne zakłócenia powodowane przez inne strukturalnie podobne związki.

## 2.1. Cienkowarstwowa chromatografia cieczowa alkaloidów

Alkaloidy, tak jak i inne związki organiczne można identyfikować w nieznanych próbkach, można potwierdzać bądź wykluczać ich obecność w ekstraktach roślinnych, można monitorować przebieg reakcji chemicznej z ich zastosowaniem, a to wszystko dzięki zastosowaniu prostej i szybkiej analizy z wykorzystaniem cienkowarstwowej chromatografii cieczowej TLC.

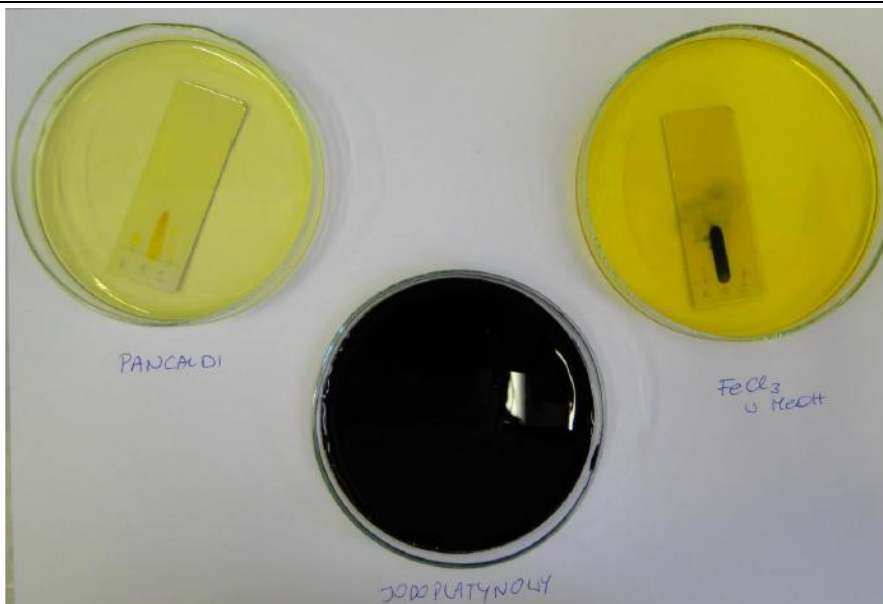
Alkaloidy ze względu na swoje różnorodne właściwości farmakologiczne są obiektem badań naukowców. Jedną z ciekawych grup alkaloidów ze względu na specyficzną budowę cząsteczek, a także działania biologiczne są alkaloidy kolchicynowe. Metody chromatograficzne w ujęciu tej grupy, to przykładowo identyfikacja kolchicyny w farmaceutykach [15], bądź identyfikacja kolchicyny w materiale roślinnym [14].

## 2.2. Odczynniki wywołujące stosowane w analizie TLC alkaloidów

Alkaloidy, choć jako substancje stałe lub czyste ciecze bywa, że odznaczają się zabarwieniem, jednak po przygotowaniu roztworu potrzebnego do wykonania analizy TLC są zasadniczo roztworami bezbarwnymi. Aby w toku analizy TLC móc uwidocznić „plamki” od związków z tej grupy należy zastosować odpowiednio dobrany odczynnik wywołujący.

Do najczęściej stosowanych metod identyfikujących alkaloidy za pomocą analizy TLC zaliczyć można w szczególności niżej wymienione odczynniki:

- odczynnik Dragendorffa – składa się on z wodnego roztworu kwasu octowego zmieszanego z azotanem(V) bizmutu i jodkiem potasu; po zmieszaniu wszystkich składników odczynnika uzyskuje się klarowny pomarańczowy roztwór, który daje reakcje z alkaloidami w postaci pomarańczowego kompleksu na bibule bądź płytkach TLC np. z alkaloidami bis-chinolizydynowymi (np. lupanina, sparteina), chinolizydynowymi (np. cytyzyna i jej pochodne) czy indolowymi (np. gramina). Przy zastosowaniu tego odczynnika zawsze otrzymuje się pomarańczowe zabarwienie plamki pochodzącej od alkaloidu, bez względu na jego rodzaj czy też grupę do której przynależy.
- odczynnik jodoplatynowy – jest wodnym roztworem kwasu chloroplatynowego i jodku potasu, zmieszanych w odpowiednich proporcjach. Po zmieszaniu wszystkich składników odczynnika uzyskuje się brunatny roztwór (rys. 2). Odczynnik ten należy przechowywać w butelkach z ciemnego szkła. Jest bardzo charakterystyczny z tego względu, że za jego pomocą można wykryć wiele alkaloidów, jednak nie wszystkie. W zależności od rodzaju analizowanego alkaloidu pojawia się charakterystyczne zabarwienie zarówno w czasie wywoływania płytki, jak również podczas jej wysychania.
- odczynnik Pancaldi – jest wodnym roztworem molibdenianu amonu  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  i siarczanu(VI) cezu(IV)  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  oraz kwasu siarkowego(VI). 1 g  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  w 100 ml wody z 1g  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  w 100 ml wody i 15 ml stężonego kwasu siarkowego(VI)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Po zmieszaniu wszystkich składników uzyskuje się klarowny roztwór o żółtej barwie (rys. 2) [3]. W praktyce zmieszanie wodnego roztworu  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  z wodnym roztworem  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  powoduje uzyskanie osadu, który rozpuszcza się dopiero po dodaniu (zgodnie z procedurą otrzymania tego odczynnika) kwasu siarkowego(VI). Ponadto sporządzenie porcji odczynnika wg ilości poszczególnych związków podanych w przepisie jest dość kosztowne.
- metanolowy roztwór chlorku żelaza(III) – jest roztworem powstałym poprzez rozpuszczenie 250 mg  $\text{FeCl}_3$  w 10 ml metanolu, co pozwala uzyskać klarowny roztwór o żółtej barwie (rys. 2) [5].
- Odczynnik siarczan(VI) cerowoamonowy stosowany jest między innymi do detekcji farmakologicznie aktywnych alkaloidów jak winblastyna [16].
- pary jodu elementarnego – zastosowanie par jodu do wywoływania płytek (w postaci zamkniętej komory – np. słoika z piaskiem i kryształkami jodu) nie jest korzystne, gdyż pary jodu są szkodliwe, a ponadto efekt wywołania utrzymuje się bardzo krótko (ok. 15 minut), do momentu, aż jod odparuje. Tak otrzymane plamki na płytce TLC od analizowanych związków można jedynie obramować ołówkiem lub wykonać zdjęcie tej płytki.
- wypalanie z użyciem kwasu siarkowego(VI) jest metodą prawie uniwersalną w zastosowaniu do większości związków jednak niezbyt zdrową przy konieczności częstego stosowania.
- lampy w zakresie nadfioletu – dzięki tej metodzie można uzyskać dobre wyniki detekcji, jednak ze względu na cenę nie każde laboratorium jest wyposażone w ten sprzęt.



Rysunek 2. Roztwory poszczególnych reagentów do wywoływania płytek TLC

### 3. Nowy odczynnik $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$ do ujawniania alkaloidów kolchicynowych w toku analizy TLC [17]

Celem pracy było opracowanie odczynnika [17], który efektywnie oddziaływałby z alkaloidami kolchicynowymi, gdyż alkaloidy kolchicynowe, których przedstawicielem jest kolchicyna nie oddziałują wcale lub w niekorzystny sposób z dotychczas znanymi w literaturze odczynnikami stosowanymi do wywoływania płytek TLC. W przypadku kolchicyny i jej pochodnych odczynnik Dragendorffa nie znajduje zastosowania, gdyż po wywołaniu w nim płytki TLC nie pojawiają się plamki ani od substratu ani od produktu reakcji. Kolchicyna pod wpływem odczynnika jodoplatynowego na płytce TLC pojawia się w postaci pojedynczej szarej okrągłej plamki [5]. W czasie wywoływania płytki TLC w żółtym roztworze odczynnika Pancaldi nie daje on czytelnego obrazu, gdyż „plamki” od związków kolchicynowych powstałe w reakcji z tym odczynnikiem także są żółte. Naniesione na płytki TLC związki kolchicynowe po zanurzeniu w roztworze odczynnika – metanolewym roztworze  $\text{FeCl}_3$  częściowo „rozmywają się” (przechodzą do roztworu odczynnika), co jest niekorzystne, gdyż zanieczyszcza odczynnik, nie dając odpowiedniego obrazu na płytce TLC (rys. 2).

W przypadku alkaloidów kolchicynowych konieczne jest użycie dodatkowego odczynnika, aby wizualizować efekt przeprowadzonego rozdzielania na płytce TLC.

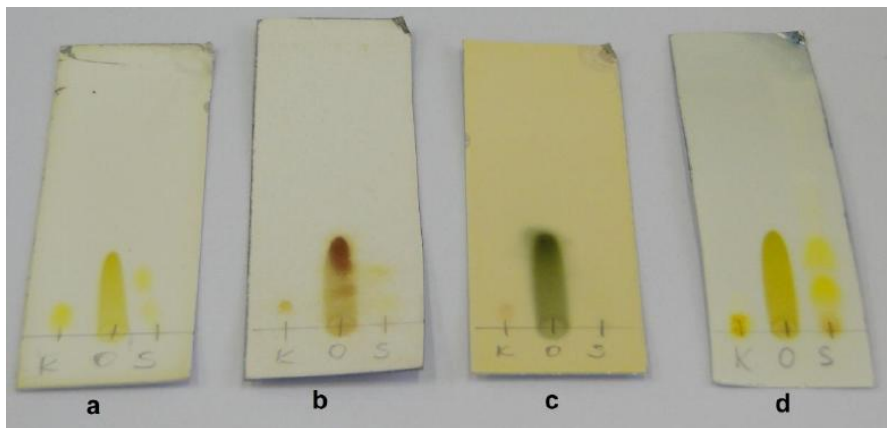
Do uwidaczniania poszczególnych związków kolchicynowych na płytkach w toku analizy TLC skomponowano nową, dotąd nie znaną, odpowiednio dobraną mieszaninę, w skład której wchodzi siarczan(VI) miedzi(II), molibdenian amonu, kwas siarkowy i woda. Wszystkie składniki:  $\text{CuSO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  i wodny roztwór  $\text{H}_2\text{SO}_4$  zmieszano w odpowiednich proporcjach [17]. Siarczan(VI) miedzi(II) użyto z uwagi na korzystne wiązanie się kolchicyny i jej pochodnych z jonami miedzi(II) [8].

### **3.1. Cechy nowego odczynnika $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$ do identyfikacji alkaloidów w szczególności kolchicyny i jej pochodnych**

Nowy odczynnik  $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$  [17] może być używany na kilka sposobów: do monitorowania postępu reakcji – zwykle substrat i produkt reakcji alkaloidów kolchicynowych dają różne kolory (barwa od jasnożółtej do pomarańczowej, co dobrze kontrastuje z niebieskawym tłem płytki TLC otrzymanym w wyniku zanurzenia w roztworze odczynnika  $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$  i jej wysuszenia, (rys. 3 i 4).

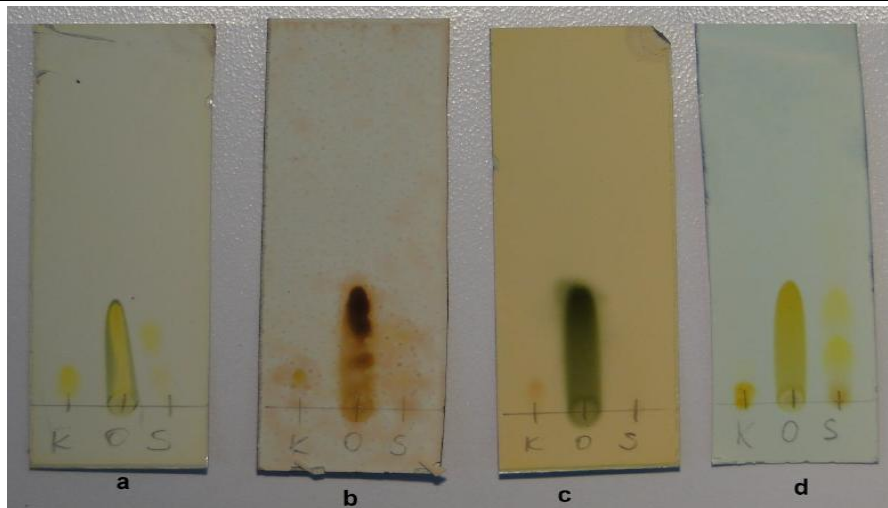
W celu wykazania cech korzystnych w użyciu nowego odczynnika  $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$  do identyfikacji alkaloidów kolchicynowych równolegle przeprowadzono testy znanych dotąd w literaturze pozostałych odczynników, czyli: odczynnika Pancaldi, odczynnika jodoplatynowego i metanolowego roztworu chlorku żelaza(III). Na płytce przedstawione na rysunku 3 i 4 naniesiono takie same ilości poszczególnych alkaloidów kolchicynowych. Po zanurzeniu w poszczególnych odczynnikach wywołujących jedynie w przypadku nowego odczynnika obserwowano kompletne uwidocznienie poszczególnych plamek (rys. 3). Co więcej po wyschnięciu płytek w przypadku znanych odczynników obserwowano zmiany zachodzące w wyglądzie plamek od alkaloidów kolchicynowych, a jedynie w przypadku nowego odczynnika wygląd płytki utrzymywał się niezmieniony (rys. 4).

Nowy odczynnik do wykrywania alkaloidów po wyschnięciu daje jasnyniebieskie tło na płytce TLC, więc alkaloidy, które zwykle nie pojawiają się na płytce w postaci barwnej plamki w wyniku reakcji w odczynniku wywołującym, mogą być widoczne jako biała plama.



Rysunek 3. Obraz płytek TLC z plamkami alkaloidów kolchicynowych po wyjęciu z roztworu odczynnika wywołującego – mokre (K-kolchicyna, O-kolchiceina, S-mieszanka reakcyjna) wywołanych w: odczynniku Pancaldi, b. odczynniku jodoplatynowym, c. metanolowym roztworze  $\text{FeCl}_3$ , d. nowym odczynniku





Rysunek 4. Obraz płytek TLC z plamkami alkaloidów kolchicynowych po wyjęciu z roztworu odczynnika wywołującego – po wysuszeniu (K-kolchicina, O-kolchiceina, S-mieszanina reakcyjna) wywołanych w: odczynniku Pancaldi, b. odczynniku jodoplatynowym, c. metanolemowym roztworze  $\text{FeCl}_3$ , d. nowym odczynniku

Odczynnik ten może być też użyteczny do wykrywania alkaloidów kolchicynowych w nieznannej próbce. Dzięki temu, że odczynnik działa selektywnie (najlepiej na alkaloidy kolchicynowe), gdyż momentalnie w kontakcie z roztworem odczynnika pojawia się na płytkach TLC charakterystyczne zabarwienie od jasnożółtego do pomarańczowego plamek pochodzących od różnych związków kolchicynowych, to fakt ten pozwala na identyfikację tej grupy związków w nieznannej próbce bądź np. ekstraktach roślinnych.

### 3.2. Płytki i bibuły do wykonywania analiz z zastosowaniem nowego odczynnika $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$ [18]

Do przeprowadzania analiz TLC zasadniczo stosuje się fazy stałe (podłoża): organiczne (celuloza) naniesione na szkło, folii aluminiowej bądź plastikowej lub płytkach szklanych, a także nieorganiczne (tlenki glinu oraz krzemu) naniesione na folii zarówno plastikowej jak i aluminiowej oraz płytkach szklanych. Do sprawdzenia zakresu stosowności nowego odczynnika zastosowano 10 różnych podłoży: bibuły i różne rodzaje płytek do wykonywania analiz TLC. Miało to na celu wykazanie czy właściwości odczynnika uzależnione są od rodzaju zastosowanej fazy stałej.

Alkaloid (kolchicynę) nanoszono punktowo kapilarą na podłoże w postaci roztworu metanolewego, suszono i następnie zanurzano w roztworze odczynnika, obserwując pozytywny wynik przy zastosowaniu wszystkich wymienionych wyżej podłoży. Analiza wykazała, że alkaloidy kolchicynowe reagują (dają pozytywny wynik) z opisywanym odczynnikiem na bibule, podłożach organicznych (celuloza) i nieorganicznych (tlenek glinu lub krzemu), a także nie ma znaczenia czy podłoże jest naniesione na szkło, folii aluminiowej czy plastikowej.

### **3.3. Zastosowania praktyczne nowego odczynnika wywołującego [CuSO<sub>4</sub> – (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]**

Nieoczekiwanie okazało się, że odczynnik może mieć także zastosowanie do analizy moczu ludzkiego czy psiego (w przypadku osób i psów, które mają podawane leki, w skład których wchodzi kolchicina czy jej pochodne oraz ewentualnie osób, które uległy zatruciu kolchiciną po spożyciu rośliny, w celu potwierdzenia/ zidentyfikowania tych związków w moczu), gdyż alkaloid ten daje charakterystyczne barwne reakcje z nowym odczynnikiem [18]. Przykładowo odczynnik może być zastosowany do:

- identyfikacji kolchicyny (wykrywanie obecności) i jej pochodnych w materiale biologicznym np. moczu ludzkim u osób przyjmujących leki z kolchiciną lub w przypadku otrucy czy nieumyślnego spożycia roślin z zawartością tego alkaloidu;
- w weterynarii, gdzie stosuje się kolchicinę u psów shar-pei w schorzeniu – dna moczanowa także można za pomocą (np. odpowiednio przygotowanego testu) monitorować poziom tego związku w moczu;
- z jego pomocą można stwierdzić obecność kolchicyny oraz jej pochodnych w nieznannej próbce/mieszance związków.

Odczynnik [CuSO<sub>4</sub> – ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)] pozostawia na płytce po wyschnięciu niebieskie tło dobrze kontrastujące z żółtymi i pomarańczowymi plamkami związków kolchicynowych, powstałych w wyniku reakcji z tym odczynnikiem.

Ponadto wynik analizy jest trwały, widoczny ślad od badanego alkaloidu kolchicynowego pozostaje na płytce/bibule na mokro (po zanurzeniu w [CuSO<sub>4</sub> – (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>], a także po wysuszeniu płytki/bibuły, a nawet po upływie kilku tygodni czy nawet miesięcy od wykonania analizy.

### **3.4. Wykrywanie alkaloidów innych niż kolchicynowe z zastosowaniem nowego odczynnika [CuSO<sub>4</sub> – (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]**

Nowy odczynnik nadaje się też do identyfikacji innych grup alkaloidów niż kolchicynowe ze względu na pojawianie się także w ich przypadku charakterystycznego, odmiennego niż w przypadku związków kolchicynowych, zabarwienia w toku analizy na płytkach TLC [19].

Odczynnik [CuSO<sub>4</sub> – (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] daje także pozytywne reakcje z innymi grupami alkaloidów poza kolchicynowymi. W wyniku reakcji chemicznej zachodzącej pomiędzy odczynnikiem a związkiem alkaloidowym naniesionym na płytkę uzyskuje się charakterystyczne zabarwienia plamek. Jak dotąd nie stwierdzono żeby alkaloidy z grup dotychczas przebadanych wykazywały zabarwienie charakterystyczne dla alkaloidów kolchicynowych (jasnożółte do pomarańczowego). Przez co zastosowanie odczynnika [CuSO<sub>4</sub> – (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] może posłużyć do identyfikacji grupy alkaloidów poprzez pojawienie się charakterystycznego zabarwienia w przypadku badania nieznannej próbki związku alkaloidowego, co może pozwolić na zaklasyfikowanie go do grupy alkaloidów kolchicynowych lub innej na podstawie zabarwienia plamki.

Nowy odczynnik do wykrywania alkaloidów [CuSO<sub>4</sub> – (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] po wyschnięciu daje jasnyniebieskie tło na płytce TLC, więc alkaloidy, które zwykle nie dają koloru, mogą być widoczne jako biała plama.

Na płytce TLC (Silica Gel Silica Gel 60 F<sub>254</sub> MERCK na folii aluminiowej) naniesiono punktowo alkaloidy inne niż kolchicynowe (chinolizydynowe i bis-chinolizydynowe: lupaninę, lupininę, sparteinę, cytyzynę z grupy protoberberyn: 8-oksoberberinę,

z grupy alkaloidów izochinolinowych: karneginę, metylojodek dihydroizochinololiny oraz nikotyne, chininę, chinidynę, chinolinę, epichinidynę, i kofeinę). Płytkę rozwijało jednokierunkowo stosując jako fazę rozwijającą mieszaninę rozpuszczalników (octan etylu, aceton, toluen, chloroform – 1:1:1:1 v/v). Suszono w strumieniu ciepłego powietrza i następnie zanurzano do błękitnego klarownego roztworu odczynnika  $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$ . Reakcja na płytce zachodziła wolniej niż jak to miało miejsce w przypadku alkaloidów kolchicynowych i jej efekt obserwowano w postaci pojawiających się na zanurzonej w roztworze odczynnika  $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$  płytce barwnych plamek lub ich braku. Alkaloidy chinolizydynowe czy bischinolizydynowe (np. lupanina, lupinina, sparetina, cytozyna) nie dają pozytywnego wyniku (reakcji barwnej) na płytce TLC z nowym odczynnikiem. W przypadku pozostałych, plamki ujawnione w analizie TLC są o barwie innej niż alkaloidy kolchicynowe. Wszystkie wymienione alkaloidy poza kolchicynowymi reagują także z odczynnikiem Dragendorffa (opisany wcześniej), jednak zawsze dają to samo pomarańczowe zabarwienie, bez względu na rodzaj alkaloidu. W przypadku pozostałych alkaloidów dających pozytywną reakcję z tym odczynnikiem obecność plamki obserwować można do tygodnia od wykonania analizy.

Nikotyna (alkaloid pirydynowy) zabarwia się na niebiesko już po zanurzeniu w roztworze odczynnika, po wyjęciu płytki barwa utrzymuje się nawet do 2 tygodni od wykonania analizy (reaguje również z odczynnikiem Dragendorffa). 8-Oksoberebina zabarwia się na białą już po zanurzeniu w roztworze odczynnika, po wyjęciu płytki pojawia się niebieska obwódka i utrzymuje się także do 2 tygodni od wykonania analizy. Zabarwienia są charakterystyczne dla danej grupy związków. Zarówno karnegina jak i metylojodek dihydroizochinololiny, należące do tej samej grupy alkaloidów, w wyniku reakcji z odczynnikiem  $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$  dają brunatne zabarwienie. Na podstawie oddziaływania z odczynnikiem alkaloid daje charakterystyczne dla niego zabarwienie, inne niż w przypadku alkaloidów kolchicynowych (żółte-pomarańczowe). Zabarwienia są charakterystyczne dla danej grupy związków (alkaloidów). Barwa plamki na płytce utrzymuje się 1-2 tyg. od wykonania analizy. W przypadku pozostałych badanych alkaloidów dających pozytywną reakcję z tym odczynnikiem zabarwienie plamki na płytce utrzymuje się jedynie 1-2 dni.

#### 4. Podsumowanie

Nowy odczynnik  $[\text{CuSO}_4 - ((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4)]$  pozwala skutecznie wykryć alkaloidy kolchicynowe, gdyż w wyniku oddziaływania z nimi otrzymuje się charakterystyczne zabarwienia plamek w toku analizy TLC. Ponadto, odczynnik ten działa natychmiastowo już po zanurzeniu płytki w jego roztworze, plamki widoczne są też po wyjęciu z roztworu, a także po wyschnięciu i długim czasie po wykonaniu analizy. Odczynnik może mieć praktyczne zastosowanie w szybkich testach na bibule bądź płytkach, poza identyfikacją czy monitorowaniem w próbkach laboratoryjnych, a także w testach moczu. Odczynnik jest relatywnie tani, trwały. Ponadto za jego pomocą można też identyfikować inne niż kolchicynowe alkaloidy.

## Literatura

1. Pakhomov V.P., *Chromatography In pharmaceutical chemistry*, 100 years of Discovery of chromatography by M.S. Tswett, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 37 (8), 2003, s. 451-452.
2. *Chromatografia cieczowa*, Makuch B. *Chromatografia cienkowsarstwowa*, 2004, s. 174-191.
3. Sarmistha Basu, Milan C. Dey, Somenath Kundu, Amalendu Sinhababu, *Recent Development of Spray Reagents for the Detection of Amino Acids on Thin Layer Chromatography Plates: An Overview.*, *Mini-Rev.Org. Chem.*, 2016, 13, s. 3-30.
4. *Advances In Chromatography Vol 43*, Edited by Pavel Jandera, Francesco Dondi, Georgios Theodoridis, J.W. King, Alberto Cavazzini, Gerhardus de Jong, Michel Martin, Lilach Yishai-Aviram, Phyllis R. Brown, Eli Grushka and Susan Lunte, 2004.
5. Randerath K., *Thin layer chromatography*, Verlag Chemie – GmbH – Academic Press, New York and London 1963, s. 74-76.
6. Flieger J., *Thin-Layer (Planar) Chromatography*, in *III /ALKALOIDS/Thin Layer (Planar) Chromatography*, Medical Academy, Lublin, Poland, 1956-1973.
7. *The United States Pharmacopeia 24/The National Formulary 19*, United States Pharmacopeial Convention Inc., 2000.
8. Lacey E., Brady R.L., *Separation of colchicine and related hydrolysis and photodecomposition products by high-performance liquid chromatography, using copper ion complexation*, *Journal of Chromatography*, 315, 1984, s. 233-241.
9. Sarg T.M., El-Domiati M.M., Bishr M.M., Salama O.M., El-Gindy A.R., *Thin-layer chromatographic scanner, spectrophotometric and high-performance liquid chromatographic methods for the determination of colchicine*, *Analyst* 114, 1989, s. 575-578.
10. Al-Fayyad M., Alali F., Alkofahi A., Tell A., *Determination of Colchicine Content in Colchicum Hierosolymitanum and Colchicum Tunicatum Under Cultivation*, *Nat. Product Lett.* 16, 2002, s. 395-400.
11. Ondra P., Válka I., Vicar J., Sütülpinar N., Šimánek V., *Chromatographic determination of constituents of the genus Colchicum (Liliaceae)*, *Journal of Chromatography A*, 704, 1995, s. 351-356.
12. Fernández P., Bermejo A. M., Tabernerero M. J., López-Rivadulla M., Cruz A., *Determination of colchicine in biological fluids by reverse-phase HPLC. Variation of colchicine levels in rats*, *Forensic Sci Int.* 59(1), 1993, s. 15-18.
13. Mohd. Fahim, Mhaveer Singh, Kamal Y.T., Hayat M. Mukhtar, Sayeed Ahmad, *A high performance thin layer chromatographic method for the estimation of colchicine in different formulations*, *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 7 (4), 2015, s. 260-263.
14. Körner A., Kohn S., *Development and optimization of a stability indicating method on a monolithic reversed-phase column for Colchicum dry extract*, *Journal of Chromatography A*, 1089, 2005, s. 148-157.
15. Bodoki E., Oprean R., Vlase L., Tamas M., Sandulescu R., *Fast determination of colchicine by TLC-densitometry from pharmaceutical and vegetal extracts*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis*, 37, 2005, s. 971-977
16. Magagula N.L., Mohanlall V., Odhav B., *Optimized Thin Layer Chromatographic Method for Screening Pharmaceutically Valuable Alkaloids of Catharanthus roseus (Madagascar Periwinkle)*, *International Journal of Sciences*, 2012, s. 1-19.
17. Kurek J., zgłoszenie patentowe Odczynnik do chromatografii cienkowsarstwowej, sposób jego otrzymywania oraz zastosowanie do identyfikacji alkaloidów kolchicynowych. P.438899, 9.09.2021.
18. Kurek J., zgłoszenie patentowe Zastosowanie odczynnika do chromatografii cienkowsarstwowej do identyfikacji alkaloidów kolchicynowych do oznaczania ich w moczu P.439161. 8.10.2021.
19. Kurek J., zgłoszenie patentowe Zastosowanie odczynnika do chromatografii cienkowsarstwowej do identyfikacji alkaloidów kolchicynowych do oznaczania alkaloidów poza alkaloidami kolchicynowymi P.439160, 8.10.2021.

## Cienkowarstwowa chromatografia cieczowa alkaloidów z zastosowaniem odczynnika wywołującego

### Streszczenie

Cienkowarstwowa chromatografia cieczowa jest użytecznym narzędziem w pracy laboratoryjnej do sprawnego analizowania czy identyfikowania związków. W pracy z grupą związków organicznych pochodzenia naturalnego jaką są alkaloidy przy wykonywaniu analizy TLC istotny jest odpowiedni dobór odczynnika wywołującego. Grupa alkaloidów kolchicynowych ze względu na specyficzną budowę szkieletu cząsteczki nie oddziałuje korzystnie z typowymi, dotychczas znanymi odczynnikiem wywołującymi. Mając na uwadze fakt tworzenia przez kolchicynę trwałych połączeń z jonami miedzi (II) skomponowano nowy odczynnik wywołujący, w skład którego wchodzi: siarczan (VI) miedzi(II), molibdenian amonu i wodny roztwór kwasu siarkowego  $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$ . Nowo otrzymany odczynnik poza pozytywnymi reakcjami z kolchicyną oraz jej pochodnymi na płytkach TLC reaguje też z innymi grupami alkaloidów dając charakterystyczne dla nich zabarwienia. Do praktycznych zastosowań odczynnika można zaliczyć jego działania na alkaloidy kolchicynowe, gdyż daje charakterystyczne zabarwienie już w momencie zanurzenia w odczynniku, po wyjęciu płytki z roztworu, a nawet utrzymuje się ono kilka miesięcy po wykonaniu analizy. Jest relatywnie tani, trwały. Może być też zastosowany w testach bibułowyc na obecność kolchicyny w moczu (ludzkim i psim) przy podejrzeniu zatrucia kolchicyną w wyniku podania leków bądź celowego lub nieumyślnego spożycia roślin z gatunku *Colchicum*.

Słowa kluczowe: alkaloidy, alkaloidy kolchicynowe, chromatografia cienkowarstwowa TLC, odczynniki wywołujące

## Thin layer chromatography of alkaloids with using the developing reagent

### Abstract

Thin layer chromatography (TLC) is a useful tool in laboratory work to efficiently analyze or identify compounds. When working with the group of natural organic compounds, which are alkaloids, it is important to select the developing reagent when performing the TLC analysis. Due to the specific structure of the molecular skeleton, the group of colchicine alkaloids does not interact favorably with typical, hitherto known developing reagents. Bearing in mind the fact that colchicine creates permanent connections with copper (II) ions, a new developing reagent has been composed, which includes: copper(II) sulphate(VI), ammonium molybdate and aqueous sulfuric acid solution  $[\text{CuSO}_4 - (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} - \text{H}_2\text{SO}_4]$ . The newly obtained reagent, in addition to positive reactions with colchicine and its derivatives on TLC plates, also reacts with other groups of alkaloids, giving them their characteristic colors. Practical applications of the reagent include its action on colchicine alkaloids, because it gives a characteristic color already at the moment of immersion in the reagent, after removing the plate from the solution, and it even persists for several months after the analysis. It is relatively cheap and durable. It can also be used in tissue tests for the presence of colchicine in the urine (human and canine) when colchicine poisoning is suspected as a result of drug administration or intentional or inadvertent consumption of *Colchicum* plants.

Keywords: alkaloids, colchicine alkaloids, thin layer chromatography TLC, developing reagent

# Beztlenowy rozkład produktów ubocznych i odpadów przemysłu cukrowniczego jako źródło biopaliw gazowych

## 1. Wstęp

### 1.1. Biopaliwa gazowe

Pod pojęciem biopaliw gazowych rozumiemy biowodór (jako nośnik energii) oraz biometan, które powstają w wyniku aktywności metabolicznej mikroorganizmów podczas beztlenowego rozkładu związków organicznych. Końcowym produktem tego procesu jest biogaz, który stanowi mieszaninę biometanu (50-80%) i ditlenku węgla (20-50%) z domieszką innych gazów takich jak siarkowodór, azot cząsteczkowy, tlen, tlenek węgla, amoniak czy siloksany [1-3]. Biowodór jest produktem gazowym kwasogenezy, stanowi zatem produkt pośredni beztlenowego rozkładu biomasy. Jego zawartość w gazie fermentacyjnym po kwasogenezie wynosi 30-50%, pozostałymi składnikami są ditlenek węgla i śladowe ilości innych gazów podobnie jak w biogazie [3-5].

### 1.2. Beztlenowy rozkład związków organicznych/biomasy jako źródło biowodoru i biometanu

Beztlenowy rozkład związków organicznych zachodzi powszechnie w naturalnych ekosystemach ubogich w tlen, takich jak osady denne zbiorników wodnych, tereny podmokłe, bagna, pola ryżowe, przewody pokarmowe zwierząt. Proces ten jest kluczowy dla obiegu węgla w przyrodzie, krążenia materii i przepływu energii w ekosystemach. Beztlenowy rozkład biomasy ma miejsce na składowiskach odpadów i w beztlenowych komorach oczyszczalni ścieków. Proces ten jest podstawą funkcjonowania biogazowni. Szacuje się, że 70% całkowitej globalnej emisji metanu wynika z biologicznej metanogenezy [6, 7].

Beztlenowy rozkład biomasy zachodzi w środowiskach o niskim potencjale redoks, tj. tam, gdzie stężenie innych akceptorów elektronów w oddychaniu beztlenowym,

---

<sup>1</sup> annaw@ibb.waw.pl, Pracownia Białej Biotechnologii, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, www.ibb.edu.pl.

<sup>2</sup> annadetman@ibb.waw.pl, Pracownia Białej Biotechnologii, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, www.ibb.edu.pl.

<sup>3</sup> ewa.wiktorowska-sowa@polski-cukier.pl, Krajowa Spółka Cukrowa S.A. Oddział „Cukrownia Dobrzelin”, www.polski-cukier.pl.

<sup>4</sup> marcin.nosek@polski-cukier.pl, Krajowa Spółka Cukrowa S.A. Oddział „Cukrownia Dobrzelin”, www.polski-cukier.pl.

<sup>5</sup> marcin.szewczyk@polski-cukier.pl, Krajowa Spółka Cukrowa S.A. Oddział „Cukrownia Dobrzelin”, www.polski-cukier.pl.

<sup>6</sup> szymon.nowak@polski-cukier.pl, Krajowa Spółka Cukrowa S.A. Oddział „Cukrownia Dobrzelin”, www.polski-cukier.pl.

<sup>7</sup> jan.piotrowski@polski-cukier.pl, Krajowa Spółka Cukrowa S.A. Biuro w Warszawie, www.polski-cukier.pl.

tj. azotanów, związków metali Mn(IV) i Fe(III) czy siarczanów, jest niskie. Hamowanie produkcji metanu przez azotany, utlenione jony metali i siarczany jest warunkowane potencjałem redoks i wynikającą z tego zmianą dominującego typu oddychania beztlenowego.

Złożone procesy beztlenowego rozkładu biomasy dzielimy na cztery główne etapy. Pierwszym z nich jest hydroliza polimerowych związków organicznych do monomerów. Drugim etapem jest kwasogeneza, której produktami są krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe i alkohole oraz gaz fermentacyjny (mieszanina biowodoru i ditlenku węgla). W trzecim etapie, zwanym acetogenezą, niegazowe produkty fermentacji kwaśnych utleniają się do wodoru, ditlenku węgla i octanu – substratów dla archeonów metanogennych w czwartym etapie, czyli metanogenezie. Ostatnie dwa etapy, acetogeneza i metanogeneza, są ze sobą ściśle powiązane i polegają na syntroficznych związkach bakterii acetogennych z metanogenami. Znane są trzy szlaki powstawania metanu: z octanu (szlak acetotroficzny); z ditlenku węgla i wodoru (szlak hydrogentroficzny) oraz w wyniku redukcji grup metylowych pochodzących np. z degradacji białek (szlak metylotroficzny) [6-10].

### 1.3. Beztlenowy rozkład polisacharydów

Polisacharydy są związkami bardzo powszechnie występującymi w przyrodzie, szczególnie bogata jest w nie biomasa roślinna, stąd stanowią ważny substrat w procesie beztlenowego rozkładu materii organicznej (rys. 1). Reakcje hydrolizy polisacharydów do monosacharydów katalizowane są przez glikozydazy (w tym celulazy i hemicelulazy) działające w miejscu wiązań glikozydowych. Bakterie hydrolityczne należą do typów *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Fibrobacteres*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Tenericutes*, *Thermotogae* i *Verrucomicrobia*. Aktywność hydrolityczną posiada też wiele grzybów. Na etapie hydrolizy stosuje się również rozdrabnianie mechaniczne, metody fizykochemiczne jak podwyższona temperatura, traktowanie związkami chemicznymi, np. kwasami nieorganicznymi [11, 12].

Monosacharydy na etapie kwasogenezy poddawane są głównie fermentacjom glikolitycznym [10, 13-15]. Pierwszym produktem tych przemian jest pirogronian, który w zależności od typu fermentacji przekształcany jest w: etanol (fermentacja alkoholowa), kwas mlekowy (fermentacja mlekowa), szczawiooctan (fermentacja propionowa). Fermentacje, w których produkowany jest biowodór, to tzw. fermentacje ciemne (z ang. *dark fermentation*). Wyróżniamy dwa typy tych fermentacji:

- fermentacja typu *Clostridium*, gdzie pirogronian przekształcany jest do acetylokoenzymu A, a następnie do octanu; jednocześnie następuje redukcja ferredoksyny, z której przy udziale hydrogenaz uwalniany jest wodór;
- fermentacja typu *Enterobacteriaceae*, w której pirogronian jest przekształcany do mrówczanu (fermentacja typu *Escherichia coli*), a także do acetylokoenzymu A (fermentacja typu *Enterobacter*).

Na etapie kwasogenezy zachodzą jeszcze przemiany innych produktów fermentacji prowadzące do powstania biowodoru. Są to:

- przekształcenie etanolu i octanu do maślanu, ditlenku węgla i wodoru opisane dla *Clostridium kluyveri* [16]
- przekształcenie mleczanu i octanu do maślanu, ditlenku węgla i wodoru opisane dla *Clostridium acetobutylicum*, *C. diolis*, *C. butyricum*, *Butyribacterium methylotrophicum* [17-20].

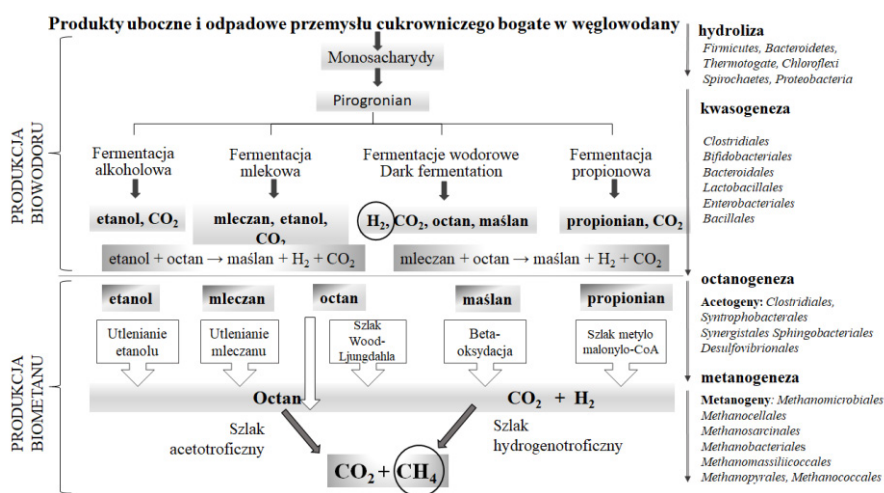
Te ostatnie są analogiczne do symbiotycznych relacji typu cross-feeding pomiędzy bakteriami kwasu mlekowego, a bakteriami produkującymi maślan jakiego opisano dla mikrobiomu przewodu pokarmowego. Producenci maślanu wykorzystują jako substrat mleczan i octan wytworzone przez inne bakterie, w tym bakterie kwasu mlekowego [21]. Prace różnych grup badawczych, w tym nasze, wskazują, iż takie oddziaływania mogą zachodzić również w bioreaktorach ciemnych fermentacji (fermentacji wodorowych) i wpływają bardzo korzystnie na wydajność produkcji biowodoru [5].

Utlenianie maślanu (szlak betaoksydacji opisany dla *Syntrophomonas wolfei* i *Syntrophus acidotrophicus*), propionianu (szlak metylomalonylo-CoA opisany dla *Syntrophobacter fumaroxidans* i *Syntrophobacter wolinii*), mleczanu (szlak opisany dla *Desulfovibrio vulgaris*), etanolu (szlak opisany dla *Pelobacter carbinolicus*) oraz innych niegazowych produktów kwasogenezy do octanu, ditlenku węgla, wodoru lub mrówczanu na etapie acetogenezy to reakcje endoergiczne. Jeśli reakcje utleniania połączone są z produkcją metanu cały proces staje się egzoergiczny poprzez natychmiastowe wykorzystanie wodoru i zapewnienie jego niskiego ciśnienia. Jest to możliwe dzięki układom syntroficznym pomiędzy wymienionymi przedstawicielami bakterii acetogennych a hydrogenotroficznymi archeonami metanogennymi i złożonym reakcjom utleniania/redukcji [22, 23].

Mleczan i etanol mogą być utleniane bezpośrednio do octanu, zgodnie ze szlakami metabolicznymi opisanymi dla *Acetobacterium woodii*, bez udziału archeonów metanogennych [24, 25]. Octan wykorzystywany jest bezpośrednio przez acetotroficzne archeony metanogenne.

Aby powstał metan, każdy substrat musi być przekształcony do jednej z trzech wspomnianych już grup związków, które mogą wykorzystać archeony metanogenne. W przypadku rozkładu polisacharydów są to głównie octan lub ditlenek węgla i wodór.

Analizy metagenomowe wspólnot mikroorganizmów beztlenowego rozkładu materii organicznej pokazują, że dominują w nich bakterie, a udział archeonów metanogennych jest niewielki, do 20% [12, 26].

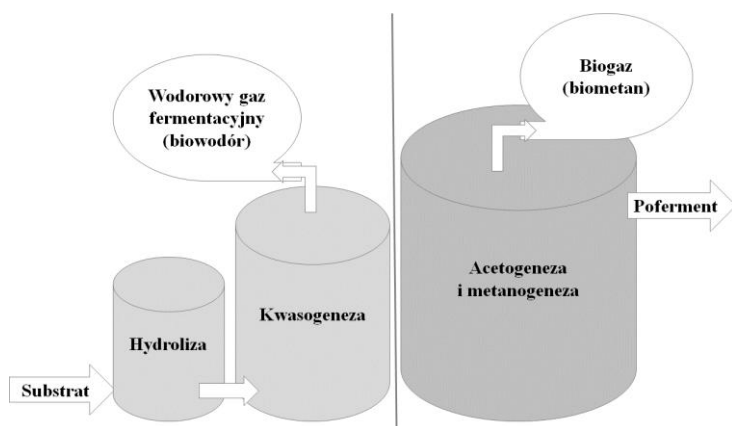


Rysunek 1. Schemat przemian w beztlenowym rozkładzie materii organicznej na przykładzie polisacharydów [opracowanie własne]



#### 1.4. Wieloetapowe systemy beztlenowego rozkładu związków organicznych

Obecnie obserwuje się duże zainteresowanie rozwojem nowych technologii i modernizacji składowisk odpadów i oczyszczalni ścieków w celu kontroli wydzielania biogazu i pozyskiwania metanu na potrzeby energetyczne. Ponadto, w ramach rozwoju innowacyjnych technologii opartych na procesach mikrobiologicznych, buduje się nowoczesne instalacje, w których etapy, gdzie produkowany jest biowodór (hydroliza i kwasogeneza) i metan (acetogeneza i metanogeneza) są rozdzielone, aby w kontrolowanych warunkach pozyskiwać osobno te dwa gazy. Systemy wielostopniowe zapewniają optymalne warunki dla każdego z etapów, stabilizują proces, zwiększają odzysk energii z biomasy (rys. 2) [1, 27]. Bardzo atrakcyjnym polem dla takich działań są zakłady przemysłu spożywczego. Tematyka tej monografii skupia się na możliwości wykorzystania na cele energetyczne produktów ubocznych i odpadowych przemysłu cukrowniczego.



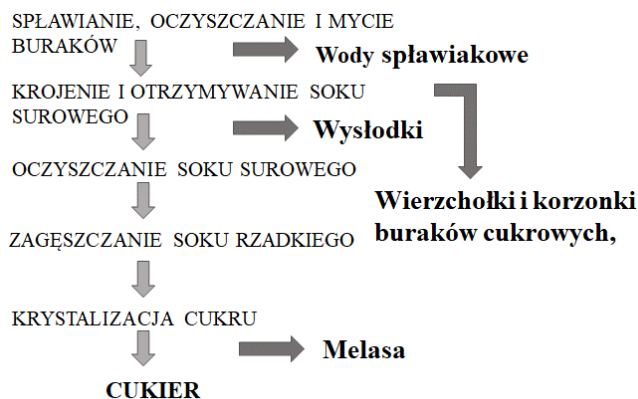
Rysunek 2. Schemat wieloetapowego procesu beztlenowego rozkładu biomasy [opracowanie własne]

#### 1.5. Produkty uboczne i odpadowe przemysłu cukrowniczego

Podczas przetwarzania buraków cukrowych na cukier powstają następujące organiczne produkty uboczne (rys. 3):

- wysłodki buraczane;
  - liście buraków cukrowych;
  - melasa;
- oraz odpadowe:
- wody po hydraulicznym transporcie buraków cukrowych;
  - korzonki i wierzchołki buraków cukrowych;

Szacuje się, że z jednego Mg buraków cukrowych można wyprodukować ok. 160 kg cukru, 38 kg melasy oraz 500 kg wysłodków mokrych o zawartości suchej substancji 10% [28]. Polska jest trzecim producentem cukru w Europie z produkcją 1,87 mln Mg cukru rocznie, co pozostawia do dalszego wykorzystania 0,6 mln Mg wysłodków buraczanych (w suchej masie) i 600 tys. Mg melasy [29]. Surowe wysłodki buraczane, będące biomasą lignocelulozową, składają się głównie z węglowodanów – celulozy (22-30%), hemicelulozy (24-32%), pektyn (38-62%) oraz stosunkowo niewielkich ilości ligniny (1-2%) [28].



Rysunek 3. Uproszczony schemat etapów produkcji cukru [opracowanie własne]

Melasa jest gęstą, brunatną, lepłą cieczą o zawartości ok. 80% suchej masy. Zawiera ok. 50% sacharozy, 6% białka i 14% popiołu bogatego w potas, wapń, sód, magnez, miedź, cynk, żelazo i mangan, ponadto glukozę, fruktozę, betainę, witaminy z grupy B, inozytol, związki azotu.

Zarówno melasa jak i wysłodki buraczane są wykorzystywane do produkcji pasz.

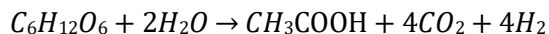
Wody spławiakowe niosą ze sobą fragmenty buraków, korzonków i liści oraz piach, szczątki gleby, żwir, kamienie. Zawierają związki organiczne, głównie węglowodany.

Celem niniejszej monografii jest pokazanie zastosowania produktów ubocznych i odpadowych przemysłu cukrowniczego jako źródła biopaliw gazowych w procesie beztlenowego rozkładu, ograniczeń i perspektyw z tym związanych, na podstawie opublikowanych prac badawczych [2-5, 10, 12, 20, 30-32], badawczo-rozwojowych i wdrożeniowych prowadzonych we współpracy pomiędzy IBB PAN a KSC S.A.

## 2. Przegląd prac badawczych i badawczo-rozwojowych własnych

### 2.1. Dwuetapowy system produkcji biowodoru i biometanu z produktów ubocznych przemysłu cukrowniczego

Aby produkcja biowodoru na drodze ciemnej fermentacji na etapie kwasogenezy była opłacalna ekonomicznie wydajność konwersji substratów powinna wynosić 60-80% [33]. Taka wydajność jest niemożliwa, gdyż maksymalnie tylko jedna trzecia biomasy może być przekształcona w wodór, co wynika ze specyfiki biochemii procesu fermentacji opisanego równaniem dla fermentacji typu *Clostridium*, gdy substratem jest glukoza, a jedynym produktem niegazowym jest kwas octowy:



Jest to jednak wydajność czysto teoretyczna i w rzeczywistości osiągana na znacznie niższym poziomie. Produkcja biowodoru na drodze ciemnej fermentacji musi być połączona z metagenizacją niegazowych produktów procesu na wzór beztlenowego rozkładu związków organicznych.

W Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN opracowano dwustopniowy układ produkcji biowodoru i biometanu z substratów bogatych w sacharozę powstających na różnych etapach produkcji cukru. Testowano melasę buraczaną, sok surowy, sok rzadki,

sok gęsty i odcieki cukrownicze oraz hydrolizat z wysłodków buraczanych. Najbardziej optymalnym substratem okazała się melasa. Ta mini-instalacja w skali laboratoryjnej składa się z dwóch bioreaktorów (rys. 4). Pierwszy to bioreaktor typu beztle-  
nowe złożę zatopione (ang. *Packed Bed Reactor*, PBR) o objętości całkowitej 3 l, w którym dominuje ciemna fermentacja i produkowany jest gaz bogaty w wodór [2]. W drugim bioreaktorze typu UASB (ang. *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) o objętości całkowitej 4l zachodzi metagenizacja niegazowych produktów fermentacji kwaśnych i produkowany jest klasyczny biogaz [4].



Rysunek 4. Dwuetapowa instalacja produkująca biowodór i biometan w skali laboratoryjnej (IBB PAN)  
[opracowanie własne]

We współpracy z Krajową Spółką Cukrową S.A. na terenie Cukrowni Dobrzelin zademonstrowano 20-krotnie przeskalowaną instalację (rys. 5). System składa się z dwóch 30-litrowych bioreaktorów produkujących biowodór oraz dwóch 50-litrowych bioreaktorów produkujących metan i pracuje w systemie ciągłym w Cukrowni Dobrzelin [3].



Rysunek 5. Dwuetapowa instalacja produkująca biowodór i biometan po 20-krotnym przeskalowaniu (KSC S.A. o/Cukrownia Dobrzelin) [opracowanie własne]

W obu instalacjach uzyskano porównywalne osiągi produkcji biowodoru i metanu. W wyniku działań optymalizacyjnych otrzymano następujące wartości: 73,9-122,0 dm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>/kg melasy i 287,2-398,2 dm<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg melasy w systemie stabilnej ciągłej pracy całego układu [3].

W ramach prowadzonych obecnie badań (projekt grantowy BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016) następuje przeskalowanie instalacji o kolejne rzędy wielkości, trwają prace nad osiągnięciem maksymalnej wydajności produkcji biowodoru i biometanu, opracowaniem metod oczyszczania i magazynowania biowodoru oraz pokazaniem zastosowań dla wyprodukowanego biowodoru. Na terenie Cukrowni Dobrzelin powstał nowy obiekt, gdzie prowadzone są ww. prace badawczo-rozwojowe (rys. 6).



1. Moduł produkcyjny z instalacją wodorową
2. Zbiornik magazynowy mieszanki wodoru i dwutlenku węgla
3. Sterownia
4. Moduł magazynowania wodoru i paliw
5. Bioreaktor fermentacji metanowej

Rysunek 6. Dwuetapowa instalacja produkcji biowodoru i biometanu w skali półtechnicznej – wygląd zewnętrzny (KSC S.A. o/Cukrownia Dobrzelin) [opracowanie własne]

## 2.2. Wydajność produkcji biowodoru

Kluczem do uzyskania wysokich wydajności produkcji biowodoru na drodze ciemnej fermentacji jest ustalenie i utrzymanie warunków dla optymalnego rozwoju bakterii produkujących wodór w sposób stabilny w długotrwałych układach ciągłych. Porównanie wyników naszych prac doświadczalnych i innych grup badawczych pokazuje, że w warunkach optymalnych dla produkcji biowodoru ustala się swoista równowaga pomiędzy producentami wodoru, a bakteriami kwasu mlekowego, z tendencją do przewagi producentów wodoru. Dominacja jednej grupy nad drugą zaburza proces produkcji biowodoru. Określenie czynników determinujących równowagę pomiędzy producentami wodoru i kwasu mlekowego jest kluczowe dla uzyskania stabilnych systemów generujących biowodór i ich optymalizacji. Źródło inokulum, warunki operacyjne takie jak konstrukcja bioreaktora, złoża w bioreaktorze, stężenie substratu i czas retencji, są kluczowymi czynnikami, które gwarantują stabilny proces produkcji biowodoru [5, 31, 34].

Wyższe ciśnienie parcjale wodoru w reaktorze hamuje aktywność ważnych enzymów dla produkcji wodoru, co powoduje zmiany w przebiegu szlaków metabolicznych, a tym samym akumulację kwasów i związany z tym niekorzystny spadek wartości pH w środowisku bioreaktora, a dalej zmiany w proporcjach poszczególnych grup bakterii. Produkcja biowodoru może być obniżona z powodu konkurencji substratowej prowadzącej do zmiany typu fermentacji na mlekową czy etanolową oraz przez obecność

mikroorganizmów wykorzystujących wodór. Rozwój bakterii ciemnej fermentacji hamowany jest również przez bakteriocyny wydzielane przez bakterie kwasu mlekowego, czy antybakteryjne toksyny wydzielane przez drożdże. Związki te nie hamują natomiast procesów metanogenezy [5, 30, 31, 33, 34].

Kolejnym problemem jest fakt, że gaz fermentacyjny zawiera 30-50% biowodoru, co wymaga opracowania skutecznej, efektywnej i wydajnej metody rozdziału biowodoru od dwutlenku węgla.

### **3. Prace wdrożeniowe własne - modernizacja oczyszczalni ścieków w Cukrowni Dobrzelin (KSC S.A.)**

#### **3.1. Zasada pracy oczyszczalni ścieków i stan przed modernizacją**

Proces technologiczny produkcji cukru (kampania cukrownicza) prowadzony jest przez około 126 dni, zazwyczaj od połowy września, zależnie od warunków pogodowych i wegetacji buraków. Okres czasu pracy oczyszczalni jest ściśle powiązany z procesem produkcji cukru. Praca oczyszczalni trwa w okresie kampanii oraz przez pewien czas w okresie pokampanijnym. Źródłem ścieków przemysłowych w cukrowni jest obieg spławiakowy, służący do hydrotransportu i mycia buraków cukrowych. Zanieczyszczona woda z obiegu spławiakowego po separacji części roślinnych (odłamki buraka, korzonki, liście) i mineralnych (kamienie, żwir, piach) trafia do osadnika radialnego, gdzie sedymentacji ulega drobniejsza frakcja zawiesiny tzw. błoto spławiakowe. Błoto z nadmiarem wód z obiegu kierowane jest pompami do lagun osadowych. W lagunach osadowych następuje dalsza sedymentacja zanieczyszczeń. Osadzone na dnie błoto jest w okresie remontowym wybierane i zagospodarowywane. W lagunach osadowych zapoczątkowany zostaje proces oczyszczania – fermentacja kwaśna. Powstałe nad błotem ścieki przepływają do stawu ścieków surowych, skąd dalej podawane są do beztlenowej komory fermentacyjnej. Średnie ChZT (chemiczne zapotrzebowanie tlenu) oczyszczanych ścieków to ok. 5,4 g O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup>, przy średnim przepływie 80 m<sup>3</sup>/h. Ścieki podawane do beztlenowej komory fermentacyjnej podgrzewane są do temperatury fermentacji około 37°C na wymiennikach płytowych, przy wykorzystaniu wody barometrycznej i/lub kondensatów z procesu produkcji cukru. Z beztlenowej komory fermentacyjnej ścieki poprzez osadnik wtórny trafiają do reaktora tlenowego. Z reaktora tlenowego poprzez osadnik wtórny oczyszczone ścieki kierowane są do zbiorników akumulacyjnych ścieków oczyszczonych. Ścieki po stopniu tlenowym charakteryzują się wartością ChZT < 125 mg O<sub>2</sub>/dm<sup>3</sup> i pH 7,5.

Potencjał energetyczny biogazu przed modernizacją obiektu nie był wykorzystany. Biogaz podawany był przez odwadniacze i stację odsiarczania na pochodnię, gdzie ulegał spaleni i uwolnieniu do atmosfery.

#### **3.2. Prace modernizacyjne**

Założeniem prac modernizacyjnym było wykorzystanie biogazu w celach energetycznych, poprzez zasilanie agregatu kogeneracyjnego i pokrycie potrzeb energetycznych oczyszczalni ścieków. Modernizacja oczyszczalni ścieków obejmowała prace w branżach: technologicznej, budowlanej, energetycznej, automatyki, elektrycznej oraz wodno-kanalizacyjnej. Podczas modernizacji powstały nowe obiekty związane z budową nowej linii magazynowania i oczyszczania biogazu (rys. 7 i 8):

- stacja odsiarczania, której zadaniem jest usuwanie siarkowodoru, a w konsekwencji jego negatywnego wpływu na agregat kogeneracyjny, oraz utrzymanie na należytym poziomie norm emisji  $\text{SO}_2$  do atmosfery;
- zbiornik biogazu o pojemności użytkowej  $2000 \text{ m}^3$ , którego funkcją jest wyrównywanie nierównomierności w produkcji biogazu i jego czasowe magazynowanie;
- osuszacz biogazu w celu usuwania wilgoci z biogazu poprzez schładzanie jego strumienia poniżej punktu rosy;
- filtr siloksanów usuwający z biogazu związki krzemu, które mają negatywny wpływ na silniki kogeneracyjne;
- stacja dmuchaw podnosząca ciśnienie biogazu do wartości wymaganej do zasilania agregatu kogeneracyjnego;
- pochodnia biogazu do awaryjnego spalania biogazu.

Instalacja oczyszczalni doposażona została również w dodatkowy wymiennik płytowy ciepła (rys. 9), przekazujący energię cieplną ze ścieków oczyszczonych po reaktorze tlenowym do ścieków surowych. W ten sposób w układzie z istniejącymi wymiennikami ciepła powstał bardziej efektywny nowy układ dwustopniowego ogrzewania ścieków surowych.

Obecnie efektywność oczyszczania ścieków wynosi 98,2% redukcji ChZT. Powstający biogaz jest biogazem rolniczym, produkowany jest średnio w ilości  $8500 \text{ m}^3/\text{dobę}$ . Jest to wysokiej jakości biogaz o dużej zawartości metanu, spełniający wszystkie parametry niezbędne do prawidłowego zasilania silnika kogeneracyjnego (tab. 1).



Rysunek 7. Oczyszczalnia ścieków w Cukrowni Dobrzelin po modernizacji: system oczyszczania biogazu [opracowanie własne]



Rysunek 8. Oczyszczalnia ścieków w Cukrowni Dobrzelin po modernizacji: zbiornik biogazu [opracowanie własne]

Otrzymany biogaz został wykorzystany do zasilania agregatu kogeneracyjnego (rys. 10). W okresie kampanii cukrowniczej 2020/2021 agregat kogeneracyjny pracował 643 godziny. Z 1 m<sup>3</sup> biogazu średnio otrzymano 2,91 kWh energii elektrycznej, co przy danych literaturowych na poziomie 2,2 kWh jest wynikiem bardzo dobrym. Średnia godzinowa wielkość produkowanej energii elektrycznej wyniosła 512,19 kWh. Maksymalna wielkość produkowanej energii elektrycznej osiągnęła 779 kWh. Łączna ilość wyprodukowanej energii elektrycznej wyniosła 323 710 kWh. Interpolując powyższe wyniki, gdyby agregat pracował przez okres całej kampanii, łączną produkcję energii elektrycznej szacuje się na 1,205 GWh. Bilans dobowy wyprodukowanej energii elektrycznej osiągnął 205% zapotrzebowania oczyszczalni ścieków. Pozwala to w pełni pokryć potrzeby instalacji do oczyszczania ścieków, a nadwyżki przekazać do pozostałych instalacji cukrowni bądź do zewnętrznej sieci energetycznej. Agregat wytwarza energię elektryczną w kogeneracji, co pozwoliło dodatkowo przekazać 370 333,33 kWh energii cieplnej do ogrzewania ścieków. Stanowiło to około 20% zapotrzebowania oczyszczalni ścieków na energię cieplną. W czasie kampanii cukrowniczej cukrownia dysponuje nadmiarem ciepła odpadowego w postaci wód barometrycznych i wód amoniakalnych. Są one wykorzystywane do ogrzewania ścieków.

Zagospodarowanie nadmiaru ciepła wyprodukowanego przez cukrownie podczas kampanii cukrowniczej w okresie zimowym powinno być szczególnie ważne dla zeroemisyjności i gospodarki obiegu zamkniętego.

Tabela 1. Zestawienie parametrów biogazu wymaganych do prawidłowej pracy agregatu kogeneracyjnego w porównaniu do parametrów uzyskanych na podstawie analizy

	Wymagane dla agregatu	Uzyskane w kampanii cukrowniczej 2019/2020	Uzyskane w kampanii cukrowniczej 2020/2021
Liczba metanowa	> 80	108	111
Wartość opałowa [kJ/Nm <sup>3</sup> ]	> 18 000	26 908	24305
Zawartość metanu [% obj]	40-70	74,9	71,4
Siarka (S) sumarycznie [kJ/Nm <sup>3</sup> ]	< 200	64	< 3
Krzem (Si) sumarycznie [mg/Nm <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> ]	< 2	0,589	< 0,07
Chlor (Cl) sumarycznie [mg/Nm <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> ]	< 80	2,67	< 2,8

Źródło: Opracowanie własne



Rysunek 9. Oczyszczalnia ścieków w Cukrowni Dobrzelin po modernizacji: wymiennik płytowy ciepła z układem sterowania [opracowanie własne]



Rysunek 10. Oczyszczalnia ścieków w Cukrowni Dobrzelin po modernizacji: agregat kogeneracyjny [opracowanie własne]

### 3.3. Wspólnota mikroorganizmów beztlenowego osadu komory fermentacyjnej – badania laboratoryjne własne

Jakość produkowanego biogazu jest efektem pracy wspólnoty mikroorganizmów osadu beztlenowej komory oczyszczalni ścieków. Pobrano próbki osadu i zbadano jego bioróżnorodność wykorzystując techniki sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Z próbek osadu wyizolowano całkowite DNA w taki sam sposób jak to opisano w publikacji [31]. Bioróżnorodność określono na podstawie sekwencji fragmentu genu kodującego 16S rRNA z użyciem pary starterów 515F-806R. Sekwencjonowanie wykonano przy użyciu technologii Illumina (Illumina NextSeq 550 sequencers) we współpracy z Microbiome Core, Department of Pediatrics at Steel Children's Research Center, College of Medicine, University of Arizona, USA. Skład taksonomiczny określono na podstawie bazy SILVA (SILVA database release 132). Zastosowano identyczne metody badawcze jak opisano w publikacji [5]. Wyniki przedstawiono na rysunku 11.

Osad beztlenowy charakteryzuje się dużym udziałem archeonów metanogennych, głównie z rodzajów *Methanosaeta* i *Methanolinea*. Wśród bakterii dominują rodzaje syntroficzne, np. *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*, *Syntrophus*, *Syntrophobotulus*, *Geobacter*, przedstawiciele *Verrucomicrobia* czy *Synergistetes*.

## 4. Podsumowanie

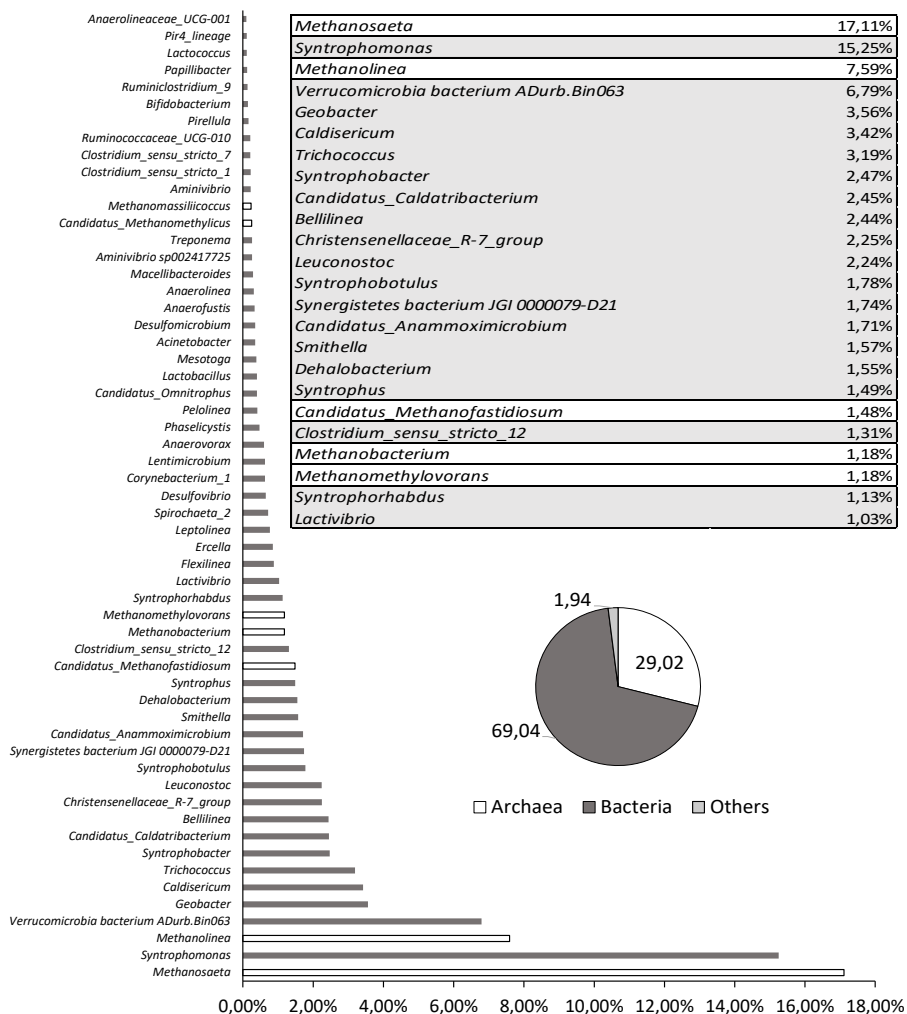
Przedstawione w monografii prace wpisują się w działania, których celem jest rozwój technologii produkcji energii odnawialnej. Jedną z jej form jest pozyskanie biopaliw gazowych, biogazu (biometanu) i biowodoru, w wyniku beztlenowego rozkładu materii organicznej.

Produkty uboczne i odpady przemysłu cukrowniczego ze względu na wysoką zawartość węglowodanów są atrakcyjnym substratem dla mikroorganizmów, które w wyniku swoich przemian metabolicznych generują biowódór i biometan. Opisano dwa rodzaje działań: prace wdrożeniowe i badawczo-rozwojowe.

Prace wdrożeniowe polegały na modernizacji beztlenowej części oczyszczalni ścieków Cukrowni Dobrzelin (KSC S.A.), do której dostarczane są wody spławiakowe z transportu buraków. Powstający tam biogaz o wysokiej zawartości metanu został



wykorzystany do produkcji energii elektrycznej i ciepłej w systemie kogeneracji. Są to działania wzorcowe dla innych cukrowni i zakładów przemysłu spożywczego dążące do zagospodarowania odpadów, ograniczenia emisji gazów cieplarnianych do atmosfery i zwiększenia udziału energii odnawialnej w ogólnym zużyciu energii brutto, a w końcowym efekcie osiągnięcia zeroemisyjności Polski.



Rysunek 11. Skład taksonomiczny (na poziomie rodzaju, powyżej 0,1%) wspólnoty mikroorganizmów produkujących biogaz z beztlenowej części oczyszczalni ścieków na podstawie fragmentu genu kodującego 16S rRNA [opracowanie własne]

Prace badawczo-rozwojowe obejmują demonstrację dwuetapowej instalacji otrzymywania biowodoru i następnie biometanu z produktów ubocznych przemysłu cukrowniczego metodą mikrobiologiczną. Instalacja opracowana w skali laboratoryjnej w jednostce naukowej (IBB PAN) dzięki współpracy z partnerem przemysłowym (KSC S.A.) jest przeskalowywana o kolejne rzędy wielkości na terenie Cukrowni Dobrzelin. W ten sposób powstaje innowacyjna technologia produkcji biowodoru i biometanu.

Badania molekularne wspólnot mikroorganizmów ciemnej fermentacji pozwalają na poznanie szlaków metabolicznych kwasogenezy oraz zależności pomiędzy mikroorganizmami warunkujących powstawanie biowodoru.

Opisane prace są doskonałym przykładem owocnej współpracy pomiędzy jednostką naukową a partnerem przemysłowym w kierunku rozwoju nowych technologii i innowacyjnych rozwiązań pozwalających na dywersyfikację wykorzystania powstających w cukrowni produktów ubocznych (melasa i wysłodki buraczane) i odpadowych (wody splewiakowe).

## Literatura

1. Rabii A., Aldin S., Dahman Y., Elbeshbishy E., *A Review on anaerobic co-digestion with a focus on the microbial populations and the effect of multi-stage digester configuration*, Energies, 12, 2019, 1106.
2. Chojnacka A., Szczęsny P., Błaszczyk M.K., Zielenkiewicz U., Detman A., Salamon A., Sikora A., *Noteworthy facts about a methane-producing microbial community processing acidic effluent from sugar beet molasses fermentation*, Plos One, 10, 2015, e0128008.
3. Detman A., Chojnacka A., Błaszczyk M., Kaźmierczak W., Piotrowski J., Sikora A., *Biohydrogen and biomethane (biogas) production in the consecutive stages of anaerobic digestion of molasses*, Polish Journal of Environmental Studies, 26, 2017, s. 1023-1029.
4. Chojnacka A., Błaszczyk M.K., Szczęsny P., Nowak K., Sumińska M., Tomczyk-Żak K., Zielenkiewicz U., Sikora A., *Comparative analysis of hydrogen-producing bacterial biofilms and granular sludge formed in continuous cultures of fermentative bacteria*, Bioresource Technology 102, 2011:10057-10064.
5. Detman A., Laubitz D., Chojnacka A., Wiktorowska-Sowa E., Piotrowski J., Salamon A., Kaźmierczak W., Błaszczyk M.K., Barberan A., Chen Y., Łupikasza E., Yang F., Sikora A., *Dynamics and complexity of dark fermentation microbial communities producing hydrogen from sugar beet molasses in continuously operating packed bed reactors*, Frontiers in Microbiology, 11, 2021, 612344.
6. Thauer R.K., Kaster A.-K., Seedorf H., Buckel W., Hedderich R., *Methanogenic Archaea: ecologically relevant differences in energy conservation*, Nature Reviews Microbiology, 6, 2008, s. 579-591.
7. Liu Y., Whitman W.B., *Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea*, Annals of the New York Academy of Sciences, 1125, 2008, s. 171-189.
8. Stams A.J., Plugge C.M., *Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea*, Nature Reviews Microbiology, 7, 2009, s. 568-577.
9. Sieber J.R., McInerney M.J., Gunsalus R.P., *Genomic insights into syntrophy: the paradigm for anaerobic metabolic cooperation*, Annual Review of Microbiology, 66, 2012, s. 429-452.
10. Sikora A., Detman A., Chojnacka A., Błaszczyk M., *Anaerobic digestion: I. A common process ensuring energy flow and the circulation of matter in ecosystems. II. A tool for the production of gaseous biofuels*, [w:] Jozala A. (red.), *Fermentation processes*, In Tech, Rijeka, 2017, s. 271-301.
11. Shrestha S., Fonolla X., Khanal S.K., Raskina L., *Biological strategies for enhanced hydrolysis of lignocellulosic biomass during anaerobic digestion: Current status and future perspectives*, Bioresource Technology, 245, 2017, s. 1245-1257.
12. Sikora A., Detman A., Mielecki D., Chojnacka A., Błaszczyk M., *Searching for metabolic pathways of anaerobic digestion: a useful list of the key enzymes*, [w] Banu R. (red.), *Anaerobic Digestion*, In Tech, Rijeka, 2019.
13. Angenent L.T., Karim K., Al-Dahhan M.H., Wrenn B.A., Domiguez-Espinosa R., *Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater*, Trends in Biotechnology, 22, 2004, s. 477-485.

14. Hallenbeck P.C., *Fundamentals of the fermentative production of hydrogen*, Water Science & Technology, 52, 2005, s. 21-29.
15. Kraemer J.T., Bagley D.M., *Improving the yield from fermentative hydrogen production*, Biotechnology Letters, 29, 2007, s. 685-695.
16. Li F., Hinderberger J., Seedorf H., Zhang J., Buckel W., Thauer R.K., *Coupled ferredoxin and crotonyl coenzyme A (CoA) reduction with NADH catalyzed by the butyryl-CoA dehydrogenase/Etf complex from Clostridium klyuveri*, Journal of Bacteriology, 190, 2008, s. 843-850.
17. Diez-Gonzalez F., Russell J.B., Hunter J.B., *The role of an NAD-independent lactate dehydrogenase and acetate in the utilization of lactate by Clostridium acetobutylicum strain P262*, Archives of Microbiology, 164, 1995, s. 36-42.
18. Matsumoto M., Nishimura Y., *Hydrogen production by fermentation using acetic acid and lactic acid*, Journal of Bioscience and Bioengineering, 103, (2007), 236-241.
19. Shen G.-J., Annous B., Lovitt R., Jain M., Zeikus J., *Biochemical route and control of butyrate synthesis in Butyribacterium methylotrophicum*, Applied and Environmental Microbiology, 45, 1996, s. 355-362.
20. Detman A., Mielecki D., Chojnacka A., Salamon A., Błaszczuk M.K., Sikora A., *Cell factories converting lactate and acetate to butyrate: Clostridium butyricum and microbial communities from dark fermentation bioreactors*, Microbial Cell Factories, 18, 2019, 36.
21. Duncan S.H., Louis P., Flint H.J., *Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product*, Applied and Environmental Microbiology, 70, 2004, s. 5810-5817.
22. Kamagata Y., *Syntrophy in anaerobic digestion*, [w:] Fang H.P., Zhang T. (red.), *Anaerobic Biotechnology: Environmental Protection and Resource Recovery*, Imperial College Press: World Scientific, 2015, s. 13-32.
23. Worm P., Koehorst J.J., Visser M., Sedano-Núñez V.T., Schaap P.J., Plugge C.M., Sousa D.Z., Stams A.J.M., *A genomic view on syntrophic versus non-syntrophic lifestyle in anaerobic fatty acid degrading communities*, Biochimica et Biophysica Acta, 1837, 2014, s. 2004-2016.
24. Weghoff M.C., Bertsch J., Muller V., *A novel mode of lactate metabolism in strictly anaerobic bacteria*, Environmental Microbiology, 17, 2015, s. 670-677.
25. Bertsch J., Siemund A.L., Kremp F., Muller V., *A novel route for ethanol oxidation in the acetogenic bacterium Acetobacterium woodii: the acetaldehyde/ethanol dehydrogenase pathway*, Environmental Microbiology, 18, 2016, s. 2913-2922.
26. Luo G., Fotidis I.A., Angelidaki I., *Comparative analysis of taxonomic, functional, and metabolic patterns of microbiomes from 14 full-scale biogas reactors by metagenomic sequencing and radioisotopic analysis*, Biotechnology for Biofuels, 9, 2016, 51.
27. Van D.P., Fujiwara T., Leu Tho B., Song Toan P.P., Hoang Minh G., *A review of anaerobic digestion systems for biodegradable waste: Configurations, operating parameters, and current trends*, Environmental Engineering Research, 25, 2020, s. 1-17.
28. Berłowska J., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Dziekońska-Kubczak U., Patelski P., Dziugan P., Kręgiel D., *Simultaneous saccharification and fermentation of sugar beet pulp for efficient bioethanol production*, Hindawi Publishing Corporation, BioMed Research International, 2016, Article ID 3154929.
29. Ziemiński K., Kowalska-Wentel M., *Effect of enzymatic pretreatment on anaerobic co-digestion of sugar beet pulp silage and vinasse*, Bioresource Technology, 180, 2015, s. 274-280.
30. Detman A., Chojnacka A., Mielecki D., Błaszczuk M.K., Sikora A., *Inhibition of hydrogen-yielding dark fermentation by ascomycetous yeasts*, International Journal of Hydrogen Energy, 43, 2018, s. 10967-10979.
31. Detman A., Laubitz D., Chojnacka A., Kiela P.R., Salamon A., Barberán A., Chen Y., Yang F., Błaszczuk M.K., Sikora A., *Dynamics of dark fermentation microbial communities in the light of lactate and butyrate production*, Microbiome, 9, 2021, 158.

32. Detman A., Bucha M., Treu L., Chojnacka A., Pleśniak Ł., Salamon A., Łupikasza E., Gromadka R., Gawor J., Gromadka A., Drzewicki W., Jakubiak M., Janiga M., Matyasik I., Blaszczyk M.K., Jędrysek M.O., Campanaro S., Sikora A., *Evaluation of acidogenesis products' effect on biogas production performed with metagenomics and isotopic approaches*, *Biotechnology for Biofuels*, 14, 2021, 125.
33. Benemann J., *Hydrogen biotechnology: progress and prospects*, *Nature Biotechnology*, 14, 1996, s. 1101-1103.
34. Castelló E., Nunes Ferraz-Junior A.D., Andreani C., Anzola-Rojas M.d.P., Borzacconi L., Buitrón G., Carrillo-Reyes J., Damasceno Gomes S., Maintinguer S.I., Moreno-Andrade I., Palomo-Briones R., Razo-Flores E., Schiappacasse-Dasati M., Tapia-Venegas E., Valdez-Vázquez I., Vesga-Baron A., Zaiat M., Etchebehere C., *Stability problems in the hydrogen production by dark fermentation: Possible causes and solutions*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 119, 2020, 109602.

## **Beztlenowy rozkład produktów ubocznych i odpadowych przemysłu cukrowniczego jako źródło biopaliw gazowych**

### Streszczenie

Produkty odpadowe i uboczne przemysłu cukrowniczego stanowią atrakcyjne substraty dla mikroorganizmów fermentacyjnych w warunkach beztlenowych. Są one rozkładane do metanu i ditlenku węgla, czyli biogazu – cennego źródła zielonej energii. Beztlenowy rozkład składa się z czterech etapów: hydrolizy, kwasogenezы, octanogenezы i metanogenezы. Dwa ostatnie są ze sobą ściśle związane i można je oddzielić od kwasogenezы. Dzięki temu zwiększa się wydajność produkcji biometanu a dodatkowo można odzyskać biowodór produkowany w procesie kwasogenezы. W ramach projektu BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016 Narodowego Centrum Badań i Rozwoju prowadzone są prace wdrożeniowe i badawczo-rozwojowe. Wdrożenie obejmuje modernizację oczyszczalni ścieków Cukrowni KSC SA o/Dobrzelin, do której trafiają głównie wody splawiakowe z transportu buraków w czasie kampanii cukrowniczej. Biometan produkowany w części beztlenowej oczyszczalni ścieków jest wykorzystywany do produkcji energii cieplnej i elektrycznej w układzie kogeneracji ograniczając emisję gazów cieplarnianych do atmosfery. Część badawczo-rozwojowa projektu obejmuje demonstrację dwuetapowej instalacji produkującej biowodór w wyniku fermentacji kwaśnej melasy lub hydrolizatu wysłodków buraczanych (I etap) i biogaz w wyniku metagenizacji niegazowych produktów kwasogenezы (II etap). Prace te wskazały problemy natury biologicznej ograniczającej produkcję biowodoru, a nie mające wpływu na produkcję biometanu. Słowa kluczowe: bio-wodór, bio-metan, przemysł cukrowniczy, mikroorganizmy, beztlenowy rozkład biomasy

## **Anaerobic digestion of bio-waste and by-products of the sugar industry as a source of gaseous biofuels**

### Abstract

Bio-wastes and by-products of the sugar industry are attractive substrates for anaerobic fermentation microorganisms. They are digested to biogas (methane and carbon dioxide) – a valuable source of green energy. Anaerobic digestion involves four stages: hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis and methanogenesis. The two latter are tightly connected and can be separated from acidogenesis. This increases the efficiency of bio-methane production and, in addition, bio-hydrogen produced during acidogenesis can be recovered. The research project BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016 supported by the National Research and Development Center includes implementation phase as well as R&D phase. The implementation phase involves modernization of the sugar factory's waste-water treatment plant that operates during the sugar campaign and processes spent beet transport water. The biogas generated in the anaerobic part of the waste-water treatment plant is used in a cogeneration system for heat and electricity production, reducing the emission of greenhouse gases into the atmosphere. The R&D phase includes demonstration of a two-step installation producing bio-hydrogen as a result of molasses or beet pulp hydrolysate fermentation (I step) and biogas as a result of methanization of non-gaseous products of acidogenesis (II step). These studies identified biological problems limiting bio-hydrogen production but not affecting bio-methane production.

Keywords: bio-hydrogen, bio-methane, sugar industry, microorganisms, anaerobic digestion

## Indeks Autorów

Adamska I. ....	62	Małek M. ....	158
Biernacka P. ....	62	Nosek M. ....	189
Blauth O. ....	7, 24	Nowak Sz. ....	189
Dańda P. ....	129	Piotrowski J. ....	189
Detman A. ....	50, 189	Rutkowski M. ....	129
Dietrich-Muszalska A. ....	75	Siebielec G. ....	120
Drężek K. ....	50	Siebielec S. ....	120
Gajewski Z. ....	129	Sikora A. ....	50, 189
Gałużka A. ....	139	Sipchuk A. ....	75
Gmur D. ....	120	Sotek Z. ....	36
Godlewska K. ....	89	Stasińska M. ....	36
Gruszecki R. ....	102	Szewczyk M. ....	189
Khachatryan G. ....	129	Walasek-Janusz M. ....	102, 150
Kontek B. ....	36, 75	Walczak P. ....	50
Krzemińska-Fiedorowicz L. ....	129	Wiktorowska-Sowa E. ....	189
Kurek J. ....	178	Wnuk-Gnich A. ....	7, 24
Kuśmierz M. ....	102, 150	Zalewska E. ....	102
Lipniak B. ....	36	Zawiślak G. ....	102
Łasica W. ....	158		