Nauka, Badania i Doniesienia Naukowe 2018

Nauki przyrodnicze i medyczne

Idea Knowledge Future

Nauka, Badania i Doniesienia Naukowe

2018

Nauki przyrodnicze i medyczne

Idea Knowledge Future

Świebodzice, 2018

Recenzenci rozdziałów

dr hab. inż. Alina Matuszak-Flejszman, prof. nadzw. UEP, dr Dorota Panufnik-Mędrzycka, dr hab. Marek Lubelski prof. nadzw., dr. Piotr Ceryngier, dr hab. inż. Daniela Gwiazdowska, dr hab. inż. Agnieszka Nawirska-Olszańska, dr Anna Serwotka-Suszczak, prof. Agnieszka Piwowar, dr hab. Krzysztof Śmigielski, dr n. med. Alina Kuryłowicz, dr hab. n. med. Grażyna Adler prof. PUM, dr hab. inż. Elżbieta Jamroz prof. nadzw., dr hab. Robert Idziak, prof. dr hab. Edmund Grześkowiak, dr Barbara Parka, dr hab. n. o zdr. Monika Binkowska, dr Jarosław Herbert, dr hab. Andrzej Rzepka prof. UP., dr hab. Agnieszka Skowrońska prof. UE, dr hab. n. med. Marzenna Bartoszewicz prof. nadzw., dr hab. Robert Stawarz, dr hab. Barbara Barszcz prof. UJK, dr hab. Urszula Grzega prof. UE, dr hab. inż. Agnieszka Tórz prof. ZUT

Redakcja

Tobiasz Wysoczański

Opracowanie materiałów

Katarzyna Dereń

ISBN (całość kolekcji) 978-83-945311-4-0

ISBN 978-83-945311-7-1

Wydawca: Idea Knowledge Future

Spis treści

Zróżnicowanie potencjału antyoksydacyjnego oraz stężenia oksydacyjnie modyfikowanych białek i lipidów w zależności od płci u ludzi młodych

Agata Babst, Izabela Kokot, Katarzyna Sołkiewicz, Lilla Pawlik-Sobecka, Sylwia Płaczkowska **7**

Obrona roślin przed metalami ciężkimi na poziomie organizmu i komórki

Karolina Bodzon, Małgorzata Wierzbicka **17**

Rola wariantów genów z rodziny *CYP* w metabolizmie leków i detoksykacji tkanek

Robert Budawski, Aleksandra Jęckowska, Grażyna Adler **25**

Bakterie *Bacillus megaterium* zaaplikowane na osadzie ściekowym

Joanna Ciopińska, Elżbieta Bezak-Mazur **34**

Wiedza studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego w zakresie konsekwencji zdrowotnych palenia tytoniu

Angelika Ciupińska, Magdalena Magoń, Zuzanna Pyś, Filip Osuchowski **45**

The health effect of superfruits Goji (*Lyciumbarbarum* L.)

Justyna Dąbrowska **54**

Assessment of plant energy intensity of production in farms with different acreages

Katarzyna Dereń **63**

Essential oil from German chamomile (*Matricariachamomilla* L.) andRoman chamomile (*Chamaemelumnobile* L.)

Justyna Dąbrowska **71**

Potencjał alg w żywieniu człowieka

Emilia Drozłowska **79**

Wpływ zaprawiania nasion na wigor i wczesny wzrost siewek rzepaku ozimego

Monika Grzanka, Daria Antkowiak, Adela Andrzejak, Paulina Brus, Alicja Buda, Adam Sobkowiak, Wojciech Białczak **89**

Ocena preferencji konsumenckich dotyczącychspożycia produktów ekologicznych

Bartosz Grzeszkowiak **97**

Consumers' attitudes towards traditional food and cuisine. Literature and researches review

Gabriela Hanus **108**

Wybrane czynniki genetyczne związane z ryzykiem występowania poronień u kobiet rasy kaukaskiej

Aleksadnrd Jęckowska, Robert Budawski, Grażyna Adler **116**

Badanie preferencji konsumenckich dotyczących spożycia mleka ekologicznego

Angelika Kaczorowska **125**

Wermikompost – produkcja i zastosowanie

Andrea Kałuża-Haładyn **134**

Indeksy dojrzałości kompostów

Andrea Kałuża-Haładyn **143**

Porównanie dwóch metod oceny potencjału antyoksydacyjnego krwi

Aleksandra Kiraga, Lilla Pawlik-Sobecka, Izabela Kokot, Katarzyna Sołkiewicz, Sylwia Płaczkowska **152**

Aktywność reduktazy azotanowej i azotynowej liści roszponki warzywnej

Ewelina Knop **161**

Chemia biokoordynacyjna w badaniach toksyczności związków ołowi

Mateusz Kowalik **171**

Ocena poziomu wiedzy studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego z zakresu pierwszej pomocy w wybranych stanach nagłych

Magdalena Magoń, Angelika Ciupińska, Paulina Sokołowska, Filip Osuchowski **181**

Kliniczne zastosowanie deksmedetomidyny w anestezjologii u pacjentów pediatrycznych

Mirosław Malec, Agnieszka Bienert **191**

Zespół policystycznych jajników

Anna Nowak, Urszula Ambroziak **200**

Aktywność przeciwbakteryjna wybranych substancji pochodzenia roślinnego względem *Staphylococcus aureus*, w obecności i przy braku emulgatora - Tween 80

Elżbieta Piątkowska, Maciej Włodarczyk, Filip Kominek, Aleksandra Chwiećko, Malwina Brożyna **210**

Inwazja biedronki azjatyckiej *Harmonia axyridis* na świecie

Marta Piotrowska, Karolina Bodzon, Dominika Sitarska **221**

Emocje i ich rola w życiu społecznym osób z zespołem Downa

Edyta Polaczek **230**

Agroturystyka jako alternatywne źródło dochodów na przykładzie gospodarstw leżących na terenie Bieszczadów

Beata Prukop **238**

Przyczyny zawałów serca u młodych ludzi

Zuzanna Pyś, Paulina Sokołowska, Magdalena Magoń **247**

Wiedza o zdrowiu a wybrane zachowania zdrowotne studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego

Paulina Sokołowska, Zuzanna Pyś, Angelika Ciupińska, Filip Osuchowski **256**

Wpływ kofeiny na ruchliwośćplemników Indyczych

Katarzyna Stachańczyk **266**

Mikrobiologiczne zanieczyszczenia świeżych i minimalnie przetworzonych warzyw

Julia Szutowska **275**

Wpływ kompleksu inkluzyjnego metyl-β-cyklodekstryny i kurkuminy na proces apoptozy mezenchymalnych komórek macierzystych koni cierpiących na syndrom metaboliczny

Joanna Szydlarska, Krzysztof Marycz **284**

Wzbogacanie przecieru z owoców Rokitnika pospolitego (*Hippophaerhamnoides* L.) niekonwencjonalnymi substancjami słodzącymi

Karolina Tkacz, Igor Turkiewicz **293**

Foodsharing jako narzędzie minimalizowania marnotrawstwa w branży spożywczej

Aleksandra Zachariasz **303**

Zróżnicowanie potencjału antyoksydacyjnego oraz stężenia oksydacyjnie modyfikowanych białek i lipidów w zależności od płci u ludzi młodych

Agata Babst [(1)], Izabela Kokot [(2)], Katarzyna Sołkiewicz [(2)], Lilla Pawlik-Sobecka [(2)], Sylwia Płaczkowska [(3)]

[1] Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,
[2] Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
[3] Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Agata Babste-mail: agata.babst@onet.pl

Streszczenie
Brak równowagi między produkcją a usuwaniem wolnych rodnikówz organizmu określany jest mianem stresu oksydacyjnego. Występowanie tego zjawiska jest udokumentowane w wielu chorobach. Fizjologiczne różnice wartości między mężczyznami i kobietami obserwowane są dla wielu parametrów biochemicznych.Celem pracy była ocena występowania różnic wartości dla parametrów oceniających całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAS i FRAP) oraz nasilenia oksydacyjnych modyfikacji białek (AOPP) i lipidów (TBAR) oraz stężenia grup tiolowych u młodych potencjalnie zdrowych kobiet i mężczyzn. W badaniu wzięły udział 153 osoby (40 mężczyzn i 113 kobiety) w wieku 19-31 lat. Wartości całkowitego potencjału antyoksydacyjnego mierzonego metodami TAS i FRAP oraz AOPPróżniły się istotnie pomiędzy zdrowymi młodymi kobietami i mężczyznami. Dla wartości grup tiolowych oraz TBAR nie obserwowano różnic między płciami. Wyniki badań wskazują, że przy wprowadzaniu do rutynowej diagnostyki laboratoryjnej parametrów TAS i FRAP oraz AOPP, konieczne jest uwzględnienie płci pacjenta przy interpretacji uzyskanych wyników.

Słowa kluczowe: stres oksydacyjny, wolne rodniki, płeć

Differences in blood antioxidant potential and oxidative modified proteins and lipids depending on gender in young people

Summary
The imbalance between production and removing free agents is called as an oxidative stress and its occurrence was found in many diseases. Human organism owns effective mechanisms which are responsible for the removal of the excess of free radicals. Differences between males and females are observed in values of many biochemical parameters. The aim of the study was to assess the occurrence of value differences for the parameters of the total antioxidant status (TAS and FRAP) and severity of oxidative modification of proteins (AOPP) and lipids (TBAR) as well as concentration of thiol groups, in young potentially healthy women and men. 153 people (40 men and 113 women) aged 19-31 participated in the study. The values of the TAS, FRAP and AOPP methods were significantly different between healthy young women and men. No differences between the gender were observed for the thiol groups and TBAR. The results of the research show that when introducing the TAS and FRAP and AOPP parameters for routine laboratory diagnostics, it is necessary to take into account the gender of the patient when interpreting the obtained results.

Key words: oxidative stress, free radicals, gender

1. Wstęp

Cząsteczka tlenu może ulegać redukcji w reakcjach dwuelektronowych do cząsteczki wody oraz w reakcjach jednoelektronowych, w przebiegu, których powstają wolne rodniki tlenowe ROS (ang. *reactiveoxygenspecies*), określane również, jako reaktywne formy tlenu (RFT). ROS są to cząsteczki posiadające, co najmniej jeden atom tlenu i co najmniej jeden lub więcej niesparowanych elektronów. Cząsteczka taka charakteryzuje się bardzo dużą reaktywnością, krótkim okresem trwania i niezwykłą łatwością wchodzenia w reakcje chemiczne z innymi

związkami chemicznymi. Do grupy wolnych rodników tlenowych zaliczane są głównie: rodnik hydroksylowy, anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik wodoronadtlenkowy, rodnik nadtlenkowy.

W każdej komórceorganizmu ludzkiego zachodzą liczne reakcje utleniania i redukcji, prowadzące do powstania wolnych rodników tlenowych. Powstające reaktywne formy tlenu uwalniane w fizjologicznych ilościach pełnią rolę mediatorów i regulatorów procesów komórkowych, zapewniając komórkom i tkankom prawidłowe funkcjonowanie. Uczestniczą w wielu procesach, m.in.wzroście i proliferacji komórek, funkcjonowaniu układu odpornościowego, skurczu mięśni, wydzielaniu hormonów oraz usuwaniu ksenobiotyków z organizmu.

Głównym endogennym źródłem aktywnych postaci tlenu w organizmie są przemiany zachodzące w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym.Komórkamiprodukującymi ROS w dużych ilościach są komórki śródbłonka płuc, komórki krwi: granulocyty obojętnochłonne i kwasochłonne, monocyty oraz makrofagi tkankowe. Do egzogennych czynników powodujących zwiększoną produkcję wolnych rodników tlenowych zaliczane są: nieprawidłowa dieta, palenie tytoniu, spożywanie alkoholu, zanieczyszczenie środowiska oraz narażenie na promieniowanie jonizujące.

Zaburzenie równowagi między natężeniem procesów oksydacyjnych, generujących reaktywne formy tlenu, a przeciwdziałającym skutkom ich działania układów antyoksydacyjnych, określa się mianem stresu oksydacyjnego, który jest elementem patogenezy wielu chorób m.in. układu krążenia, płuc, oczu, zapalenia wątroby, zapalenia trzustki, cukrzycy oraz chorób degeneracyjnych układu nerwowego. Wolne rodniki tlenowe przyczyniają się także do przyspieszenia procesów starzenia organizmu oraz odgrywają istotną rolę w procesach kancerogenezy.

Wolne rodniki wywołują modyfikacje chemiczne oraz uszkadzają białka (agregacja i denaturacja), lipidy (peroksydacja), węglowodany i kwasy nukleinowe, zapoczątkowując zmiany w strukturze DNA mogące doprowadzić do mutacji, inicjacji procesu kancerogenezylub wywołania efektów cytotoksycznych. RFT wytwarzane w dużych stężeniach utleniają składniki komórki, co prowadzi do jej dysfunkcji, a w konsekwencji nawet do śmierci na drodze apoptozy lub nekrozy.

Peroksydacja lipidów jest to wolnorodnikowy proces utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych lub innych lipidów, którego produktami są odpowiednie nadtlenki tych związków. Peroksydacja składa się z trzech faz: inicjacji, propagacji i terminacji. Końcowymi produktami tego procesu są aldehydy m.in.malonylodialdehyd (MDA) i hydroksyaldehydynp.

4-hydroksynonenal, 2-alkenale, hepta-2,4-dienal i inne, a także węglowodory takie jak etan i pentan. Produkty peroksydacji lipidów cechują się mniejszą reaktywnością niż wolne rodniki, dzięki czemu mogą dyfundować i rozprzestrzeniać się w organizmie. Efektami ich działania są m.in. zmiana właściwości antygenowych białek, z którymi się łączą, hamowanie aktywności enzymów, mogą powodowaćtakże pęknięcia nici DNA, przez co działają mutagennie i kancerogennie. Produkty peroksydacji lipidów wpływają na właściwości fizyczne błon komórkowych (depolaryzacja błony, zaburzenie asymetrii lipidowej, zwiększenie przepuszczalności błony dla jonów H^+ i innych substancji polarnych, zahamowanie aktywności enzymów błonowych i białek transportowych), czego skutkiem może być utrata integralności błony wewnątrzkomórkowej i zewnątrzkomórkowej. Aldehydowe produkty peroksydacji oraz nadtlenki kwasów tłuszczowych osłabiają zależność między transportem elektronów w obrębiełańcucha oddechowego, a syntezą ATP w mitochondriach.

Działanie reaktywnych form tlenu na białka prowadzi do modyfikacji reszt aminokwasowych, modyfikacji grup prostetycznych enzymów oraz agregacji lub fragmentacji cząsteczek białkowych. Uszkodzenie oksydacyjne białka prowadzi do utraty aktywności biologicznej tego białka, a nagromadzenie utlenionych produktów białkowych upośledza funkcje komórki i może doprowadzić nawet do jej śmierci.Działanie wolnych rodników na cząsteczki białek doprowadza do utworzenia mostków disiarczkowych, wiązań krzyżowych między łańcuchami białkowymi, a w konsekwencji, ich fragmentacji lub agregacji.

Ludzki organizm wytworzył wiele mechanizmów chroniących go przed szkodliwym działaniem wolnych rodników tlenowych. System antyoksydacyjny składa się z układów enzymatycznych i nieenzymatycznych w skład, którego wchodzą związki pochodzenia endo- i egzogennego. Są to substancje- antyoksydanty (przeciwutleniacze), które hamują oksydację cząsteczek i powodują przekształcanie wolnych rodników do nieaktywnych pochodnych. System nieenzymatyczny tworzą substancje przekazujące rodnikom elektrony, a same przechodzące w postać utlenioną. Do związków egzogennych należy: witamina C (kwas askorbinowy), witamina E (alfa-tokoferol), witamina i prowitamina A (β-karoten) i polifenole, natomiast endogennymi przeciwutleniaczami są: zredukowany glutation (GSH), kwas moczowy, bilirubina, ceruloplazmina, ferrytyna, transferyna, albumina oraz hormony płciowe (estron, estradiol).

System enzymatycznej ochrony przed działaniem aktywnych postaci tlenu tworzą wyspecjalizowane enzymy, które katalizująreakcje usuwające wolne rodniki, ale również zapobiegające ich powstawaniu. Do takich enzymów zalicza się: dysmutazę ponadtlenkową

(SOD), peroksydazę glutationową (GPx), reduktazę glutationową (GRd), S-transferazęglutationu (GST) oraz katalazę (CT).

Całościowa wydolność mechanizmów antyoksydacyjnych może być mierzona metodami laboratoryjnymi, jako całkowity potencjał antyoksydacyjny płynów ustrojowych, który najczęściej oznaczany jest we krwi obwodowej. Interpretacja wyników oznaczeń potencjału antyoksydacyjnego krwi dokonywana jest w odniesieniu do wartości określonych, jako referencyjne.

Obecnie dla wielu parametrów biochemicznych stosowane są odmienneprzedziały wartości referencyjnych w odniesieniu do płci pacjenta. Fizjologicznie obserwowane różnice wartości danych parametrów laboratoryjnych wynikają głównie z odmiennej regulacji hormonalnej u kobiet i mężczyzn. Przy wprowadzaniu nowych parametrów z zakresu oceny potencjału antyoksydacyjnego i stężenia oksydacyjnie zmodyfikowanych białek i lipidów do rutynowej diagnostyki laboratoryjnej istotne jest zbadanie i ocena nasilenia różnicy wartości analizowanych parametrów w odniesieniu do czynników niemodyfikowalnych, np. takich jak płeć pacjenta. Pozwoli to na właściwą interpretację wyników oznaczeń laboratoryjnychpotencjału antyoksydacyjnego krwi i nasileniastresu oksydacyjnego u pacjentów różnej płci.

Celem pracy było ocena występowania różnic wartości dla parametrów oceniających całkowity potencjał antyoksydacyjny TAS (ang. Total Antioxidant Status) i FRAP (ang. The Ferric Reducing Ability of Plasma) oraznasileniaoksydacyjnychmodyfikacjibiałekAOPP (ang. Advanced Oxidation Protein Product) i lipidów TBAR (ang. Thiobarbituric Acid Reactive Substances) oraz stężenia grup tiolowych u młodych potencjalnie zdrowych kobiet i mężczyzn.

2. Grupa badana

Grupę badaną stanowiły 153 potencjalnie zdrowe osoby- w tym 40 mężczyzn i 113 kobiet w wieku 19-31 lat. Ochotnicy zgłaszali się dobrowolnie do Diagnostycznego Laboratorium Naukowo-Dydaktycznego na czczo i wyrażali pisemną zgodę na udział w badaniu. Uczestnicy wypełniali autorską ankietę dotyczącą stanu zdrowia i stylu życia oraz deklarowali ogólny dobry stan zdrowia i brak stanów chorobowych mogących wpływać na oceniane parametry.Od każdego ochotnika pobierano krew żylną, z której pozyskiwano surowicę zgodnie z procedurą obowiązującą w ww.Laboratorium, która obejmowała 30 minutowy okres wykrzepiania krwi po pobraniu. Następnie próbki surowicy były oddzielane od elementów morfotycznych i zamrażane w temperaturze – 20°C do czasu wykonania badań laboratoryjnych.

3. Metody badawcze

Parametry laboratoryjne oznaczane w surowicy krwi pacjentów to: całkowity status antyoksydacyjny (TAS), zdolność redukcji jonów żelazowych (FRAP), stężenie zaawansowanych produktów oksydacji białek (AOPP) i stężenie związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBAR) orazstężenie grup tiolowych.

- Oznaczenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS)

Zasada oznaczenia: 2,2´- azobis (2-amidynopropan) (AAPH) ulega rozpadowi, a w obecności tlenu rodnik ten ulega przekształceniu w rodniki alkoksylowe i nadtlenkowe, które utleniają 2,2´- azynobis (3-etylotiazolino-6-sulfonian) (ABTS) do zielononiebieskiego, stabilnegokationorodnika $ABTS^{\cdot+}$. Jeśli w badanej próbce obecne są antyoksydanty, reagują one w pierwszej kolejności z wolnymi rodnikami powstającymi w układzie lub redukują powstający kationorodnik $ABTS^{\cdot+}$ do związku bezbarwnego. Stopień odbarwienia mieszaniny reakcyjnej jest proporcjonalny do ilości antyoksydantów obecnych w oznaczanej próbce.Badanie wykonano zestawemodczynnikowym TAS firmy RANDOX z wykorzystaniem analizatora biochemicznego Konelab 20i, firmy ThermoScientific.

- Oznaczenie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej z wykorzystaniem reakcji redukcji jonów żelaza (III) (FRAP)

Zasada oznaczenia: badanymateriał zawierający antyoksydanty dodawany jest do roztworu zawierającego jony Fe^{3+}. Antyoksydanty redukują Fe^{3+} do Fe^{2+}, który tworzy barwny kompleks z obecną w roztworze 2,4,6- tripirydylo-S-triazyną (TPTZ). Wzrost absorbancji wytworzonego kompleksu TPTZ-Fe^{2+} jest proporcjonalny do zawartości antyoksydantów w danej próbce.

- Oznaczenie zawartości grup tiolowych w białkach

Zasada oznaczenia: kwas 5,5´ditiobis(2-nitrobenzoesowy) reaguje z grupami tiolowymi białek (-SH). W wyniku reakcji uwalnia się anion 5-tio-2-nitrobenzoesanowy, mający intensywną żółtą barwę, proporcjonalną do zawartości grup tiolowych w białkach badanej próbki.

- Oznaczenie stężenia produktów peroksydacji lipidów z kwasem tiobarbiturowym (TBAR)

Zasada oznaczenia:metoda ta oparta jest na reakcji malonylodialdehydu(MDA) z kwasem tiobarbiturowym. W reakcji prowadzonej w kwaśnym środowisku i w podwyższonej temperaturze powstaje barwny addukt, którego nasilenie barwy jest proporcjonalne do stężenia produktów peroksydacji lipidów. Reakcja ta jest niespecyficzna- oprócz MDA z kwasem tiobarbiturowym reaguje szereg innych związków, dając addukty, które pochłaniają

światło w zbliżonym zakresie długości fali, są to m.in. bilirubina, kwas sjalowy, produkty degradacji polisacharydów. Aby wyeliminować wpływ tych związków, reakcję prowadzi się w obecności inhibitorów peroksydacji lipidów takich jak butyrylohydroksytoluen.

- Oznaczanie stężenia zaawansowanych produktów oksydacjibiałek (AOPP)

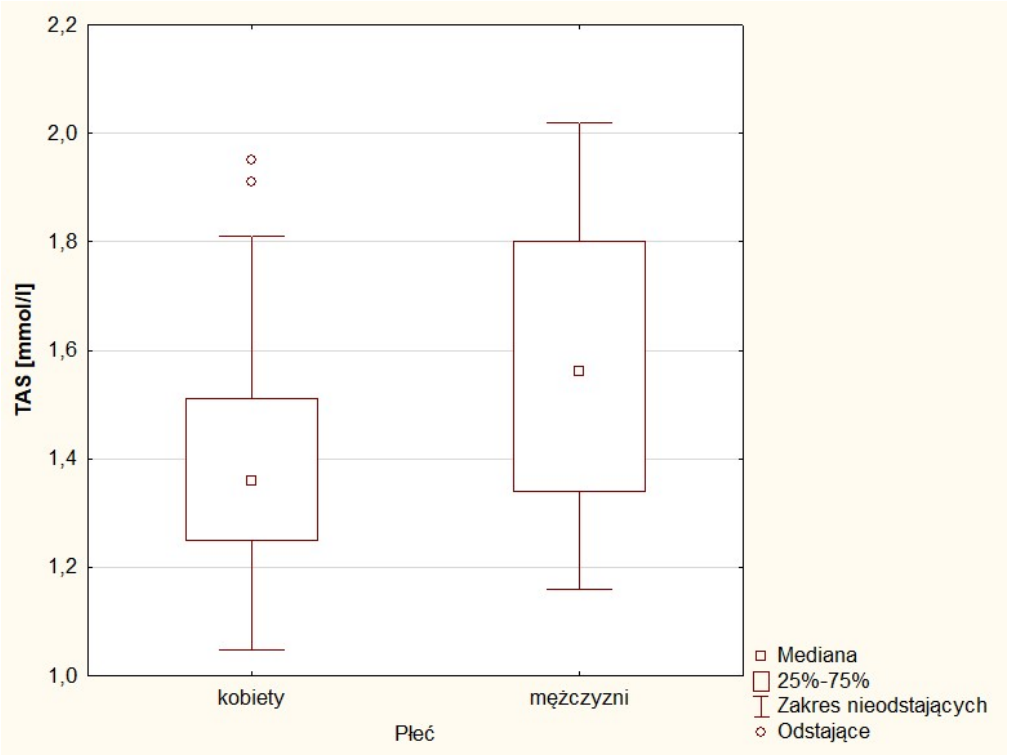
Zasada oznaczenia: zaawansowane produktyoksydacji białek, w kwaśnym środowisku i obecności jodku potasu wykazują absorbancję proporcjonalna do ich stężenia, która jest mierzona spektrofotometrycznie.

Oznaczenia AOPP, TBAR i grup tiolowych białek były przeprowadzane manualnymi metodami spektrofotometrycznymi z wykorzystaniem spektrofotometru Marcel Media.

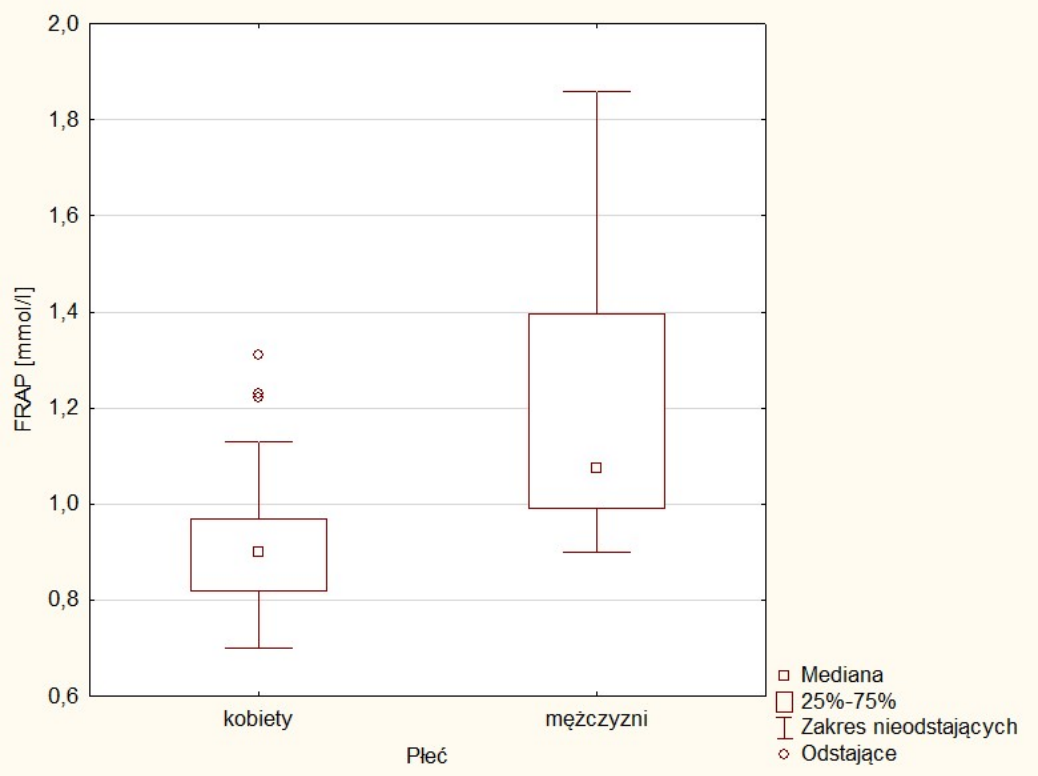
Wartości analizowanych parametrów podane zostały, jako mediany (Me). Analiza statystyczna uzyskanych wyników oznaczeń laboratoryjnych została przeprowadzona za pomocą testu U Manna-Whitneya z wykorzystaniem pakietu Statistica13.PL firmy StatSoft, Polska. Jako istotny statycznie został przyjęty poziom prawdopodobieństwa < 0,05.

4. Wyniki

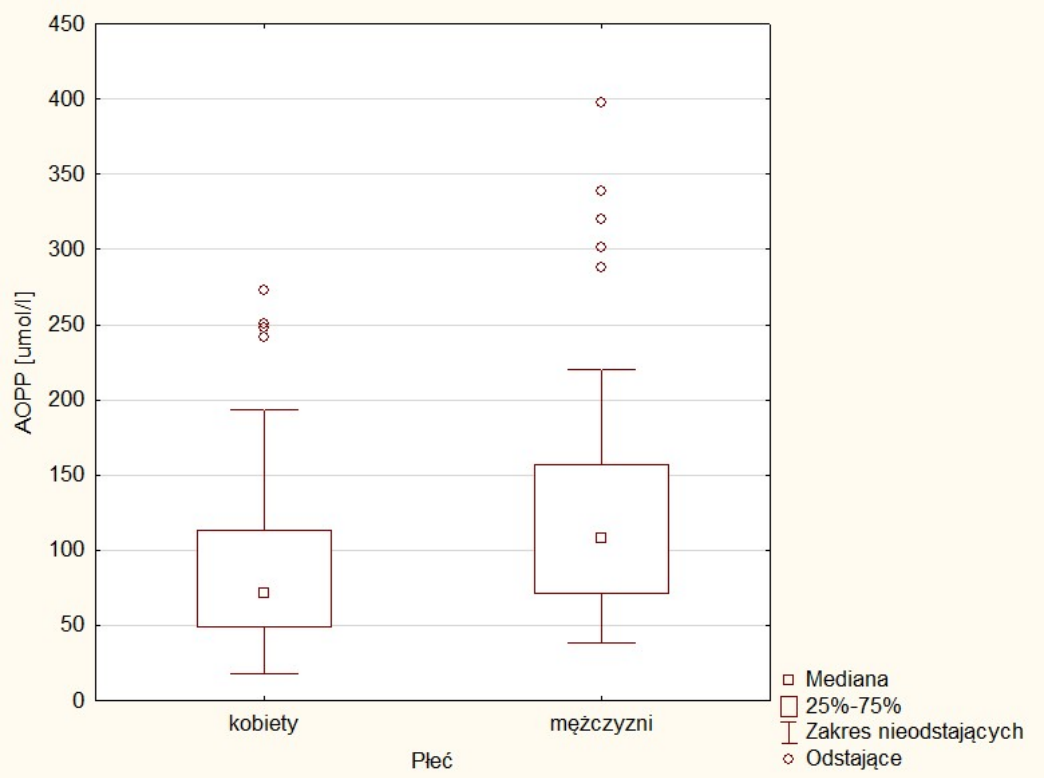
Uzyskane wyniki wykazały różnice dla niektórych analizowanych parametrów w zależności od płci uczestników. Mężczyźni charakteryzowali się wyższym stężeniem potencjału antyoksydacyjnego mierzonego metodą TAS w porównaniu do kobiet (Me [mmol/l] 1,56 vs1,36; p<0,01) i FRAP (Me [mmol/l] 1,07 vs 0,90; p<0,001). Wyniki analizy zostały przedstawione na wykresach 1, 2, 3,4 i 5.



Wykres 1: Porównanie wartości stężeń TAS u kobiet i mężczyzn.



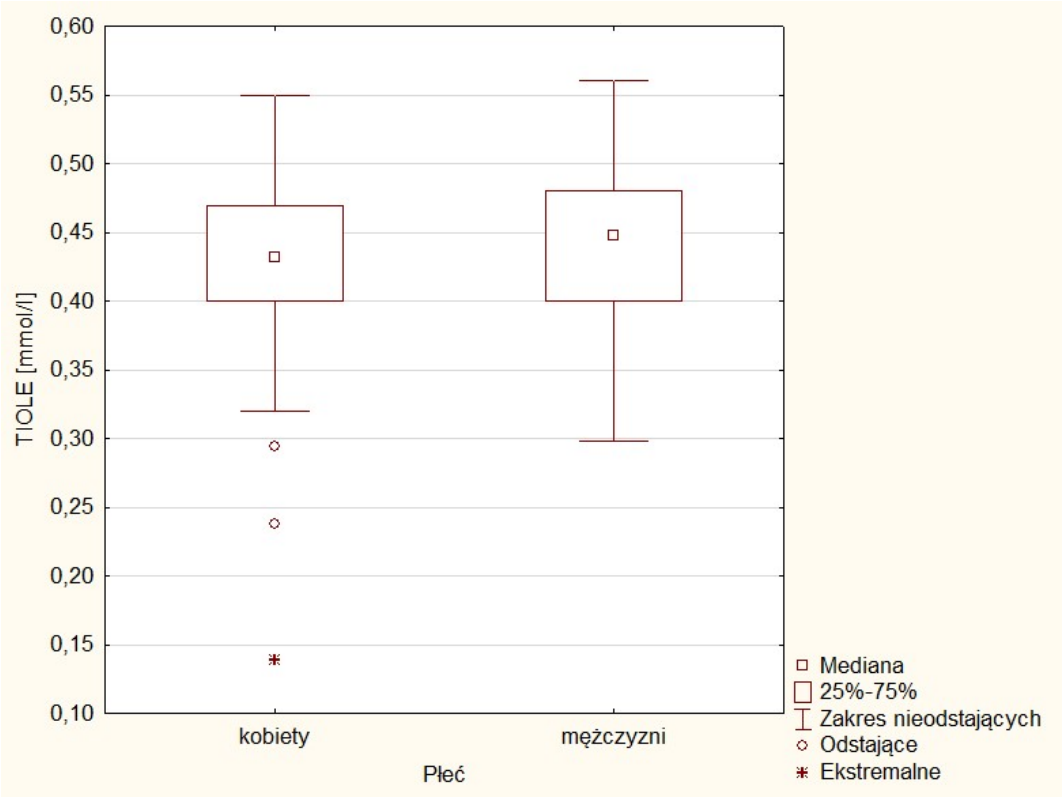
Wykres 2: Porównanie wartości stężeń FRAP u kobiet i mężczyzn.



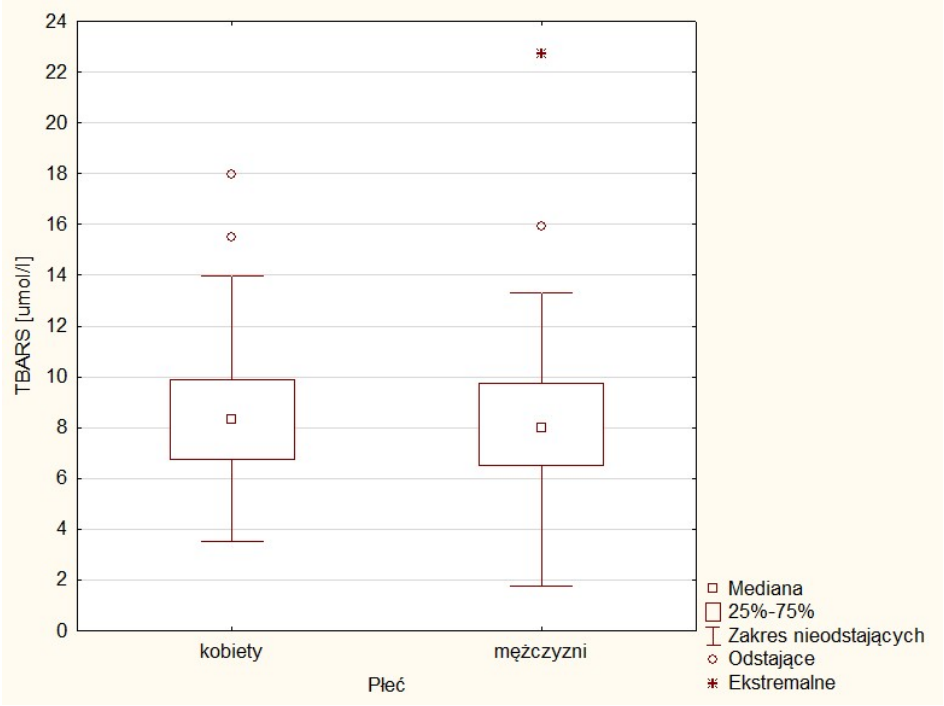
Wykres 3: Porównanie wartości stężeń AOPP u kobiet i mężczyzn.

Stwierdzono również, że wyższy poziom potencjału antyoksydacyjnego u mężczyzn w porównaniu do kobiet związany jest z wyższym stężeniem AOPP (Me [µmol/l] 107,5 vs 71,6; $p<0,001$). Stężenie grup tiolowych i TBAR było porównywalneu kobiet i mężczyzn i nie wykazano istotnych różnic między płciami. Wynosiły one odpowiednio dla grup

tiolowych(Me [mmol/l] 0,45 vs. 0,43; p=0,253) oraz TBAR (Me [µmol/l] 8,00 vs. 8,31; p=0,796).



Wykres 4: Porównanie wartości stężeń grup tiolowych u kobiet i mężczyzn.



Wykres 5: Porównanie wartości stężeń TBAR u kobiet i mężczyzn**.**

5. Dyskusja i wnioski

Wolne rodniki są wytwarzane w sposób ciągły w organizmie ludzkim, jako efekt przemian metabolicznych zachodzących w komórkach, a skutkiem ich niekorzystnego, oksydacyjnego

działania jest trwała modyfikacja struktury i funkcji białek oraz lipidów. Brak równowagi między produkcją a usuwaniem wolnych rodników określany jest mianem stresu oksydacyjnego. Występowanie tego zjawiska jest udokumentowane w wielu chorobach o różnej patogenezie. Aktualnie w rutynowych laboratoriach medycznych nie są powszechnie stosowane metody oceny nasilenia stresu oksydacyjnego oraz wydolności mechanizmów antyoksydacyjnych. Jednak potwierdzony udział reakcji wolnorodnikowych w patogenezie chorób wskazuje na potrzebę oznaczania tych parametrów w praktyce klinicznej. Wprowadzenie tych parametrów do oferty badań dostępnych w laboratoriach medycznych wymaga jednakże automatyzacji metod badawczych oraz wyznaczenia wartości odniesienia dla interpretacji uzyskanych wyników. Aktualnie na polskim rynku, jako jedyny dostępny jest komercyjny zestaw odczynnikowy do znaczeń TAS, firmy Randox.

Jednak w aktualnym piśmiennictwie fachowym brak jest wyników badań porównywalnych do przedstawionych w niniejszej pracy dla populacji młodych zdrowych osób w zakresie oznaczeń całkowitego potencjału antyoksydacyjnego oznaczanego metodami TAS i/lub FRAP oraz nasilenia procesów oksydacyjnych białek i lipidów (AOPP, TBAR), a także stężeń grup tiolowych.Wyniki przedstawione przez innych autorów, dotyczą głównie badań produktów oksydacyjnych modyfikacji białek i lipidów (AOPP, TBAR, grupy tiolowe białek) wykonanych w populacjach pacjentów w odmiennym wieku - wśród dzieci lub osób starszych,a co najważniejsze bez rozróżnienia płci pacjentów. Z tego powodu porównanie uzyskanych przez nas wyników z wynikami publikowanymi przez innych autorów jest utrudnione.Potencjał antyoksydacyjny surowicy krwi uczestników naszego badania, mierzony metodami TAS i FRAP różni się istotnie pomiędzy zdrowymi młodymi kobietami i mężczyznami. Wyższe wartości potencjału antyoksydacyjnego u mężczyzn mogą wskazywać na wyższe stężenie wolnych rodników, a stan ten znajduje odzwierciedlenie w wyższym stężeniu zaawansowanych produktów oksydacji białek.Natomiast wyższe wartości potencjału antyoksydacyjnego nie mają wpływu na stężenia grup tiolowych białek i produktów peroksydacji lipidów reagujących z kwasem tiobarbiturowym. Obserwowane różnice w wynikach oznaczeń potencjału antyoksydacyjnego i stężeniu produktów oksydacji białek uwidocznione w naszym badaniu dla młodych, potencjalnie zdrowych kobiet i mężczyzn najprawdopodobniej wynikają właśnie z odmienności powodowanej płcią i związaną z nią odmienną gospodarką hormonalną, jak również nawykami żywieniowymi czy stylem życia (np. aktywność fizyczna). W przypadku wprowadzenia do rutynowego zastosowania w laboratoriach medycznych wyżej wymienionych parametrów służących ocenie statusu antyoksydacyjnego krwi, konieczne będzie wyznaczenie odmiennych

przedziałów referencyjnych dla obu płcina podstawie wyników uzyskanych w większej populacji.Pomocnym byłoby także wypełnienie przez badanych odpowiedniej ankiety, w której uwzględniono by informacje dotyczące diety i aktywności fizycznej.

6. Literatura

Bartoń H., Fołta M., Zachwieja Z., Zastosowanie metod FRAP, ABTS i DPPH w badaniu aktywności antyoksydacyjnej produktów spożywczych, Nowiny Lekarskie, 2005, 74; str. 510-513

Bartosz G., Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2003, str. 13-14, 99-104, 106-109, 110-116, 144-198, 228-232, 358-359, 365-366, 389-391, 392-393

Czajka A., Wolne rodniki tlenowe, a mechanizmy obronne organizmu, Nowiny Lekarskie, 2006, 75; str. 582-586

Karolkiewicz J., Wpływ stresu oksydacyjnego na strukturę i funkcje komórek oraz konsekwencje wynikające z uszkodzeń wolnorodnikowych- związek z procesami starzenia, Gerontologia Polska, 2011, 2; str. 59-67

Kanpik- Kordecka M., Piwowar A., Warwas M., Zaburzenia równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej, a czynniki ryzyka miażdżycy i powikłania naczyniowe u chorych na cukrzycę typu 2, Wiadomości Lekarskie, 2007, 60; str. 7-8

Kulbacka J., Saczko J., Chwiłkowska A., Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek, Polski Merkuriusz Lekarski, 2009, XXVII, 157,44

Potargowicz E., Szerszenowicz E., Staniszewska M., Nowak D., Mitochondria jako źródło reaktywnych form tlenu, Postępy Hig. Med. Dosw (online), 2005, 59; str. 259-266

Salmanowicz B., Noczyńska A., Krzystek-Korpacka M., Ocena markerów oksydacji białek (AOPP) i lipidów (TBARs) u dzieci z cukrzycą typu 1, Endokrynologia Pediatryczna, 2009, 8; str. 33-44

Witko-Sarsat V., Friedlander M., Capeillere-Blandin C., Zguyen-Khoa T., Thu Nguyen A., Zingraff J., Jungers P., Descamps-Latscha B., Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia, Kidney International, 1996, 49; str. 1304-1313

Obrona roślin przed metalami ciężkimi na poziomie organizmu i komórki

Karolina Bodzon [(1)], Małgorzata Wierzbicka [(1)]

[1] Pracownia Ekotoksykologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski
Karolina Bodzon: kk.bodzon@biol.uw.edu.pl

Streszczenie
Zanieczyszczenia środowiska to jeden z największych problemów dzisiejszych czasów. Skażenie gleb, wód i powietrza spowodowało ograniczenie występowania wielu gatunków roślin. Jednakże u niektórych gatunków występują procesy pozwalające na przystosowanie się do nowych, niekorzystnych warunków.
U roślin występują pewne mechanizmy obronne umożliwiające przetrwanie np. w obecności dużych stężeń metali ciężkich w glebie. Wiele z tych mechanizmów polega na występowaniu barier np. w endodermie korzenia, które mają za zadanie zatrzymywanie metali ciężkich. Tym samym ochraniają przed toksycznym działaniem metali ciężkich, części zielone i generatywne rośliny. Drugim typem mechanizmów obronnych są procesy zachodzące na poziomie komórkowym, które umożliwiają detoksykację metali ciężkich w ścianach komórkowych bądź wakuolach. Gdzie nie stanowią one już zagrożenia dla całej komórki.

Słowa kluczowe: detoksykacja, metale ciężkie, wakuola, ściana komórkowa, endoderma

Defense of the plants against heavy metals at the organism and cell level

Summary
Environmental pollution is one of the biggest problems of nowadays. Contamination of soils, water and air caused the limitation of the occurrence of many plant species. However, some species have processes that allow them to adapt to new, unfavorable conditions.
In plants there are some defensive mechanisms that enable survival, e.g. in the presence of high concentrations of heavy metals in the soil. Many of these mechanisms involve the occurrence of barriers, e.g. in the root endoderm, which are designed to retain heavy metals. In this way, green and generative parts ofplants are protected against toxic effects of heavy metals.The second type of mechanisms are processes occurring at the cellular level, which enable the detoxification of heavy metals in cell walls or vacuoles, where they are no longer a threat to the entire cell.

Key words: detoxification, heavy metals, vacuole, cell wall, endoderm

1. Wstęp

W obecnych czasach zanieczyszczenia gleby, powietrza i wody metalami ciężkimi są bardzo powszechne. Przyczynia się do tego przede wszystkim postępujący rozwój przemysłu, hutnictwa, rolnictwa, medycyny czy technologii. Pochodzące z tych źródeł metale ciężkie zanieczyszczają okoliczne gleby, co z kolei ma negatywny wpływ na organizmy żywe tam występujące.

Problem ten dotyczy nie tylko terenów znajdujących się niedaleko hut czy fabryk, ale również gleb terenów rolniczych, uprawnych i tych służących do wypasania bydła.

Rośliny występujące na skażonych terenach, pobierają metale ciężkie przez korzenie wraz z wodą i solami mineralnymi. Niektóre z tych roślin zjadane są przez zwierzęta hodowlane, które następnie spożywamy, a niektóre trafiają prosto na nasze stoły.

Dużym zagrożeniem dla naszego zdrowia są metale ciężkie zawarte np. w roślinach uprawnych, które pobierają poprzez korzenie z gleby. Następnie my wprowadzamy je do swojej codziennej diety. Rośliny wykazują się znacznie wyższą odpornością

na toksyczne działanie metali ciężkich niż zwierzęta i ludzie. Spowodowane jest to przede wszystkim obecnością mechanizmów detoksykujących w strukturach komórkowych roślin.

Procesy obronne roślin przed toksycznym działaniem metali ciężkich polegają głównie na odkładaniu jonów tych pierwiastków np. w ścianie komórkowej i wakuoli. Mechanizm ten nazywany detoksykacją powoduje, iż metale ciężkie nie stanowią już zagrożenia dla pozostałych organelli komórkowych. A prawidłowa praca komórek roślinnych nie zostaje zaburzona.

W związku z tym rośliny mogą z powodzeniem występować zarówno na terenach czystych, jak i skażonych metalami ciężkimi. Metale ciężkie zatrzymane w procesach detoksykacji, pozostają w komórkach roślin. Które następnie spożywane są przez ludzi i zwierzęta. W ten sposób metale ciężkie wchodzą do obiegu biologicznego, a tym samym do naszej diety.

Dlatego też w ostatnich latach przeprowadzono wiele badań dotyczących wpływu metali ciężkich na rośliny. Sprawdzano, w jaki sposób oraz w jakim stopniu metale ciężkie są pobierane przez rośliny np. z gleby. A także jak można ograniczyć ich wnikanie do roślin.

W wielu badaniach wykazano, iż u roślin występują różnorodne metody ochrony przed toksycznym działaniem metali ciężkich. U niektórych gatunków roślin występują procesy umożliwiające przetrwanie nawet w środowisku silnie zanieczyszczonym.

2. Zróżnicowane reakcje na ołów u roślin różnych gatunków

Wszystkie rośliny charakteryzują się pewnym progiem tolerancji na metale ciężkie, który jest swoisty dla danego gatunku. Wiąże się to przede wszystkim z naturalnymi procesami metabolicznymi roślin (Wierzbicka 2015). Dlatego też reakcje różnych gatunków roślin na obecność metali ciężkich w glebie są bardzo zróżnicowane.

Metale ciężkie takie jak ołów, wnikając do komórek roślinnych powodują zahamowanie wielu podstawowych procesów życiowych takich jak: fotosynteza, oddychanie czy podziały komórkowe. Tym samym mogą zaburzać np. kiełkowanie nasion, wzrost rośliny, wydłużenie korzeni, rozwój siewek. Zakres tych zmian jest bardzo zróżnicowany i uzależniony od wielu czynników, takich jak: stężenia ołowiu, czasu ekspozycji czy stadium rozwojowego rośliny (Pourrut i in. 2011). Ostatecznie zbyt duże stężenie metali ciężkich pobranych przez roślinę może doprowadzić do jej śmierci.

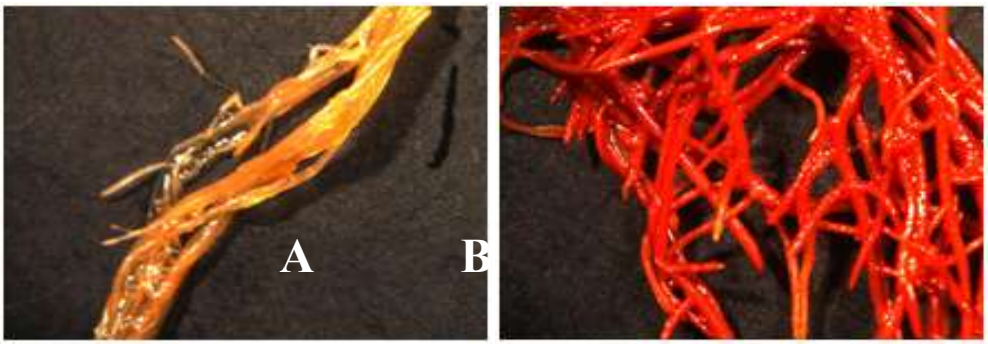
3. Drogi wnikania ołowiu do roślin

Wśród zwykłych zanieczyszczeń, które wpływają negatywnie na rośliny jest ołów. Jest on jedną z najbardziej toksycznych i najczęściej spotykanych substancji trujących. Główną drogą przenikania ołowiu do rośliny jest pobieranie go z gleby przez korzenie

i włośniki (Pourrut i in. 2011). Istnieją dwasposoby pobierania metali ciężkich przez korzenie roślin.

Pierwszym z nich jest dyfuzja prosta, czyli samorzutna wymiana jonów pomiędzy glebą a korzeniem i włośnikami. Zachodzi ona zgodnie z gradientem stężeń, czyli cząsteczki ze środowiska o wyższym stężeniu przechodzą do środowiska o niższym stężeniu. Drugim sposobem, wymagającym dostarczenia energii (w przeciwieństwie do dyfuzji) jest transport aktywny. Metale ciężkie przedostają się do wnętrza korzenia tymi samymi transporterami błonowymi, którymi przenikają pierwiastki odżywcze, takie jak wapń, cynk czy magnez. Spowodowane jest o podobieństwem w średnicy jonów oraz podobieństwem chemicznym pierwiastków odżywczych i balastowych.

Różne gatunki roślin wykazują się innym poziomem aktywności transporterów błonowych, dlatego też pobieranie metali ciężkich z gleby może być bardzo zróżnicowane. Jednakże u każdej rośliny pobieranie ołowiu czy innych metali ciężkich zachodzi na całej powierzchni korzenia, z tą samą intensywnością (Wierzbicka 2015). Zjawisko to doskonale pokazuje histochemiczna metoda wizualizacji metali - metoda ditizonowa (Ryc. 1).Organy roślinne np. korzenie poddawane są działaniu roztworu ditizonu. Zmiana zabarwienia korzeni naczerwono-brunatną świadczy o obecności ołowiu (Rys. 1B)



Rys. 1. Korzenie *Cucumis sativus* L. hodowane przez 14 dni w pożywce mineralnej (kontrola - A) oraz w pożywce mineralnej z dodatkiem soli ołowiu (B). Po zakończeniu hodowli korzenie zostały poddane barwieniu w ditizonie, który tworzy barwne (czerwone) kompleksy z kationami metali

4. Obrona roślin przed metalami ciężkimi

U roślin występują wszechstronne metody obrony, umożliwiające im przeciwdziałanie toksyczności metali ciężkich. Wiele z nich skierowanych jest głównie na części generatywne roślin, mające na celu ochronę nasion bądź zarodków, czy też na ochronę miejsc gdzie dochodzi do różnicowania się komórek. Procesów ochrony roślin przed metalami ciężkimi jest wiele. Niektóre z nich są odpowiedzialne za obronę innych komórek przed wnikaniem do nich metali ciężkich tzw. bariery, inne z kolei są odpowiedzialne za detoksykację czy też za wydalenie nadmiaru metali ciężkich wraz z innymi solami. Wszystkie te metody

zasadniczo można jednak podzielić na obronę roślin przed toksycznym działaniem metali ciężkich na poziomie organizmalnym i komórkowym (Wierzbicka 2015).

- Obrona na poziomie organizmu

W obrębie rośliny istnieje kilka stref podlegających szczególnej ochronie przed wnikaniem ołowiu i jego toksycznym działaniem. Obszary te skupiają się zazwyczaj wokół miejsc ważnych dla funkcjonowania całej rośliny, takich jak komórki inicjalne, które są odpowiedzialne np. za regenerację korzenia czy też tkanki przewodzące, transportujące wodę i sole mineralne do części zielonych rośliny.

Pośród wielu metod obrony roślin przed toksycznym działaniem metali ciężkich, większość z nich jest skoncentrowana głównie na ochronę obszarów różnicujących się takich jak: strefa merystematyczna w części wierzchołkowej korzenia strefa QC (ciche centrum). Te szczególne obszary są wolne od metali ciężkich, pomimo iż w okalających je tkankach metale ciężkie mogą być obecne. W związku z tym można stwierdzić, iż istnieje mechanizm, który blokuje wnikanie metali ciężkich do cichego centrum, w którym znajdują się komórki inicjalne (odpowiedzialne za regenerację korzenia), tym samym chroniąc je.

Kolejną barierą tego typu jest merystematyczny perycykl, który okala różnicujące się tkanki przewodzące. W badaniach nad lokalizacją ołowiu w korzeniu *Dianthus carthusianorum* wykazano, że w komórkach merystematycznego perycyklu, a dokładniej w ścianach komórkowych, można było zaobserwować duże złogi ołowiu. Zatrzymanie tego pierwiastka w ścianach komórkowych, uniemożliwiły jego przedostanie się do wnętrza komórki. Dzięki temu różnicujące się tkanki nie były narażone na toksyczne działanie ołowiu (Wierzbicka 2015)

Oprócz ochrony różnicujących się tkanek, u rośliny występują mechanizmy służące obronie części generatywnych takich jak: woreczki zalążkowe. Do tych obszarów nie przenikają związki metali ciężkich, niezależnie od ich stężeń w częściach wegetatywnych. Dzięki czemu zalążki (w kwiecie) czy zarodki (w nasionie) nie posiadają podwyższonych stężeń tych pierwiastków (Wierzbicka 2015). W badaniach przeprowadzonych przez Wierzbicką i Obidzińską (1998) stwierdzono, że wśród 34 gatunków roślin badanych nasion, aż u 80% okrywy nasienne stanowiły skuteczną obronę zarodków przed metalami ciężkimi.

Dla komórek przewodzących, główną barierą ochronną jest endoderma. Zbudowana jest ona z pojedynczej warstwy komórek, odpowiedzialnych za zatrzymanie transportu wody i soli mineralnych do walca osiowego, zawierającego tkanki przewodzące. W ścianach komórkowych endodermy znajdują się tzw. pasemka Caspary'ego, wysycone są ligniną

i suberyną, co skutecznie uniemożliwia swobodny przepływ wody oraz zawartych w niej jonów. Dzięki tej barierze metale ciężkie nie przedostają się do walca osiowego, tym samym chroniąc nadziemne części rośliny przed ich wpływem (Wierzbicka 2015).

Jednakże niektóre gatunki roślin posiadają populacje o podwyższonej tolerancji, które mogą przetrwać i rozwijać się na glebach metalonośnych (Hall 2002). Takie przystosowanie możemy nazwać tolerancją indukowaną (nabytą). Pojawienie się u roślin nabytej tolerancji na wysokie stężenia metali ciężkich, dostarczyło wielu nowych informacji o procesach ewolucyjnych w populacjach tych roślin (Wierzbicka 2015).

Dobrym przykładem do przedstawienia tolerancji indukowanej jest *Dianthus carthusianorum* - goździk kartuzek. W badaniachporównano cechy morfologiczne populacji pochodzącej z hałdy galmanowej oraz z terenów nieskażonych metalami ciężkimi. Okazało się, że rośliny z terenów metalonośnych charakteryzowały się:

- większą zawartością wody w liściach,
- węższymi i krótszymi liśćmi (zmniejszenie powierzchni transpiracyjnej),
- mniejszymi komórkami epidermy,
- szybszym wchodzeniem w fazę generatywną,
- dłuższymi korzeniami oraz większą ilością włośników korzeniowych,
- większą ilością aparatów szparkowych,
- wytwarzaniem większej liczby kwiatów i nasion.

Wszystkie te cechy miały na celu zmniejszenie powierzchni transpiracyjnej, zwiększeniem powierzchni pobierającej wodę i magazynowanie większych jej ilości (Abratowska i in. 2015a).

Wśród pozostałych metod obrony roślin przed metalami ciężkimi możemy wyróżnić:

- strategię życiową typu “r”, która przejawia się u wybranych roślin, rosnących na terenach metalonośnych. Charakteryzuje się wytwarzaniem małych roślin, które szybko wchodzą w fazę generatywną i wytwarzają duże ilości małych nasion. Ten skrócony cykl rozwojowy ułatwia przetrwanie gatunku na terenach wysoce metalonośnych. Zjawisko to można zaobserwować u hałdowych populacji *Silene vulgaris* (Wierzbicka, Panufnik-Mędrzycka 2015).
- organy spichrzowe, które mogą zatrzymywać w swoich tkankach nawet do 40% metali ciężkich.
- najstarsze liście - rośliny zasiedlające tereny silnie zanieczyszczone metalami ciężkimi, gromadzą w zasychających już liściach największe ilości metali ciężkich. Dzięki czemu młode części roślin są chronione przed nadmiarem metali ciężkich.

- włoski na liściach, które kumulują duże ilości metali ciężkich. Zazwyczaj ten rodzaj ochrony występuje u roślin rosnących w obecności metali ciężkich (Wierzbicka 2015).
- wytwarzanie gruczołów solnych, które są charakterystyczne dla halofitów takich jak *Armeria maritima*. Znajdujące się na powierzchni liści gruczoły solne, wydalają metale ciężkie razem z innymi solami (Abratowska i in. 2015b).
- zawarte w plazmolemie transportery błonowe oraz akwaporyny mają bezpośredni wpływ na transport wody w komórkach, dzięki czemu poziom tolerancji na metale ciężkie może wzrastać.
- kumulowanie znacznych ilości metali ciężkich zachodzi również w komórkach epidermy liści. Podczas fragmentacji retikulum endoplazmatycznego dochodzi do wytworzenia niewielkich pęcherzyków zawierających ołów (Przedpełska, Wierzbicka 2007). Innym mechanizmem obronnym przed toksycznym działaniem metali ciężkich w komórkach epidermy, jest wyrzucanie ołowiu na powierzchnię liścia poprzez ektodermę w kutykuli (Wierzbicka 2015).

▪ Obrona na poziomie komórki.

Detoksykacja jest podstawowym procesem obrony komórki, przed szkodliwym działaniem metali ciężkich. Jednym z ważniejszych mechanizmów detoksykacji są reakcje chemiczne, które prowadzą do ich unieszkodliwienia (Coleman i in. 1997).

Wyróżniamy dwa sposoby detoksykacji metali ciężkich w komórkach roślinnych:

- gromadzenie w ścianie komórkowej,
- gromadzenie w wakuoli.

• Detoksykacja w ścianie komórkowej

Główną barierą w pobieraniu metali ciężkich do komórki roślinnej jest ściana komórkowa. W której dochodzi do zatrzymania metali ciężkich przez ujemnie naładowane pektyny (Arias i in. 2010). Związki pektynowe wiążą się z jonami metali ciężkich, a powstające w ten sposób pektyniany metali są odkładane w ścianie komórkowej. Gromadzenie pektynianów metali zachodzi zarówno w blaszce środkowej, jak i w ścianie komórkowej pierwotnej i wtórnej, w których występuje duża ilość związków pektynowych (Kopittke 2008).

W skutek gromadzenia metali ciężkich w ścianie komórkowej, ulega ona nieregularnym zgrubieniom. Może to wpływać negatywnie na wydłużanie ścian komórkowych a przez to na prawidłową funkcję ściany komórkowej. Dodatkowo w obecności metali ciężkich w ścianach komórkowych zwiększa się ilość związków pektynowych, tym samym jest zdolna do związania jeszcze większej ilości metali ciężkich (Wierzbicka 2015).

- Detoksykacja w wakuoli

W momencie, kiedy jony metali ciężkich wnikną do komórki są kompleksowane w cytozolu przez drobnokompleksowe ligandy t.j. metalotioneiny, fitochelatyny, kwasy organiczne, aminokwasy. Dzięki temu metale ciężkie tracą swoje toksyczne właściwości i następnie mogą być bezpiecznie transportowane do wakuoli, gdzie pozostają całkowicie nieaktywne (Wierzbicka 2015). Dzięki czemu nie będą już stanowiły zagrożenia dla komórki.

5. Podsumowanie

Metale ciężkie w środowisku są silnie rozproszone. Ich liczne zastosowania przemysłowe, hutnicze, rolnicze, medyczne i technologiczne doprowadziły do szerokiej dystrybucji w środowisku. Powodując tym samym silne zanieczyszczenia gleby tymi pierwiastkami.

Metale ciężkie znajdujące się w glebie, są pobierane przez korzenie roślin razem z wodą i solami mineralnymi. Proces ten dotyczy nie tylko obszarów silnie uprzemysłowionych, ale również terenów rolniczych i tych służących do wypasania bydła. Rośliny te gromadzą w sobie złogi metali ciężkich, a następnie są zjadane przez np. zwierzęta hodowlane, a następnie przez ludzi. W ten sposób metale ciężkie przedostają się do obiegu biologicznego.

U roślin występują wszechstronne mechanizmy obrony przed niekorzystnym działaniem metali ciężkich. Możemy je zauważyć zarówno na poziomie komórkowym jak i organizmalnym. Niewątpliwie wiele z tych mechanizmów związane jest bezpośrednio ze zdolnością komórek lub tkanek do wiązania metali ciężkich w swoich strukturach. Dzięki temu pozostałe części komórki bądź tkanki nie są narażone na toksyczne działanie metali ciężkich.

Jak łatwo można stwierdzić podstawowymi elementami w detoksykacji komórki jest ściana komórkowa i wakuola. Są to elementy charakterystyczne dla komórek roślinnych. W komórkach zwierzęcych nie występuje ani ściana komórkowa, ani wakuola. Przez co w komórkach zwierzęcych nie dochodzi do tak skutecznej detoksykacji metali ciężkich jak u roślin. Dzięki temu można wyjaśnić fakt, iż organizmy roślinne są bardziej odporne na toksyczne działanie metali ciężkich niż organizmy zwierzęce oraz mogą gromadzić większe ich ilości, bez szkody dla organizmu.

Należy pamiętać, że głównym zagrożeniem dla człowieka jest pobieranie metali ciężkich drogą pokarmową, czyli spożywanie ich z produktami zwierzęcymi i roślinnymi. Metale ciężkie wchodząc do obiegu biologicznego poprzez np. obecność w roślinach uprawnych czy w paszy dla zwierząt, wchodzą również w skład naszej diety. Stanowi to poważne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi.

Praca finansowana z grantu NCN: 2016/21/B/NZ8/01564

6. Literatura

Abratowska A., Brzost K., Wierzbicka M. 2015a. *Goździk kartuzek - Dianthus carthusianorum* [w:] Ekotoksykologia. Wierzbicka M. (red.). WUW, Warszawa, 377-384

Abratowska A., Wąsowicz P., Wierzbicka M. 2015. *Zawciąg nadmorski - Armeria maritima* [w:] Ekotoksykologia. Wierzbicka M. (red.). WUW, Warszawa, 364-376

Arias J.A., Peralta-Videa J.R., Ellzey J.T., Ren M., Viveros M.N., Gardea-Torresdey J.L. 2010. *Effects of Glomus deserticola inoculation on Prosopis: enhancing chromium and lead uptake and translocation as confirmed by X-ray mapping, ICP-OES and TEM techniques.*Environ Exp Bot 68(2),139–148

Baranowska-Morek A. 2003. *Roślinne mechanizmy tolerancji na toksyczne działanie metali ciężkich.* Kosmos 52, 283,

Coleman J.O.D., Randall R., Blake-Kalff M.M.A. 1997. *Detoxification of xenobiotics in plant cells by glutathione conjugation and vacuolar compartmentalization: a fluorescent assay using monochlorobimane.*Plant, Cell and Environment. 20, 449–60

Hall J.L. 2002. *Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance.*Journal of Experimental Botany. 53,1–11

Kopittke P.M., Asher C.J., Kopittke R.A., Menzies N.W. 2008. *Prediction of Pb speciation in concentrated and dilute nutrient solutions.*Environ Pollut 153,548–554

Pourrut B, Shahid M., Dumat C., Winterton P., Pinelli E. 2011. *Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants.*Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Springer Verlag, 213, 113-136

Przedpełska E., Wierzbicka M. 2007. *Arabidopsis arenosa (Brassiceae) from lead-zinc waste heap In southern Poland – a plant with tolerance to heavy metals*. Plant Soil 299, 43-53

Wierzbicka M. 2015. *Obrona roślin przed metalami ciężkimi* [w:] Ekotoksykologia. Wierzbicka M. (red.). WUW, Warszawa, 83-95

Wierzbicka M., Obidzińska J., 1998. T*he Effect of Lead on Seed Imbibitions and Germination in Different Plant Species*, *Plant Sci.*,137, 155-171

Wierzbicka M., Panufnik-Mędrzycka D. 2015. *Lepnica rozdęta- Silene vulgaris* [w:] Ekotoksykologia. Wierzbicka M. (red.). WUW, Warszawa, 385-391

Rola wariantów genów z rodziny *CYP* w metabolizmie leków i detoksykacji tkanek

Robert Budawski[(1)], Aleksandra Jęckowska[(1)], Grażyna Adler[(2)]

[1] Studenckie Koło Naukowe przy Samodzielnej Pracowni Antropogenetyki i Gerontobiologii Pomorski Uniwersytet w Szczecinie
[2] Samodzielna Pracownia Antropogenetyki i Gerontobiologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny, ul. Żonierska 48 71-210 Szczecin, Polska
Robert Budawski: robertb93@o2.pl

Streszczenie
Cytochrom P450 jest enzymem o aktywności monooksygenazy ibierze udział w metabolizmie ksenobiotyków.Rodzinę CYP tworzy 18 rodzin i 44 podrodziny, przy czym najistotniejsze znaczenie w metabolizmie leków posiadają CYP1, CYP2 i CYP3. W zależności od stopnia szybkości metabolizowania substancji wyróżnia się 4 grupy fenotypowe: wolnych, pośrednich, szybkich i ultraszybkich metabolizerów. IzoformyCYP3A4 i CYP3A5 mają największy udział w metabolizmie leków. Istotne znaczenie posiadają również: CYP2D6, CYP2C9, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C8, CYP2A6 i CYP2E1. Poznanie wariantów polimorficznych genów kodujących białka z rodziny CYP umożliwia dopasowanie leczenia w wielu schorzeniach.Ponadto, diagnostyka SNP-ów genów *CYP* może stanowić wsparcie dla geriatrii, w której problem stanowi zjawisko polipragmazji. Za cel pracy obrano podsumowanie istniejącej wiedzy na temat roli *CYP* w metabolizmie leków i detoksykacji tkanek, na podstawie dostępnej literatury.Poznanie roli genów kodujących białka P450 ma istotne znaczenie w rozwoju farmakogenetyki i terapii.

Słowa kluczowe: CYP, polimorfizm, ksenobiotyk, metabolizm leków

Role of gene variants of*CYP* family in drug metabolism and tissue detoxification

Summary
Cytochrome P450 is an enzyme with activity of monooxygenase which takes part in metabolism of xenobiotics. The CYP familyconsists of18 families and 44 subfamilies,and the most important in drugs metabolism are CYP1, CYP2 and CYP3. Depending on speed of metabolizing, four groups are distinguished: poor, intermediate, extensive and ultrarapid metabolizers. CYP3A4 and CYP3A5 isoforms takethe biggest part in metabolism of drugs. Important meaning have CYP2D6, CYP2C9, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C8, CYP2A6, CYP2E1 too. Getting to know polymorphic variants, which encode proteins from CYP family, enables to adjust treatment in many diseases. Furthermore, diagnostic of SNPs*CYP* can provide support in geriatric care andphenomenon of polypragmasy. The aim of the study: to summarize the existing literature on the role of CYP in the metabolism of drugs and detoxification of tissues.Understanding the role of genes encoding P450 is important in the development of pharmacogenetics and therapy.

Keywords: CYP, polymorphism, xenobiotic, drugs metabolism

1. Wstęp

Rodzina białekcytochromuP450 składa się z wielu izoform, biorących udział w metabolizmie hormonów steroidowych oraz biotransformacji ksenobiotyków, dostarczanych lub wnikających do wnętrza organizmu. Najistotniejsze znaczenie w metabolizmie mają enzymy CYP1, CYP4 i CYP3 (uczestniczą w 70-80% reakcji) (Lamb i in. 2009).

Białka P450 występująw większości tkanek organizmu, ale największą aktywność wykazują w wątrobie, która odpowiada za detoksykację.Metabolizm ksenobiotykówprzebiega w dwóch fazach: w I-ej zachodzą reakcje hydrolizy, redukcji i utleniania, w II – ej: sprzężanie z kwasem glukuronowym, glutationem lub kwasem octowym.Rodzina białek CYP odpowiada

za katalizę większości reakcji I-ej fazy (Mora i in. 2015). Poznanie roli genów kodujących białka P450 ma istotne znaczenie dla farmakogenetyki i terapii. Farmakogenetyka umożliwia zaplanowanie farmakoterapii rozumianej, jako dobór optymalnej dawki leku oraz unikanie działań niepożądanych. Stanowi to istotny element w terapii wielu chorób, w tym układów: sercowo-naczyniowego, onkologicznych, czy psychiatrycznych, a w przypadku osób starszych służy uniknięciu zjawiska polipragmazji i interakcji między lekami. Znajomość wariantów genów kodujących białka P450 jest istotnym elementem dającym możliwość personalizacji terapii w zależności np. od odmiennej szybkości metabolizowania substancji; ze względu na szybkość metabolizowania wyróżnia się cztery grupy fenotypowe metabolizerów: wolni, pośredni, szybcy i ultraszybcy. Za cel pracy obrano podsumowanie istniejącej wiedzy na temat roli *CYP* w metabolizmie leków i detoksykacji tkanek, na podstawie dostępnej literatury.

2. Rola wybranych genów rodziny *CYP* w metabolizmie leków

Wśród enzymów biorących udział w metabolizmie leków, największy udział – w około 30% wszystkich szlaków metabolicznych leków, mają warianty CYP3A4 oraz CYP3A5, następnie CYP2D6 i CYP2C9, odpowiednio w 20% i 12,8% szlaków. W mniejszym stopniu w metabolizmie leków biorą udział enzymy: CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C8, CYP2A6, odpowiednio: w 8,9%,7,6%, 6,8%, 4,7% i 3,4% szlaków oraz CYP2E1 i CYP2J2 oba wok. 3% szlaków (Zanger i in. 2013).

Podrodzina CYP3A składa się z czterech głównych izoform kodowanych przezgeny *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7*, *CYP3A43*, zlokalizowane na 7. chromosomie.Izoformy CYP3A4 oraz CYP3A5 wykazują dużą homologię sekwencji, ponad 85%, co przekłada się na podobny zakres metabolizowanych związków. Sugeruje się, że część leków może być metabolizowana przez oba enzymy jednocześnie(Williams i in. 2002). CYP3A4 posiada zdolność metabolizowania związków o charakterze lipofilnym – immunosupresantów (cyklosporyny A, takrolimusa), makrolidów (erytromycyny) oraz leków przeciwnowotworowych (cytostatyku, paklitakselu). Najczęściej badanym polimorfizmem genu *CYP3A4*jest znajdujący się w regionie promotorowym wariant *CYP3A4*1B* (-392A>G), występujący wpopulacji kaukaskiej z częstością wahającą się od 2 do 9%.Wariant *CYP3A4*1B* wykazuje istotną korelację między poziomem białka P450PCN, a aktywnością oksydazy nifedypiny (Gonzalez i in. 1988). Sugeruje się, że jest on związany z wyższą złośliwością nowotworów prostaty oraz wyższą aktywnością enzymu odpowiedzialnego za oksydację nifedypiny – leku I generacji blokującego kanały wapniowe, stosowanego w terapii nadciśnienia tętniczego ikardiomiopatii przerostowej (Walker i in. 1998).

Wariant, *CYP3A4*26* (802C>T), zidentyfikowano po raz pierwszy u chorego z zespołem Alporta poddanego transplantacji, u którego zaobserwowano zmniejszony klirens takrolimusa (Werk i in. 2014). Klein i wsp. badali poziom białka CYP3A4 i enzymów odpowiedzialnych za biotransformację atorwastatyny i werapamilu w populacji kaukaskiej. Badaczeodkryli, że ekspresjainnych genów, PPARα (ang. *peroxisome proliferator-activator receptor α*), GCR (ang.*glucocorticoid receptor*), ARNT (ang. *aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*) i PGRMC2(ang. *progesterone receptor membrane component 2*) może wpływać na aktywność CYP3A4. Autorzy wykazali, że pacjenci będący homozygotami „AA" genu*PPARα* mają o 50 % niższą aktywność białka CYP3A4 w porównaniu do homozygoty „GG" oraz heterozygoty(Klein i in. 2012). Do chwili obecnej poznano około 50 wariantówgenu *CYP3A4*, przy czym stosunkowo często (oprócz wariantu *CYP3A4*1B*) w populacji kaukaskiej obecne są warianty:*CYP3A4*2* i*CYP3A4*3*, odpowiednio 2,7 % i 1,1 % (Ahmed i in. 2016, www.pharmvar.org).

Kolejnym enzymem z rodziny CYP, związanym z metabolizmemleków jest CYP3A5, kodowany przez gen*CYP3A5*, którego wariant*1odpowiada za normalny poziom enzymu, występuje u ok. 25% osób populacji kaukaskiej (Roy i in. 2005).Natomiast, nosiciele wariantu **3* posiadają zredukowaną aktywność enzymu(Kuehl i in. 2001).

Kolovou i in. badali związek polimorfizmu genu *CYP3A5* z poziomem cholesterolu całkowitego, w zależności od stosowanego leczenia. Badacze porównywaliwpływ 2 leków z grupy statyn, atorwastatyny i simwastatyny na wysokość ciśnienia tętniczego. Większą efektywność leczenia osiągnięto u pacjentów leczonych atorwastatyną, jednak wartości parametrów gospodarki lipidowej nie zmieniły się w istotnie bez względu na stosowany lek(Kolovou i in. 2015). Kilku autorów badało także związek wariantów *CYP3A5* z odpowiedzią ciśnienia krwi na leczenie amlodypiną. *CYP3A5*odpowiada za retencję sodu i wody przez wpływ na metabolizm kortyzolu w nerkach. Wykazano, że warianty *CYP3A5* są związane z różną odpowiedzią na leki hipotensyjne, wyniki uzyskane przez badaczy nie były jednoznaczne (Zhang 2014, Xi i in. 2011). Inna grupa badaczy zaobserwowała, że nosicielewariantu genu *CYP3A5*3*sągorszymi metabolizerami leków immunosupresyjnych i przeciwwirusowych, odpowiednio:takrolimusa i saquinaviru (Zanger i in. 2013).

Wang BS i in. sugerują, że obecność wariantu *CYP3A5*3* może podwyższać ryzyko zachorowania naostrą i przewlekłą białaczkę oraz raka jelita grubego (Wang i in. 2013). Z kolei w innych pracach powiązano obecnośćwariantów *CYP3A4*1G* i *CYP3A5*3* z ryzykiem schizofrenii (Du i in. 2010). Jednym z czynników biorących udział w etiopatogenezie schizofrenii jest zaburzenie poziomu neuroprzekaźników,dopaminy

i serotoniny, w metabolizmie których uczestniczą są izoformy CYP3A4 i CYP3A5 (Ji-Young 2014).

Kolejną, co do częstości udziału w metabolizmie leków izoformą P450 jest CYP2D6. Do chwili obecnej poznano ok. 100 wariantów genu *CYP2D6*. Do leków metabolizowanych przez ten enzym należą m.in. inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny, antydepresanty, neuroleptyki, β-blokery oraz leki antyarytmiczne (Zhou2009). Ze względu na obecność wariantów *CYP2D6,* w populacji kaukaskiej ok. 10% należy do wolnych, 10-17% do pośrednich, ok. 75% szybkich, a 3-5% ultraszybkichmetabolizerów.Enzym CYP2D6 bierzeudział w biotransformacji analgetyku - kodeiny, składnika aktywnego syropów przeciwkaszlowych. Opowiada za katalizę reakcji przemiany kodeiny w morfinę. Szacuje się, że ok. 1 – 2 % pacjentów należy do grona ultraszybkich, 2 – 11 % pośrednich, a ok. 5 – 10 % wolnych metabolizerów. Najczęściej jednak (77 – 92 %) wykazuje zdolność do „szybkiej" konwersji kodeiny do morfiny (Dean 2012). Przy udziale CYP2D6 odbywa się również metabolizm tamoksyfenu, stosowanego w leczeniu nowotworów piersi. Tamoksyfen przekształcany jest do endoksyfenu i 4-hydroksytamoksyfenu. Znajomość genotypu, a co za tym idzie szybkości i stopnia metabolizowania tego proleku pozwala na ocenę zasadności przyjmowania i ustalenie wielkości dawki (Jin i in. 2005). Warianty *CYP2D6* są powiązane z rozwojem takich chorób jak: choroba Parkinsona (Christensen i in. 1998), schizofrenia (Patsopoulos i in. 2005),choroba Alzheimera. Christensen i in. potwierdzili związek polimorfizmu *CYP2D6* (odpowiedzialny za oksydację sparteiny) z chorobą Parkinsona, natomiastPatsopoulos i in. wmetaanalizie wykazali, że obniżenie aktywności CYP2D6 ma istotny wpływna późne dyskinezy u pacjentów ze schizofrenią (Christensen i in. 1998).

Enzymem, biorącym udział w metabolizmie i biotransformacji leków o wąskim indeksie terapeutycznym jest CYP2C9. Polimorfizm *CYP2C9* oddziałuje na metabolizm pochodnych sulfynylomocznika (leków przeciwcukrzycowych), niesteroidowych leków przeciwzapalnych, antagonistów witaminy K- warfaryny iacenokumarolu. Kaur i in. badali wpływwariantów*CYP2C9**2 i *3 genu *CYP2C9* i *VKORC1*(ang. vitamin K epoxide reductase complex subunit 1) na dawkę acenokumarolui doszli do wniosku, że 34% pacjentów powinno stosować dawkę <20 mg/tydz., natomiast około 14%,>20 mg/tydz., w zależności od genotypu (Kaur i in. 2013).

3. Rola wariantów genów z rodziny *CYP* w detoksykacji tkanek

Mechanizmy detoksykacyjne zachodzące w obrębie komórek i tkanek organizmu są procesami niezbędnymi do zachowania homeostazy. Enzymy z rodziny CYP wspomagają te mechanizmy, biorąc udział w I fazie biotransformacji ksenobiotyków.

Węglowodór aromatyczny, benzennależy do substancji rakotwórczych, mogących wywoływać aplazję szpiku. Enzym CYP71 uczestniczy w detoksykacji organizmu ze związków benzenu.Pierwsze badania na ten temat ukazały się w 1998 roku, w których zbadano, że glifosat ma hamujący wpływ na funkcjonalność enzymów z rodziny CYP, a eksperyment prowadzono z udziałem tobołka polnego (*Thlaspi arvensae*). W celu oznaczenia zmian w poziomie aktywności hydrolizy benzo(a) pirenu dokonano połączenia białka CYP71 wraz reduktazą cytochromu P450. Przy stężeniu glifosatu równym 15 mM, aktywność CYP71 zmniejszyła się 4-krotnie, natomiast już przy stężeniach 35 mM aktywność enzymu była na poziomie detekcji. Mechanizm molekularny tego zjawiska tłumaczony jest, jako zdolność łączenia się grup azotowych pochodzących z glifosatu do miejsca w enzymie (and. *haempocket*) (Lamb i in. 1998).

Aflatoksyna B1 jest mykotoksyną o udowodnionym działaniu mutagennym, produkowaną przez grzyby z rodzaju *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*). Diaz i in. zbadali, że wariant CYP1A1 odpowiada za przekształcanie aflatoksyny w epoksyd aflatoksyny i detoksykacjęw układzie mikrosomalnym wątroby (Diaz i in. 2010).

Z kolei, El-Sohemy i in. ocenili wpływ kofeiny zawartej w kawie na ryzyko zawału mięśnia sercowego. Enzym CYP1A2 metabolizuje kofeinędo metyloksantyny, przy czym homozygoty *CYP1A2* typu dzikiego (AA) efektywnie metabolizują kofeinę, natomiast u heterozygot AC i homozygot CC aktywność enzymu jest, odpowiedniopośrednia i niska. U homozygot AA ryzyka zawału nie stwierdzono,zaś u osób z genotypem AC i CCw porównaniu do osób z genotypem AA, ryzyko było wyższe. Dodatkowo zasugerowano, że u homozygot AA spożywanie 1-3 filiżanek kawy dziennie może wykazywać działanie protekcyjne przed zawałem serca (El-Sohemy i in. 2007).

Kumaryna jest związkiem z grupy benzopironów. Badania na zwierzętach potwierdziły, że w nadmiernych ilościach może mieć działanie nefro- oraz hepatotoksyczne (Abraham i in. 2010, Khan i in. 2004). Enzymem wykazującym powinowactwo do kumaryny jest CYP2A6 (przekształca on kumarynę do 7-hydroksykumaryny, związku wydalanego przez organizm) (Pelkonen i in. 2000). Innym enzymem, który również może metabolizować kumarynę jest CYP2A13. Von Weymarn i in. wykazali, że szlak transformacji kumaryny przez CYP2A13 jest taki sam jak w przypadku CYP2A6 (von Weymarn i in. 2003).

Alkohol, jedna ze stosowanych przez człowieka używek ulega unieczynnieniu w wątrobie, przy udziale trzech grup enzymów: katalazy – w 60%, dehydrogenazy alkoholowej – w 20% oraz białka CYP2E1 – w 20% (Heit i in. 2013). Wykazano, że poziomCYP2E1 wzrasta w przypadku przewlekłegospożywania alkoholu (Cichoż – Lach i in. 2008)..Ponadto,

w badaniu Cichoż-Lach i in., autorzy sugerującązwiązek między występowaniem polimorfizmów genów, kodujących białka odpowiedzialne za metabolizm alkoholu z występowaniem przewlekłego zapalenia trzustki. (Cichoż – Lach i in. 2008). Dodatkowo, enzym CYP2E1 kodowany przez gen*CYP2E1* zaangażowany jest w metabolizm N – nitrozoamin (substancji zawartych w dymie tytoniowym, zwiększających ryzyko zachorowania na nowotwory nosogardzieli) oraz niektórych leków, takich jak: paracetamol, halotan czy enfluran (Spracklin i in. 1997).

4. **Podsumowanie**

Rozwój wysokosprawnych technik biologii molekularnej i zsekwencjonowanie genomu ludzkiego zaowocowało poznaniem sekwencji wielu genów oraz ich wariantów, dając możliwość badania ich potencjalnej funkcji. Poznanie roligenów kodujących białka CYP450 ma istotne znaczenie w rozwoju farmakogenetyki i terapii.

5. Literatura

Abraham K., Wohrlin F., Lindtner O., Heinemeyer G., Lampen A., 2010. Toxicology and risk assessment of coumarin: focus on human data. Molecular Nutrition & Food Research, 54(2):228-239.

Ahmed S., Zhou Z., Zhou J., Chen S. Q., 2016. Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine. Genomics, Proteomics & Bioinformatics, 14 (5): 298-313.

Christensen P. M., Gotzsche P. C., Brosen K., 1998. The sparteine/debrisoquine (CYP2D6) oxidation polymorphism and the risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. Pharmacogenetics, 8 (6): 473 – 479.

Cichoż – Lach H., Celiński K., Słomka M., 2008. Alcohol-metabolizing enzyme gene polymorphisms and alcohol chronic pancreatitis among Polish individuals. HBP (Oxford), 10(2): 138–143.

Dean L., 2012. Codeine Therapy and CYP2D6 Genotype. Medical Genetics Summaries, National Center of Biotechnology Information.

Diaz G. J., Murcia H. W., Cepeda S. M., 2010. Cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of aflatoxin B1 in chickens and quail. Poultry Science, 89(11):2461-2469.

Du J., Zhang A., Wang L., Xuan J., Yu L., Che R., Li X., Gu N., Lin Z., Feng G., Xing Q., He L., 2010. Relationship between response to risperidone, plasma concentrations of risperidone and CYP3A4 polymorphisms in schizophrenia patients. Journal of Psychopharmacology. 24(7): 1115-1120.

El – Sohemy A., Cornelis M. C., Kabagambe E. K., Campos H., 2007. Coffee, CYP1A2 genotype and risk of myocardial infarction. Genes & Nutrition, 2(1): 155–156.

Gonzalez F. J., Schmid B. J., Umeno M., Mcbride O. W., Hardwick J. P., Meyer U. A., Gelboin H. V., Idle J. R., 1988. Human P450PCN1: sequence, chromosome localization, and direct evidence through cDNA expression that P450PCN1 is nifedipine oxidase. DNA, 7 (2): 79-86.

Heit C., Dong H., Chen Y., Thompson D. C., Deitrich R. A., Vasiliou V., 2013. The Role of CYP2E1 in Alcohol Metabolism and Sensitivity in the Central Nervous System. Subcellular Biochemistry, 67: 235 – 247.

Ji – Young P., Yu – Jung Ch., Kyoung –Ah K., 2014. *CYP3A5*3* polymorphism and it's clinical implications and pharmacokinetic role. Translational and Clinical Pharmacology, 22 (1): 3 -7.

Jin Y., Desta Z., Stearns V., Ward B., Ho H., Lee K. H., Skaar T., Storniolo A. M., Li L., Araba A., Blanchard R., Nguyen A., Ullmer L., Hayden J., Lemler S., Weinshilboum R. M., Rae J. M., Hayes D. F., Flockhart D. A., 2005. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment, 97 (1): 30 – 39.

Kaur A., Khan F., Agrawal S. S., Kapoor A., Agarwal S. K., Phadke S. R., 2013. Cytochrome 450 (CYP2C9*2, *3) & vitamin – K epoxide reductase complex (VKORC1 -1639G<A) gene polymorphism & their effect on acenocoumarol dose in patients with mechanical heart valve replacement. Indian Journal of Medical Research, 137 (1): 203- 209.

Khan N., Sharma S., Sultana S., 2004. Attenuation of potassium bromate-induced nephrotoxicity by coumarin (1,2-benzopyrone) in Wistar rats: chemoprevention against free radical-mediated renal oxidative stress and tumor promotion response. Redox report: communications in free radical research, 9(1):19-28.

Klein K., Thomas M., Winter S., Nussler A. K., Niemi M., Schwab M., Zanger U. M., 2012. PPARα: a novel genetic determinant of CYP3A4 in vitro and in vivo. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 91 (6): 1044-1052.

Kolovou G., Kolovou V., Ragia G., Mihas C., Diakoumakou O., Vasiliadis I., Mavrogeni S., Vartela V., Manolopoulos V. G., 2015. *CYP3A5* genotyping for assessing the efficacy of treatment with simvastatin and atorvastatin. Genetics & Molecular Biology, 38(2): 129–137.

Kuehl P., Zhang J., Lin Y., Lamba J., Assem M., Schuetz J., Watkins P. B., Daly A., Wrighton S. A., and Hall S. D., 2001. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. Nature Genetics, 27:383–391.

Lamb D. C., Kelly D. E., Hanley S. Z., Mehmood Z., Kelly S. L., 1998. Glyphosate is an inhibitor of plant cytochrome P450: functional expression of Thlaspiarvensae cytochrome P45071B1/reductase fusion protein in *Eschericia coli*. Biochem Biophys Res Commun., 244:110–114.

Lamb D. C., Lei L., Warrilow A. Lepesheva G., Mullins J., Waterman M. R., Kelly S. L., 2009. *The first virally encoded cytochrome p450*. Journal of Virology, 83 (16): 8266-8269.

Mora F., Molina J. D., Zubillaga E., Lopez – Munoz F., Alamo C., 2015. CYP450 and its implications in the clinical use of antipsychotic drugs. Journal of Clinical and Experimental Pharmacology, 5:176.

Patsopoulos N. A., Ntzani E. E., Zintzaras E., Ioannidis J. P., 2005. CYP2D6 polymorphism and the risk of tardive dyskinesia in schizophrenia: a meta – analysys. Pharmacogenetical Genomics, 15 (3): 151 – 158.

Pelkonen O., Rautio A., Raunio H., Pasanen M., 2000. CYP2A6: a human coumarin 7 – hydroxylase. Toxicology 144 (1-3): 139 – 147.

Peng L., Zhong X., 2015. Epigenetic regulation of drug metabolism and transport. ActapharmaceuticaSinica B., 5(2):106-112.

Roy J. N., Lajoie J., Zijenah L. S., Barama A., Poirier C., Ward B. J., and Roger M., 2005. CYP3A5 genetic polymorphisms in different ethnic populations. Drug & Metabolism Disposition, 33: 884–887.

Spracklin D. K., Hankins D. C., Fisher J. M., Thummel K. E., Kharasch E. D., 1997. Cytochrome P450 2E1 is the principal catalyst of human oxidative halothane metabolism in vitro. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 281 (1): 400-411.

von Weymarn L. B., Murphy S. E., 2003. CYP2A13 – catalysedcoumarin metabolism: comparison with CYP2A5 and CYP2A6. Xenobiotica, 33(1): 73-81.

Walker A. H., Jaffe J. M., Gunasegaram S., Cummings S. A., Huang C. S., Chern H. D., Olopade O. I., Weber B. L., Rebbeck T. R., 1998. Characterization of an allelic variant in the nifedipine-specific element of CYP3A4: ethnic distribution and implications for prostate cancer risk. Mutations in brief no. 191. Online. Human Mutation, 12(4):289.

Wang B. S., Liu Z., Xu W. X., Sun S. L., 2013. CYP3A5*3 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis and meta-regression. Tumour Biology, 34(4): 2357-2366.

Werk A. N., Lefeldt S., Bruckmueller H., Hemmrich – Stanisak G., Franke A., Roos M., Kuchle C., Steubl D., Schmaderer C., Brasen J. H., Heemann U., Cascorbi I., Renders L., 2014. Identification and characterization of defective CYP3A4 genotype in a kidney

transplant patient with severely diminished tacrolimus clearance. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 95 (4): 416- 422.

Williams, J. A., Ring, B. J., Cantrell, V. E., Jones, D. R., Eckstein, J., Ruterbories, K., et al. 2002. Comparative metabolic capabilities of CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A7. Drug & Metabolism Disposition, 30: 883– 889.

www.pharmvar.org – Pharmacogene Variation Consortium.

Xi B., Wang C., Liu L., Zeng T., Liang Y., Li J., Mi J., 2011. Association of the CYP3A5 polymorphism (6986G>A) with blood pressure and hypertension. Hypertension Research, 34 (11): 1216 – 1220.

Zanger U. M., Schwab M., 2013. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. Pharmacology & Therapeutics 138: 103–141.

Zhang Y. P., Zuo X. C., Huang Z. J., Cai J. J., Wen J., Duan D. D., Yuan H., 2014. CYP3A5 polymorphism, amlodipine and hypertension. Journal of Human Hypertension, 28 (3): 145 – 149.

Zhou S. F., 2009. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance. Clinical Pharmacokinetics, 48 (11): 689 – 723.

Bakterie *Bacillus megaterium* zaaplikowane na osadzie ściekowym

Joanna Ciopińska [(1)], Elżbieta Bezak-Mazur [(2)],

[1] Wydział Inżynierii Środowiska, Geomatyki i Energetyki, Katedra Technologii Wody i Ścieków, Politechnika Świętokrzyska w Kielcach, al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 7, 25-314 Kielce
[2] Wydział Inżynierii Środowiska, Geomatyki i Energetyki, Katedra Technologii Wody i Ścieków, Politechnika Świętokrzyska w Kielcach, al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 7, 25-314 Kielce
Joanna Ciopińska: j.k.ciopinska@gmail.com

Streszczenie
Celem niniejszej pracy było określenie zmian liczebności mikroorganizmów, zaaplikowanych do osadu ściekowego poddanego higienizacji. Zmiany liczebności śledzono na tle wartości pH, wykonano również analizę mikroskopową w preparatach przyżyciowych. Badanie prowadzono dla dwóch różnych warunków temperaturowych, tj. 21 i 36 ºC. Do doświadczenia wykorzystano bakterie z rodzaju *Bacillus megaterium*, które należą do grupy PSB, tj. bakterii solubilizujących fosfor (ang. *Phosphorus Solubilizing Bacteria*) i naturalnie występują w glebie. Na podstawie otrzymanych wyników można sądzić, że bakterie *Bacillus megaterium* z powodzeniem mogą być wykorzystywane do odzysku fosforu z osadów ściekowych o wysokiej zasadowości. Stwierdzono, że wprowadzenie bakterii na osad z higienizowany spowodowało znaczny spadek jego odczynu pH, a także istotny wzrost liczby tych mikroorganizmów w preparatach przyżyciowych.

Słowa kluczowe: *Bacillus megaterium*, osad ściekowy, bakterie solubilizujące fosfor, analiza mikroskopowa, higienizacja

The *Bacillus megaterium* bacteria applied on the sewage sludge

Summary
The aim of this work was to determine the changes in the number of microorganisms applied in sewage sludge submitted to hygienization. These changes were monitored against pH value, microscopic analysis was also performed in intravital preparations. The study was conducted for two different temperature conditions, i.e. 21 and 36 ºC. *Bacillus megaterium* bacteria, which belong to the PSB group, i.e. *Phosphorus Solubilizing Bacteria*, are occur in the soil. Based on the obtained results, it can be assumed that *Bacillus megaterium* bacteria can be successfully used for the recovery of phosphorus from sewage sludge of high alkalinity. It was found that the introduction of bacteria into a hygienized sediment resulted in a significant decrease in its pH, as well as an appreciable increase in the number of these microorganisms, observed in the intravital preparations.

Keywords: *Bacillus megaterium*, sewage sludge, *Phosphorus Solubilizing Bacteria, microscopic analysis*, hygienization

1. Wstęp

Bakterie z rodzaju *Bacillus megaterium* należą do bakterii gram dodatnich i naturalnie występują w glebie. Mogą również znajdować się w wodach morskich, osadach dennych czy nawet na polach ryżowych (Biedendieck i in. 2010, Labuda i in. 2012b). Mikroorganizmy te nie są szczepami patogennymi, wobec tego nie stanowią zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt (Vary i in. 1994). *Bacillus megaterium* wykazują zdolność syntezy kwasów organicznych, tj. kwasu cytrynowego, mlekowego czy propionowego. Rozpuszczanie fosforanów w glebie przy udziale ww. mikroorganizmów uwarunkowane jest wydzielaniem przez nie kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej, któremu towarzyszy zmniejszenie pH otoczenia. Bakterie rozpuszczające fosforany (PSB) mają zdolność zmniejszania pH otoczenia przez wytwarzanie kwasów organicznych (Dhankhar i in. 2013).

Kwasy te mogą rozpuszczać fosforany w wyniku wymiany jonowej, bądź też chelatować jony Ca, Fe lub Al związane z fosforanami (Sharma S.B, i in. 2013). W konsekwencji zakwaszenie komórek drobnoustrojów i ich otoczenia prowadzi do uwolnienia jonów fosforu z form trudnodostępnych. Z uwagi na ten fakt, bakterie *Bacillus megaterium* są zaliczane do mikroorganizmów z grupy PSB (ang. *Phosphorus Solubilizing Bacteria*). Gatunki te mają naturalny potencjał do rozpuszczania fosforu, zarówno organicznego jak i nieorganicznego (Mohammadi i in. 2012). Szczególną uwagę skupia się na mikroorganizmach, które solubilizują fosfor mineralny. Solubilizacja jest to przemiana nieorganicznych form trudnodostępnych do biodostępnych. Stosowanie ich, jako inokulantów pozwala na zwiększenie poboru tego pierwiastka przez rośliny. Właściwości te są przedmiotem zainteresowania przemysłu biotechnologicznego (Khan i in. 2013).

Celem niniejszej publikacji było wykazanie zmian morfologicznych bakterii wprowadzonych do badanej zawiesiny zawierającej osad ściekowy po uprzedniej higienizacji dużą dawką tlenku wapnia.

2. Materiały i metody

Do analizy zmian liczebności mikroorganizmów w osadzie ściekowym przy wykorzystaniu bakterii z rodzaju *Bacillus megaterium,* ustalono następujący plan badań:

- higienizacja osadu;
- aplikacja *Bacillus megaterium* na zhigienizowany osad;
- przygotowanie prób do analiz. Badania prowadzono w 2 różnych warunkach temperaturowych: tj. w temperaturze 21 ºC i oraz w 36 ºC bez mieszania;
- wykonanie analizy:
    - zmian wartości pH w badanej zawiesinie,
    - liczebności bakterii mezofilnych w badanym roztworze,
    - obserwacji mikroorganizmów w preparatach przyżyciowych.

W Polsce nie ma jednoznacznych zaleceń dotyczących stosowania dawki tlenku wapnia niezbędnej do osiągnięcia wymaganego stopnia higienizacji. Dawka ta jest dobierana w zależności od rodzaju danego osadu (Zarzycki i in. 2001). Dlatego też osad pochodzący z mechaniczno – biologicznej oczyszczalni o uwodnieniu 70% poddano higienizacji dawką 0,2 kg CaO/kg.s.m. Zastosowanie takiej ilości reagenta pozwoliło na uzyskanie odpowiedniej temperatury procesu, tj. 70 ºC oraz odczynu pH na poziomie 12 (Podedworna i in., 2008). Tak dobrane warunki istotnie wpływają na przebieg higienizacji. Wysokie stężenie jonów wodorowych powoduje zmiany w jonizacji białek, które są składnikiem żywych komórek.

Skutkuje to zahamowaniem procesów życiowych mikroorganizmów. Ponadto, w trakcie wapnowania dochodzi do uwalniania amoniaku, który przenikając przez błony komórkowe potęguje likwidację patogenów (Kunicki-Goldfinger 2001, Podedworna i in. 2008). Następnie przygotowano podłoże (Labuda i in. 2012a), które nie zawierało fosforu. Pożywkę tą sporządzono w ilości 10 litrów, przy czym na każde 150 ml zastosowano składniki w następujących ilościach:

- glukoza – 1,5 g;
- $(NH_4)_2SO_4$ – 0,075 g;
- NaCl – 0,03 g;
- KCl – 0,03 g;
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,015 g;
- $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,003 g;
- ekstrakt drożdżowy – 0,075 g.

Na wysterylizowaną uprzednio pożywkę zaaplikowano najpierw bakterie *Bacillus megaterium*, a następnie całość wymieszano na wytrząsarce obrotowej. Próby do badań przygotowano w ten sposób, że do każdej kolby o pojemności 200 cm^3 odważono po 0,5 g zhigienizowanego wcześniej osadu, po czym zalano je 150 ml podłoża. Tak przygotowane próby podzielono na dwie części, z których pierwszą, oznaczoną literą „C", umieszczono w cieplarce w temperaturze 36ºC, a drugą, oznaczoną literą P, odstawiono do komory laminarnej (temperatura pokojowa). Na rysunkach 1. i 2. przedstawiono badane próby umieszczone odpowiednio w komorze laminarnej i cieplarce.

Rys. 1. Próby umieszczone w komorze laminarnej (materiał własny)

Rys. 2. Próby umieszczone w cieplarce (materiał własny)

- Liczebność bakterii mezofilnych w badanym roztworze

Analiza ta została wykonana metodą seryjnych rozcieńczeń (Buczek i in. 2000). W tym celu codziennie, przez okres 14 dni, pobierano po 1 ml świeżo wytrząśniętej zawiesiny z każdej z prób. Następnie, tak przygotowaną zawiesinę wprowadzano przy pomocy pipety na szalkę Petriego i zalewano płynnym bulionem, po czym inkubowano w temperaturze 36ºC przez 24 godziny. Ostatecznie dokonano zliczenia kolonii bakterii i przeliczenia wyniku w zależności od rozcieńczenia zawiesiny. Rozcieńczenia wykonywano czterokrotnie dla każdej próby.

- Zmiany wartości pH w badanej zawiesinie

W trakcie trwania procesu codziennie dokonywano pomiarów pH wszystkich prób. Do tego celu wykorzystano pH- metr firmy „METLER TOLEDO".

- Obserwacja mikroorganizmów w preparatach przyżyciowych

Na potrzeby eksperymentu przeprowadzono analizę mikroskopową pozwalającą na obserwację zmian liczebności bakterii wprowadzonych do badanej zawiesiny. Badania te prowadzono w 1, 6, 13 dniu trwania eksperymentu. Do tego celu wykorzystano mikroskop kontrastowo – fazowy „Delta Optical Evolution 100", sprzężony z kamerą HDCE –X5. Przy pomocy tej kamery wykonano zdjęcia obserwowanych drobnoustrojów.

3. Wyniki i dyskusja

- 3.1 Analiza liczebności bakterii mezofilnych w badanym roztworze

W tabeli 1 zamieszczono wyniki analizy liczby bakterii mezofilnych w badanych próbach. Podczas prowadzenia eksperymentu liczebność mikroorganizmów zaaplikowanych do zawiesiny zawierającej zhigienizowany osad ściekowy znacznie wzrosła. W przypadku hodowli prowadzonej w temperaturze 36 ºC istotny wzrost liczby bakterii zauważono już

w 4 dniu trwania procesu. Zakłada się, że nastąpiło wówczas przejście z fazy zastoju do fazy wzrostu logarytmicznego. W fazie zastoju drobnoustroje przystosowują się do nowego środowiska, nie dochodzi do podziałów komórkowych. Natomiast w fazie intensywnego wzrostu liczba bakterii przyrasta w postępie wykładniczym (Buczek J. i.in. 2000, Kunicki-Goldfinger 2001).

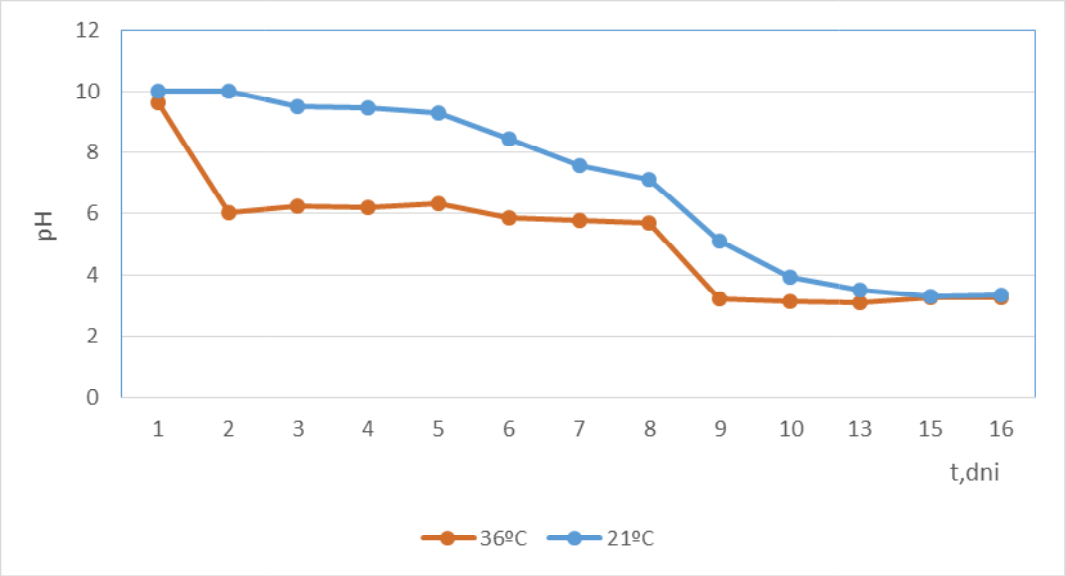
Tabela 1. Analiza liczebności bakterii mezofilnych w badanym roztworze (opracowanie własne)

Dni	Liczba bakterii mezofilnych [x10^{5}jtk/cm^3] hodowanych w temperaturze 36ºC	Liczba bakterii mezofilnych [x10^{3}jtk/cm^3] hodowanych w temperaturze 21ºC
1	2100	2100
2	8200	5700
3	5500	4900
4	9625000	4000
5	10715000	4100
6	83000000	4283
7	71000000	4063
8	50000000	5500
9	22500000	40000
10	435000	44600
11	341000	471000
12	85000	280000
13	55000	75800

Największą liczbę bakterii, tj. 83 000 000 $^x10^5$ jtk/cm^3 zaobserwowano w 6 dniu obserwacji. Może to świadczyć o zakończeniu fazy wzrostu logarytmicznego. Po 6 dobach prowadzenia badań obserwuje się stopniowy spadek liczby bakterii. Wówczas następuje faza równowagi, na etapie, której dochodzi do stopniowego wyczerpania się źródła pokarmu, a liczba komórek tworzących się i obumierających równoważy się (Kunicki-Goldfinger W.J.H. 2001, Schlegel H.G. 2003). Liczebność bakterii hodowanych w temperaturze 21 ºC utrzymywała się na podobnym poziomie do 9 dnia prowadzenia badań. Dopiero po 11 dniach można zauważyć znaczący wzrost liczby drobnoustrojów, co świadczy o rozpoczęciu się fazy wzrostu logarytmicznego (Buczek J. i in. 2000, Kunicki-Goldfinger W.J.H. 2001). Porównanie tych wyników pozwala stwierdzić, że w temperaturze 36 ºC bakterie namnażają się szybciej i jest ich zdecydowanie więcej niż mikroorganizmów hodowanych w temperaturze 21 ºC. Jest to spowodowane tym, że mikroorganizmy mezofilne najlepiej rozwijają się w zakresie temperatur dla organizmów stałocieplnych tzn. 35 – 37 ºC (Schlegel H.G. 2003). Do mezofili należy również szczep z rodzaju *Bacillus megaterium*.

- 3.2 Analiza zmian wartości pH

Na podstawie pomiarów wartości pH w trakcie trwania eksperymentu, sporządzono wykres zamieszczony poniżej, pozwalający na interpretację wyników (rys.3).



Rys. 3. Zmiana wartości pH w trakcie trwania procesu (materiał własny)

W ciągu 16 dni prowadzenia badań zaobserwowano znaczny spadek odczynu pH. Osad został mocno zhigienizowany, stąd też wartość początkowa pH zawierała się w zakresie od 9,80 do 10. W zawiesinie trzymanej w cieplarce (rys.2.) po pierwszym dniu trwania eksperymentu nastąpił spadek pH o około 3 stopnie, a na przełomie 8 i 9 dnia procesu odczyn spadł o kolejne 3 stopnie i utrzymywał się na podobnym poziomie do zakończenia badań. W przypadku zawiesiny przechowywanej w temperaturze 21 ºC proces zachodził znacznie wolniej, ponieważ dopiero w 9 dniu trwania eksperymentu zauważono wyraźny spadek pH, który nieznacznie zmieniał się do końca prowadzonych obserwacji (rys.3). Duża zmiana pH była spowodowana prawdopodobnie kwasami wydzielanymi przez bakterie wykorzystane do eksperymentu (kwas mlekowy, cytrynowy, propionowy) (Dhankhar R. i in. 2013, Sharma S.B, i in. 2013). Spadek odczynu pH koreluje ze wzrostem liczebności bakterii w badanych próbach (tab.1). Przyrost liczby mikroorganizmów spowodował tym samym zwiększenie się stężenia kwasów w badanej zawiesinie, co z kolei przełożyło się na zmniejszenie poziomu pH. Zmiany w liczebności bakterii można również zaobserwować na obrazach mikroskopowych zamieszczonych w punkcie 3.3. niniejszego opracowania. Skokowe spadki odczynu pH w czasie trwania procesu w temperaturze 36 ºC przedstawione na wykresie (rys.3) można tłumaczyć tym, że zawiesina, do której zaaplikowano bakterie z rodzaju *Bacillus megaterium* była wysoce niejednorodna i zawierała duże ilości tlenku wapnia, użytego do higienizacji. Dlatego też, podczas roztwarzania osadu przez te mikroorganizmy, dochodziło do ich czasowego unieruchomienia. Proces przebiegał znacznie szybciej w wyższej temperaturze. Wzrost temperatury działał, bowiem stymulująco na

mikroorganizmy poprzez zwiększenie aktywności enzymów, co z kolei pobudza procesy metaboliczne.

- 3.3 Analiza mikroskopowa mikroorganizmów w preparatach przyżyciowych

Przeprowadzona analiza mikroskopowa wykazała zmiany liczebności badanych mikroorganizmów zachodzące pod wpływem zmieniających się warunków środowiskowych w trakcie trwania eksperymentu. Przedstawione poniżej obrazy mikroskopowe pokazują stadia rozwoju bakterii w dwóch różnych warunkach temperaturowych dla poszczególnych dni prowadzenia doświadczenia. Na rysunku 4a wykonanym w 1 dniu rozpoczęcia procesu w temperaturze 21 ºC można zaobserwować pojedyncze komórki bakterii z rodzaju *Bacillus megaterium* zgromadzone wokół kłaczka osadu. Na tym etapie mikrorganizmy są niewielkie, nie dochodzi do podziałów komórkowych, ponieważ próbują się dostosować do środowiska i są w tzw. fazie zastoju (Schlegel H.G. 2003). Wskazuje też na to wysoki poziom pH.

Rys. 4a Obraz mikroskopowy badanej zawiesiny wykonany w 1 dniu trwania procesu zachodzącego w 21 ºC (materiał własny)

Sytuacja jest odmienna w przypadku hodowli prowadzonej w 36 ºC, co przedstawia rys.4b.

Rys. 4b Obraz mikroskopowy badanej zawiesiny wykonany w 1 dniu trwania procesu zachodzącego w 36 ºC (materiał własny)

Można tu zaobserwować, że u niektórych bakterii doszło do podziałów komórkowych, co przełożyło się na znaczny spadek pH badanej zawiesiny po 24 godzinach trwania procesu. Obniżenie odczynu pH w próbach świadczy o tym, że drobnoustroje szybko dostosowały się do warunków środowiskowych i zaczęły wytwarzać kwasy organiczne. Ze względu na to, że jest to początek hodowli, mikroorganizmy występują w różnym stadium rozwoju – jedne są w postaci dwoinek, drugie zaś w formie łańcuszków (na rysunku 4b dwoinki oznaczono niebieską strzałką, natomiast łańcuszki pomarańczową) (Kunicki-Goldfinger W.J.H. 2001).

W 6 dniu trwania procesu obserwuje się wyraźny wzrost mikroorganizmów w badanej zawiesinie. W wyniku podziałów, bakterie z rodzaju *Bacillus megaterium* utworzyły łańcuszki. Liczebność kolonii wyhodowanej w temperaturze 36 ºC jest znacznie większa aniżeli kolonii namnożonej w niższych warunkach temperaturowych. Może to być spowodowane tym, że w 6 dniu przy wyższej temperaturze nastąpiło przejście z fazy wzrostu logarytmicznego do fazy równowagi (tab. 1) (Buczek J. 2000, Schlegel H.G. 2003). Poniżej przedstawiono obrazy mikroskopowe przedstawiające zmiany morfologiczne jakie zaszły u bakterii z rodzaju *Bacillus megaterium* w 6 dobie trwania eksperymentu dla dwóch różnych warunków temperaturowych (rys.5a i 5b).

Rys. 5a Obraz mikroskopowy badanej zawiesiny wykonany w 6 dniu trwania procesu zachodzącego w 21 ºC (materiał własny)

Rys. 5b Obraz mikroskopowy badanej zawiesiny wykonany w 6 dniu trwania procesu zachodzącego w 36 ºC (materiał własny)

W 13 dobie procesu bakterie hodowane w cieplarce przeszły w stan uśpienia, a część z nich uległa rozpuszczeniu pod wpływem własnych enzymów. Podczas obserwacji mikroskopowej nie stwierdzono ruchów tych mikroorganizmów. Z kolei hodowla prowadzona w komorze laminarnej wykazywała większą ruchliwość. Można zatem stwierdzić, że mikroorganizmy były w fazie zamierania. Etap ten charakteryzuje się dominacją procesu obumierania komórek oraz przekształcaniem się poszczególnych drobnoustrojów w formy przetrwalne. Poniżej zamieszczono rysunki przedstawiające bakterie w ostatnim dniu prowadzenia analizy mikroskopowej dla dwóch różnych warunków temperaturowych (rys. 6a i 6b).

Rys. 6a Obraz mikroskopowy badanej zawiesiny wykonany w ostatnim dniu trwania procesu zachodzącego w 21 ºC (materiał własny)

Rys. 6b Obraz mikroskopowy badanej zawiesiny wykonany w ostatnim dniu trwania procesu zachodzącego w 36 ºC (materiał własny)

Analiza przedstawionych wyników pozwala stwierdzić, że w obu przypadkach rozwój zaaplikowanych bakterii zachodzi bardzo gwałtownie. Co prawda w niższej temperaturze faza

zastoju trwa znacznie dłużej, jednakże z chwilą adaptacji mikroorganizmów do danego środowiska proces przebiega sprawniej. Szybkie przejście z fazy równowagi do fazy zamierania może być spowodowane produkcją kwasów organicznych, które obniżyły pH do około 3. Wzmożone procesy metaboliczne mikroorganizmów przekładają się na zakwaszenie badanej zawiesiny. Tak kwaśny odczyn środowiska może nie być sprzyjający dla drobnoustrojów. Prawdopodobne jest, że stężenie wytwarzanych przez bakterie produktów przemiany materii wzrosło do szkodliwego dla nich poziomu. Ponadto, mogło również dojść do wyczerpania się fosforu, który był składnikiem odżywczym dla zaaplikowanych bakterii. Zaobserwowany wzrost odczynu pH świadczy o wzmożonej produkcji kwasów organicznych. Stwarza to warunki do potencjalnej solubilizacji fosforu.

4. Wnioski

Szczegółowa analiza wartości pH, liczebności bakterii mezofilnych w badanej zawiesinie oraz zmian morfologicznych mikroorganizmów w preparatach przyżyciowych, pozwoliła na sformułowanie następujących wniosków:

1. Intensywny rozwój bakterii w cieplarce w temperaturze mieszczącej się w zakresie 25-40ºC świadczy o tym, że obecne w próbach mikroorganizmy należą do grupy mezofili. Jednakże dobór różnych warunków temperaturowych pozwolił stwierdzić, że bakterie te mogą namnażać się również w temperaturach niższych (21ºC). Zdolność ta może być niezwykle przydatna przy solubilizacji fosforu z osadów ściekowych.
2. Bakterie z rodzaju *Bacillus megaterium* mogą być wykorzystane do solubilizacji fosforu z osadów ściekowych, poddanego higienizacji dużą dawką tlenku wapnia, tj. dawką 0,2 kg CaO/kg.s.m.. Ponadto, proces ten może zachodzić zarówno w temperaturze 21ºC jak i 36ºC. W obu przypadkach doszło do zakwaszenia środowiska.

5. Literatura

Biedendieck R., Bunk B., i in. Systems Biology of Recombinant Protein Production in *Bacillus megaterium* [w:] Biosystems Engineering I Creating Superior Biocatalysts, 2010: 134-159.

Buczek J., K. Buczek K., Zarys mikrobiologii ogólnej, Lublin, 2000: 85,111-117,124

Dhankhar R., Sheoran S., i in. The role of Phosphorus Solubilizing Bacteria (PSB) in soil management – an overview, International Journal of Development Research, 2013, 3, (9): 31-36.

Khan M., Zaidi A., Oves M., Functional aspect of phosphate solubilizing bacteria: importance in crop production [w:] Bacteria in agrobiology: crop productivity. Berlin, 2013: 237-265.

Kunicki-Goldfinger W.J.H. Życie bakterii. PWN, 2001: 255-260, 366-377.

Labuda M., Saeid A., Chojnacka K., Górecki H., Zastosowanie *Bacillus megaterium* · w solubilizacji fosforu [w:] Przemysł Chemiczny, 2012a, 91 (5), 837-840.

Labuda M., Saeid A., Chojnacka K., Górecki H., Wykorzystanie mikroorganizmów w wytwarzaniu nawozów fosforowych[w:] Przemysł Chemiczny, 2012b, 91 (5): 956-958.

Mohammadi K. Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their role in crop production, Resources and Environment 2012, 2 (1): 80-85.

Podedworna J., Umiejewska K., Technologia osadów ściekowych., Warszawa 2008: 141-151.

Schlegel H.G. Mikrobiologia ogólna. PWN, 2003:243-259.

Sharma S.B, Sayyed R.Z., Trivedi M.H., Gobi T.A., Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. [w:] SpringerPlus 2013, 2:587.

Vary S. Prime time for *Bacillus megaterium,* Microbiology (1994), 140, 1001 -1013.

Zarzycki R., Wielgosiński G.: Problemy zagospodarowania osadów ściekowych. Praca zbiorowa pod red. R. Zarzyckiego. Gospodarka komunalna w miastach. Polska Akademia Nauk Oddział w Łodzi, Łódź 2001: 215-260.

Wiedza studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego w zakresie konsekwencji zdrowotnych palenia tytoniu

Angelika Ciupińska [(1)], Magdalena Magoń [(1)], Zuzanna Pyś [(1)], Filip Osuchowski [(1)]

[1] Instytut Pielęgniarstwa i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Rzeszowski
Angelika Ciupińska: angelika.ciupinska96@gmail.com

Streszczenie
Nikotynizm jest istotnym elementem otoczenia wielu ludzi. Jest to problem, zwłaszcza medyczny. Metodą badań wykorzystaną w pracy był sondaż diagnostyczny, który został wykonany za pomocą ankiety. Grupa badana stanowiła 248 osób. Według uzyskanych wyników, kobiety posiadają większą wiedzę, niż mężczyźni w aspekcie zróżnicowanego działania leków u osób palących i niepalących, a także wpływu palenia tytoniu na poprawę pamięci świeżej. Analiza wyników wykazała także różnice w odpowiedziach pod względem kierunku studiów. Zdecydowanie lepsze wyniki osiągnęli studenci kierunków medyczny. Osoby niepalące częściej udzielały poprawnych odpowiedzi na pytania o negatywny wpływ palenia tytoniu na organizm. Studenci kierunków medycznych wykazali się znacznie lepszą wiedzą, niż studenci z kierunków humanistycznych oraz ścisłych. Wśród kobiet, także zaobserwowano więcej poprawnych odpowiedzi, niż wśród mężczyzn. Odnośnie palenia tytoniu, wśród studentów, większą wiedzę o negatywnych skutkach tego nałogu, posiadali niepalący studenci lub byli palacze.

Słowa kluczowe: palenie tytoniu, konsekwencje zdrowotne, wiedza studentów

The knowledge University of Rzeszów students about health consequences of smoking

Summary
Nicotine is an important element of many people's environment. It is a problem, mainly a medical one. The method used in the thesis was a diagnostic survey, which was made using a questionnaire. The study group consisted of 248 people. According to the obtained results, women have more knowledge than men in the aspect of diversified drug action in smokers and non-smokers, as well as the impact of smoking on improving fresh memory. Analysis of the results also showed differences in responses in terms of the field of study. The students of medical faculties achieved significantly better results. Non-smokers more often provided correct answers to questions about the negative impact of smoking on the body. Students of medical faculties showed much better knowledge than students from humanities and science. Among women, more correct answers were also observed than among men. With regard to smoking, among students, more knowledge about the negative effects of this addiction, had non-smoking students or former smokers.

Key words: smoking, health consequences, students' knowledge

1. Wstęp

Problem nikotynizmu, jest istotnym elementem otoczenia wielu ludzi. Budzi obawy, zwłaszcza z medycznego punktu widzenia. WHO uznała palenie tytoniu, jako epidemię i problem nie tylko zdrowotny, ale także kulturowy, ekonomiczny oraz społeczny. Osoby palące tytoń nie zawsze zdają sobie sprawę, ze zdrowotnych konsekwencji wynikających z tego nałogu. Z dostępnych danych wiemy, że w 2009 roku tytoń paliło 24% kobiet i 35% mężczyzn, w 2015 roku odsetek ten wyniósł wśród kobiet 18%, natomiast wśród mężczyzn 31%. Zmniejszający się trend jest pozytywnym zjawiskiem, jednak wartości liczbowe nadal nie są satysfakcjonujące (Główny Inspektorat Sanitarny, Warszawa 2015). Zgodnie z X Międzynarodową Statystyczną Klasyfikacją Chorób i Problemów Zdrowotnych (ICD-10)

palenie tytoniu to choroba przewlekła, sklasyfikowana pod kodem F17, czyli zaburzenia psychiczne i zaburzenia, które są spowodowane paleniem tytoniu (World Health Organization, 2009). Nikotyna jest głównym alkaloidem pirydynowym tytoniu, który budzi bardzo duże zainteresowanie w środowisku lekarzy, ze względu na nieprzerwalnie istniejący nałóg palenia. Przeciętnie w papierosie znajduje się jeden gram tytoniu, w którym 1-2% zawartości to nikotyna, mająca postać związków z kwasami organicznymi. Palenie papierosa ma postać pirolizy środka, który jest w nim zawarty. Podczas palenia 30% nikotyny trafia głównym strumieniem przez jamę ustną aż do płuc, a pozostałe 70% ulega procesowi spalania. Dzięki posiadanym informacjom wiemy, że wstrzyknięcie 50-75mg winianu nikotyny miałoby działanie śmiertelne. Taka dawka może być zwarta nawet w jednym papierosie, jednak dzięki temu, że wchłonięciu ulega tylko 1-2mg nikotyny, nie obserwujemy zgonu, w wyniku wypalenia jednego papierosa. Metabolizowanie i unieczynnienie nikotyny występuje w wątrobie, natomiast wydalana zostaje wraz z moczem (Samochowiec i in. 2001) (Górecka i in. 1986).

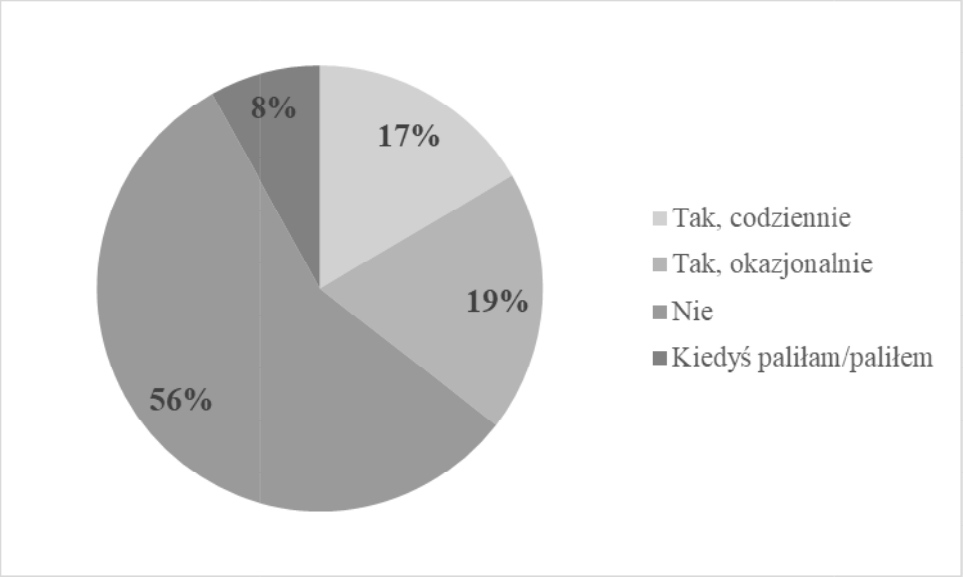
Celem pracy było przybliżenie problemu uzależnienia od nikotyny, objawów o nim świadczących oraz konsekwencji, które na przestrzeni lat mogą prowadzić do poważnych chorób, ze strony kilku układów. Bardzo ważne było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, czy studenci Uniwersytetu Rzeszowskiego, uczęszczający na kierunki medyczne, posiadają większą wiedzę na temat zdrowotnych konsekwencji palenia tytoniu, niż osoby uczące się na kierunkach ścisłych i humanistycznych. Istotną kwestią było także otrzymanie odpowiedzi, czy niepalący studenci posiadają większą wiedzę, niż palący studenci, a także czy kobiety wyróżniają się większą wiedzą odnośnie konsekwencji zdrowotnych palenia tytoniu, niż mężczyźni.

2. Materiał i metoda

Metodą badań wykorzystaną w pracy był sondaż diagnostyczny, który został wykonany za pomocą ankiety. Narzędziem badawczym był kwestionariusz ankiety, utworzony na podstawie pytań zawartych w pracy A. Gersternkorn, I. Więcławska, M. Sawuła, *Wiedza funkcjonariuszy policji o zdrowotnych skutkach palenia tytoniu,* Przegląd Lekarski 2009/ 66/10791 (Gersternkorn i in., 2009). Kwestionariusz ankiety składał się z dwóch części i zawierał 18 pytań szczegółowych i 3 pytania zawarte w metryczce. Pytania szczegółowe dotyczyły wiedzy na temat palenia tytoniu.

W badaniu wzięło udział 248 studentów z Uniwersytetu Rzeszowskiego. Badanie zostało przeprowadzone w okresie od stycznia do lutego 2017 roku, przy pomocy portalu internetowego. Ankietowani zostali poinformowani o dobrowolnym udziale, anonimowości

oraz celu badania. Do wykonania analizy użyto testu statystycznego chi-kwadrat. Z przeprowadzonej analizy danych wynika, że grupa badana stanowiła 248 osób, wśród których było 140 kobiet (56%) i 108 mężczyzn (44%). Podział respondentów pod względem kierunku, na którym studiują, wskazuje, że najliczniejszą grupę stanowili studenci kierunków humanistycznych- 93 osoby (38%), studenci kierunków medycznych stanowili grupę 78 osób (38%), kolejno z kierunków ścisłych grupa liczyła 77 osób (38%). Analiza palenia tytoniu przez studentów, wykazała że tytoń pali codziennie 17% respondentów, okazjonalnie pali 19% osób, niepalących studentów jest 56%, byli palacze stanowią 8%.



Wykr.1. Podział respondentów pod względem palenia papierosów, lub innych wyrobów tytoniowych , Źródło: Badanie własne

3. Wyniki

Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na wyodrębnienie istotnie statystycznej różnicy, dotyczącej płci, a wiedzy na temat skuteczności działania przyjmowanych leków przez osoby palące, jak i niepalące. Kobiety w 58,57% znały prawidłową odpowiedź na to pytanie, mężczyźni natomiast w 41,67%. Aż 45,37% mężczyzn i 30,71% stwierdziło, że nie wie czy istnieje zależność pomiędzy działaniem leków u palaczy i osób palących.

W pytaniu o wiedzę, na temat negatywnego wpływu palenia tytoniu na stan zdrowia palacza nie zaobserwowano istotnej statystycznie zależności, pomiędzy płcią respondentów. Kobiety w 90,71% znały prawidłową odpowiedź, natomiast mężczyźni w 87,96%. Błędnych odpowiedzi udzieliło 7,14% kobiet i 9,26% mężczyzn. Pozostałe osoby deklarowały niewiedzę w tym temacie. 98,57% kobiet i 96,30% mężczyzn wiedziało, o uzależniającym

działaniu nikotyny. Zaledwie 1,43% kobiet i 3,70% mężczyzn udzieliło błędnych odpowiedzi, nie są to jednak wartości istotne statystycznie.

Tab. 1. Wiedza badanych studentów i studentek na temat, czy leki przyjmowane przez osoby palące działają równie skutecznie, jak u niepalących.

Wiedza badanych studentów i studentek na temat, czy leki przyjmowane przez osoby palące działają równie skutecznie, jak u niepalących.							
	Mężczyzna		Kobieta		∑		p
	N	%	N	%	N	%	
Tak	14	12,96%	15	10,71%	29	11,69%	
Nie	45	41,67%	82	58,57%	127	51,21%	
Nie wiem	49	45,37%	43	30,71%	92	37,10%	
Razem	108	43,55%	140	56,45%	248	100,00%	0,02

Zanotowano istotnie statystyczną zależność dotyczącą wpływu płci na udzielenie odpowiedzi w pytaniu związanym z poprawą pamięci świeżej i koncentracji poprzez palenie papierosów. W tym przypadku mężczyźni w znali odpowiedź w 12, 04%, natomiast kobiety jedynie w 3,57%. Bardzo duża część respondentów udzieliła błędnych odpowiedzi, 62,04% mężczyzn i 83,57% kobiet. Pozostałe osoby zadeklarowały niewiedzę odnośnie tego zagadnienia. Z analizy danych wynika, że istnieje bardzo duża zależność dotycząca odpowiedzi mężczyzn i kobiet na pytanie, czy palenie papierosów obniża poziom adrenaliny we krwi. 64,84% mężczyzn udzieliło prawidłowej odpowiedzi na powyższe pytanie, natomiast żadna z kobiet nie wskazała, że palenie papierosów wpływa na obniżenie poziomu adrenaliny we krwi. Najpopularniejszą odpowiedzią wśród kobiet (65%) była odpowiedź „nie wiem". Stwierdzono istotnie statystyczną zależność dotyczącą kierunku studiów, a odpowiedzią na pytanie o stwierdzenie prawidłowości, czy w dymie tytoniowym znajduje się ponad 40 związków rakotwórczych. Kierunki medyczne w 80,77% znały prawidłową odpowiedź na to pytanie, kierunki humanistyczne w 66,67%, natomiast studenci kierunków ścisłych w 62,34%. Nieprawidłowych odpowiedzi było kolejno 3,85% wśród kierunków medycznych, 3,23% humanistycznych i 1,30% ścisłych. Analiza wyników pozwoliła na zaobserwowanie istotności dotyczącej kierunku studiów, a odpowiedzią na pytanie o wpływ palenia tytoniu na występowanie chorób układu sercowo-naczyniowego. Studenci kierunków medycznych udzielili w 96,15% prawidłowych odpowiedzi, kolejno studenci kierunków humanistycznych 90,32% i 89,61% studenci z kierunków ścisłych. Żadna z osób studiujących na kierunku ścisłym nie udzieliła błędnej odpowiedzi, jednak w 10,39% zadeklarowało niewiedzę odnośnie tego pytania. Istotną statystycznie zależność zaobserwowano także pomiędzy kierunkiem studiów, a wiedzą na temat wpływu palenia tytoniu na występowanie raka

pęcherza moczowego. Najwięcej prawidłowych odpowiedzi zanotowano wśród studentów kierunków medycznych (19,23%), a najmniej wśród studentów kierunków humanistycznych (5,38%). Najpopularniejsze odpowiedzi (53,23%) deklarowały niewiedzę na temat wpływu palenia tytoniu na występowanie raka pęcherza moczowego.

Tab. 2. Wiedza badanych studentów i studentek nt. wpływu palenia tytoniu, na występowanie raka pęcherza moczowego, w zależności od kierunku studiów

Wiedza badanych studentów i studentek nt. wpływu palenia tytoniu, na występowanie raka pęcherza moczowego, w zależności od kierunku studiów.									
	Medyczny		Humanistyczny		Ścisły		∑		p
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Tak	15	19,23%	5	5,38%	7	9,09%	27	35,89%	
Nie	32	41,03%	33	35,48%	24	31,17%	89	10,89%	
Nie wiem	31	39,74%	55	59,14%	46	59,74%	132	53,23%	
Razem	78	31,45%	93	37,50%	77	31,05%	248	100,00%	0,01

Zaobserwowano istotną statystycznie zależność pomiędzy kierunkiem studiów, a odpowiedzią udzielaną na pytanie dotyczące negatywnego wpływu palenia tytoniu na wzrok, np. obniżenie zdolności adaptacji oka do ciemności i zwiększające się ryzyko rozwoju zaćmy. Najwięcej poprawnych odpowiedzi (57,69%) i najmniej błędnych (11,54%) udzielili studenci kierunków medycznych. Największą niewiedzę (54,84%) deklarowali studenci kierunków humanistycznych, natomiast największy odsetek błędnych odpowiedzi odnotowano wśród respondentów uczęszczających na kierunki ścisłe. Analizując uzyskane wyniki, zaobserwowano bardzo istotną statystyczną zależność pomiędzy paleniem papierosów lub innych wyrobów tytoniowych, przez studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego, a odpowiedzią na pytanie dotyczące mniejszej szkodliwości papierosów typu „light", niż papierosów tzw. „mocnych". Niepalący respondenci udzielili najwięcej prawidłowych odpowiedzi (77,86%), natomiast najmniej prawidłowych odpowiedzi udzieli studenci palący codziennie. Najwięcej błędnych odpowiedzi udzieli byli palacze (30%) i palący codziennie (29,27%). Bardzo istotną statystycznie zależność zaobserwowano także pomiędzy paleniem tytoniu przez studentów, a odpowiedzią na pytanie dotyczące negatywnego wpływu palenia tytoniu na wzrok np. obniżając zdolność adaptacji oka do ciemności i zwiększając ryzyko rozwoju zaćmy. O negatywnym wpływie tytoniu na wzrok wiedziało 47,86% niepalących osób, najmniejszą wiedzę posiadali studenci palący codziennie- 19,51%. Błędnych odpowiedzi w 34,15% udzielili palący respondenci, 14,89% palący okazjonalnie oraz 10,71% niepalący.

W odpowiedziach na pytanie o odwracalność zmian zachodzących w układzie krążenia palaczy, zaobserwowano bardzo istotną statystycznie zależność, pomiędzy paleniem tytoniu przez studentów. Najwięcej prawidłowych odpowiedzi udzielili niepalący studenci (48,57%).

Największą ilość błędnych odpowiedzi zanotowano wśród osób palących codziennie (56,10%) i byłych palaczy (45%).

Tab. 3. Umiejętność powiązania palenia tytoniu z negatywnym wpływem na wzrok np. obniżeniem zdolności adaptacji oka do ciemności i zwiększającym się ryzykiem rozwoju zaćmy, a palenie tytoniu wśród studentów.

Umiejętność powiązania palenia tytoniu z negatywnym wpływem na wzrok np. obniżeniem zdolności adaptacji oka do ciemności i zwiększającym się ryzykiem rozwoju zaćmy, a palenie tytoniu wśród studentów.											
	Tak, codziennie		Tak, okazjonalnie		Nie		Kiedyś paliłam/paliłem		∑		p
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
Tak	8	19,51%	14	29,79%	67	47,86%	8	40,00%	97	39,11%	
Nie	14	34,15%	7	14,89%	15	10,71%	0	0,00%	36	14,52%	
Nie wiem	19	46,34%	26	55,32%	58	41,43%	12	60,00%	115	46,37%	
Razem	41	16,53%	47	18,95%	140	56,45%	20	8,06%	248	100,00%	0,0002

4. Dyskusja

W literaturze temat nałogu palenia tytoniu jest bardzo powszechny, często spotyka się publikacje dotyczące szkodliwości palenia tytoniu, epidemiologii, mechanizmu uzależnienia oraz leczenia. Bardzo rzadko bada się jednak wiedzę studentów na temat konsekwencji zdrowotnych związanych z tym nałogiem.

Wiedza studentów na temat zróżnicowanego działania leków u osób palących, jak i niepalących, nie jest zadowalająca. Ogólny wynik wyniósł 51,21%. Zaobserwowano w tym pytaniu istotną statystycznie zależność pomiędzy posiadaną wiedzą, a płcią studentów. Delijewski i Goniewicz przedstawili mechanizm oddziaływania palenia tytoniu na przyjmowane produktów leczniczych (Delijewski i in. 2010). Zaledwie 41,67% mężczyzn udzieliło poprawnej odpowiedzi na to pytanie. Kobiety w 58,57% znały prawidłową odpowiedź. Wiedza naukowa potwierdza istotny wpływ nikotyny na działanie różnych grup leków (Jośko-Ochojska i in. 2015), (Delijewski i in. 2010), (Stańczak i in. 2008). Podobny wynik uzyskał Gernsternkorn i wsp. badający wiedzę funkcjonariuszy policji na temat konsekwencji palenia tytoniu, ilość nieprawidłowych odpowiedzi potwierdzająca różnicę pomiędzy działaniem leków u osób palących i niepalących wynosiła 56,9% (Gersternkorn i in. 2009). Wiedza dotycząca znajomości poprawy pamięci świeżej, poprzez wypalanie papierosów wykazała, że studenci posiadają znikomą wiedzę na temat pozytywnych aspektów palenia tytoniu. Literatura naukowa dostarcza informacji odnośnie wpływu nikotyny na mózg. Bidzan w swojej publikacji na temat konsekwencji psychiatrycznych palenia tytoniu w populacji wieku podeszłego, porusza tematykę pozytywnego wpływu nikotyny na mózg, a zwłaszcza poprawy pamięci, przekładającej się na uzyskiwanie lepszych wyników zwłaszcza w testach psychologicznych (Bidzan 2013). 7,26% studentów wykazuje znajomość działania nikotyny na poprawę pamięci świeżej. Można stwierdzić, iż w czasie edukacji nie

porusza się tematów związanych z pozytywnym wpływem palenia tytoniu na organizm. W badaniu dotyczącym wpływu nikotyny na poziom adrenaliny, żadna z badanych kobiet nie udzieliła błędnej odpowiedzi. Średni wynik wyniósł 22,58 %. W wynikach Gernsternkorna i wsp. 44,1% osób wiedziało o braku wpływu palenia tytoniu na obniżenie poziomu adrenaliny we krwi. Nikotyna zupełnie odwrotnie oddziałuje na adrenalinę, a mianowicie znacznie podnosi jej poziom (Czechowska i in. 2007). Pytanie o zawartość związków rakotwórczych w dymie tytoniowym charakteryzowała się bardzo niskim poziomem prawidłowych odpowiedzi. Zaledwie 3,85% studentów kierunków medycznych udzieliło prawidłowej odpowiedzi, podobne wyniki uzyskała Seget i wsp. w swoich badaniach, w których znajomość ilości substancji rakotwórczych w dymie papierosowym wyniosła 6,65% wśród studentów kierunku lekarskiego (Seget i in. 2012). Wyniki uzyskane w pytaniu o wpływ palenia tytoniu na powstawanie raka pęcherza moczowego wykazały największy odsetek prawidłowych odpowiedzi wśród studentów kierunków medycznych (19,23%). Podobny wynik uzyskał Brandys i wsp., około 20% studentów farmacji wskazało związek palenia tytoniu z rakiem pęcherza moczowego (Brandys i in. 2009). Nie jest to jednak zadowalający poziom wiedzy odnośnie wpływu nałogu palenia, na ryzyko występowania tej choroby. Jednak w porównaniu z innymi kierunkami (humanistyczny- 5,38%, ścisły- 9,09%), kierunki medyczne wypadły zdecydowanie lepiej. W pytaniu o wpływ palenia tytoniu na wzrok np. obniżenie zdolności adaptacji oka do ciemności i zwiększające się ryzyko rozwoju zaćmy, najwięcej prawidłowych odpowiedzi udzieli studenci kierunków medycznych (57,69%), natomiast najmniej studenci kierunków humanistycznych (30,11%) oraz studenci kierunków ścisłych (31,17%). Grzybowski w swojej publikacji na temat wpływu tytoniu na choroby narządu wzroku, wykazał silny związek palenia tytoniu z rozwojem zaćmy oraz występowania innych dolegliwości ze strony narządu wzroku (Grzybowski 2008). Przeciętna wiedza studentów kierunków ścisłych i humanistycznych, odnośnie tego zagadnienia w przyszłości może przyczynić się do kumulacji czynników ryzyka, a w efekcie doprowadzić do dolegliwości ze strony narządu wzroku. Badania naukowe dowodzą, że osoby palące tytoń mają wyższe ciśnienie tętnicze krwi, niż niepalący (Grabowska i in. 2012). Studenci mieszkający w mieście >100tys udzielili najwięcej prawidłowych odpowiedzi (39,73%) na pytanie o wpływ nikotyny zawartej w papierosach na obniżenie ciśnienia tętniczego krwi. Najniższą wiedzą na ten temat wykazali się studenci mieszkający na stałe na wsi (17,69%). Większość studentów (91,94%) posiadało wiedzę na temat wpływu nikotyny na występowanie chorób układu sercowo-naczyniowego, jednak nie przekłada się to na wiedzę odnośnie działania nikotyny na podwyższenie ciśnienia tętniczego krwi. Podobny wynik

uzyskał Gernsternkorn i wsp., 84% respondentów wiedziała o wpływie palenia tytoniu na choroby układu krążenia, jednak wykazali znikomą wiedzę odnośnie działania nikotyny na poziom ciśnienia tętniczego krwi (Gersternkorn i in. 2009).

5. Wnioski

1. Badane kobiety posiadają większą wiedzę, niż mężczyźni na temat konsekwencji zdrowotnych palenia tytoniu.
2. Studenci kierunków medycznych wykazali się większą wiedzą na temat skutków związanych z nałogiem palenia, niż studenci kierunków humanistycznych i ścisłych.
3. Niepalący studenci posiadają większą wiedzę na temat oddziaływania nikotyny i dymu tytoniowego na organizm człowieka, niż studenci palący codziennie, okazjonalnie oraz byli palacze.
4. Studenci mieszkający w mieście wykazali się większą wiedzą na temat konsekwencji zdrowotnych palenia tytoniu, niż osoby na stałe mieszkające na wsi.

6. Literatura

Bidzan L., *Konsekwencje psychiatryczne palenia tytoniu w populacji wieku podeszłegoZaledwie,* Geriatria, 2013, 7, 142-148

Brandys J., Panas M., Skowron N., *Stan wiedzy studentów farmacji wydziału farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie o uzależnieniu od palenia papierosów,* Przegląd Lekarski 2009/ 66 / 10, 709-713

Czechowska G., Mądro A., Kozicka M., *Receptorowe mechanizmy uzależnienia od nikotyny,* Probl Hig Epidemiol, 2007, 88, 14-16

Delijewski M., Goniewicz M., *Interakcje leków z dymem tytoniowym w praktyce farmaceuty.*, Farm Przegl. Nauk. 2010,12, 43-59

Główny Inspektorat Sanitarny, *Raport z ogólnopolskiego badania ankietowego na temat postaw wobec palenia tytoniu,* Warszawa 2015

Górecka D., Pepke-Zaba J., Metody odzwyczajania od nałogu palenia papierosów. Pneum. Pol. 1986,54,205-211

Grabowska H., Grabowski W., Flis A., *Wpływ palenia tytoniu na ciśnienie krwi, a działania pielęgniarskie*, Problemy Pielęgniarstwa 2012; 20 (4): 519–523

Grzybowski A., *Współczesny stan wiedzy na temat wpływu palenia tytoniu na choroby narządu wzroku*, Przeglad Lekarski 2008 / 65 / 10, 724-727

Ochojska- Jośko J., Spandel L., Brus R., *Interakcje alkoholu i dymu tytoniowego z lekami – wiedza potrzebna na co dzień,* Hygeia Public Health 2015, 50(3): 474-481

Samochowiec J., Rogoziński D., Hajduk A., Diagnostyka, mechanizm uzależnienia i metody leczenia uzależnienia od nikotyny, Alkoholizm i Narkomania, Tom 14, 2001, Nr 3, 323-340

Seget M., Karolczak D., Wilk M., *Świadomość rakotwórczego działania dymu tytoniowego – badania ankietowe studentów i pracowników CM UMK.,* Przegląd Lekarski 2012 / 69 / 10, 904-907

Stańczak A., Lewgowd W., *Interakcje leków ze składnikami dymu tytoniowego cz. I*, Bromat. Chem. Toksykol. – XLI, 2008, 4, str. 1030–1036

World Health Organization, *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, ICD-10,* Volume I, 2009, 215

The health effect of superfruits Goji (*Lyciumbarbarum* L.)

Justyna A. Dąbrowska [(1)]

[1] Instituteof General Food Chemistry, Lodz University of Technology
Justyna A. Dąbrowska: justyna.alicja.dabrowska@gmail.com

Summary
Superfruits, a subcategory of superfoods, are considered as products targeting health and mental well-being due to their richness in nutrients, antioxidants, health benefits, tastiness and sensory properties. It can be consumed as foodstuffs or used as ingredients by manufacturers of functional foods, beverages and nutraceuticals. Fruits of *Lyciumbarbarum* L. are widely used as traditional Chinese medicine and functional food in China, South-east Asia, Europe and North America. Thanks to the richness of polyphenols, polysaccharides, and carotenoids which are the main active compounds in Goji berries, they possess a large variety of biological activities and pharmacological functions and play an important role in preventing and treating various chronic diseases.

Keywords: Goji berries, biological activity, health benefits, superfoods, superfruits

Aktywność zdrowotna „super-owoców"Goji (*Lyciumbarbarum* L.)

Streszczenie
Superfruits/super-owoce, podkategoria superfoods/superżywności, dzięki bogactwu składników odżywczych, przeciwutleniaczy, profitów zdrowotnych, smakowitości i właściwości sensorycznych, uważane są za produkty ukierunkowane na zdrowie i dobre samopoczucie. Mogą być spożywane zarówno jako żywność oraz składnik napojów lub żywności funkcjonalnej bądź jako suplementnutraceutyków. *Lyciumbarbarum* L. jest stosowana w chińskiej medycynie ludowej i spożywana, jako żywność funkcjonalna w Chinach, Azji Południowo-Wschodniej, Europie i Ameryce Północnej. Dzięki bogactwu polifenoli, polisacharydów i karotenoidów, które są głównymi składnikami aktywnymi jagód Goji, wykazują one znaczną aktywność biologiczną i farmakologiczną oraz odgrywają istotną rolę w zapobieganiu i leczeniu chorób przewlekłych.

Słowa kluczowe: jagody Goji, aktywność biologiczna, profity zdrowotne, super-żywność, super-owoce

1. Introduction

The Goji berries, fruits of *Lyciumbarbarum* L., have been used in Asian traditional medicine for more than 2500 years (Niro et al. 2017). *L. barbarum* grows in China, Tibet and other parts of Asia (Tanase et al. 2016). It is considered that plant originated from the Mediterranean Basin, but this information has not been confirmed (Potterat et al. 2009). It is also cultivated in the Mediterranean area, Southwest and Central Asia, North America and Australia.

The fruits of *L. barbarum* can be eaten fresh or dried (Fig.1) and used as food additive for yoghurt, smoothie drinks, fruit juices, baker's goods, cocoa products, cookies, and others. Today the Goji berries market is significantly expanding due to its qualifying as a "super food" or "superfruits" what is related to highly advantageous nutritive, antioxidant properties, and health benefit (Cui et al. 2011). For the above reasons, Goji berries have become more popular over the last few years.

2. Plant characteristic

Lycium spp. are part of the *Solanaceae* family, which includes tomatoes, tomatillos, potatoes, eggplants, bell/chili peppers, and tobacco (Amagase and Farnsworth, 2011). Lycium, the genus name, is derived from the ancient southern Anatolian region of Lycia located on the southern coast of Turkey. The most popular name for *L. barbarum* fruit, Goji, was originated from the word “gǒuqǐ”, comes from Chinese dialect and means berry (Kulczyński and Gramza-Michałowska 2016). Also, the Persian language term ‘gojeh’ means plum or berry.*L. barbarum* is commonly known as wolfberry. "Wolfberry” has an unknown origin, perhaps confusion over the genus name, Lycium, which resembles lycos, the Greek word for wolf. In Tibetan, the plant is called dretsherma, with dre meaning "ghost" and tsherma meaning "thorn". Another name, Duke of Argyll's tea tree/plant, was named after Lord Archibald Campbell, the dominant political leader in Scotland in his day. The Duke was nicknamed the 'Treemonger' because he was an enthusiastic gardener. He imported large numbers of exotic species of plants and trees for his estate, e.g. the Kew Gardens were created from his plants. lt can also be called a Chinese boxthorn, Himalayan or Tibetan goji, and mede berry, because of the regions of origin. The alternative names are barbary matrimony vine, Murali, red medlar, boxthorn, and false jessamine.

L. barbarum grows up to 3 m high (Amagase and Farnsworth, 2011; Kulczyński and Gramza-Michałowska 2016; Potterat et al. 2009). The gray-green leaves form on the shoot either in an arrangement are alternate, lanceolate and gradually narrow to the petiole or in bundles of up to three, each having a shape that is either lanceolate or ovate. Leaf dimensions are 7 cm in length by 3.5 cm broad with blunted or round tips. There are 1 to 3 axillary, radical flowers, growing in groups in the leaf axils. The calyx and pistils are fused. The calyx is bilabial with a double-toothed lower lip. The light purple, lavender or violet corolla is funnel-shaped with five or six lobes, reaches 9–14 mm wide.

Plants are self-pollinating but may be cross-pollinated by insects (Amagase and Farnsworth, 2011; Kulczyński and Gramza-Michałowska 2016). In the northern hemisphere, flowering occurs from June through September and berry maturation from June to October, depending on the latitude, altitude, and climate where frost does not occur fruiting is continuous and plants do not lose their leaves.

The oblong, bright orange-red to dark red berries with acute apex, reaches 6-20 mm in length and 3–8 mm in diameter and possess a bitter to sweet taste. The number of seeds in each berry varies widely based on cultivar and fruit size, containing anywhere between 10-60 tiny yellow seeds that are compressed with a curved embryo. The number of seeds in each

berry varies widely based on cultivar and fruit size, containing anywhere between 10-60 tiny yellow seeds. The fruits are collected in the summer and autumn, dried in the shade till the skin shrinks and are then exposed to the sun until the outer skin becomes dry and hard but the pulp still soft. The berries ripen from July to October in the northern hemisphere.*L. barbarum* naturally grows in Asia, primarily in northwest China.

3. Chemical composition

The Goji berries comprise different essential nutritional substances, such as polysaccharide complexes, organic acids, phenolic compounds and antioxidants with high biological activity (Liu et al. 2016; Niro et al. 2017). Among the polysaccharides, the most well-researched are water-soluble glycoconjugates which are estimated to comprise 5–8% of the dried fruits (Amagase and Farnsworth 2011). They have been found to be complex glycopeptides consisting of acidic heteropolysaccharides and polypeptides or proteins. It was confirmed that they are built of monosaccharides, mainly xylose and glucose with an additive of arabinose, rhamnose, mannose, and galactose, as well as also galacturonic acid and 18 amino acids. The main chains of the glycan backbones have been found to be either α-(1–N6)-*D*-glucans or α-(1–N4) *D*-polygalacturonase.

The reddish-orange color of berries is derived from carotenoids, which make up 0.03–0.5% of the content (dried berries) (Niro et al. 2017). The predominant carotenoid is zeaxanthin (also called physalien or physalin), comprising about one-third to one-half of the total carotenoids (Amagase and Farnsworth 2011). β-carotene,α-carotene, lutein, lycopene,xantophylls,neoxanthin, and cryptoxanthin are present at low concentrations (Islam et al. 2017).Zeaxanthin is currents as an ester of dipalmitate and is a yellow pigment, an isomer of lutein and a derivative of β-carotene. According to Bunghez et al. β-carotene are predominated (Bunghez et al. 2012).

Goji berries constitute a variety of antioxidants such as ascorbic acid, carotenoids, α-tocopherol, together with other vitamin E compounds (tocopherols), and high levels of phenolic compounds. Recent studies indicate that polysaccharides from *Lyciumbarbarum* possess a range of biological activities, including antioxidant properties (De Souza Zanchetet al. 2017).*L. barbarum* fruits are also an extremely rich source of many essential minerals (K, P, Mg, Cu, Fe, Zn, Co, Se, Ca, S, B, Na, Mn, Ni, Mo, Cr), vitamins (tocopherol and ascorbic acid), and dietary fibre. Potassium was found as the highest element (circa 13500 mg/Kg) and followed by phosphorus (circa 1100 mg/Kg), calcium (circa 1003 mg/Kg), magnesium (circa 806 mg/Kg), sulphur (circa 494 mg/Kg). In a smaller quantities iron, boron, sodium, copper,

zinc, manganese, selenium, nickel, molybdenum, and chromium are present in descending order (Endes et al. 2015). The mineral composition varies according to their geographical origin (Booij et al. 1992). Other chemical compounds, which are present in berries are betaine, cerebroside, beta-sitosterol, p-coumaric acid, glutamine, asparagine, stigmasterol, campesterol, cholestanol, cycloeucalenol, obtusifoliol, gramisterol, citrostadienol, cycloartanol, lanosterol, bamyrin, lupeol, taurine and gamma-aminobutanoic acid. Among phenolic acids and flavonoids are present quercetin-rhamno-di-hexoside in the largest fraction, followed by quercetin-3-O-rutinoside, dicaffeoylquinic acid isomers, chlorogenic acid, quercetin-di-(rhamnohexoside), quercetin-di-(rhamno)-hexoside, kaempferol-3-O rutinoside, isorhamnetin-3-O-rutinoside, p-coumaric acid, caffeic acid and vanillic acid.

In fruit oil, palmitic, oleic, linoleic acids were found as major fatty acids. Goji fruit oil contained linoleic acid (60.77%), oleic (21.69%), palmitic (8.23%), stearic (2.91%), arachidic (1.83%), linolenic (1.11%), and myristic (0.11%) acids (Endes et al. 2015).

Goji fruits include circa 11% of moisture, circa 4% of crude oil, circa 9% of crude protein, 7% of fibre. Minimum quantities of total sugar and total phenol per 100 g of product amounts to circa 490% and 3.5%, respectively.

For the above reported reasons, Goji berries are often proposed as functional foods and have been includedin the novel category of “superfruits” or “superfoods” (Cui et al. 2011; Mocan et al. 2014).

4. Biological activity

Goji fruits extracts possess a lot of biological activities due to antioxidative effects. For example anti-aging, anti-fatigue properties, anti-tumor/anti-cancer, immune-enhancing/ immunomodulation, increased endurance, increased metabolism, anti-diabetic, protecting liver damage, anti-glaucoma, cytoprotection, neuroprotective, DNA protective, and reducing the side effects of chemotherapy and radiotherapy as well as may help reduce hypertension (Bunghez et al. 2012; Cui et al. 2011, Endes et al. 2015; Gündüz et al. 2015; Jin et al. 2016; Lam et al. 2015; Liu et al. 2017; Mocan et al. 2015; Zhu et al. 2017). Thanks it, it may be used to treat and prevent diseases such as insomnia, liver dysfunction and eyesight problems to diabetes, high blood pressure, vertigo, lumbago, skin rashes, impotence and menopausal complaints.It was proved that, long-term ingestion of goji berries causes prevention of cardiovascular diseases (De Souza Zanchetet al. 2017; Simonyan et al. 2016; Zhang et al. 2015).So more, the predominant carotenoid, zeaxanthin, helps in protecting the retinal macula from degeneration as well as may stimulate metabolic rateand plays a role in our immune system support because of high antioxidant properties (Amagase and Farnsworth 2011;

Bunghez et al. 2012). The next carotenoid, *β*-carotene, is important for the synthesis of vitamin A, vision, cell structure, bones and teeth, and healthy skin, liver and kidney protection and to strengthen the muscle and bone (Cheng et al. 2000).

Aqueous and ethanol extracts of *Lyciumbarbarum* can reduce accumulation of visceral fat in high-fat diet rats (Cui et al. 2011) and diabetic mice (Jing et al. 2009). There are several reports showing a glucose level control effect of *Lyciumbarbarum* (Islam et al. 2017). Goji berries are used in traditional medicine for treating many types of diseases including diabetes, hyperlipidemia, cancer, hepatitis, immune disorders, colitis, stroke, Alzheimer's disease, abdominal pain, dry cough, headache, and thrombosis (De Souza Zanchet et al. 2017; Potterat et al. 2009). They are prized for tranquilizing and thirst quenching effects, therapeutic effects on aging and fatigue as well as its ability to increase stamina, reducing rheumatism, enriching the blood, and enhancing eyesight and hemopoiesis(Dong et al. 2012).

In the Chinese medicine, *L. barbarum* berries are known as measures stimulates sexual behaviors (like aphrodisiac) and medicament for male infertility(De Souza Zanchet et al. 2017; Dong et al. 2012; Jin et al. 2016; Luo et al. 2006; Potterat et al. 2009).In particular, polysaccharides contained in berries have an influence on male reproductive function (Luo et al. 2006).

Environmental factors have significant effects on the content of the main active components of Goji berries like polysaccharides, carotenoids and polyphenols thereby on antioxidant activity (Dong et al. 2012; Shan et al. 2011). Dong et al. and Lam et al. proved that *L. barbarum* fruits possess the high content of polyphenols and show the high antioxidant activity, but the level of these properties was strictly dependent on the place of origin (Lam et al. 2016). Berries with the most significant properties originate from the agricultural region of the People's Republic of China - Ningxia.Furthermore, it was found that the antioxidant properties of polysaccharides from Goji berries are comparable with the vitamin C (Jin et al. 2016). Moreover, an addition of vitamin C to polysaccharides increases their activity.

Fig. 1. Dry Goji berries, www.usatoday.com/story/travel/advice/2016/04/21/healthy-food/83292010/

5. Toxicity

Trace amounts of atropine were detected in the fruit but they are no toxicological relevance (Potterat et al. 2009). This thesis was confirmed thru research on mice. Extract of Goji berries did not exhibit any sign of toxicity in the limited toxicity evaluation in male mice (Jing et al. 2009).

L. barbarum fruit can be used to produce various type of health products and foods, for example, medicinal beverages and drink, and health dietary soups (Endes et al. 2015). The berries are eaten raw, drunk as a juice, wine or tea or eaten as tinctures, powders, and tablets. The recommended daily dosage of dried Goji berries varies from 5 and 12 g (Potterat et al. 2009). Although the fruits are recognized as safe, caution is advised especially with regard to possible drug interactions.

6. Summary

Some legends report that Goji berries were eaten by monks in the Himalayan Mountains thousands of years ago and steeped in hot water to help aid meditation and obtain greater health, vitality, longevity, energy and stamina. This fruits are good source of fiber, low in calories, fat-free, and possess high-antioxidant activities. Because of containing a wide range of phytonutrients, vitamins and trace minerals, they are known as “superfood” or “superfruits” by many health experts.

7. Literatura

Amagase H., Farnsworth N.R., 2011. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lyciumbarbarum* fruit (Goji). Food Re3search International 44, 1702-1717.

Amagase H., Nance D.M., 2011. *Lyciumbarbarum* increases caloric expenditure and decreases waist circumference in healthy overweight men and women: pilot study. Journal of the American College of Nutrition 30(5), 304-309.

Booij I., Piombo G., Risturucci A.M., Coump D.T., Ferry M., 1992. Study of chemical composition of dates at various stages of maturity for the varietal characterization various cultivars of palm trees (*Phoenix dactylifera* L.). Fruits 47, 667-678.

Bunghez I.R., Avramescu S.M., Neata M., Radulescu G., Ion R.-M., 2012. Obtaining of carotenoid extract from *Lyciumchinense* and characterization using spectometrical analysis. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 7(2), 523-528.

Cheng K.-T., Chang H.-C., Huang H., Lin C.-T., 2000. RAPD analysis of *Lyciumbarbarum* medicine in Taiwan market. Botanical bulletin of Academia Sinica 41, 11-14.

Cui BK., Liu S., Lin XJ., Wang J., Li SH., Wang QB., Li SP., 2011. Effects of *Lyciumbarbarum* aqueous and ethanol extracts on high-fat-diet induced oxidative stress in rat liver tissue. Molecules 16, 9116-9128.

De Souza Zanchet M.Z., Nardi G.M., de Oliviera Souza Bratti L., Filippin-Monteiro F.B., Locatelli C., 2017. *Lyciumbarbarum* reduces abdominal fat and improves lipid profile and antioxidant status in patients with metabolic syndrome. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, DOI:10.1155/2017/9763210.

Dong J.Z., Wang S.H., Zhu L., Wang Y., 2012. Analysis on the main active components of *Lyciumbarbarum* fruits and related environmental factors. Journal of Medicinal Plants Research 6(12), 2278-2283.

Endes Z., Uslu N., Özcan M.M., Er F., 2015. Physico-chemical properties, fatty acid composition and mineral contents of goji berry (*Lyciumbarbarum* L.) fruit. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies 21(1), 36-40.

Gündüz E., Dursun R., Zengin Y., İçer M., Durgun H.M., Kanıc A., Kaplan İ., Alabalık U., Gürbüz H., Güloğlu C., 2015. *Lyciumbarbarum* extract provides effective protection against paracetamol-induced acute hepatotoxicity in rats. International Journal of Clinical and Experimental Medicine 8(5), 7898-7905.

Islam T., Yo X., Badwal T.S., Xu B., 2017. Comparative studies on phenolic profles, antioxidant capacities and carotenoid contents of red goji berry (*Lyciumbarbarum*) and black goji berry (*Lyciumruthenicum*). Chemistry Central Journal 11, 59-67.

Jin C., Dong H., Zhou J., Lu S., Yang X., Qian Z., Jia Y., 2016. Therapeutic uses of *Lyciumbarbarum* polysaccharides on idiopathic thrombocytopenic purpura mice via inhibition of oxidative stress. Journal of Biosciences and Medicines 4, 17-23.

Jing L., Cui G., Feng Q., Xiao Y., 2009. Evaluation of hypoglycemic activity of the polysaccharides extracted from *Lyciumbarbarum*. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines 6(4), 579-584.

Kulczyński B., Gramza-Michałowska A., 2016. Goji berry (*Lyciumbarbarum*): composition and health effects – a review. Polish Journal of Food Nutrition Sciences 66(2), 67-75.

Lam S.-C., Luo Z., Wu D.-T., Cheong K.-L., Hu D.-J., Xia Z.-M., Zhao J., Li S.-P., 2016. Comparison and characterization of compounds with antioxidant activity in *Lyciumbarbarum* using high-performance thin layer chromatography coupled with DPPH bioautography and tandem mass spectrometry. Journal of Food Science 81(6), C1378-C1384.

Lam S.-C., Tipoe G.L., So K.-F., Fung M.-L., 2015. Neuroprotective mechanism of *Lyciumbarbarum* polysaccharides against hippocampal-dependent spatial memory deficits in a rat model of obstructive sleep apnea. PLOS ONE, DOI:10.1371/journal.pone.0117990.

Liu W.-J., Jiang H.-F., Rehman F.U.L., Zhang J.W., Chang Y., Jing L., Zhang J.-Z., 2017. *Lyciumbarbarum* polysaccharides decrease hyperglycemia-aggravated ischemic brain injury through maintaining mitochondrial fission and fusion balance. International Journal of Biological Sciences 13, 901-910.

Liu H.G., Wang Y.J., Hart M., Chen H., Tang M., 2016. Arbuscular mycorrhizal symbiosis regulates hormone and osmotic equilibrium of *Lyciumbarbarum* L. under salt stress. Mycosphere 7(6), 828-843.

Luo Q., Li Z., Huang X., Yan J., Zhang S., Cai Y.-Z., 2006. *Lyciumbarbarum*polysaccharides: Protective effects against heat-induced damage of rat testes and H_2O_2-induced DNA damage in mouse testicular cells and beneficial effect on sexual behavior and reproductive function of hemicastrated rats. Life Sciences 79, 613-621.

Mocan A., Vlase L., Vodnar D.C., Gheldiu A.-M., Oprean R., Crișan G, 2015. Antioxidant, antimicrobial effects and phenolic profile of *Lyciumbarbarum* L. flowers. Molecules 20, 15060-15071.

Mocan A., Vlase L., Vodnar D.C., Bischin C., Hangau D., Gheldiu A.-M., Oprean R., Silaghi-Dumitrescu S., Crișan G, 2014. Polyphenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of Lyciumbarbarum L. and Lyciumchinense Mill. Leaves. Molecules 19, 10056-10073.

Niro S., Fratianni A., Panfili G., Falasca L., Cinquanta L., Rizvi Alam M.D., 2017. Nutritional evaluation of fresh and dried Goji berries cultivated in Italy. Italian Journal of Food Science 29, 398-408.

Potterat O., 2010. Goji (*Lyciumbarbarum* and *L. chinense*): phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity. Planta Medica 76, 7-19.

Shan X., Zhou J., Ma T., Chai Q., 2011. *Lyciumbarbarum* polysaccharides reduce exercise-induced oxidative stress. International Journal of Molecular Sciences 12, 1081-1088.

Simonyan K.V., Avetisyan L.G., Chavushyan V.A., 2016. Goji fruit (*Lyciumbarbarum*) protects sciatic nerve function against crush injury in a model of diabetic stress. Pathophysiology 23, 169-179.

Tănase E.E., Popa V.I., Popa M.E., Geicu-Cristea M., Popescu P., Drăghici M., Mitelut A.C, 2016. Identification of the most relevant quality parameters for berries - a review.

Zhang X., Yang X., Lin Y., Suo M., Gong L., Chen J., Hui R., 2015. Anti-hypertensive effect of *Lyciumbarbarum* L. with down-regulated expression of renal endothelial lncRNAsONE in

a rat model of salt-sensitive hypertension. International Journal of Clinical and Experimental Pathology 8(6), 6981-6987.
Zhu P.-F., Dai Z., Wang B., Wei X., Yu H.-F., Yan Z.R., Zhao X.-D., Liu Y.P., Luo X.D., 2017. The anticancer activities phenolic amides from the stem of *Lyciumbarbarum*. Natural Products and Bioprospecting, DOI:10.1007/s13659-017-0134-x.

Assessment of plant energy intensity of production in farms with different acreages

Katarzyna Dereń [(1)]

[1] Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Instytut Inżynierii Rolniczej, 51-630 Wrocław, ul. Chełmońskiego 37A
Katarzyna Dereń: katarzynaderen@gmail.com

Summary
In the work conducted a comparative assessment of the process of crop production in two farms of different areas and the nature of the production. Both tested the farms located on the territory of Łódź Voivodeship. Compared the process of production of winter wheat under the conditions of the traditional soil cultivation and using tillage. Agronomic treatments were examined performed in both cultivation systems and their time and fuel consumption to carry out individual agricultural science treatments.
The aim of the study was to balance economic crops of winter wheat in the farms. On the basis of the economic analysis showed that cultivation without plowing farming brings more profit. Cultivation without plowing requires less to purchase fuel and labor costs.

Keywords: traditional soil, cultivation without plowing, economic balance, winter wheat

Ocena energochłonności produkcji roślinnej w gospodarstwach rolnych o zróżnicowanych areałach

Streszczenie
W pracy przeprowadzono ocenę porównawczą procesu produkcji roślinnej w dwóch gospodarstwach rolnych o zróżnicowanych areałach i charakterze produkcji. Badane gospodarstwa zlokalizowane były na terenie województwa łódzkiego. Porównywano przebieg procesu produkcji pszenicy ozimej w warunkach tradycyjnej uprawy gleby oraz z zastosowaniem uprawy bezorkowej. Przeanalizowano zabiegi agrotechniczne wykonywane w obu systemach uprawy oraz określono ich czasochłonność i zużycie paliwa na realizację poszczególnych zabiegów agrotechnicznych. Celem przeprowadzonych badań było dokonanie bilansu ekonomicznego uprawy pszenicy ozimej w analizowanych gospodarstwach. Na podstawie przeprowadzonej analizy ekonomicznej wykazano, że uprawa bezorkowa przynosi większe zyski. Technologia ta, w porównaniu do uprawy tradycyjnej, wymaga mniejszych nakładów na zakup paliwa i pokrycie kosztów pracy.

Słowa kluczowe: tradycyjna uprawa gleby, uprawa bezorkowa, bilans ekonomiczny, pszenica ozima

1. Introduction

One of the most ancient and fundamental sectors of the economy is agriculture. The main purpose of agriculture is the production of food for direct consumption or for food industry (Kalisiewicz 1999). As a result of population growth in the world man has always sought to increase food production to meet the needs of a constantly evolving civilization. For many years the most important priority of agriculture is the economic gain. Crops should get as little effort and achieve the greatest income (Starczewski et al. 1993). Today, studies are conducted in order to obtain the maximum yield with minimum effort and time force. One of the conditions for obtaining a high-profitability crop is good technology and cultivation technique of the soil on which the big impact is the quality of the prepared soil seeds. One of the basic parameters of the determinant quick germination and plant growth is the quality of loosening the soil (Starczewski et al. 1993). The quality of this can be expressed by means of

the distribution of soil aggregates (Arvidsson i Hillerstrom 2010; Braunack i Dexter 1989; Kamiński et al. 2005; Waszkiewicz i Zabielski 2005).

The progress of agricultural science results in continuous improvement of agricultural equipment, and introduction of new varieties of plants, has a direct impact on the modernization of various technological processes. Technology of cultivation of the plant is often a different depending on the type and composition of the soil (Brady 1974). New technologies often lead to the use of agricultural machinery with high performance. Performance growth means at the same time reducing the demand for labor. Lowering the cost of production allows for timely execution of field work in appropriate weather conditions and with optimum condition soil to conduct agricultural treatments (ŚwiętochowskI 1996).
In the management of large areas of fields to meet the deadline realization of agrotechnical often it would be impossible without the use of appropriate machinery complex. Machinery complex allow you to perform several treatments in one pass. Bearing in mind the above considerations were carried out a comparative assessment of the process of crop production in farms of different in terms of area and type of production. The main objective of the study was to balance economic crops of winter wheat in farms of different area.

2. Material and methods

The subject of research, there were two farms with different areas located in Poland, in Łódź Voivodeship. A farm "A" covers an area of 60 hectares, on which it is grain. Plants are cultivated wheat, triticale, rye, oats and barley (fig.2). Soil conditions are characterized by a large variety of classes II to VI, from arable soils very good soil for the most vulnerable.

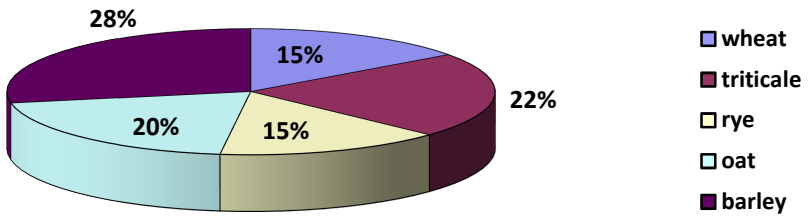
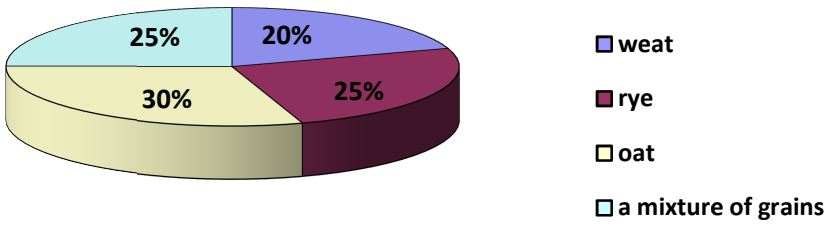


Fig.1. Structure of sown on the farm A. (Source: own study)

A farm "A" covers an area of 10 hectares, on which it is grain. Crops are wheat, rye, and oats (fig 3). Class of soil is from the IV to VI, these are soil weak and the weakest.



Rys.2. Structure of sown on the farm (B). [Source: own study]

To assess the production process of winter wheat one field is selected from each farm. To research selected a class IV soils (soil medium).On the examined fields were cultivated winter wheat varieties - KWS OZONE.

On the farm "A" of the test surface field was 4 ha, and there was the cultivation of soil without plowing. On the farm "B" wheat was cultivation in the traditional way on the field with an area of 1.5 ha.

To make the economic balance of the examined farms measurements:

- fuel consumption
- working time of machines and people.

Measurement of fuel consumption was achieved by method a full tank. This method realizes a full loading of the fuel tank on the tractor before taking the field works. Then you restart the loading of the fuel tank after each treatment and read the amount of fuel filled the tank. The amount of fuel consumed for the execution of each treatment are given per unit area and saved in l/ha.

Measurement of working time was recorded using a stopwatch, measured were times:

- ✓ T_1 – effective working time,
- ✓ T_2 – time to relapse,
- ✓ T_3 – rides idle,
- ✓ T_4 – loading box of seeds of wheat, filling the spreader and sprayer,
- ✓ T_5 – fuel, lubrication machines,
- ✓ T_6 – fastening and unfastening the machine,
- ✓ T_7 – regulations of the machine,
- ✓ T_8– repair of faults.

Time implementation of the above activities was measured with an accuracy of 1 minute.

To carry out the economic calculations were adopted the following assumptions:

- ✓ The price of wheat consumerist 720 PLN/t price obtained in the Mill Szadek on 23.11.2015 year.
- ✓ The yield obtained can be categorized as high-quality products.
- ✓ Diesel fuel price 4.5 PLN/l (the average purchase price of fuel during the period covered by the study).
- ✓ The employee's salary 12 PLN/hour.
- ✓ The price of seed by sowing 170 kg/ha is 285 PLN on the farm "A".
- ✓ Seed own farm "B" - the sowing of 180 kg/ha to the cost of 180 PLN/ha.
- ✓ The cost of seed treatment is 30 PLN / ha used the Farm B.
- ✓ Harvesting of a crop 300 PLN / ha in farm B (the price includes the cost of fuel)
- ✓ Fertilizer price PK-Polifoska 4 is 600PLN/ha
- ✓ The cost of nitrogen fertilizer of Yara Sulfan is 440 PLN/ha
- ✓ The price of the plant protection product Opal 500SC is 35PLN/ha
- ✓ Plant protection Mustang cost 45PLN/ha
- ✓ The purchase of the plant protection product Tropiko 250EC and Corbel 750EC is 82PLN/ha
- ✓ Price chalk fertilizer at seeding 750 kg/ha is 262.5 PLN/ha

3. Results

The production process of winter wheat covered the entire range of agronomic treatments, which took place from August 2014, (when started cultivation after harvest previous), until July 2015 (when were harvested wheat). The production process in each farm was slightly different, reflecting at least in terms of various tillage technologies used in these farms. Therefore, for each farm production process of winter wheat examined individually.

The production process of winter wheat on the farm "A" was carried out with the use of cultivating without plowing. Table 1 shows the agronomic treatments and the date of their performance and fuel consumption for individual treatment.

The production process of winter wheat on the farm "B" is based on the traditional cultivation of the soil. All treatments carried out in the framework of the production of wheat and fuel consumption on individual treatments presented in tab. 2.

Including all agronomic treatments in the course of cultivation of winter wheat using technology without plowing (farm "A") uses the 48l of diesel per 1ha. The entire production process of winter wheat on the farm "B" uses 69 l of fuel per hectare.

Tab. 1. Agronomic treatments made while cultivation without plowing. Source: own study

Date of application	Cultivation without plowing	Specific fuel consumption [l/ha]
01.08.2014	Seeding Fertilizer chalk 95% CaO	2
02.08.2014	Cultivating crop residues to a depth of 12 cm	10
19.09.2014	Mineral fertilization PK	1,5
20.09.2014	Cultivating and seeding of winter wheat	12
23.09.2014	Spraying the monocotyledonous weeds	2
15.03.2015	Nitrogen fertilization ½ dose	1,5
17.04.2015	Spraying on dicotyledonous weeds	2
21.04.2015	Spraying fungicides and provision of micronutrients	2
30.04.2015	Nitrogen fertilization ¼ dose	1,5
25.05.2015	Nitrogen fertilization ¼ dose	1,5
25.07.2015	Harvesting of a crop	12
	Total fuel consumption	**48**

Tab. 2. Agronomic treatments done during traditional soil cultivation. Source: own study

Date of application	Traditional cultivation	Specific fuel consumption [l/ha]
01.08.2014	Seeding Fertilizer chalk 95% CaO	2
02.08.2014	Skimming to a depth of 10 cm and harrowing	16
20.08.2014	Harrowing	4
10.09.2014	Mineral fertilization ½ PK	1,5
11.09.2014	Plowing before sowing at a depth of 22 cm and harrowing	19
19.09.2014	Mineral fertilization ½ PK and cultivating	10
20.09.2014	Seeding of winter wheat	6
23.09.2014	Spraying the monocotyledonous weeds	2
15.03.2015	Nitrogen fertilization ½ dose	1,5
17.04.2015	Spraying on dicotyledonous weeds	2
21.04.2015	Spraying fungicides and provision of micronutrients	2
30.04.2015	Nitrogen fertilization ¼ dose	1,5
25.05.2015	Nitrogen fertilization ¼ dose	1,5
25. 07.2015	Harvesting of a crop	---
	Total fuel consumption	**69**

With the measurements working times of machines and workers during the production of winter wheat using cultivation without plowing, it follows that the total working time of all machines is 1152 min, i.e. 19 hours 12 minutes. Effective time of all treatments is 280 minutes or 4 hours 40 minutes. The total execution time of all agricultural treatments performed by traditional cultivation of soil was 1321 min, i.e. 22 hours 1 min. Effective working time during the execution of all treatments is 470 minutes, or 7 hours 50 min.

4. Discussion

Yield is a parameter that will allow the assessment of simplification used. Yield earned is show in Fig. 3. The yield of the fields cultivation without plowing is 5.7 t/ha, while the yield obtained with traditional soil cultivation was 6 t/ha. These values show that the cultivation of traditional is a technology for generating better harvests.

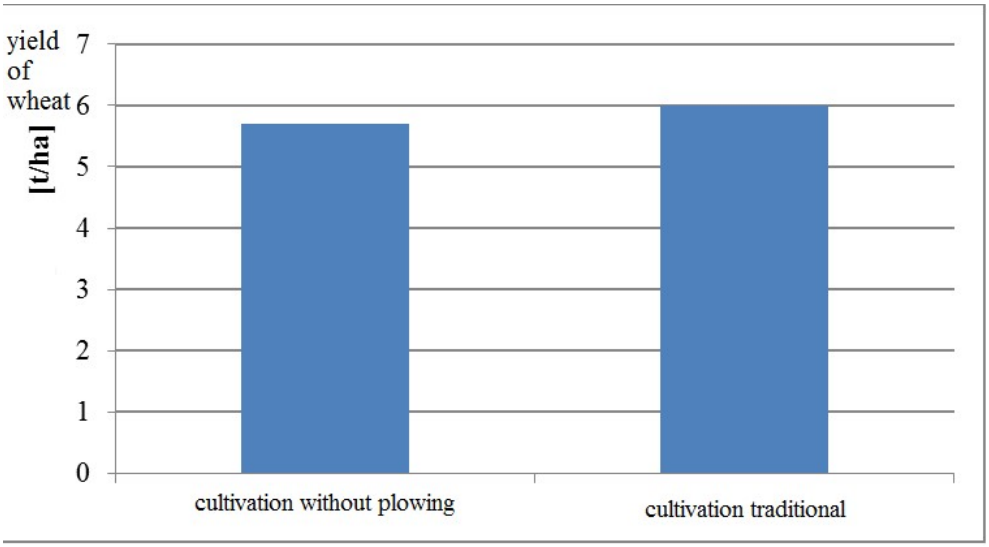


Fig. 3. The yield of wheat cultivation method without plowing and traditional method (Source: own study)

Based on the assumptions set out in the methodology performed analysis of the costs incurred for the cultivation of winter wheat and are shown in table 3. By analyzing the data compiled in table 3 it is noted that the costs associated with the purchase of fertilizers and plant protection products in both the test farms are the same. In the case of both farms have applied the same amount of fertilizer and plant protection products. More costs are incurred when applying traditional soil cultivation, due to higher expenses related to the purchase of fuel, higher work costs and the costs of letting the grain combine harvester. The costs for the cultivation of winter wheat on soil without plowing were lower by 300.PLN.

The value of the yield obtained in both technologies of soil cultivation is similar. With cultivation without plowing obtained 4104 PLN, while the traditional soil cultivation obtained PLN 4320 - as a result of a more yield with traditional cultivation.

Tab. 3. The economic balance of winter wheat production method of cultivation without plowing and traditional cultivation. Source: own study

	cultivation without plowing	traditional cultivation
Costs (zł)		
Purchase chalk fertilizer	262,5	262,5
Purchase of fertilizers PK-Polifoska 4	600	600
Purchase of fertilizer N-Yara Sulfan	440	440
Purchase of the plant protection product Opal 500SC	35	35
Purchase of the plant protection product Mustang	45	45
Purchase of the plant protection product Tropiko 250EC and Corbel 750EC	82	82
Purchase of fuel	216	310,5
Labor costs of people	229,44	264,12
The purchase of seed	285	155
The cost of the rental harvester	-	300
The sum of costs (PLN)	**2194,94**	**2494,12**
The value of yield (PLN)	**4104,00**	**4320,00**
Profit (PLN)	**1909,06**	**1825,88**

Incomes derived from the production of winter wheat in both farms are similar. Cultivation without plowing brings the income of 1909.06 PLN, while the traditional cultivation 1825.88 PLN. Cultivation without plowing brings higher profits and less fuel consumption and operating time of people. The traditional cultivation of the soil, is less profitable, and requires more time and greater energy consumption.

5. Conclusions

Based on the tests performed and the analysis made the following conclusions:

1. The production process of winter wheat in both farms is different. The same was fertilization and use of plant protection products. On the farm "A" field cultivated by the cultivator and equipment for soil cultivation and sowing. On the farm "B" the process of production of winter wheat is based on the traditional cultivation of the soil, which is done plowing.

2. Analysis of fuel consumption during the cultivation of winter wheat in both farms showed that about 40% more fuel used was during the traditional soil cultivation. This is connected with the necessity of performing a greater number of agronomic treatments which significantly interferes with the soil structure and generates a larger working resistance.

3. Analysis of working time shows more time-consuming traditional soil cultivation, used on the agricultural holding "B". This is connected with the performance of a large number of agronomic treatments that interfere with the structure of the soil and are often more time

consuming. This is due to the low working speed aggregates during the execution of agronomic treatments. On the farm "A" where were the cultivation of the soil without plowing work time expenditures were smaller by eliminating plowing and seeding aggregate-seed.

4. On the basis of the economic analysis showed that cultivation without plowing used in Farm "A" brings more profit. On the basis of the economic analysis showed that cultivation without plowing used in Farm "A" brings more profit.

6. Bibliography

Arvidsson J., Hillerstrom O. (2010) Specific draught, soil fragmentation and straw incorporation for different tine and share types. Soil & Tillage Research, 110: 154-160.

Brady N. C. (1974) The nature and properties of soils. New York. Macmillan. ISBN 0023133503.

Braunack M.V., Dexter A. R. (1989) Soil aggregation in the seedbed: a reviev II. Effect of aggregate sizes on plant growth. Soil & Tillage Research, 3(14): 281-298.

Kalisiewicz D. (red.). (1999) Encyklopedia PWN w trzech tomach. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, ISBN 83-01-12702-3.

Kamiński E., Waszkiewicz Cz., Zabielski M. (2005) Badania laboratoryjno-polowe kultywatora. Problemy Inżynierii Rolniczej, 1(47): 23-30.

Starczewski J., Radecki A., Skrzyczyńska J. (1993) Podstawy uprawy roli i roślin. Siedlce, WSRP, ISSN 83-7051-025-6.

Świętochowski B. (red.). (1996) Ogólna uprawa roli i roślin: podręcznik dla studentów akademii rolniczych: praca zbiorowa Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, ISBN 83-09-01548-8.

Waszkiewicz Cz., Zabielski M. (2005) Stopień spulchnienia gleby i wyrównanie powierzchni pola uprawianego kultywatorem. Technika Rolnicza Ogrodnicza Leśna, 6: 22-23.

Essential oil from German chamomile (*Matricariachamomilla*L.) andRoman chamomile (*Chamaemelumnobile* L.)

Justyna A. Dąbrowska [(1)]

[1] Institute of General Food Chemistry, Lodz University of Technology
Justyna A. Dąbrowska: justyna.alicja.dabrowska@gmail.com

Summary
Chamomile is one of the oldest, still widely used and well documented medicinal plants of worldwide recognition. It has widespread use as a home remedy. Its primary uses are as a sedative, anxiolytic and antispasmodic, and as a treatment for mild skin irritation and inflammation. Although there are numerous varieties of chamomile, the two most popular are Roman chamomile (*Chamaemelum noble* L.) and German chamomile (*Matricariachamomilla* L.) usually referred to by the same common name 'chamomile'. The essential oil of both German and Roman chamomile has a light blue colour due to the terpenoidchamazulene and is valued for biological activity and health properties. The principal components of the essential oil extracted from the flowers, α-bisabolol and bisabololoxides A and B, are responsible for its properties.

Słowakluczowe: chamomile, biological activity, health benefits

Olejek eteryczny z rumianku niemieckiego (*Matricariachamomilla* L.) i rumianku rzymskiego (*Chamaemelum nobile* L.)

Streszczenie
Rumianek jest jedną z najstarszych, wciąż powszechnie stosowanych i dobrze udokumentowanych roślin leczniczych o światowym zasięgu. Ma szerokie zastosowanie jako środek domowy. Jest wykorzystywany głównie jako środek o działaniu uspokajającym, przeciwlękowym i przeciwskurczowym oraz łagodzącym podrażnienia skóry i stany zapalne. Chociaż istnieją liczne odmiany rumianku, dwa najbardziej popularne to rumianek rzymski (*Chamaemelum noble* L.) i rumianek niemiecki (*Matricariachamomilla* L.), zwykle określane przez tę samą pospolitą nazwę "rumianek". Olejek eteryczny, zarówno z rumianku niemieckiego jak i rzymskiego posiada jasnoniebieski kolor dzięki obecnościchamazulenu. Ceniony jest za znaczną aktywność biologiczną i właściwości zdrowotne, które wynikają z obecności α-bizabololu i jego tlenków A i B, jako głównych składników olejku eterycznego z kwiatów.

Keywords: rumianek, aktywność biologiczna, profity zdrowotne

1. Introduction

The name chamomile originated from Greece language and is derived from two Greek words: Khamai meaning "on the ground" and melon meaning "apple." This name was given by Pliny the Elder because of an apple-like odour of the plant (Mohammad 2011; Singh et al. 2010). That name was attributed to the Roman chamomile, the flowers of which have an apple-like aroma. Flowers of German chamomile have a characteristic herbaceous smell.

Both German chamomile (Fig.1) and Roman chamomile (Fig.2) belong to the daisy (*Asteraceae*) family and they look similar (Salamon 1992; Singh et al. 2010). However, there are many differences between them. The essential oil and chemical constituents of German chamomile and Roman chamomile are clearly different. Consequently, their biological properties, medical uses, and industrial applications are different. Therefore, the knowledge of the differences between Roman and German chamomile is useful.

2. German chamomile

- Plant characteristic

Matricariachamomilla L. is known as Water of Youth', German or Hungarian chamomile, wild/true/sweet false chamomile, floschamomillae, Matricaria flowers, pinheads, and Babuna and this is the most commonly used and known species (Mohammad 2011; Singh et al. 2010). For all over the world when we speak of chamomile, we have in mind this species. The Egyptians worshiped camomile as a gift from Ra, God of the Sun. According to the Saxons, it was one of the nine sacred herbs. Nowadays it is a highly favored and much used medicinal plant in folk and traditional medicine. Its multitherapeutic, cosmetic, and nutritional values have been established through years of traditional and scientific use and research. Plant native to southern and eastern Europe. It is also grown in North Africa, Asia, North and South America, Australia, and New Zealand.

German chamomile is an apple-pineapple scented, standing, smooth, branched, which height is about 30 centimeter (Mohammad 2011; Sharafzadeh and Alizadeh 2011; Singh et al. 2011). The leaves are alternate small with narrow erratic and mat-covered cuts. Its flower head has a hollow conical center covered with tiny yellow florets surrounded by silver-white to cream coloured florets. In each head, the white and yellow flowers are located at around and center. Chamomile is an annual plant with roots only penetrating flatly into the soil. The branched stem is erect, heavily ramified, and grows to a height of 10-80 cm. The long and narrow leaves are bipinnate or tripinnate.

Fig. 1. Daisy of German chamomile (*Matricariachamomilla* L.), https://atlas.roslin.pl/plant/7384.

- Blue chamomile essential oil

The essential oil of chamomile is present in the whole plant (Lawrence 1987; Salamon 1992; Singh et al. 2011). However, the essential oil content is higher in the flowersand flower heads than in other parts of the plant (between 0.24% and 1.9%) and also has higher levels of useful compounds (Barnes et al. 2007; Pirzad et al. 2006; Singh et al. 2010). Therefore, the essential oil of the flowers is mostly used for medicinal and aromatic purposes. The oil is deep

blue or ink blue in colour and has a characteristic sweet, grassy smell. It may turn green and then dark brown on oxidation and lose its therapeutic value. On the other hand, it turns to dark yellow after storage, but despite fading, the oil does not lose its potency (Srivastava et al. 2010). Generally, the colour of essential oil depends on the quantity of chamazulene. Chamazulene, a blue-violet derivative of azulene, is formed during hydrodistillation process as a result of decarboxylation and dehydration processes under influence of water vapour and high temperature. Substrate for chamazulene synthesis is matricine, which is naturally present in the flowers. The more chamazulene the darker shade of blue and the higher quality of essential oil. The dark-blue variety of essential oil always has more than 7% and this one is the most desired in the industry. The chamazulene content depends on plant origin and time of storage. Long-term storage adversely affects quality.

The essential oil possesses mainly sesquiterpene derivatives (75–90%), up to 20% polyynes, and traces of monoterpenes (Singh et al. 2011). The main constituents are *β*-farnesene, bisabolol oxide A, bisabolol oxide B, *α*-bisabolol, *Z*-spiroether, chamazulene, (E,E)-*α*-farnesene, bicyclogermacrene, germacrene D, farnesol, as well as in low quantity *E*-spiroether,perillyl alcohol, triacontane, cadeleric hydrocarbon, and cadeleric tertiary alcohol (Góra and Lis, 2017).Essential oil varies in composition according to the development stage of the plant. The quantity of *α*-bisabolol and its derivatives reached a maximum in full bloom, whereas the (E)-*β*-farnesene content decreased rapidly with the growth and development of the flower. Therefore, four main chemotypes have been identified, where the dependence of chemical compounds is as follow:

- type A dominant component of essential oil is bisabolol oxide A
- type Bdominant component of essential oil isbisabolol oxide B
- type C dominant component of essential oil is (-)-α-bisabolol
- type D ((-)-α-bisabololand bisabolol oxidesA and B are present ina similar ratio(1:1).

Awareness of chemotypesiscrucial because depending on the chemical composition of a certain essential oil the medicinal properties can vary.

The essential oils from another part of the plant (root, leaves or stem) were devoid of chamazulene and *α*-bisabololand its oxides were present in trace amounts (Singh et al. 2011). The essential oil from the root is a source of linalool, nerol, geraniol, *β*-elemene, *β*-farnesene, *α*-farnesene, spathulenol, *τ*-cadinol, *τ*-muurolol, *trans-β*-caryophyllene, *cis-β*-caryophyllene, caryophyllene oxide, chamomillol, hexadec-11-yn-11,13-diene, 2-hexa-2,4-diynylidene-1,6-dioxaspiro[4.4] non-3-ene, and chamomile esters I and II.The leaves and stem essential oil

contains (*Z*)-3-hexenol, *(E)-β*-farnesene, *α*-farnesene, germacrene D, (*E*)-nerolidol, spathulenol, hexadec-11-yn-11,13-diene, and (*Z*)- and (*E*)-en-yndicycloethers.

3. Roman chamomile

Fig. 2. Daisy of Roman chamomile (*Chamaemelumnobile* L.), https://atlas.roslin.pl/plant/6683.

- Plant characteristic

Roman chamomile (*Chamaemelumnobile* L.) is commonly known as English chamomile or garden chamomile. This is an aromatic creeping perennial which grows only one foot in height (Sharafzadeh and Alizadeh 2011). The flower heads are one inch in diameter, with a broad conical disk that is covered in yellow florets surrounded by white florets. It has many freely branching hairy stems and finely divided leaves.The plant has, at least in the middle part of the flower capitulum, small setiformpaleae between the flowers of the flower heads. Palets blunt, with dry tips. Plant smells pleasant, perennial and many-headed rootstock.

- Essential oil

Roman chamomile essential oil is distilled with 0.4–1.75% efficiency (Barnes et al. 2007). Just as German chamomile essential oil possess blue color due to theterpenoidchamazulene. The major compounds were esters of angelic, tiglinic, isobutyric, butyric, methacrylic, acetic, crotonic, and valeric acids, as well as in less quantitychamazulene and *α*-bisabolol, as well as *β*-pinene, cine-1,8-ole, *α*-pinene, germacene D, *α*-cadinol, cedryl acetate, and (*E,E*)-farnesyl acetate (Antonelli and Fabbri 1998; Farhoudi 2013; Góra and Lis, 2017). The main chemical constituents are isobutyl angelate and 2-methylbutyl angelate.

3. Biological activity and health benefits

The ancient Egyptians used chamomile to alleviate fever and sunstroke. In the sixth century, it was used to treat insomnia, back pain, neuralgia, rheumatism, skin conditions, indigestion, flatulence, headaches, and gout. So, chamomile has been used in herbal remedies

for thousands of years. The chamomile drug is included in the pharmacopeia of over 25 countries (Presibella et al. 2006; Singh et al. 2010).

The unique medicinal effect of chamomile results from the synergic action of all their chemical substances (Grejtovský et al. 2006; McKay and Blumberg 2006). The most active compounds of the blue German chamomile essential oil are terpenoids (*α*-bisabolol, *α*-bisabolol oxide A and B, and chamazulene), *Z*- and *E*-spiroether, sesquiterpenes, coumarins (mainly umbelliferone), flavonoids (luteolin, apigenin, and quercetin), tannins, anthemic acid, choline, polysaccharides, and phytoestrogens (Ghasemi et al. 2015; Orav et al. 2001; Sharafzadeh and Alizadeh 2011). Chamomile has been recommended for a variety of healing applications and possesses GRAS (generally recognized as safe) status given by US Food and Drug Administration (Radulović et al. 2013; Tadrent et al. 2016). It means that usage of chamomile is free from side effects and brings health benefits, of course, in the case of a reasonable dosage as prescribed.

Extracts and essential oilboth German and Roman chamomile are believed to possess anti-inflammatory, vulnerary, deodorant, bacteriostatic, antimicrobial, antiemetic, anticatarrhal, carminative, sedative, antiseptic, and spasmolytic properties and is used both internally and externally. Herb like tea, infusion or medicament is curative for wounds, ulcers, eczema, gout, skin irritations, neuralgia, sciatica, rheumatic pain, hemorrhoids, mastitis, anxiety, hysteria, nightmares, insomnia and other sleep problems, convulsions, and delirium tremens, leg ulcers, diaper rash, cracked nipples, chicken pox, poison ivy and conjunctivitis, and as a hair tint and conditioner. However, it had a higher reputation for treatment gastrointestinal disturbances including flatulence, indigestion, diarrhea, anorexia, motion sickness, nausea, and vomiting, as well as healing ulcers, liver diseases, colic, croup, and fevers in children and illnesses specific to women. Essential oils are very often traditionally used as an analgesic (Tadrent et al. 2016).

So more, the chamomile reinforces the nerves and sexual powers and desire, enhances the milk secretion of mothers who foster children, crush and remove the bladder rock, cure eye disease, alleviate the pain of a child who is teething, and remove the stomach and the bowel worm (Sharafzadeh and Alizadeh 2011). Even as a cure for malaria and parasitic worm. According to Srivastava and Gupta methanolic fraction isolated from chamomile flowers demonstrated the biologic response in inhibiting cell growth and causing induction of apoptosis in various human cancer cell lines (Srivastava and Gupta 2009). Studies on preclinical models of skin, prostate, breast and ovarian cancer have shown promising growth inhibitory effects. In a recently conducted study, chamomile extracts were shown to cause

minimal growth inhibitory effects on normal cells but showed significant reductions in cell viability in various human cancer cell lines (Srivastava et al 2010).

The German chamomile essential oil exhibited biological activity against pathogenic species of bacteria including *Mycobacterium tuberculosis, Salmonella typhimurium*, and *Staphylococcus aureus* (Singh et al. 2011). So more dried flower heads extract possesses the highly acaricidal activity of in vitro against the mite *Psoroptescaniculiin* (Khodadad and Mehdi 2007). Roman chamomile essential oil is believed to possess carminative, antiemetic, antispasmodic, and sedative properties (Mohammad 2011; Sharafzadeh and Alizadeh 2011). Tea of chamomile is the brain tonic. İt cures a headache and migraine alleviates the muscular pains after physical activity, heals the wounds of mouth, helps the bowel swelling go down, alleviates pain, even supports treatment the anorexia and anemia.

Apart from the pleasant taste and accessibility of chamomile tea, it has been praised over the years for its health benefits. The presence of flavonoids, sesquiterpenes, and other powerful antioxidants in this tea have significant effects on the human body. Lopez and Blazquez confirmed the presence in the essential oils of large amounts of the active compounds both chamomile flowers and chamomile tea bags available at food supermarkets being able to be used for their pharmacological properties (Lopez and Blazquez 2016). The chamomile tea may improve the appearance and strength of the hair. While the anti-inflammatory components can help alleviate irritation on the scalp, the stronger chemicals can fortify the strands of your hair, eliminate dandruff, and generally give your hair a better, silkier look.

4. Conclusions

Chamomile is one of the most important and most frequently cultivated medicinal herbs, particularly in Europe. It has been used as an herbal medication since ancient times, is still popular today and probably will continue to be used in the future because it contains various bioactive phytochemicals that could provide therapeutic effects. In addition to pharmaceutical uses, the oil is extensively used in perfumery, cosmetics, and aromatherapy, and in the food industry. The essential oil present in the flower heads contains azulene and is used in perfumery, cosmetic creams, hair preparations, skin lotions, toothpaste, and also in fine liquors. The dry flowers of chamomile are also in great demand for use in herbal tea, baby massage oil, for promoting the gastric flow of secretion, and for the treatment of a cough and cold. Because of its extensive pharmacological and pharmaceutical properties, the plant thus possesses great economic value and is in great demand in the European countries.

5. Literature

Antonelli A., Fabbri C., 1998. Study of Roman chamomile (*Chamaemelumnobile*L. All.) oil. Journal of Essential Oil Research 10, 571-574.

Barnes J., Anderson L.A., Phillipson J.D., 2007. Herbal Medicines. Third Edition. Pharmaceutical Press, London, 152-158.

Farhoudi R., 2013. Chemical constituents and antioxidant properties of *Matricariarecutita* and *Chamaemelumnobile*essential oil growing wild in the South West of Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants 16(4), 531-537

Gasic O, Lukic V , Nikolic A., 1983. Chemical study of *Matricariachamomilla* L-II. Fitoterapia 54, 5-51.

Góra J., Lis A., 2017. Najcenniejsze olejki eteryczne. Część I. Monografie Politechniki Łódzkiej, Łódź, 237-249.

Ghasemi M., Jelodar .B., Modarresi M., Bagheri N., Jamali A., 2016. Increase of chamazulene and α-bisabolol contents of the essential oil of German chamomile (*Matricariachamomilla* L.) using salicylic acid treatments under normal and heat stress conditions. Foods 5(56).

Grejtovský A., Markušová K., Eliašová A., 2006. The response of chamomile (*Matricariachamomilla* L.) plants to soil zinc supply. Plant, Soil and Environment 52(1), 1-7.

Lawrence B., 1987. Chamomile oil. Perfumer and Flavorist, 12, 1-35.

Lopez M., Blazquez M.A., 2016. Characterization of the essential oils from commercial chamomile flowers and chamomile teabags by GC-MS analysis. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 8(9), 1487-1491.

McKay D.L, Blumberg J.B., 2006. A Review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricariarecutita* L.). Phytotherapy Research 20, 519-530.

Mohammad S.M., 2011. Study on cammomile (*Matricariachamomilla* L.) usage and farming. Advances in Environmental Biology, 5(7), 1446-1453.

Orav A., Kailas T., Ivasik K., 2001. Volatile constituents of *Matricariarecutita* L. from Estonia. Proceedings of the Estonian Academy of Sciences 50(1), 39-45.

Pirali-Kheirabadi K., Razzaghi-Abvaneh M., 2007. Biological activities of chamomile (Matricaria chamomile) flowers' extract against the survival and egg laying of the cattle fever tick (*AcariIxodidae*). Journal of Zhejiang University SCIENCE B 8(9), 693-696.

Pirzad A., Alyari H., Shakiba M.R., Zehtab-Salmasi S., Mohammadi A., 2006. Essential oil content and composition of German chamomile (Matricaria chamomile L.) at different irrigation regimes. Journal of Agronomy 5(3), 451-455.

Presibella M.M., de Biaggi Villas-Bôas, L., da Silva Belletti K.M., de Moraes Santos C.A., Weffort-Santos A.M., 2006. Comparison of chemical constituents of *Chamomillarecutita* (L.) Rauschert essential oil and its anti-chemotactic activity. Brazilian Archives of Biology and Technology 49(5), 717-724.

Radulović N.S., Mladenović M.Z., Blagojević P.D., Stojanović-Radić Z.Z., Ilic-Tomic T., Senerovic L., Nikodinovic-Runic J., 2013. Toxic essential oils. Part III: Identification and biological activity of new allylmethoxyphenyl esters from a Chamomile species (*Anthemissegetalis* Ten.). Food and Chemical Toxicology 62, 554-565.

Šalamon I., 1992. Chamomile, a medicinal plant. The Herb, Spice, and Medicinal Plant Digest10, 1-4.

Šalamon I., 2004. The Slovak gene pool of German chamomile (*Matricariarecutita* L.) and comparison in its parameters. Horticultural Science 31(2), 70-75.

Schilcher H. Recent knowledge in quality evaluation of camomile blossoms respectively camomile oil. 2. Quality evaluation of the volatile oil in Flores Chamomillae. Grading of commercial camomiles into 4 respectively 5 chemical types. Planta Med. 1973;23:132–44.

Sharafzadeh S., Alizadeh O., 2011. German and Roman chamomile. Journal of Applied Pharmaceutical Science 1(10), 1-5.

Singh O., Khanam Z., Misrea N., Srivastava M.K., 2011. Chamomile (*Matricariachamomilla* L.): An overview. Pharmacognosy Reviews 5(9), 82-95.

Srivastava J.K., Gupta S., 2009. Extraction, characterization, stability and biological activity of flavonoids isolated from chamomile flowers. Molecular and Cellular Pharmacology 1(3), 138-153.

Srivastava J.K., Shankar E., Gupta S., 2010. Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. Molecular Medicine Reports 8(9), 1487-1491.

Tadrent W., Kabouche A., Touzani R., Kabouche Z., 2016. Chemotypes investigation of essential oils of Chamomile herbs: A short review. Journal of Materials and Environmental Science 7(4), 1229-1235.

Potencjał alg w żywieniu człowieka

Emilia Drozłowska [(1)]

[1] Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych , Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Emilia Drozłowska: emilia_drozlowska@zut.edu.pl

Streszczenie
Glony są nowością w kuchni polskiej, jednak w Azji od wieków są stałym elementem dań. Stanowią one wartościowe źródło wielu witamin i minerałów w łatwo przyswajalnej formie. Przypisuje się im także szereg działań prozdrowotnych. Chlorella, Spirulina, Kombu oraz Wakame stały się popularnym dodatkiem do wielu dań. W artykule przedstawiono historięspożycia alg, ich prozdrowotne działanie. Mogą one znajdować zastosowanie nie tylko w kuchni wegetariańskiej, ale także w codziennym żywieniu. Jest to nowe zjawisko i trend na rynku.

Słowa kluczowe: algi, Chlorella, superfood, Spirulina, żywienie

The potential of algae in human nutrition

Summary
Algae are a novelty in Polish cuisine, but in Asia they have been a regular part of the dishes. They are a valuable source of many vitamins and minerals in an easily digestible form. They are also assigned to a range of pro-health activities. Chlorella, Spirulina, Kombu and Wakame have become a popular addition to many dishes. The article presents the history of algae consumption, their pro-health effects. They can be used not only in vegetarian cuisine, but also in the daily nutrition of adults and children. This is a new phenomenon and trend in the market.

Keywords: algae, Chlorella, superfood, Spirulina, nutrition

1. Wstęp

Aktualnie z hodowlą alg wiązane są duże nadzieje na potencjalne wykorzystanie ich w przemyśle chemicznym, kosmetycznym, paliwowym, a także spożywczym. Powstaje coraz więcej prac dotyczących stanu zdrowia ludności zamieszkującej rejony, w których notuje się bardzo duże spożycie glonów oraz produktów spożywczych z ich dodatkiem. Duża ilość alg w diecie kojarzona jest z długowiecznością oraz dobrym stanem zdrowia. Potrawy z dodatkami Kombu, Wakame, czy Chlorelli były spożywane od bardzo dawna, a obecnie wraz ze zmianami trendów na rynku spożywczym oraz zwiększonym zainteresowaniem zdrowym trybem życia, wielu konsumentów poszukuje alternatywy oraz innowacyjnych suplementów diety.Glony zostały określone mianem *Superfood* i coraz częściej są dostępne w sprzedaży jako suplementy, bądź stanowią składniki produktów spożywczych. *Superfood* jest terminem marketingowym, który miał za zadanie pomóc konsumentom w zdobyciu wiedzy na temat zdrowych i pożywnych produktów.Termin ten znalazł się także w słowniku Oxford, a definicja brzmi następująco: „żywność bogata w składniki odżywcze uważane za szczególnie korzystne dla zdrowia i dobrego samopoczucia”. *Superfood* cechuje znacznie większa podaż niż w standardowej żywności takich składników jak np. błonnik czy kwasy nukleinowe (eufic.org 2012). Produkty oznaczone tym hasłem zgodnie z zaleceniem EFSA od

2007 roku muszą posiadać oświadczenie medyczne poparte badaniami klinicznymi. Od jakiegoś czasu, jako certyfikowane produkty oznaczone tym hasłem, dostępne są w formie proszku zarówno Chlorella jak i Spirulina. Przypisuje się im wiele prozdrowotnychwłaściwości, które znane były już wiele tysięcy lat temu. Podobnie jak inni przedstawicieletej grupy dostarczają dużo witamin, minerałów oraz cechuje je wysoka wartość odżywcza. Chlorella oraz Spirulina posiadają znaczne ilości witaminy B_{12} oraz chlorofilu, który poprawia odporność oraz ma działanie oczyszczające, jednak to niejedyne pozytywne właściwości tych glonów. Już w latach pięćdziesiątych dokonywano pierwszych doświadczeń mających na celu hodowanie niektórych glonów jednokomórkowych jak np. *Chlorella pyrenoidosa* czy *Scenedesmus obliquus.* Obecnie hodowla alg oraz otrzymywanie ich preparatów w formie granulatów, ekstraktów czy oczyszczonych związków chemicznych jest jedną z głównych gałęzi biotechnologii.Podstawowe wymagania, jakie należy spełnić w celu przeprowadzania hodowli glonów na skalę przemysłową to zapewnienie dostępu światła, dwutlenku węgla oraz soli mineralnych i wody (Ilczuk, 1986). Hodowla glonów jest niestety w Polsce procesem prowadzonym okresowo ze względu na niesprzyjające warunki klimatyczne. Najbardziej opłacalna jest w okresie od kwietnia do października, w okresie zimowym kosztochłonne staje się doświetlanie i dogrzewanie hodowli.

2. Hodowla alg

W składzie pożywki do hodowli alg powinny się znaleźć pierwiastki biogenne takie jak azot, fosfor, żelazo oraz węgiel. Odpowiednimpodłożem do wzrostu mogą być także ścieki komunalne bogate w jony NH_4^+, NO_3^-i PO_4^{3-}. Hodowlę można prowadzić w systemach otwartych np. w stawach, w obszarach zamkniętych oraz w bioreaktorach (Lewicki i in. 2013). Otwarte baseny to najpopularniejsza metoda hodowli alg, są to płytkie zbiorniki o głębokości około 0,3m tworzące zamknięte pętle recyrkulacyjne. Zbiorniki są umieszczane w miejscach o dużym nasłonecznieniu. Takie rozmieszczenie zapewnia dobry dostęp światła niezbędnego do rozwoju glonów. Całość hodowli jest poddana stałemu mieszaniu za pomocą urządzeń przypominających swoją konstrukcją młyny wodne, których zadaniem jest ciągłe zapobieganie sedymentacji glonów. Baseny są uważane za najefektywniejszy system hodowli alg, generują one także stosunkowo niskie koszty. Urządzenia stosowane do mieszania i cyrkulacji hodowli oparte są na mieszaniu łopatkowym i są nisko energochłonne. Biomasa produkowana przez glony jest stale odprowadzana w części znajdującej się za turbiną na końcu pętli recyrkulacyjnej. Niestety poważną wadę stanowi trudność w kontrolowaniu parametrów hodowli,a ze względu na zmienne warunki otoczenia należy stosować gatunki o wysokiej odporności.Konkurencyjną i obarczoną mniejszymi ograniczeniami metodę

hodowli alg stanowią fotobioreaktory. Wyróżniamy ich kilka rodzajów jak np. rurowe, płaskie, horyzontalne czy kolumnowe. Są to systemy zamknięte przeznaczone do produkcji biomasy alg w kontrolowanych warunkach. Środowisko reakcji jest oddzielone, przez co można uniknąć znacznych strat CO_2 oraz potencjalnych zakażeń. W ten sposób możliwe jest hodowanie większej ilości gatunków. Fotobioreaktory cechuje wyższa produkcja biomasy w porównaniu do stawów hodowlanych (w przypadku reaktorów rurowych jest 13 razy wyższa). Jest to spowodowane możliwością kontroli takich parametrów hodowli jak pH, temperatura, prędkość mieszania, stężenie CO_2 orazstężenie O_2.

3. Miejsce alg w systematyce

Algi stanowią grupę morfologiczno-ekologiczną organizmów samożywnych zamieszkujących środowisko wodne. Grupę stanowią nie tylko plechowe beznaczyniowe organizmy roślinne, ale także prochlorofity oraz bakterie (Pielesz 2010). Klasyfikacja tych organizmów jest dość skomplikowana ze względu na zróżnicowane cechy morfologiczne jej przedstawicieli. Jednak można wyznaczyć w obrębie tej grupy organizmów kilka wspólnych cech takich jak autotrofizm, zdolność do pierwotnej produkcji materii organicznej oraz beztkankowa budowa ciała (Chojnacka 2009). Nie istnieje jeden konkretny podział systematyczny tej grupy organizmów, wszystkie wskazują jednak na obecność wśród alg zarówno przedstawicieli Prokaryota np. Spirulina oraz Eukaryotanp. Chlorella. W ekosystemach wchodzą w skład fitoplanktonustanowiąc pokarm dla organizmów planktonożernych. Mogą także stanowić bentos, żyjąc na powierzchni pokładów dennych, natomiast porastając inne powierzchnie stanowią peryfiton. Algi są także zdolne do życia w symbiozie. Jako symbionty dostarczają produkty fotosyntezy. Efektem takiego współdziałania alg i grzybów są porosty. Jest to specyficzny typ symbiozy, ponieważ oba organizmy są zdolne do samodzielnego życia. Na szczególną uwagę zasługuje grupa glonów zawierających chloroplasty, wśród których możemy zaobserwować gromadę *Chlorophyta*, której przedstawicielką jest powszechnie stosowana Chlorella. Jest to organizm bardzo powszechnie występujący, spotykany zarówno w wodach słodkich jak i słonych.Może być aerofitem, czyli organizmem występującym poza środowiskiem wodnym np. w korze lub ziemi. Ponad 40 tys. gatunków alg jest uważane za przedstawicieli bakterii i protistów, natomiast 17 tys. uznawanych za zielenice, jest częścią składową królestwa roślin. Najprościej algi można podzielić na jednokomórkowe, wielokomórkowe i kolonijne (algaebase.org, 2016). Obecnie organizmy te są hodowane na skalę przemysłową i znalazły szereg zastosowań w przemyśle spożywczym.

4. Algi w jadłospisie człowieka

Pierwsze zapisy o stosowaniu alg w sztuce kulinarnej pochodzą sprzed 5000 lat. Glony morskie stanowią ważną część jadłospisów mieszkańców takich krajów jak Chiny, Japonia, Nowa Zelandia czy Australia (Ilczuk1986). Opisano także zjawisko spożywania glonów wśród starożytnych plemion Afryki i Ameryki Południowej. Wiadomo, że w XVI wieku Aztekowie wyławiali je z jeziora Texcoco i suszyli na słońcu. Obecnie jedno z afrykańskich plemion zamieszkujących okolice jeziora Czad nadal spożywa placki nazywane dihe, które powstają z wysuszonej na słońcu Spiruliny. Pod koniec lat siedemdziesiątych XX wieku znacznie rozwinęła się technika hodowli alg, a w USA na rynek wprowadzono pierwszy suplement diety z dodatkiem Spiruliny (Kaźmierska 2015). Spożywanie glonów staje się coraz powszechniejsze ze względu na wzrost zainteresowania kulturą azjatycką, przez corośnie popularność takich dań jak np. sushi, czy rammen. Sushi jest tradycyjnym japońskim daniem składającym się z ryżu, owoców morza oraz alg tworzących taśmę, w którą zawija się składniki (Dybowskai in. 2013). Nori to japońskie określenie dla różnego rodzaju alg jadalnych stosowanych do wyrobu taśmy aonori, w które zawijany jest ryż wraz z dodatkami. Najczęściej spożywanygatunek alg to szkarłatnica delikatna (*Porphyra tenera)* Stanowi ona popularną przekąskę nie tylko w Japonii, ale także w USA, gdzie powstały także nowe jej odmiany jak np. *California roll*(Kordzińska-Nawrocka2008).W niektórych rodzajach sushi takich jak gunkan-zsushi i maki-zsushi używa się połączenia Nori i Kombu. Obecnie na rynku pojawiają się także mniej znane produkty z alg. Kombu uzyskuje się z kilku gatunków, jednak głównym organizmem używanym do jego produkcji jest listownica. Nazwa produktu wywodzi się z języka koreańskiego, w Chinach jest znany, jakodasima. Nie należy herbaty z Kombu, mylić z kombuchą, która jest uzyskiwana przez fermentację słodkiej herbaty z grzybkiem herbacianym (Dufrence iFarnworth2000). Kombu tea jest rodzajem czarnej herbaty uzyskiwanej z suszonego Kombu (*Saccharina japonica*). Zaleca się spożycie tego glonu ze względu na duże ilości zawartego w nim jodu, który poprawia funkcjonowanietarczycy. Jednak ze względu na spore jego ilości w surowcu, osobom z nadczynnością tarczycy zaleca się ograniczenie spożywania Kombu na rzecz Wakame(RoyalAustralian College of General Practitioners 2009). Ponadto Kombu jest źródłem kwasu glutaminowego, który odpowiedzialny jest za powstawanie odczucia smaku„umami", stąd wykorzystanie tej algi, jako dodatku smakowego (Abbot 1989). Kwas glutaminowy jest także neurotransmiterem w ośrodkowym układzie nerwowym, który usprawnia zapamiętywanie oraz poprawia koncentrację. Stymuluje także syntezę białek mięśniowych oraz jest niezbędny do syntezy związków wysokoenergetycznych i kwasów

nukleinowych.Wakame (*Undaria pierzastodzielna)* to przedstawiciel brunatnic, który jest stałym elementem kuchni japońskiej oraz znajduje zastosowanie w ziołolecznictwie. Swoją popularność zawdzięcza obecności fukoksantyn, którym przypisuje się działanie odchudzające (Kolbi in. 2004). Jest to ważny składnik wegańskiej diety Genmai-saishoku, która bazuje na brązowym ryżu, warzywach morskich i lądowych oraz ma dostarczać w jak największej ilości witaminę B_{12} (Suzuki 1995). Glony stanowią także dodatki funkcjonalne do żywności. Najczęściej wykorzystuje się ich właściwości żelujące. Agar, Karagen i Alginiany to hydrokoloidy otrzymywane z alg. Agar jest dodawany do wyrobów cukierniczych, produktów mięsnych deserów oraz napojów. Składa się on z agarozy oraz agaropektyny. W zimnej wodzie pęcznieje, natomiast dobrze rozpuszcza się w wodzie o temperaturze ok. 90-100 °C. Jest oznaczony numerem E406 i uznany za dopuszczalny do spożycia. Karagen jest uważany za dobry stabilizator dedykowany produktom mlecznym ze względu na to, że reaguje z kazeiną mleka. Tak samo jak agar, jest ekstrahowany z krasnorostów. Jest oznaczony symbolem E407, a surowiec do jego produkcji stanowią chrząstnica kędzierzawa oraz mech irlandzki. W przetwórstwie spożywczym jest także używany do stabilizacji zawiesin i emulsji oraz zmniejsza sedymentację kakao. Karageniny zawarte w suszonych plechach są używane w terapii choroby wrzodowej (Chojnacka 2009).

5. Rola alg jako suplementów

Suplement diety to substancja stosowana w celu uzupełniania składników, których może brakować w codziennym żywieniu. Z zasady suplementy powinny być produkowane w takiej formie, by umożliwiały łatwe wprowadzanie ich do diety. Najczęściej dostępne są, jako proszek, tabletki lub płyn. Według Codex Alimentarius suplementy zawierające witaminy i mikroelementy uznawane są za żywność (FAO 2016).Od pewnego czasu glony ze względu na swój skład chemiczny sprzedawane są jako suplementy w różnych formach.

Skład chemiczny alg to głownie woda, która stanowi 75-90% ich biomasy. Jednak spory udział w składzie glonów mają także sole mineralne i węglowodany (do 50% suchej masy). Glony to także źródło wielu cennych witamin (B1, B2, B5, B6, B12, Ci E) i mikroelementów takich jak cynk, miedź, jod, magnez czy żelazo i mangan. Są one obecne w algach w formie łatwo przyswajalnej przez organizm człowieka. Stwierdzono w nich także obecność wartościowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) (Chojnacka2009).Algi są także źródłem polifenoli, którym przypisuje się działanie antyoksydacyjne i przeciwbakteryjne. Materiałem zapasowym glonów jest skrobia, przez co mogą stanowić jej cenne źródło. Do 60% suchej masy alg stanowią polisacharydy. Maja one duże zastosowanie w leczeniu choroby wrzodowej wywołanej przez bytowanie w żołądku *Helicobacter pylori*.

Największe znaczenie terapeutyczne mają fukoidany, które są kompleksem zbudowanym z siarkowych polisacharydów, składających się głównie z L-fukozy i grup siarkowych oraz niskiej zawartości D-glukozy, D-mannozy, D-ksylozy i kwasu uronowego. Wykazano, że mają one zdolność hamowania adhezji drobnoustrojów do ściany żołądka (Kryżek 2017). W literaturze wskazuje się także na terapeutyczne działanie ulvanów, czyli polisacharydów pozyskiwanych z rodzaju Ulva, czyli tak zwanej sałaty morskiej. Zmieniają one stosunek frakcji LDL do HDL(Schroder i in. 2013).

Jak wcześniej nadmieniono, algi cechuje bardzo duży udział wody w ich składzie chemicznym, jednak warto zauważyć, że stanowią źródło białka oraz witamin. Najpopularniejszy z glonów w przetwórstwie spożywczym, czyli Spirulinazawiera w swojej suchej masie aż do 77% białka i dostarcza wszystkich aminokwasów egzogennych. W jej składzie można także znaleźć kwasy tłuszczowe omega 3 i 6. Jest to także cenne źródło witamin z grupy B, a także C i E oraz minerałów (Kępskai Olejnik 2014).Włączenie Spiruliny do diety może być bardzo istotne w przypadku osób cierpiących na cukrzycę. Glon ten w swoim składzie zawiera niebieski barwnik fikocyjaninę, która ma zdolność do hamowania glikemii posiłkowej. Barwnik ten jest w stanie także hamować działanie lipazy trzustkowej oraz znacząco obniżać poziom tiracylogliceroli (Parikh i in., 2001). W literaturze wskazuje się także na antybakteryjne działanie glonów z rodzaju *Arthrospira*, których przedstawicielem jest Spirulina. Opisano działanie antybakteryjne przeciwko sześciu gatunkom Vibrio(Kaźmierska, 2015). Według Kolb i współautorów spożywanie glonów w połączeniu z innymi warzywami może w pełni zaspokoić zapotrzebowanie człowieka na witaminę B_{12} oraz beta-karoten. Włączenie glonów do diety pozwala także uzupełnić braki w minerałach spowodowane zbyt intensywnym użytkowaniem gruntów na których uprawia się warzywa, a także mogą stanowić cenne źródło jodu w diecie (Kolbi in. 2004). Warto także zwrócić uwagę na metabolity glonów takie jak laksafycyna i scytofycyna, które wykazują działanie cytotoksyczne. Algi zawierajątakże w sobie niektóre glikoproteiny sulfonowe, którym również przypisuje się działanie przeciwnowotworowe (Czerpaki in. 2009). Spirulina jest zalecana w przypadku niedoborów żelaza lub witamin z grupy B oraz jako składnik diety sportowców. Podkreśla się także jej szczególne znaczenie w diecie kobiet w czasie laktacji, ponieważ poprawia działanie systemu antyoksydacyjnego i zmniejsza ryzyko zaburzeń neurologicznych u dziecka (Patil i in. 2016). Skład chemiczny glonów jest wynikiem wchłaniania przez nie składników mineralnych z wód, w których bytują. Wartość odżywczą glonów przeanalizowano na podstawie ustaleniaUnited StatesDepartment of Agriculture Agricultural Research Service dotyczącą dwóch popularnych glonów w Japonii, czyli

Wakame (Undaria pierzastodzielna) oraz Spiruliny przeliczoną na 100g. Dla porównania przytoczono także skład Chlorelli na podstawie bazy NutritiondataSelf 2016.

Tabela 1. Porównanie wartości odżywczych najczęściej spożywanych glonów (opracowanie własne na podstawie tabel dostępnych w zasobach United StatesDepartment of AgricultureAgriculturalResearch Service dla wakame i spiruliny i bazy nutritiondata.self.com, 2016)

	Wakame	Spirulina	Chlorella
Wartość energetyczna	45 kcal	26kcal	410kcal
białko	3g	5,96g	58,4 g
węglowodany	9g	2,42g	23,2g
tłuszcze	0,65g	0,39g	9,3g
wapń	150mg	12mg	221mg
żelazo	2,18mg	2,79mg	130mg
magnez	107mg	19mg	315mg
cynk	0,38mg	0,20mg	71mg
kwas foliowy	196µg	9µg	94µg
wit.A	59,94IU	9,99 IU	51300 IU
wit.E	1000µg	0,49µg	1500 µg
wit.K	5,3 µg	2,5µg	1500 µg
wit.C	3 mg	0,9mg	10,4mg

IU- jednostka aktywności substancji biologicznie czynnych w tym witamin. Podane zawartości odnoszą się do 100g produktu

Chlorellę cechuje najwyższa energetyczności zarazem najwyższa zawartośćbiałka oraz węglowodanów. Cieszące się równą popularnością Wakami dostarcza zaś najwięcej ze wszystkich glonów witaminy K, która jest odpowiedzialna między innymi za regulację wytwarzania protrombiny, co wpływa na krzepniecie krwi (Gawęckii Hryniewicz 2012). W porównaniu z Wakami i ChlorelląSpirulina, która jak dotąd była bardzo powszechnie stosowana w suplementacji, ma najniższą ilość kalorii, stąd zainteresowanie nią, jako produktem mającym zastosowanie w dietach mających zredukować masę ciała. Najlepszym źródłem witamin jest Chlorella, dlatego teżczęściej jest wykorzystywana, jako suplement mający na celu uzupełnienie braków w diecie, aniżeli środek odchudzający.

6. Nowe produkty z dodatkiem glonów

Aktualnie na rynku dostępnych jest bardzo dużo produktów zawierających nie tylko Chlorellę lub Spirulinę, ale także inne glony. Spirulinaotrzymała w roku 1981 status GRAS (GenerallyRecognized As Safe), co oznacza, że może być legalnie wprowadzonądo obrotu, jako suplement. Coraz częściej w zbilansowanych dietach pojawiają się także takie algi jak Kombu, Arame, czy Wakame. Są włączane do diety w formie napojów typu smoothie, sosów lub sałatek oraz nadają się także do klasycznych dań obiadowych. Aktualnie na rynku dostępne są takie produkty jak np. batony z Chlorellą produkowane przez polski start

upPurella Food (Rawa 2017). Mają one być źródłem analogów białka zwierzęcego dla wegan i wegetarian. Nowością są także oleje z algoraz granulaty otrzymywane w procesie ekstruzji mające dostarczyć organizmowibiałka oraz tłuszcze. Granulaty produkowane przez koncern TerraVia mają stanowić półprodukty do pieczenia oraz gotowania, które można zastosować w domu. Glony znajdują także zastosowanie, jako barwnik spożywczy, więc tym samym na rynku dostępne są produkty z ich pośrednim dodatkiem takie jak np. ciastka czy makarony barwione na zielono. Największymproducentem tego typu suplementów obecniesątakie kraje jak Japonia, Meksyk czy Tajwan, gdzie algi są powszechnie stosowane jako niekonwencjonalne źródło białka (Cuellar - Bermudezi in. 2015).Wprowadzane są także na rynek polski tak zwane „zielone napoje" z dodatkiem Chlorelii.Mają one konsystencję smoothie i są odpowiedzią na rosnące zainteresowanie koktajlami zdrowotnymi. W doświadczeniu przeprowadzonym przez zespół naukowców z Indii i Japonii, wzbogacono makaron dodatkiem Wakame. Uzyskany produkt wykazywał większe walory prozdrowotne poprzez poprawęprofilu aminokwasów i składu kwasów tłuszczowych, a w efekciewyższą wartość odżywczą. Ponadto fukoksantyna zawarta w glonach nie straciła swoich właściwości w czasie obróbki termicznej (Prabhasankari in. 2009). Badania te wykazują nowe kierunki zastosowania alg w technologii żywności oraz nowe możliwości poprawy wartości odżywczej wielu produktów spożywczych.

7. Podsumowanie

Algi to cenne źródło wielu substancji odżywczych takich jak wielonienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy oraz makro i mikroelementy. Aktualnie na rynku pojawia się coraz więcej produktów wzbogacanych glonami, których właściwości sensoryczne są bardzo atrakcyjne dla konsumentów. W diecie Polaków oprócz alg w postaci zagęstników takich jak karagen czy agar, coraz częściej pojawiają się glony w formie dań takich jak np. sushi. Moda na spożycie alg może mieć prozdrowotneskutki, jednak należy pamiętać o pewnych ograniczeniach np. dotyczących dużej podaży jodu w Kombu oraz akumulacji przez algi metali ciężkich, co znajduje zastosowanie w biooczyszczalniach, ale może mieć negatywne skutki dla organizmu. Należy spożywać glony ze znanych źródeł i dokonywać zakupów w certyfikowanych sklepach.Algi są źródłem wielu cennych składników w łatwo przyswajalnej formie. Stanowią źródło białka roślinnego, więc tym samym stały się ważna częścią diety wegetariańskiej oraz wegańskiej. Sprzedawane w formie proszku algi nadają się do zastosowania w codziennym jadłospisie i mogą stanowić suplementydiety. Algi cechuje także działanie terapeutyczne w chorobie wrzodowej oraz działanie antybakteryjne. Coraz

częściej zaczęto dostrzegać, dlatego pojawia się coraz więcej innowacyjnych produktów mających w swoim składzie algi w różnej postaci.

8. Literatura

Abbott A., 1989, Food and food products from seaweeds, In Lembi, Carole A.; Waaland, J. Robert. Algae and human affairs, Cambridge University Press, Phycological Society of America, S. 141

Bazaself nutriotion data, 2016, Seaweed, chlorella, dried, USA

Chojnacka K., 2009,Technologiczne zastosowanie alg w przemyśle spożywczym i chemicznym, Przemysł Chemiczny 88/5

Cuellar-Bermudez SP, Aguilar-Hernandez I., Cardenas-Chavez D.L, Ornelas-Soto N., Romero-Ogawa M., Parra-Saldivar R., 2015, Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins,MicrobialBiotechnol., 8 (2015), S.190-209

Czerpak R., Jabłońska-Trypuća., Pietryczuk A.,2009, Znaczenie terapeutyczne, kosmetyczne i dietetyczne niektórych glonów, Postępy Fitoterapii 3/2009, S. 168-174

Dufresne C., Farnworth E., 2000, Tea, Kombucha, and health: a review, Food Research International Volume 33 Issue 6, S. 409-421

Dybkowska, E., Żebrowska-Krasuska, M., Serwatka, G., Waszkiewicz-Robak, B, 2013, Sushi - funkcjonalne danie gotowe, Przemysł Spożywczy 67/12 (2013), S.35-38

FAO, 2016, List of codex specifications for food additives, Food and Agriculture Organizationof United Nations, Włochy

Gawecki J., Hryniewicz L., 2012, Żywienie człowieka: podstawy nauki o żywieniu t.1,Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN

Ilczuk Z., 1986, Niewidzialni sojusznicy człowieka, Wydawnictwo Iskry, Warszawa

Kaźmierska A., 2015, Spirulina – niedoceniony składnik żywności, Przemysł Spożywczy 69/5 (2015), S. 41-44

Kępska D., Olejnik Ł., 2014, Algi-przyszłość z morza, Chemik 2014, 68, 11, 967–972

Kolb N., Vallorani L., Milanovi N., Stocchi V., 2004, Wakame and Kombu as Food Supplements,Food Technol. Biotechnol. 42, S.57–61

Kordzińska- Nawrocka I., 2008, Japońska kultura kulinarna, Wydawnictwo TRIO, Warszawa

Krzyżek, P., 2017, Polisacharydy alg i roślin w terapii chorób wywołanych przez Helicobacter pylori, Postęp Fitoterapii 18(3), s. 196-202

Lewicki A., Janczak D., Czekała W., 2013, Przegląd instalacji do przemysłowej produkcji alg na biomasę, Technika Rolnicza Ogrodnicza Leśna 3/2013

Parikh P., Mani U., Iyer U., 2001, Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus, Journal of Medicinal Food, 4/2001, S. 193-199

Patil J., Matte A., Mallard A., Sandberg M., 2016, Spirulina diet to lactating mothers protects the antioxidant system and reduces inflammation in post-natal brain after systemic inflammation, An International Journalon Nutrition, Dietand Nervous System, S.1-11

Pielesz A. 2010, Algi i alginiany – leczenie, zdrowie, uroda, E-BOOKOWO, Warszawa

Prabhasankarap., Ganesanb P., Bhaskarbd N., Hirosec A., Nimishmol S., Gowdac L., Hosokawad M., Miyashitad K., 2009, Edible Japanese seaweed, wakame (Undariapinnatifida) as an ingredient in pasta: Chemical, functional and structural evaluation, Food Chemistry Volume 115 Issue 2, S.501-508

Rawa Ł., 2017, Purella Food: Superfoods to nie chwilowa moda,Portal Wiadomości Handlowe

Royal Australian Collegeof General Practitioners, 2009, RACGP Health alert - high levels of iodine in BonSoy soy milk,Australia

Schroeder G., Messyasz B., Łęska B., Fabrowska J., Pikosz M., Rybak A., 2013, Biomasa alg słodkowodnych surowcem dla przemysłu i rolnictwa, Przemysł Chemiczny 92/7, S. 1380-1384

Serwisinternetowywww.algaebase.org

Suzuki H., 1995, Serum Vitamin B12 Levels in Young Vegans Who Eat Brown Rice, Journal of Nutritional ScienceandVitaminologyvol. 41 (1995) no. 6 P 587-594

United StatesDepartmentof Agriculture Agricultural Research Service, 2016, Wakame and spirulina, USA

www.eufic.org, 2012

Wpływ zaprawiania nasion na wigor i wczesny wzrost siewek rzepaku ozimego

Monika Grzanka [(1)], Daria Antkowiak [(1)], Adela Andrzejak [(1)], Paulina Brus [(1)], Alicja Buda [(1)], Adam Sobkowiak [(1)], Wojciech Białczak [(1)]

[1] Studenckie Koło Naukowe Rolników, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Monika Grzanka: mgrzanka519@interia.pl

Streszczenie
Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu zaprawiania nasion na wigor i wczesny wzrost siewek rzepaku ozimego. W doświadczeniu wykorzystano środki zawierające tiuram oraz fluksapyroksad, nawóz donasienny oraz zaprawy biologiczne oparte o dwa szczepy grzyba *Trichoderma* spp. Do pomiaru energii i zdolności kiełkowania, wykonano test wzrostu siewki oraz test szybkości wzrostu siewki. Oceniono, że poszczególne preparaty w odmiennym stopniu wpłynęły na badane parametry. Wykorzystanie zapraw biologicznych najkorzystniej wpłynęło na energię oraz zdolność kiełkowania nasion. Nawóz donasienny w najwyższym stopniu przyczynił się do wzrostu długości korzeni i siewek. Żaden z zastosowanych preparatów donasiennych nie przyczynił się do istotnego statystycznie polepszenia szybkości wzrostu siewki.

Słowa kluczowe: wigor nasion, wzrost siewek, zaprawy nasienne

The effect of seed dressing on the vigor and early growth of winter rape seedlings

Summary
The aim of the study was to evaluate the effect of seed dressing on the vigor and early growth of winter rape seedlings. The crop protection products including thiuram and fluxapyroxad, dummy fertilizer and biocides based on two Trichoderma spp. fungus strains were used in the experiment. To measure the energy and germination capacity, seedling growth test and seedling growth rate test were conducted. It was assessed that individual formulations influenced the tested parameters in a different extent. The use of biological mortar has the most beneficial effect on energy and seed germination. Diffuse fertilizer has contributed the most to the increase of the length of roots and seedlings. None of the applied nasal preparations contributed to a statistically significant increase in seedling speed growth.

Key words: seed vigor, seedlings growth, seed treatments

1. Wstęp

Rzepak ozimy jest rośliną, która zajmuje jedno z pierwszych miejsc pod względem obszaru zasiewów, plonu i zbiorów w Polsce. Uprawę rzepaku (*Brassica napus* L.) pochodzącego z Azji rozpoczęto około 4 tys. lat temu. W Europie Zachodniej początki uprawy odnotowano około 500 lat temu. Po II Wojnie Światowej zaobserwowano dynamiczny wzrost produkcji rzepaku ozimego jak i oleju rzepakowego. W latach 60 XX wieku nastąpił przełom w pracach hodowlanych. Otrzymano pierwsze odmiany o obniżonej, a później śladowej zawartości kwasu erukowego oraz obniżonej zawartości glukozynolanów. Otrzymały one nazwę odmian podwójnie ulepszonych. Kwas erukowy, który jest kwasem niepożądanym w olejach spożywanych przez ludzi (według norm unijnych do 2%), stosowany jest w produkcji chociażby detergentów, czy substancji powierzchniowo czynnych (Kapusta 2015).

Z nasion rzepaczanych pozyskuje się tłuszcz, a pozostałe resztki, czyli makuchy lub śruta poekstrakcyjna – zależnie od sposobu pozyskiwania tłuszczu, stanowią wysokobiałkową paszę treściwą dla zwierząt gospodarskich. Dzięki intensywnym badaniom naukowym wraz z prowadzeniem hodowli tej rośliny poznano wiele istotnych cech, które doprowadziły do odkrycia nowych źródeł genetycznych oraz uzyskania informacji na temat sposobu dziedziczenia cech, które są istotne gospodarczo. Poszukiwane są nowe sposoby ulepszenia, szczególnie pod względem różnych możliwości zastosowania ze względu na skład kwasów tłuszczowych oraz jeszcze wyższej wartości paszowej wytłoków i śrut. Może to w efekcie doprowadzić do chociażby korzystnego wpływu na zmniejszenie kosztów produkcji mleka, gdy byłaby możliwość zrezygnowania z podawania bydłu śruty sojowej i zastąpienia jej wysokobiałkową śrutą rzepaczaną. Istotne są również kierunki hodowli, które mają za zadanie poprawienie cech agronomicznych rzepaku takich jak: wzrost plonowania i zimotrwałości, odporności na choroby i szkodniki oraz suszę, obniżeniu podatności na osypywanie i wyleganie, konkurencja z chwastami, a także możliwości obniżenia nakładów na produkcję (Krzymański 2000). Obecnie wyrównuje się ilość zasiewów odmian populacyjnych oraz mieszańcowych.

Rzepak jest rośliną, która dobrze wypada na tle innych ze względu na szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym (oleje jadalne i tłuszcze stałe np. margaryna, tłuszcze cukiernicze), jak i technicznym (produkcja biopaliw, farb, mydła, środków piorących, czy kosmetyków). Profil kwasów tłuszczowych decyduje o przydatności oleju do celów spożywczych i technicznych. Olej na cele spożywcze powinien charakteryzować się korzystnymi proporcjami kwasów mono-nienasyconych oraz wielonienasyconych. Problemy sprawia użytkowanie oleju rzepakowego, jako biopaliwa zamiast oleju napędowego. Kwas linolenowy i linolowy, które są korzystne w żywieniu ludzi, są niekorzystne dla produkcji biopaliw ze względu na łatwość utleniania i polimeryzacji, co prowadzi do jego zasychania i zatykania układu paliwowego (Tys i in. 2006). Uniwersalność rzepaku polega na tym, że jest on rośliną, która ma szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, a także jest rośliną strukturotwórczą – stanowi wartościowy przedplon dla roślin następczych (Tys i in. 2003).

Bardzo ważną kwestią w uprawie roślin jest odpowiedni wybór materiału siewnego. W celu określenia jego, jakości zostały opracowane specjalne wskaźniki. Głównym parametrem jest żywotność nasion określana głównie przez zdolność kiełkowania. Jako ważny miernik podaje się również wigor nasion. Definiuje się go, jako zbiór właściwości nasion określających stopień aktywności określonej partii nasion o prawidłowej zdolności

kiełkowania, w różnych warunkach środowiska. Wigor nie jest, więc pojedynczą cechą, lecz zbiorem właściwości, które uwzględniają tempo oraz wyrównanie kiełkowania nasion, a także wzrost siewek, możliwość wschodów w niekorzystnych ku temu warunkach środowiskowych, a także kondycję materiału siewnego po okresie przechowywania (Panasiewicz i in. 2010).

Zaprawianie nasion jest pierwszym punktem ochrony roślin. W tym celu najczęściej wykorzystywane są środki chemiczne, które przy stosunkowo niskiej cenie dają dużą skuteczność działania (Panasiewicz i in. 2008). Preparaty te mogą być jednak niebezpieczne dla środowiska. Możliwe jest również ich wnikanie do wnętrza nasion i zmiana składu chemicznego (Podleśny 2004). Obecnie dużą uwagę poświęca się zmniejszeniu ilości środków chemicznych stosowanych w rolnictwie. Coraz większą powierzchnię zajmują uprawy ekologiczne, ważna jest również integrowana produkcja. Czynniki te prowadzą do popularyzacji biologicznych sposobów polepszania, jakości nasion. W wielu doświadczeniach bada się rolę mikroorganizmów w zaprawianiu materiału siewnego. W tym celu najczęściej wykorzystywane są grzyby należące do rodzajów *Gliocladium* i *Trichoderma,* a także bakterii z rodzajów *Enterobacter, Erwinia, Pseudomonas, Streptomyces* oraz *Bacillus* (Grzesik i in. 2012). Wyniki licznych badań pokazują, że rozwój chorób roślin może być zatrzymywany poprzez dolistne stosowanie nawozów mikro- oraz makroelementowych. Nawozy zaczęto wykorzystywać również do zaprawiania nasion. Mają one na celu pobudzenie rozwoju korzeni (Gleń-Karolczyk i in. 2015).

Zaprawianie nasion rzepaku jest ważnym krokiem w ochronie plantacji przed zgorzelą siewek. Jest to jedna z najgroźniejszych chorób tej uprawy. Wywoływana jest przez zespół patogenów: *Rhizoctonia solani, Pythium* spp. oraz *Fusarium* spp. (Sadowska i in. 2017). Uzewnętrznia się w postaci brunatnych plam występujących na korzeniach oraz szyjkach korzeniowych, które w miarę upływu czasu prowadzą do powstania specyficznych przewężeń. Objawy pojawiają się na polu placowo. Infekcja jest szczególnie groźna w przypadku wystąpienia zaraz po wschodach, prowadzi wówczas do więdnięcia i zamierania siewek. Choroba przenoszona jest przez glebę oraz materiał siewny (Gwiazdowski 2004).

Fungicydy zajmują zarówno na rynku Polskim jak i w Unii Europejskiej drugie miejsce wśród wszystkich stosowanych środków ochrony roślin. W Polsce ich udział stanowi około 40% (Matyjaszczyk 2014). Zaprawianie nasion jest pierwszym, istotnym zabiegiem chroniącym rośliny przed licznymi patogenami już w początkowych fazach rozwoju, dlatego bardzo ważne jest aby stosowane preparaty były skuteczne. Ich efektywność zależy od rodzaju substancji aktywnej, natężenia agrofagów, precyzyjności pokrycia nasion przez zaprawę oraz od panujących warunków pogodowych (Mrówczyński i in. 2000).

Tiuram (disulfid tetrametylotiuramu) to związek z grupy ditiokarbaminianów. Wykorzystuje się go przede wszystkim w rolnictwie do ochrony roślin. Jest składnikiem wielu fungicydów przeznaczonych do zaprawiania nasion w celu zwalczania patogenów przenoszonych z materiałem siewnym oraz zasiedlających glebę, głównie wywołujących zgorzele siewek – *Fusarium*spp., *Pythium*spp.. Tiuram ogranicza wzrost struktur patogena oraz hamuje rozwój zarodników na roślinie. Jego działanie polega również na zakłócaniu procesów oddychania (Struciński 2006).

Fluksapyroksad jest jedną z nowszych substancji czynnych należącą do grupy karboksyamidów. Działanie tej substancji polega na zaburzaniu procesów energetycznych oraz ograniczaniu aktywności dehydrogenazy bursztynowej (SDH). Fluksapyroksad stosowany jest do zwalczania grzybów z rodzaju: *Erysiphe, Puccina, Blumeria, Pyrenophora.* W Polsce substancja ta zarejestrowana jest w uprawach zbożowych, ale na świecie stosowana jest również na plantacjach rzepaku oraz słonecznika (Korbas i in. 2017).

Celem pracy było określenie wpływu zaprawiania nasion na wigor i wczesny wzrost siewek rzepaku ozimego. W hipotezie badawczej założono, że wykorzystanie preparatów donasiennych oddziałuje na badane parametry.

2. Materiał i Metody

Doświadczenie przeprowadzono w laboratorium nasiennym Katedry Agronomii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Oceniano energię i zdolność kiełkowania oraz wigor nasion. Badanie przeprowadzono zgodnie z normami ISTA - Międzynarodowego Związku Oceny Nasion - International Seed Testing Association (2011) oraz wytycznymi Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa. Doświadczenie realizowano od listopada 2017 r. W przeprowadzonym badaniu oceniano wpływ różnych preparatów na parametry wzrostowe i wigor nasion rzepaku ozimego odmiany Visby.

W kombinacjach wykorzystano: tiuram (T 75 DS/WS – 750g s.a/kg), fluksapyroksad (Systiva 333 FS – 333g s.a/l), nawóz donasienny (Primus) oraz dwie zaprawy biologiczne oparte o szczepy grzyba *Trichoderma* spp. – Trichoderma 14 i Trichoderma 39 (Tab. 1).

Tabela 1. Schemat doświadczenia (opracowanie własne)

Nr	Kombinacja	Dawka
1	Kontrola (bez zaprawy)	-
2	T 75 DS/WS	400 g /100 kg nasion
3	Systiva 333 SE	250 ml/100 kg nasion
4	Primus	200 ml/100 kg nasion
5	Trichoderma 14	50 ml/15 g nasion
6	Trichoderma 39	50 ml/15 g nasion

Ocenę energii i zdolności kiełkowania oraz wigoru wykonano za pomocą testu rulonowego. Każdy z rulonów składał się z trzech warstw zwilżonej bibuły filtracyjnej o wymiarach 30 x 45cm. Bibuły zostały umieszczone w szafie termostatycznej „ST 5 +" w temperaturze 20ºC. Dla oznaczenia dwóch pierwszych parametrów na zwilżone bibuły filtracyjne wyłożono po 100 nasion z każdej kombinacji w dwóch powtórzeniach. Po 4 dniach od momentu założenia doświadczenia dokonano pomiaru energii kiełkowania, natomiast zdolność kiełkowania została określona 3 dni później. Wigor nasion oznaczono na podstawie wykonania testu wzrostu siewki oraz testu szybkości wzrostu siewki (długości kiełka), który polegał na wyłożeniu na bibuły filtracyjne po 25 nasion w dwóch powtórzeniach. Po 11 dniach od momentu założenia doświadczenia wykonano pomiar długości siewek normalnych oraz korzeni. Następnie uzyskane z każdego rulonu siewki normalne poddano suszeniu w temperaturze 80ºC przez 24 godziny i zważono je w celu uzyskania suchej masy.

3. Wyniki

Zastosowanie poszczególnych preparatów donasiennych w różnym stopniu wpłynęło na wartości badanych parametrów (tab. 2).

Tabela 2. Wpływ preparatów na wartość siewną nasion rzepaku ozimego

Kombinacja	Energia kiełkowania (%)	Zdolność kiełkowania (%)	Długość korzeni (cm)	Długość siewek (cm)	Masa korzeni (g)	Masa siewek (g)
Próba kontrolna	74,0	80,5	9,59	8,69	0,075	0,012
T75 DS/WS	39,5	59,0	10,36	7,37	0,085	0,013
Systiva 333 SE	58,5	79,5	10,30	6,71	0,058	0,010
Primus	65,5	74,5	10,58	10,34	0,088	0,014
Trichoderma 14	78,5	86,0	10,45	8,27	0,075	0,011
Trichoderma 39	76,0	84,0	9,03	7,87	0,073	0,010
$NIR_{0,05}$	10,92	4,02	1,96	1,78	0,019	0,004

Wzrost energii kiełkowania obserwowano w kombinacjach, w których wykorzystano zaprawy oparte o dwa szczepy *Trichoderma* spp., nie były to jednak różnice istotne statystycznie. W przypadku pozostałych substancji zaobserwowano spadek wartości tego parametru.

Wykorzystanie zaprawy Trichoderma 14 w istotny statystycznie sposób wpłynęło na wzrost zdolności kiełkowania nasion. Drugą pod względem poprawy wspomnianej właściwości okazała się zaprawa Trichoderma 39. Pozostałe środki przyczyniły się do spadku zdolności kiełkowania w porównaniu do kontroli.

W żadnej z kombinacji nie zaobserwowano istotnego statystycznie wzrostu długości korzeni. Największy wzrost wartości wspomnianego parametru obserwowano w przypadku nawozu donasiennego, który znacznie poprawił również długość siewek.

Wykorzystanie poszczególnych preparatów nie wpłynęło istotnie na masę korzeni oraz siewek w porównaniu do kontroli.

4. Dyskusja

Skuteczność stosowania chemicznych i biologicznych zapraw jest przedmiotem wielu prowadzonych badań. W doświadczeniu własnych wykazano, że na energię i zdolność kiełkowania nasion rzepaku najkorzystniejszy wpływ miało zastosowanie zapraw biologicznych opartych o dwa szczepy *Trichoderma* spp. Badania innych naukowców wskazują na fakt, że płukanie w zawiesinie wspomnianego grzyba działa dodatnio na wartość siewną nasion innych roślin rolniczych. Panasiewicz i in. (2016) wykazali, że zaprawianie nasion łubinu wąskolistnego dwoma szczepami *Trichoderma* spp. polepszyło w stopniu istotnym statystycznie ich energię oraz zdolność kiełkowania. W przytoczonej pracy, podobnie jak w doświadczeniu własnym, wykorzystanie zapraw biologicznych nie miało znaczącego wpływu na masę siewek. Należy pamiętać, że na aktywność działania zapraw biologicznych ma wpływ szereg czynników. Zalicza się tu odczyn podłoża oraz jego wilgotność, wielkość wykorzystanego inokulum, koncentracja jonów żelaza, a także metody traktowania nasion przed siewem (Grzesik i in. 2012).

Z badań Horszkiewicz-Janki i Jajor(2006) wynika, że nasiona rzepaku zaprawione preparatem Funaben T 75 DS/WS kiełkowały na wyższym poziomie niż obiekt kontrolny. W badaniach własnych nie wykazano takiej zależności. Zastosowanie zaprawy T 75 DS/WS oraz Systiva 333 FS znacząco obniżyły energię i zdolność kiełkowania w porównaniu z kontrolą. Zarówno w doświadczeniu własnym jak i w badaniach powyższych autorów nie wykazano istotnych różnic w suchej masie siewek rzepaku w zależności od zastosowanych zapraw.

Określając wigor nasion pod uwagę brana jest długość korzeni i siewki. Panasiewicz i in. (2007) wykazali znaczący wpływ zastosowanych zapraw nasiennych na długość korzeni. W przypadku gatunków takich jak: kukurydza, pszenica jara i ozima oraz pszenżyto ozime preparat zawierający triadimenol, imazalil, fuberidazol spowodował obniżenie długości korzeni. Natomiast po zastosowaniu substancji aktywnych takich jak karboksyna i tiuram uzyskano wzrost wartości badanego parametru u jęczmienia ozimego, żyta i owsa. W doświadczeniu własnym również wykazano wzrost długości korzeni w wyniku zastosowania substancji tiuram.

Wykorzystanie nawozu donasiennego w najwyższym stopniu spowodowało wzrost długości siewek oraz korzeni. Inne prace naukowe podają, że wykorzystanie tego typu wspomagacza polepsza również rozrost systemu korzeniowego zbóż (Gleń-Karolczyk i in. 2015).

Przeprowadzone doświadczenie pokazało, że poszczególne preparaty donasienne w różnym stopniu wpłynęły na wymienione powyżej parametry. Badania nie uwzględniały porażenia młodych roślin przez patogeny grzybowe. Jest to ważny czynnik, który w znacznym stopniu może ograniczyć plony. Wyniki własne pokazują jednak, że wykorzystanie odpowiedniego środka może zmodyfikować podstawowe parametry określające, jakość materiału siewnego, który jest pierwszym czynnikiem wpływającym na ilość płodów rolnych.

5. Wnioski

1. Wykorzystane w doświadczeniu preparaty donasienne w różnym stopniu wpłynęły na oceniane parametry wzrostu siewek.
2. Na energię i zdolność kiełkowania najkorzystniejszy wpływ miały zaprawy biologiczne oparte o dwa szczepy *Trichoderma* spp.
3. Największy wzrost długości korzeni oraz siewek obserwowano w przypadku wykorzystania nawozu donasiennego.
4. W żadnej z kombinacji nie obserwowano istotnego statystycznie wzrostu masy korzeni oraz siewek.

6. Literatura

Gleń-Karolczyk K., Boligłowa E., 2015. The effect of manganese treatment on pathogenic fungi isolated from barley kernels. Ecological Chemistry and Engineering 22(4):489-496.

Grzesik M., Janas R., Górnik K., Romanowska-Duda Z., 2012. Biological and physical methods of seed production and processing. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering. 57(3): 147-152.

Gwiazdowski R., 2004. Choroby i ochrona rzepaku ozimego. Rzepak: 6, 36-41.

Horoszkiewicz-Janka J., Jajor E., 2006. Wpływ zaprawiania nasion na zdrowotność roślin jęczmienia, pszenicy i rzepaku w początkowych fazach rozwoju. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 51(2): 47-53.

Kapusta F., 2015. Ewolucja miejsca i roli rzepaku w rolnictwie oraz gospodarce Polski. Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Problemy Rolnictwa Światowego tom 15 (XXX), zeszyt 2: 85-95.

Korbas M., Paradowski A., Węgorek P., Jajor E., Horszkiewicz-Janka J., Zamojska J., Danielewicz J., Czyczewski M., Dworzańska D. (2017): Vademecum środków ochrony roślin. Wydawnictwo Agronom, Poznań, ss. 97-99, ISBN 978-83-947740-0-4

Krzymański J., 2000. Perspektywy badań nad rzepakiem i jego hodowlą. Rośliny Oleiste, tom XXI: 7-14.

Matyjaszczyk E., 2014. Rynek środków ochrony roślin w Polsce w 2012 roku w ujęciu ilościowym i wartościowym. Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu, 16(3): 177-182.

Mrowczynski M., Wachowiak H., 2000. Skuteczność działania zapraw nasiennych w ochronie rzepaku jarego przed szkodnikami. Rośliny Oleiste-OilseedCrops, 21(2): 669-674.

Panasiewicz K., Koziara W., Faligowska A., Wolna-Maruwka A., 2016. The effect of selected strains of *Trichoderma* spp. on seeds sowing value and vigor of blue lupin. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering. 61(4): 89-91.

Panasiewicz K., Koziara W., Krawczyk R., 2010. Porównanie wartości siewnej i wigoru ziarna jęczmienia jarego uprawianego zgodnie z systemem ekologicznym i konwencjonalnym. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 55(4): 42-45.

Panasiewicz K., Koziara W., Sulewska H., 2007. Parametry wigorowe ziarna zbóż w zależności od biologicznych i chemicznych zapraw nasiennych. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 52(4): 14-17.

Panasiewicz K., Koziara W., Sulewska H., Ptaszyńska G., 2008. Influence of biological seed dressing on sowing value depending on storage period. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 53(4): 27-29.

Podleśny J., 2004. Wpływ stymulacji magnetycznej nasion na wzrost, rozwój i plonowanie roślin uprawnych. Acta Agrophysica, 4(2): 459-473.

Sadowska K., Łukaszewska-Skrzypniak N., Wojczyńska J., Stępniewska-Jarosz S., Tyrakowska M., Rataj-Guranowska M., 2017. Evaluation of susceptibility of potential rape pathogens to selected essential oils. Progress in Plant Protection. 57(3): 201-205.

Struciński P., 2006. Tiuram–pyły. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy, (3 (49)): 145-180.

Tys J., Jackowska I., Rybacki R., 2006. Wartość technologiczna nasion różnych odmian rzepaku ozimego przeznaczonych na biopaliwa. Acta Agrophysica, 8(4): 1017-1030.

Tys J., Piekarski W., Jackowska I. Kaczor A., Zając G., Starobrat P., 2003. Technologiczne i ekonomiczne uwarunkowania produkcji biopaliwa z rzepaku. Acta Agrophysica, 99: 153.

Ocena preferencji konsumenckich dotyczącychspożycia produktów ekologicznych

Bartosz Grzeszkowiak [(1)]

[1] SKN Qualitas, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu
Bartosz Grzeszkowiak: bartekgrzeszkowiak1@gmail.com

Streszczenie
Mówiąc o zdrowej żywności warto wspomnieć, że są to produkty pochodzenia naturalnego bez środków konserwujących i ulepszających, do, których wytworzenia stosowano metody tradycyjne i pochodzące z upraw ekologicznych. Żywność ekologiczna na opakowaniach powinna posiadać znak rolnictwa ekologicznego (zgodnie z Rozporządzeniem Rady EWG nr 2092/91 z 21 czerwca 1991 r.).
Biorąc pod uwagę ostatnie siedem lat, wartość rodzimej branży żywności ekologicznej wzrosła trzykrotnie. Jeśli jednak porównamy się do innych państw Europy, udział żywności ekologicznej w polskim rynku spożywczym wypada blado. Mowa o 3%, dla przykładu, w Szwajcarii to 7,7%, w Danii 8,4%. (Źródło: http://www.pomorska.pl/eko-region/a/w-2018-wartosc-rynku-zywnosci-eko-przekroczy-miliard-zlotych, 125009
Pocieszeniem może być fakt, że w Polsce wzrasta sprzedaż eko-żywności, i liczba firm oferujących takowe produkty. Jeśli chcemy sięgnąć po ekologiczne towary, nie musimy już odwiedzać specjalistycznych sklepów. Można je znaleźć na półkach niemal wszystkich dyskontów i hipermarketów. Coraz popularniejsze są także targi żywności ekologicznej (typu Wolny Jarmark Śniadaniowy w Toruniu czy bydgoski Frymark). Największym barierami dla rozwoju rynku produktów ekologicznych jest miedzy innymi rozdrobnienie produkcji i podaży żywności ekologicznej, duża różnica pomiędzy cenami zwykłego jedzenia a produktami ekologicznymi, słaba dostępność poza dużymi aglomeracjami.

Słowa kluczowe: produkty ekologiczne, zdrowa żywność, konsumpcja, rozwój

The study of consumer preferences relating to the consumption of organic products

Summary
Talking about healthy food, it is worth mentioning that these are natural products without preservatives and improving that produce traditional methods have been used and originating from organic farming. Organic food packages should have the character of organic farming (in accordance with Council Regulation (EEC) No 2092/91 of 21 June 1991) .
Given the past seven years, the value of domestic organic food industry has grown three times. However, if we compare to other European countries, the share of organic food in the Polish food market is pale. Talking about 3%. For example, in Switzerland it is 7.7%, in Denmark 8.4% Consolation may be the fact that in Poland is increasing sales of eco-food, and the number of companies offering such products. If you want to reach for the organic goods, we no longer need to visit the specialist shops.You can find them on the shelves of almost all discount stores and hypermarkets. Increasingly popular are also organic food fair (free Breakfast Market in Torun Bydgoszcz or Frymark. The biggest barriers to development of the market for organic products is, inter alia, fragmentation of production and supply of organic foods, the big difference between the prices of plain food and organic products, poor availability outside of the large urban agglomerations

Keywords: organic products, healthy food, consumption, development

1.Wstęp

Polska, podobnie jak kraje zachodnie kilkanaście lat temu, przeżywa dziś niezwykłe zainteresowanie wszystkim, co organiczne. Jak wynika z sondażu przeprowadzonego przez TNS Polska, już niemal milion Polaków regularnie wybiera żywność ekologiczną, a znacznie więcej – bo ponad sześć milionów – kupuje ją wprawdzie nieregularnie, ale deklaruje, że chce kupować takie produkty częściej. (Źródło: http://www.gazetaprawna.pl /artykuly/708485, ekologiczna-zywnosc-klucz-do-zdrowia-czy-wielkie-oszustwo-za-ktore-slono przeplacamy).

Jeżeli wierzyć temu badaniu, to już w sumie ponad 30 procent z nas jest entuzjastami ekologicznej żywności, a to całkiem spory rynek, który dalej rośnie. W związku z tym sklepy oferujące żywność BIO pojawiają się coraz częściej, nawet na półkach w zwykłych supermarketach znaleźć można produkty z napisem zapewniającym nas o ich ekologicznym pochodzeniu. (Źródło: http://www.gazetaprawna.pl/artykuly/708485,ekologiczna-zywnosc-klucz-do-zdrowia-czy-wielkie-oszustwo-za-ktore-slono-przeplacamy.html).

Etykieta ekologicznego produktu żywnościowego wymienia informacje obowiązujące na wszystkich produktach żywnościowych, takie jak: nazwa produktu, nazwa i adres producenta, data produkcji, okres przydatności do spożycia itp. Dodatkowo etykieta zawiera numer upoważnienia nadanego jednostce certyfikującej [np. PL-EKO-01] przez Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi oraz unijne logo rolnictwa ekologicznego. Mięso pochodzące od zwierząt z ferm przemysłowych zawiera mniej składników odżywczych niż to pochodzące od zwierząt hodowanych w lepszych warunkach, a więc mających dostęp do świeżego powietrza i przestrzeń, w której mogą się poruszać. Nie bez znaczenia jest także sposób żywienia. Krowy, świnie i kury z hodowli przemysłowej są karmione zbożem i soją, przez co ich mięso zawiera więcej tłuszczu i mniej pożądanych składników odżywczych niż mięso zwierząt, które mogą paść się na trawie i skubać drzewa czy krzewy.

Kurczaki te z wolnego wybiegu i organiczne zawierają do 50 procent mniej tłuszczu niż te z przemysłowych ferm drobiu. Tłuszcz w tych ostatnich stanowi nawet 1/5 ich masy. Wynika to z genetyki (jest skutkiem selektywnego rozmnażania w celu otrzymywania pulchnych kurczaków), ale także z ich diety (są karmione wysokoenergetyczną paszą i ledwo mogą się poruszać). Niemniej jednak kurczaki z ferm przesyłowych zawierają około 40 procent więcej tłuszczu niż białka. Poza tym w mięsie takich kurczaków jest zaledwie 1/5 DHA – jednego z kwasów omega-3 – w porównaniu do mięsa tych ekologicznych. Jagnięcina – ta z chowu pastwiskowego – zawiera więcej kwasów tłuszczowych omega-3 niż ta z chowu intensywnego. Spośród wszystkich zwierząt hodowlanych to właśnie owce spędzają najwięcej czasu na wolnym powietrzu, więc w przypadku wątpliwości, które mięso pochodzi od zwierzęcia karmionego trawą, jagnięcina będzie dobrym wyborem. Wołowina – ta pochodząca od krów z pastwisk lub karmionych trawą zawiera o 25-50 procent mniej tłuszczu a więcej witaminy E i zdrowego beta-karotenu niż pochodząca od krów zamkniętych w ciasnych pomieszczeniach i karmionych zbożami lub soją. Wołowina z krów karmionych trawą zawiera także wyższe stężenie kwasów tłuszczowych z rodziny omega-3. Wszystko, dlatego że świeża pasza (rośliny, trawa, liście) zawiera 10-12 razy więcej ALA – ważnego składnika kwasów tłuszczowych omega-3 – niż ziarno. Wieprzowina – mięso pochodzące ze

świń z wolnego wybiegu lub hodowli organicznych – jest bogatsze w witaminę E (zawiera jej średnio o 60 procent więcej) i żelazo a także kwasy omega-3 (zawiera ich nawet o 40 procent więcej) niż mięso z chowu intensywnego. Jaja od kur z dostępem do wolnego wybiegu mają nawet dwukrotnie więcej witaminy E, prawie trzykrotnie więcej beta-karotenu i nawet o 30 procent więcej kwasów omega-3 niż te od kur hodowanych w klatkach. Lepiej unikać mięsożernych gatunków ryb hodowlanych, takich jak łosoś, pstrąg, dorsz i halibut, ponieważ prawdopodobnie są one karmione paszą z ryb dziko żyjących – sardeli peruwiańskiej i innych. Lepiej wybierać dzikiego pstrąga czy łososia. Warto wiedzieć, że dziki łosoś zawiera nawet o 60 procent mniej tłuszczu niż hodowlany. Z badań brytyjskich naukowców z Uniwersytetu Newcastle, którzy przeanalizowali dane pochodzące z 343 badań porównujących produkty konwencjonalne i ekologiczne, wynika, że owoce i warzywa ekologiczne są zdrowsze. Przede wszystkim zawierają prawie o połowę mniej kadmu (rakotwórczego metalu ciężkiego) oraz czterokrotnie mniej pestycydów. Odznaczają się również niższym stężeniem azotu (o 10 proc.), azotanu (o 30 proc.) i azotynu (o 87 proc.) niż te konwencjonalne. Ponadto warzywa i owoce ekologiczne zawierają od 18 do 69 procent więcej antyoksydantów – w tym najsilniejszego z nich, czyli resweratrolu – niż te z upraw konwencjonalnych. Wyniki badań ukazały się w czasopiśmie „British Journal of Nutrition". (Źródło: http://www.poradnikzdrowie.pl/zywienie/co-jesz/zywnosc-ekologiczna-dlaczego-warto-ja-kupowac_42094.html).

Na polskim rynku żywności ekologicznej próbuje się realizować działania promocyjne, podejmowane przez instytucje państwowe i społeczne, przekazujące społeczeństwu podstawowe informacje na temat rolnictwa ekologicznego i żywności ekologicznej. Podejmowane są także działania marketingu mix, realizowane przez poszczególnych przedsiębiorców, które głównie koncentrują się na ofercie towarowej oraz dystrybucji, natomiast w mniejszym stopniu zwracają uwagę na ustalenie akceptowalnego przez konsumentów poziomu cen. Zarówno w pierwszym, jak i drugim rodzaju działań marketingowych nie są one w pełni dostosowane do wymagań i oczekiwań konsumentów. Produkty ekologiczne posiadają specjalne oznaczenia. Dla tych produktów, oprócz obowiązkowych informacji, podaje się również wartość odżywczą: kalorie, białko, skrobię, cukry, tłuszcze, błonnik, sód, kwasy tłuszczowe nasycone i nienasycone, a czasami witaminy i minerały. Produkt dietetyczny na opakowaniu może mieć umieszczone wskazania zdrowotne, ale tylko te, które są poparte badaniami. Informacje na opakowaniach powinny być prawdziwe i rzetelne. Nie wolno np. pisać, że dany olej nie zawiera cholesterolu, gdyż

oleje tego składnika po prostu nie mają. Jeśli na danym produkcie nie ma informacji w języku polskim lub nie jest ona jasna to nie kupujmy tego produktu.

2.Przedmiot badań

Przedmiotem badań jest żywność ekologiczna pochodząca z certyfikowanych gospodarstw ekologicznych na terenie Polski. Żywność ekologiczna charakteryzuje się tym, że do produkcji nie używa się chemicznych środków ochrony roślin i nawozów sztucznych, w uprawach stosuje się płodozmian w celu zapewnienia żyzności gleby, zwierzęta z gospodarstw ekologicznych mają zapewnione zdrowe warunki i są karmione paszą ekologiczną lub z dopuszczalną domieszką pasz konwencjonalnych, przetworzona żywność ekologiczna nie zawiera sztucznych barwników, aromatów, polepszaczy smaków, konserwantów i nie jest modyfikowana genetycznie. Wszystkich producentów, pośredników i przetwórców biorących udział w produkcji i obrocie żywnością ekologiczną obowiązują jednakowe unijne przepisy, od wytworzenia produktu do dostarczenia konsumentowi. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi przygotowało Ramowy Plan Działań dla Żywności i Rolnictwa Ekologicznego w Polsce na lata 2014-2020. Głównym celem tego planu jest rozwój rolnictwa ekologicznego oraz rynku żywności ekologicznej. Żywność ekologiczna oferowana indywidualnemu konsumentowi musi spełniać wszystkie przepisy, dopuszczające produkty żywnościowe do obrotu detalicznego oraz powinna być zapakowana w jednostkowe opakowania i oznakowana. Ten dodatkowy wymóg nie musi być spełniony, jeśli sprzedawcą jest rolnik, legitymujący się aktualnym certyfikatem, na którym wymienione są sprzedawane przez niego produkty żywnościowe oraz sklep kontrolowany przez jednostkę certyfikującą, z aktualnym certyfikatem, gdzie luzem mogą być sprzedawane ekologiczne produkty żywnościowe.

Wzrasta zainteresowanie producentów sprzedażą produktów ekologicznych, co sprawia, że rośnie również znaczenie promocji tego typu asortymentu. Konieczne staje się skupienie przekazu marketingowego na połączeniu produktu z jego ekologicznym pochodzeniem. O atrakcyjności produkcji żywności ekologicznej decydują potencjalne zyski, które zależą od nakładów producentów oraz wsparcia, które otrzymują z otoczenia.

W krajach Unii Europejskiej, podaż produktów ekologicznych nie pokrywa zapotrzebowania, dlatego importuje się żywność ekologiczną spoza UE. Rosnące wsparcie działań pro środowiskowych w obszarze rolnictwa stwarza perspektywę rozwoju produkcji ekologicznej. Instrumentem realizacji polityki rolnej UE w tym zakresie jest Program rolno-środowiskowy, w którego ramach wprowadzono płatności wspierające rozwój rolnictwa ekologicznego.

Zwolennicy ekologii mogą jednak liczyć na to, że kupowane przez nich produkty spożywcze zawierają mniej pestycydów, czyli środków ochrony roślin oraz mniej bakterii opornych na antybiotyki używanych w hodowli zwierząt. Badania Fundacji Warentest pokazują, że w 75 procent przebadanych ekologicznych owoców, warzyw i herbat pestycydów nie było. Dla porównania – tylko 16 procent konwencjonalnych produktów nie miało pozostałości pestycydów. (Źródło: http://www.gazetaprawna.pl/artykuly/708485, ekologiczna-zywnosc-klucz-do-zdrowia-czy-wielkie-oszustwo-za-ktore-slono-przeplacamy).

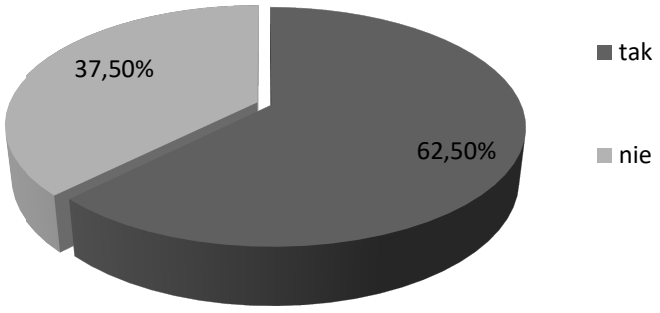
3.Metoda badawcza

Celem badania było scharakteryzowanie zachowań konsumentów na rynku produktów ekologicznych, oraz zilustrowanie jaki rodzaj i markę produktów ekologicznych respondenci wybierają najczęściej oraz jakie czynniki wpływają na ich wybór.

Badanie przeprowadzenie metodą wywiadu pośredniego przy zastosowaniu kwestionariusza ankiety internetowej wśród 98 respondentów dominowały kobiety i osoby w wieku 18-27 lat. Badania przeprowadzono w styczniu 2018r. Klientom zadano 7 pytań zamkniętych.

4.Wyniki Badań

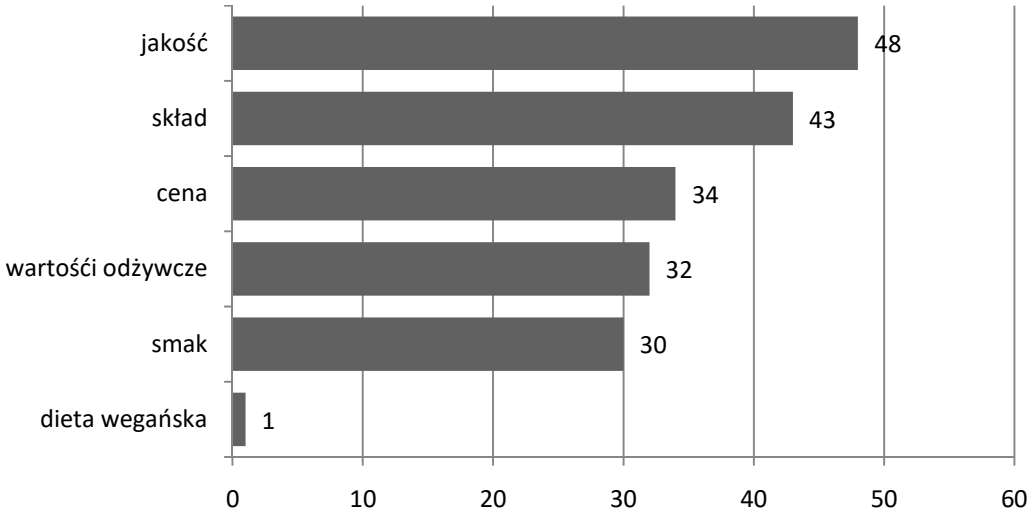
Respondentów zapytano czy spożywają produkty ekologiczną. Okazało się, że ponad połowa sięga po zdrową żywność, ponadto większą część osób stanowią kobiety niż mężczyźni. Świadczy to o tym, że kobiety zwracają większą uwagę na rodzaj wybieranej żywności. Bardziej szczegółowe wyniki badań ukazano na poniższym wykresie kołowym.



Wykres 1. Liczba osób spożywających produkty ekologiczne Źródło: Opracowanie własne na podstawie odpowiedzi ankietowanych

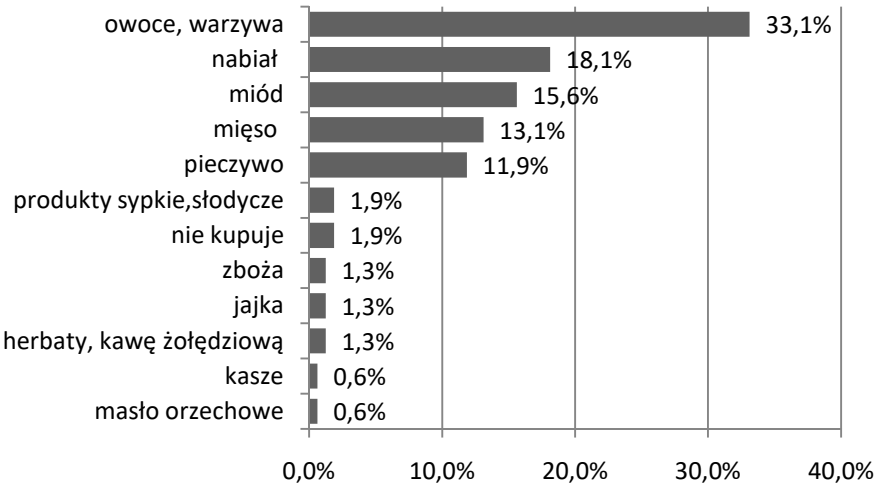
W jednym z pytań zapytałem respondentów, co w ich przypadku decyduje o wyborze żywności ekologicznej. Badani zdeklarowali, że najczęstszym czynnikiem decydującym o wyborze produktów ekologicznych to, jakość (48 osób), następnie uczestnicy badania wskazali skład (43 osoby). Pokazuje to, że osoby kupujące żywność ekologiczną szczególnie

zwracają uwagę na skład spożywanych produktów. Czynnikami obiektywnymi, które zostały wskazane są również cena (34 osoby), smak (30 osób) oraz dieta (1 osoba).



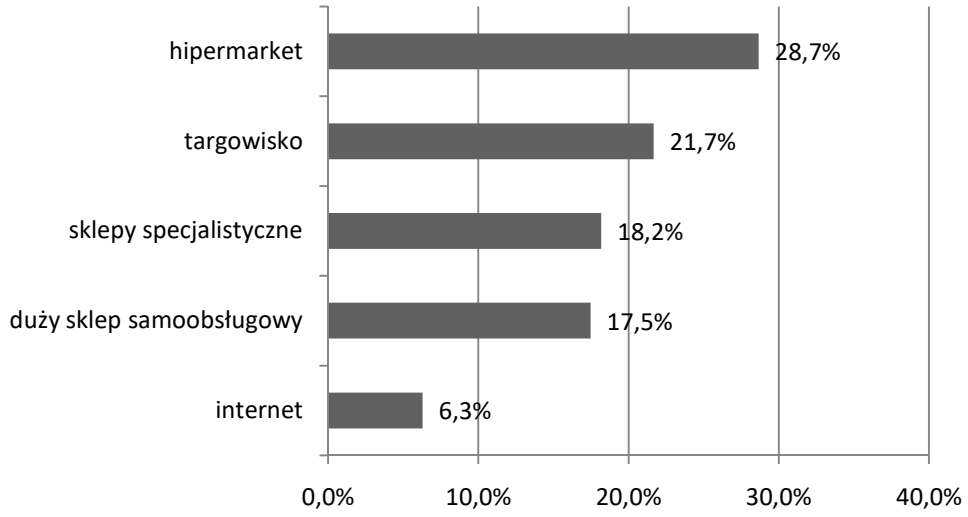
Wykres 2. Co decyduje o wyborze produktów ekologicznej. Źródło: Opracowanie własne na podstawie odpowiedzi ankietowanych

W kolejnym pytaniu ankietowani wskazali najczęściej kupowane przez siebie produkty. Największą popularnością cieszą się owoce oraz warzywa (33,1%). Może to świadczyć o ich łatwej dostępności. Następną grupą produktów, którą konsumenci wybierają najchętniej to nabiał (18,1%). Rzadziej wybierane artykuły to miód (15,6%), mięso (13,1%) oraz pieczywo (11,9%). Produkty, po które najmniej sięgają kupujący to produkty sypkie (1,9%), następnie zboża, jajka, herbaty, kawa żołędziowa (każde po 1,3%). Ponadto kaszę i masło orzechowe (0,6%). Natomiast 1,9% badanych osób nie kupuje produktów ekologicznych).



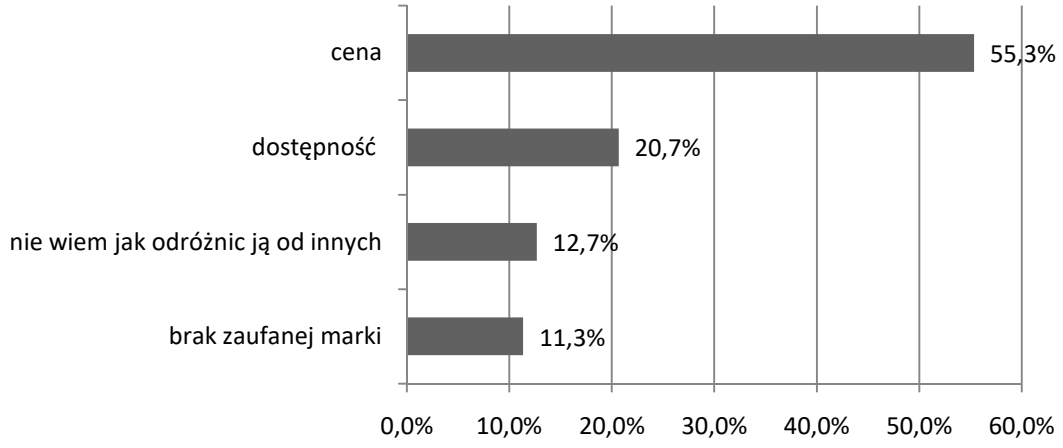
Wykres 3. Najczęściej spożywane produkty ekologiczne. Źródło: Opracowanie własne na podstawie odpowiedzi ankietowanych

Odbiorcy najczęściej kupują żywność ekologiczną w dużych dyskontach takich jak hipermarket (28,7%) lub dużych sklepach samoobsługowych .Konsumenci korzystają też z mniej popularnych sklepów specjalistycznych (18,2%) lub Internetu (6,3%). Badanie wykazało też konsumentów targowisk (sklepów niespecjalistycznych), jako miejsca zakupu żywności ekologicznej. Rolnicy ekologiczni nie pojawiają się w tych miejscach tak często i w takiej skali, która uzasadniałaby aż 21,7% wskazań.



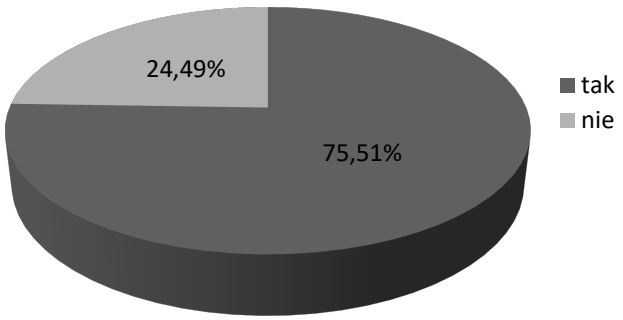
Wykres 4. Gdzie najczęściej kupuje Pan/Pani produkty ekologiczne? Źródło: Opracowanie własne na podstawie odpowiedzi ankietowanych

Główną zdeklarowaną barierą podczas zakupu eko-produktów jest cena (55,3%). Istotną rolę odrywa też dostępność (20,7%) produktów, która na obecną chwilę jest marna. Niepokojącym aspektem jest brak zaufania (11,3%) do marki sprzedającej ekologiczne produkty oraz nie umiejętność odróżnienia ich od innych produktów (12,7%).



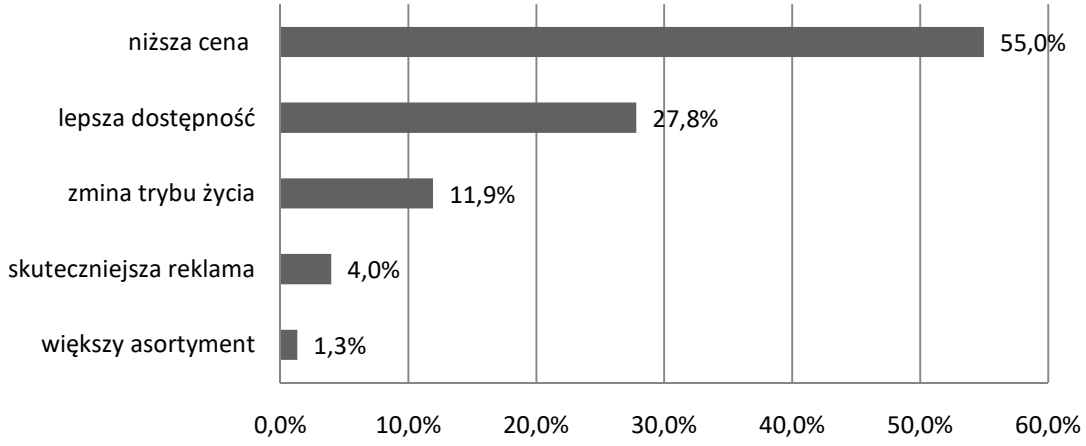
Wykres 5. Bariery zakupu żywności ekologicznej. Źródło: Opracowanie własne na podstawie odpowiedzi ankietowanych

Ankietowani w dużej ilości stwierdzili, że żywność ekologiczna posiada lepsze walory smakowe (74,51%) od tradycyjnej (24,49%). Producenci starają się dobierać swój asortyment pod konkretną gamę odbiorców dopasowując preferencje smakowe do swoich produktów. Jeżeli chodzi o smak, żywność ekologiczna radzi sobie świetnie w starciu z tą produkowaną konwencjonalnie, pomimo tego, że zgodnie z wytycznymi Unii Europejskiej bioproducenci mają do wyboru tylko 48 sztucznych barwników, wzmacniaczy smaku i zapachu, podczas gdy producenci tradycyjni mogą dodawać do swoich wyrobów 316 takich dodatków. Zdarzają się wprawdzie wypadki, tak jak cappuccino z ekologicznej kawy, że zbyt luźną konsystencją pianki czy organiczna margaryna, która źle się rozsmarowywała, ponieważ jej producent musiał zrezygnować z zaawansowanego technologicznie procesu utwardzania tłuszczu i zastąpił go olejem z tłuszczem palmowym lub kokosowym. Metoda sztuczna została, więc zastąpiona organiczną, ale tym samym margaryna straciła swoją główną zaletę, odróżniającą ją zresztą od masła, które można uzyskać całkowicie bez sztucznych dodatków.



Wykres 6. Czy żywność ekologiczna jest wg Pana/Pani smaczniejsza od tradycyjnej? Źródło: Opracowanie własne na podstawie odpowiedzi ankietowanych

Większość ankietowych sięgnęłaby chętniej po produkty ekologiczne, jeżeli cena uległaby zmianie (55%). Pokazuje to, że owe produkty są zdecydowanie za drogie. Jednak od 6 lat obserwujemy, że rośnie liczba dostawców, konkurencja. W związku z tym ceny zaczynają gwałtownie spadać i zrównywać się z cenami produktów tradycyjnych. Jest już wiele przykładów produktów, gdzie różnica w cenie jest niewielka, rzędu 10–20 procent. Kolejnym czynnikiem jest polepszenie dostępności produktów (27,8%). Dość nieoczekiwanym rezultatem okazuje się zmiana trybu życia (11,9%). Następne w kolejności to skuteczniejsza reklama (4%) i większy asortyment (1,3%). Można tutaj dostrzec małe zaangażowanie w rozwój produktów eko.



Wykres 7.Co powinno się zmienić, aby Pan/Pani częściej sięgał/a po produkty ekologiczne? Źródło: Opracowanie własne na podstawie odpowiedzi ankietowanych

5. Dyskusja i wnioski

Żywność ekologiczna możemy spotkać w punktach z ekologiczną lub zdrową żywnością. Jednakże coraz częściej artykuły ekologiczne można kupić w marketach. Bardzo popularną i wygodną metodą jest kupowanie żywności ekologicznej za pośrednictwem Internetu gdzie mamy dostęp do większej ilości produktów oraz okazyjnych cen.Warto po nie sięgać w trosce o swoje zdrowie – posiłki przygotowywane z produktów ekologicznych są pełnowartościowe, odżywcze i zdrowe.

Klienci powinni kupować świadomie – chodzi o to, aby nie kupować jedzenia na zasadzie wyboru ładniejszego opakowania.

Doskonałym rozwiązaniem byłobylepsze informowanie klientów oraz organizowanie kampanii namawiających do zdrowego trybu życia. Szczególnie intensywny rozwój oferty zdrowej żywności, w tym również żywności ekologicznej nastąpił w sieci Carrefour. W 2014 roku Carrefour wystartował z ogólnopolską kampanią „Z miłości do Zdrowia", której celami jest promocja zdrowego stylu życia, w tym odżywiania. Liczne sieci handlowe posiadają marki własne miedzy innymi Intermarche oraz Netto, które mają do dyspozycji liczny asortyment swoich produktów, ponadto regularnie ukazują broszury z promocjami swoich eko-produktów i poradami żywieniowymi.Cena jest jednym z podstawowych czynników warunkujących zakup. Świadomość Polaków zmienia się i coraz więcej z nich nie tylko interesuje się zdrowiem, ale też jest w stanie dopłacić do produktu lepszej jakości.

Żywność uprawiana przez ekologiczne gospodarstwa jest wielokrotnie zdrowsza i bogatsza w składniki odżywcze niż konwencjonalne. Udowodniono, że ziemniaki

ekologiczne posiadają większą zawartość witaminy C niż konwencjonalne. (Źródło http://www.poradnikzdrowie.pl/zywienie/co-jesz/zywnosc-ekologiczna-dlaczego-warto-ja-kupowac_42094.html). Z kolei z badań przeprowadzonych na tej samej odmianie jabłek, Golden Delicious, wynika, że ich ekologiczna kopia posiada m.in. aż 32 procent więcej fosforu, 19 procent więcej antyoksydantów i 9 procent więcej błonnika.

Producenci i dystrybutorzy żywności powinni zwrócić szczególną uwagę na rzetelną i wiarygodną komunikację, wspieraną przez liderów opinii publicznej. W przypadku polskich produktów, ale także tradycyjnych produktów z innych krajów, warto podkreślać też ich pochodzenie

Celem badania było przedstawienie preferencji konsumentów dotyczących spożycia produktów ekologicznych. Z przeprowadzonej przeze mnie ankiety wynika, iżtrendna eko-produkty ciągle wzrasta, jednak rynek ten jest w fazie rozwoju i wymaga bardzo dużo ulepszeń i poprawek. Konsumenci chętnie kupują ów produkty, lecz po drodze napotykają liczne utrudnienia w postaci trudnejdostępności bądź ceny, która w niektórych przypadkach jest kilkukrotnie większa od ceny powszechnychproduktów. W sklepach występuje też bardzo wąski asortyment, gdzie klienci nie mają za dużego wyboru produktów.

Podsumowując, rynek ekologiczny, pomimo wad, które posada jest bardzo ekologiczną produkcją i sprzyjającą środowisku. To jeden z jego największych atutów, dzięki któremu znalazł sobie liczne grono odbiorców przejawiających stosunek pro ekologiczny.

5. Literatura

Cupiał M. 2010: *Wykorzystanie źródeł informacji w gospodarstwach rolniczych Małopolski o różnym kierunku produkcji*, „Inżynieria Rolnicza", 4(122), s. 37-42.

Szeląg-Sikora A. 2011: *Uwarunkowania subwencjonowania rolniczej produkcji ekologicznej w okresie akcesyjnym 2007-2013*, „Inżynieria Rolnicza", 7(132), s. 163-169.

http://imas.pl/wp-content/uploads/2017/12/Zywnosc_ekologiczna_w_Polsce_2017_IMAS_International.pdf

http://www.ekogwarancja.pl/zywnosc_ekologiczna

http://www.gazetaprawna.pl/artykuly/708485,ekologiczna-zywnosc-klucz-do-zdrowia-czy-wielkie-oszustwo-za-ktore-slono-przeplacamy.html

http://www.poradnikzdrowie.pl/zywienie/co-jesz/zywnosc-ekologiczna-dlaczego-warto-ja-kupowac_42094.html

http://www.poradnikzdrowie.pl/zywienie/co-jesz/zywnosc-ekologiczna-dlaczego-warto-ja-kupowac_42094.html

https://ageconsearch.umn.edu/bitstream/233517/2/17-6-Szelag.pdf

https://biobazar.org.pl/czym-jest-zywnosc-ekologiczna/
https://biznes.newseria.pl/news/rynek-zdrowej-zywnosci,p1028405149
https://portal.abczdrowie.pl/produkty-ekologiczne
https://www.wiadomoscihandlowe.pl/artykuly/rynek-zywnosci-ekologicznej-w-polsce-w-2017-r,40373

Consumers' attitudes towards traditional food and cuisine. Literature and researches review

Gabriela Hanus [(1)]

[1] Uniwersytet Ekonomiczny w Katowicach,
Gabriela Hanus: gabriela.hanus@edu.uekat.pl

Summary
The aim of this article is to discuss the consumers' attitudes towards traditional food and cuisine based on secondary sources of information published over the period of 2000-2014. Article shows theoretical aspects of consumers' attitudes, as well as traditional food and cuisine, determinants of rising demand on this kind of food and researches conducted by chosen authors associated with consumers' attitudes towards traditional food and cuisine. A literature review methodology has been used and in particular the latest publications in peer-reviewed scientific journals has been reviewed. Across the studies covered by this paper it was found that consumers have generally positive attitudes to that kind of food. They especially appreciate its taste, freshness, natural origin and high quality. Many consumers note that the range of regional and traditional products is not sufficient and its price is too high which could be identified as potential barriers of developing this kind of market.

Key words: traditional food, traditional cuisine, consumer attitudes, the new trend on nutrition market

Postawy konsumentów wobec produktów tradycyjnych. Przegląd badań i literatury

Streszczenie
Niniejszy artykuł, o charakterze przeglądowym, ma na celu omówienie postaw konsumentów wobec produktów i kuchni tradycyjnej w oparciu o wtórne źródła informacji opublikowan eod 2000 do 2014 roku. Praca prezentuje teoretyczne aspekty postaw konsumentów oraz tradycyjnych produktów żywnościowych i kuchni, determinanty wzrostu popytu na ten rodzaj żywności oraz badania przeprowadzone przez wybranych autorów związane z postawami konsumentów wobec żywności i kuchni tradycyjnej. Analiza wykazała, że konsumenci są generalnie pozytywnie nastawieni względem tego rodzaju żywności. Doceniają przedewszystkim jej smak, świeżość, naturalne pochodzenie oraz wysoką jakość. Badania wykazały także, że w opinii respondentów podaż i zróżnicowanie produktów tradycyjnych są niewystarczające, a ich cena zbyt wysoka, co może stanowić potencjalne bariery rozwoju tego rynku.

Keywords: żywność tradycyjna, tradycyjnakuchnia, postawykonsumentów, nowe trendy narynkuartykułówżywnościowych

1. Introduction

Each country has its own specific agricultural products and cuisine that characterize the region and form part of the culinary tradition and culture of the population living there.

In recent years the development and changes in consumer' needs and preferences have been recognised. The growing interest in traditional and regional food is in line with new trends in consumer' behaviour in the food market.

Guerrero et. al. (2009) note that traditional food products and cuisine constitute a significant element of European identity, culture and heritage. In the European Union countries, the quality and standardization policy of products has been pursued for years, resulting from care for the consumers and protection of their interests. This also applies to food products manufactured out of large industrial plants and modern technologies. Within

this policy, one of the EU's priorities is to cultivate local traditions and customs, including protecting the original agricultural products and local food, characterized by their place of origin and the traditional method of production. The initiators of the creation of recipes protecting regional specialties were French. They led to the transposition into European level of French legislation, which was established at the beginning of the 20th century and initially concerned the protection of wines (Chudy, Gierałtowska, 2013).

It should be noted that companies which want to reach consumers' needs and preferences ought to recognise who traditional food and cuisine consumers are, how they behave, what the differences between them are, how they distinguish particular products from their conventional subscriptions, how much they devote to this food, whether they are willing to spend more when they know the origin or method of production ofsome goods.

2. Methods

The aim of this article is to discuss the consumers' attitudes towards traditional food and cuisine based on secondary sources of information published over the period of 2002-2017. Article shows theoretical aspects of consumers attitudes, as well as traditional food and cuisine, determinants of rising demand on this kind of food and researches conducted by chosen authors associated with consumers' attitudes towards traditional food and cuisine.

The study uses basic literature in the field of research selected for analysis, the main issues were national and foreign journals, reports of domestic and foreign research institutions, as well as publications of companies and organizations around the industry food. These items formed the basis for theoretical and empirical reasoning and made it possible to critically analyse the existing state of knowledge regarding consumer attitudes towards traditional food and cuisine.

3. Consumer's attitudes- theoretical background

The choice of food depends on many factors that have a different impact on consumers, leading them to choose one product and to give up others. All determinants are divided into two groups: objective and subjective. As part of subjective determinants, learning processes, needs and motivations, emotions, personality, attitudes and consumers' preferences are most often distinguished. According to economic definitions, these are individual predispositions to evaluate an object or a certain aspect of the world in a positive or negative way.

Consumers' attitudes are influenced by the environment in which their operates and their personal experiences resulting, for example, from direct contact with the product. Three elements that affect consumer behaviour should be distinguished. These are cognitive, emotional and action elements. The first one reflects the state of existing messages or

consumer belief about a product or service. The buyer, in order to accept the conscious attitude towards the product, must be aware of its existence and have knowledge about it. The cognitive element has an impact on the emotional element, which is strongly associated with feelings. This component determines the preferences of buyers, indicating the direction and importance of an emotional, positive or negative attitude towards a product or service, which to some extent depends on the consumer's knowledge and beliefs. The third component of attitudes is related to the formulation of the intention of buying a product, which is transformed into a specific action, e. g. a purchase (Żuchowski, Brelik, 2007).

Attitudes towards nutrition may refer to various aspects of nutrition and food. According to the three-component definition, attitudes towards food are complete attitudes, i.e. containing all components (cognitive, emotional and behavioural). The cognitive component is associate with nutrition and food, superstitions and beliefs. Researches on the relationship between knowledge and views and eating behaviours show positive relationships, however, with weak strength. It has been also shown that the consumption of functional food positively correlates with comprehensive knowledge about it. However, finding a high level of theoretical knowledge about nutrition does not always mean that it will be reflected in data related to the diet of the subjects. Factors such as financial constraints can be a significant barrier to the practical application of this knowledge. Therefore, it should be stated that knowledge about nutrition may not be a sufficient basis for the implementation of the principles of proper nutrition. In the nutritional sphere, it should be noted that the individual might simultaneously represent both positive and negative opinions about the subject (Jeżewska- Zychowicz, 2007).

4. Traditional food and cuisine. Literature review

Traditional food covers various categories of food products that are distinguished by attributes resulting from the specific characteristics of these products, place of origin and processing methods. According to the definition proposed by the European Commission, the term ‘traditional’ refers to food which is traded on the Community Market for at least a period indicating a transmission from generation to generation (at least 25 years). Such foodischaracterized by specific features that distinguish it from other similar products within the same category, in terms of the ‘traditional ingredients’from which they are produced, ‘traditional composition’ and ‘traditional production method or method of processing’ (Żakowska-Biemans, 2012).

M. Jeżewska-Zychowicz (2007) emphasizes that in sociological terms, traditional foodis considered as products often consumed in a specific community or associated with

celebration, which is passed down from generation to generation, prepared according to old recipes, with a small use of modern processing methods, outstanding and at the same time known for their sensory properties, but above all, related to the local, regional and national community.

S. Żakowska-Biemans (2012) points out that the perception of traditional food by consumers is significantly different from the one adopted in the legislative solutions of the European Union. The binding legal regulations concerning traditional and regional products are meant to distinguish products with special quality attributes that are the result of both the place of origin and the traditional recipe. Examples of traditional food may be 'oscypek', 'dumplings (pierogi)', 'żurek', 'bigos' or 'sękacz'.

In the European Union, the issues of products with geographical and traditional designations are regulated by Council Regulation (EC) No. 510/2006 of 20th March 2006 on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs, and Council Regulation (EC) No. 509/2006 of 20thMarch 2006 on agricultural products and foodstuffs being guaranteed as traditional specialties.Three European Union schemes of geographical indications and traditional specialties, which are known as protected designation of origin (PDO), protected geographical indication (PGI), and traditional specialties guaranteed (TSG) could be indicated (Borowska, 2008).

In the field of agri-food products, more than 1,200 products have been registered by September 2012, including more than: 200 cheeses, 250 kinds of fresh and processed meat, 100 types of oils and other fats, 30 beers and many fruits and vegetables grown in various regions. The Mediterranean countries cover: over 700 registered products from Spain, France, Greece, Italy and Portugal. Only Nordic countries have few registered products. An up-to-date list of traditional and regional products can be found on the following website: http://ec.europa.eu/agriculture/quality/door/list.html. Products can be listed according to countries, status (filled, published, registered) and symbol.

In Poland, the Ministry of Agriculture and Rural Development, the Polish Chamber of Regional and Local Product, Agricultural Advisory Centre try to promote traditional and regional products. On the website of the Ministry of Agriculture and Rural Development a list of Polish traditional products divided into regions and product groupscan be found. The list (currently with 1,089 products) aims to catalogue and popularize great products among consumers.

5. Consumers' attitudes towards traditional food and cuisine. Researches review

Among the motives that determine consumers to buy traditional products are their taste, freshness and natural origin. In addition, consumers appreciate their high quality and the fact that thanks to consumption of traditional food, they could take care of their own health and their family. It is indicated thatconsumers who know this kind of food from childhood more often buy it (Borkowska, 2008).IIbery and Kneafsey (2000) note that among determinates of rising demand on traditional food and cuisine are also the development of niche markets based on local speciality food and drink products, produced in rural area, supported by agricultural policy and its reforms, the trends of more careful consumption by putting emphasis on healthy eating and food quality as well as the fashion and style of living (more and more often eating choices and manners are indicators of socio-cultural status).

Żakowska and Kuc (2009) conducted research to find the factors determining consumers behaviour on the market of traditional food[1]. It has been shown that 78% of the surveyed consumers buy traditional and regional food. The vast majority of respondents identify traditional and regional food with attributes such as 'healthy', 'less processed' and 'tasty'. It allows to state that traditional food is perceived positively and its taste attributes are the most important. What is more, respondents admit that they like to try dishes typical for a specfic region, because they like the taste and smell of these products. To a lesser extent, the choice of this type of food is made for nutritional values and the conviction of its positive impact on health. The respondents who do not buy traditional food as the main reason indicate a problem with its availability (62%) and high price (41%). Among other factors influencing purchase decision the lack of knowledge about this type of products, places of sale and lack of ability to distinguish traditional food from other food products should be indicated.

Borowska (2008) conducted research among Polish consumers, which has shown that over half (52%) of respondents indicate that they know Polish traditional food products. The knowledge of these products is demonstrated by more women (57%) than men, middle-aged people (40-59), better educated (as much as 67% higher education). They the most frequently declare knowledge of 'oscypek' (44% of all indications), 'bigos' (21%), 'dumplings (pierogi)'(10%), 'slivovitz (śliwowica)', bread, 'sękacz', 'Silesian noodles', 'żurek' and'bryndzapodhalańska'. It should be noted that the concepts of traditional products are usually identified by consumers intuitively, without knowledge of its detailed composition and specification, suggesting, for example, with the terms 'according to traditional recipe',

[1]The research was conductedusing the direct interview method and the interview questionnaire, on a population of 150 residents of Warsaw and the surroundingarea in June and July 2007

'familiar' or 'homemade'. Among those declaring knowledge of traditional products, 60% clime that they buy them. They most often choose ham, bread, meat, cottage cheese, fruit, fish products, and the least often prepared meals and dishes.

Chudy and Gierałtowska (2013) conducted researches between students from Szczecin, who were 21-24 years old, lived mainly in big cities (more that 50 thousand people), defined their financialcondition as very good (3%), good (40%), sufficient (54%) and bad (3%). Researches show that the majority of respondents know that kind of food (83%), however one-third of this group cannot determine on what basis. The knowledge of European designations of traditional food turn out to be negligible. About 7% of respondents declare buying traditional and regional food, and 32% do not buy but are willing to buy. Half of the respondents do not pay attention during shopping whether they choose regional food or not. According to Surdel and al. (2009) all respondents under 20 years of age and 95% of respondents between 20 and 40 years of age notice that traditional products are not properly displayed on store shelves and that is why they are badly visible. Moreover, many consumers note that the range of traditional products is not sufficient. If the respondents bought it, they would be the most interested in the traditional: bread (25%), dairy products, meats, honey and alcohol (14% each). Lower demand would be characterized by: fruit and vegetable products (10%), ready meals and drinks (4% each) as well as fish products (1%). More than half of students are not willing to pay a higher price for regional and traditional food.

Cerjak et al. (2014) conducted researches among 28 Autrian and 31 Croatian respondents, using face-to-face interviews methods. The aim of research was to explore the difference between consumers motives regarding to buying of traditional food.Results have shown that consumers perceive traditional food as connected with heritage (food of generation) and elaboration (traditional recipes). Both samples reflect positive meaning of traditional food. The Austrian as well as the Croatian respondents see health and economic (as the support for local farmers) value of this kind of food. Moreover, the Austrian see link between traditional food and environmentally friendly production. While for the Croatian traditional food has sentimental meaning, because they treat it like connector with their childhood memories.

6. Conclusions and implications

Across the studies covered by this paper it was found that consumers have generally positive attitudes to that kind of food. They especially appreciate its taste, freshness, natural origin and high quality. Many consumers note that the range of regional and traditional

products is not sufficient and their price is too high which could be identified as a potential barriers of buying it.

It is also indicated that generally consumers identify concept of traditional food intuitively, suggesting by terms like ‘according to traditional recipe’, which are put on products in form of advertising. They do not verify that information. It is noted that buying traditional food and cuisine is more popular among older consumers.

Further development of demand for traditional food and cuisinerequires adjusting the offer of this category of food to the new trends in consumer behaviour on the food market by for example creating innovation associated with health values, which are an important attribute of this category of food. The research conducted among consumers from selected European countries shows that one of the most accepted innovations associated with traditional food concerns is the reduction of fat, sugar or salt in it (Żakowska and Kuc, 2009). However, the new innovations, could not infringe the authenticity of traditional food, which determines its essence of this (Guerrero et. al., 2009).

It could be noted that also advertising could have very important role in creating higher demand and knowledge about traditional food and cuisine. It is worth to notice that traditional food and cuisine could be used as an important element of Destination Marketing contributing to the authenticity of the destination, improving sustainability in tourism, strengthening the local economy and ensuring the infrastructure, which is environmentally friendly (Gerrie et al., 2008; Sims, 2009). These topics may be the subject of further researches.

7. References

Borowska A., 2008. Attitudes of EuropeanConsumers to Traditional and Regional Products. *ZeszytyNaukowe SGGW. EkonomiaiOrganizacjaGospodarkiŻywieniowej*, *72*: 145-159.

Cerjak, M., Haas, R., Brunner, F., Tomic, M., 2014. What motivates consumers to buy traditional food products? evidence from croatia and austria using word association and laddering interviews. British Food Journal, 116(11): 1726-1747.

Chudy S., Gieraltowska U., 2013. Traditional and regional products form the perspective of szczecin universitystudents. *Journal of Agribusiness and Rural Development*, (01 [27]): 45-52

Guerrero L., Guàrdia M. D., Xicola J., Verbeke W., Vanhonacker F., Zakowska-Biemans S., Scalvedi M. L. ,(2009). Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional food. A qualitative cross-cultural study. *Appetite*, *52*(2): 345-354

Ilbery B., Kneafsey M., 2000. Registering regional speciality food and drink products in the United Kingdom: the case of PDOs and PGls. *Area*, *32*(3): 317-325

Jeżewska- Zychowicz M., 2007. Nutrition behaviour and its determinants, Warszawa 2007:160-170

Rand, G. E. D., Heath, E., Alberts, N., 2003. The role of local and regional food in destination marketing: A South African situation analysis. *Journal of Travel & Tourism Marketing*, *14*(3-4): 97-112

Sims R., (2009). Food, place and authenticity: local food and the sustainable tourism experience. *Journal of sustainable tourism*, *17*(3): 321-336

Surdel M., Sobczyk A., Kogut B., 2009. Traditional and Regional Products form the Perspective ofconsuments from Podkarpackieprovince. ZeszytyNaukowePołudniowo-Wschodniego Oddziału Polskiego Towarzystwa Inżynierii Ekologicznej z siedzibą w Rzeszowie i Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego, Oddział w Rzeszowie 11: 235-258

Żakowska-Biemans S., 2012. Traditional food from the consumers' vantage point. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 3(82): 6-7.

Żuchowski I., Brelik A.,2007. Selected issues of consumer behaviour theory, ZeszytynaukoweOstrołęckiegoTowarzystwaNaukowego 21: 207-231

http://www.minrol.gov.pl

http://www.produkty-tradycyjne.pl/europejskie-produkty-zarejestrowane-w-ue

https://ec.europa.eu/agriculture/quality_en

Wybrane czynniki genetyczne związane z ryzykiem występowania poronień u kobiet rasy kaukaskiej

Aleksadnrd Jęckowska [(1)], Robert Budawski [(1)], Grażyna Adler [(2)]

[1] Studenckie Koło Naukowe przy Samodzielnej Pracowni Antropogenetyki i Gerontobiologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
[2] Samodzielna Pracownia Antropogenetyki i Gerontobiologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
Aleksandra Jęckowska: ajeckowska@gmail.com

Streszczenie
Ciąża jest stanem fizjologicznym, w którym występuje nadkrzepliwość i zakrzepica z jednej i zmniejszona fibrynoliza z drugiej strony. Szacuje się, że częstość występowania poronień wynosi około 15% wszystkich rozpoznanych klinicznie ciąż, przy czym etiologia około 50% z nich pozostaje niewyjaśniona. W udanym przebiegu ciąży, wśród wielu czynników genetycznych, czynniki zapewniające hemostazę odgrywają ważną rolę. Od dłuższego czasu uwagę badaczy zwracają warianty genów związanych z występowaniem trombofilii: 20210G>A genu *FII* oraz 1691G>A i 4070A>G genu *FV*, ponadto polimorfizm 677C>T genu *MTHFR*. Za cel pracy obrano ocenę znaczenia wybranych mutacji/polimorfizmów: *FII*, *FV*, *MTHFR* w etiologii poronień samoistnych, na podstawie dostępnej literatury. Przeanalizowane wyniki badań są niejednoznaczne, co sugeruje złożoność etiopatogenezy poronień. Aby wyciągnąć rzetelne wnioski, należy prowadzić badania w grupach kobiet o większej liczebności i uwzględnić ten sam panel wariantów do porównań.

Słowa kluczowe: poronienie samoistne, czynniki genetyczne, trombofilia

Selected genetic factors linked to the risk of pregnancy loss in Caucasian women

Summary
Pregnancy is a physiological condition in which there occurs hypercoagulability and thrombosis as well as reduced fibrinolysis. The estimate of miscarriages is around 15% of all clinical pregnancies, about 50% of cases remain unexplained. Maintenance of hemostasis plays an important role in successful pregnancy. There is a lot of studies conducted to investigate the association of specific gene variants in thrombophilia: 20210G>A gene *FII* and 1691G> A, 4070A>G gene *FV* and polymorphism 677C>T gene *MTHFR*. The aim of the study was to evaluate the significance of mutations/polymorphisms: *FII*, *FV*, and *MTHFR* in the etiology of spontaneous abortions based on available literature. The results are contraditonary, that suggests the complex etiology of miscarriages. To achieve satisfactory conclusion, studies should be performed in larger groups of women and consider the same panel of variants when testing.

Keywords: spontaneous miscarriage, genetic factors, thrombophilia

1. Wstęp

Szacuje się, że ok. 15% ciąż kończy się samoistnym poronieniem, ok. 25% kobiet doświadcza, co najmniej jednego poronienia, (Bęborowicz i in. 2015), 5% dwóch (Lissalde-Lavigne i in. 2005), a ok. 2% poronień nawracających. (Stirrat i in. 1990) Przypuszcza się, że rzeczywisty odsetek niepowodzeń we wczesnym okresie ciąży może być 2-4 razy wyższy od opisywanego, ponieważ większość poronień przebiega subklinicznie, w czasie, gdy ciąża nie została udokumentowana w badaniu USG. (www.obgyn.net)

Według Amerykańskiego Towarzystwa Medycyny Rozrodu (ang. *American Society of Reproductive Medicine*, ASRM), poronienie samoistne (spontaniczne, sporadyczne) to utrata zarodka/płodu przed 20. tyg. ciąży lub gdy waga płodu nie przekracza 500 g, a dł. jest

mniejsza niż 25 cm, poronienie nawracające ma miejsce gdy występują dwa lub więcej poronień o niewyjaśnionej etiologii. (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2008)

Wyniki badań opublikowanych w ostatniej dekadzie, sugerują istotną rolę czynników genetycznych w etiologii poronień samoistnych. (Jaslow i in.2010; Goddijn i in.2000)
Rozwój technik biologii molekularnej i wysokosprawnych urządzeń do badania genomu umożliwiły poszukiwanie związku między pojedynczymi SNP-ami (ang. *single nucleotide polymorphisms*) lub ich kombinacją, a występowaniem np. poronień samoistnych. Powikłania położnicze powstające w wyniku nadmiernej aktywności prozakrzepowej takie jak: poronienia, stan przedrzucawkowy, przedwczesne odklejenie łożyska, czy obumarcie wewnątrzmaciczne płodu przyczyniają się do zwiększonej śmiertelności matki i/lub płodu. (Gibson i in. 2006) Stwierdzenie poronień nawracających sugeruje zatem rozpoczęcie diagnostyki w kierunku trombofilii. Wśród genetycznych czynników ryzyka trombofilii, udział w etiopatogenezie poronień mogą odgrywać mutacje: 20210G>A genu *FII* (ang. *coagulation factor II*), 1691G>A (znana również jako mutacja Leiden) i 4070A>G (znana również jako HR2, H1299R) genu *FV* (ang. *coagulation factor V*) oraz polimorfizmy: 677C>T genu *MTHFR* (ang. *methylenetetrahydrofolate reductase*).

Mimo wielu badań, związek wybranych wariantów z poronieniami nie został w pełni wyjaśniony. Istnieją również publikacje, wskazujące na możliwość wpływu wariantów genów niezwiązanych z układem krzepnięcia na występowanie poronień samoistnych. (Vaiman i in. 2015; Bombell i in. 2008) Za cel pracy obrano ocenę znaczenia wybranych SNP-ów, genów kodujących czynniki II, V oraz MTHFR w etiologii poronień, na podstawie dostępnej literatury.

2. Opis zagadnienia

- Mutacja 20210G>A genu *FII*

Mutacja 20210G>A genu *FII* polega na tranzycji guaniny na adeninę w pozycji 20210 w niepodlegającym transkrypcji regionie 3'. Nosicielstwo allela 20210A wiąże się z 150-200% wyższym stężeniem protrombiny krążącej w osoczu krwi co powoduje 2- 4 razy wyższe ryzyko wystąpienia incydentów zatorowo-zakrzepowych (Lockwood i in. 2002) .
Częstość rozpowszechnienia allela 20210A w populacji kaukaskiej waha się od 1,7 do 3%. (Seremak-Mrozikiewicz 2008)
Brenner i in. opublikowali wyniki badań 76 kobiet i stwierdzili, że allel 20210A występował istotnie częściej w grupie kobiet z poronieniami (8%), w porównaniu do kobiet bez poronień (1%). (Brenner i in. 1999) Badania przeprowadzone w 2000 i 2003r. przez Rey

i in. i Martinelli i in., wskazały na 2-3-krotnie wyższe ryzyko poronień u nosicielek allela 20210A (Rey i in. 2003; Martinelli i in. 2000), także Reznikoff-Etievant i in. badając grupę 260 kobiet z nawracającymi przed 10. tygodniem poronieniami, potwierdzili związek tego allela z występowaniem wczesnych poronień, częstość allela 20210A w grupie kobiet z poronieniami i bez wynosiła odpowiednio, 7,6% i 2,9%. (Reznikoff-Etievant i in. 2001) W roku 2012, Skrzypczak i in. przedstawili wyniki badań 396 polskich kobiet z poronieniami o niewyjaśnionej etiologii. Najwyższa częstość allela 20210A była u kobiet z wczesnymi i późnymi (2,6%), a najniższa z nawracającymi poronieniami (0,8%). (Skrzypczak i in. 2012) W odróżnieniu do poprzednich badaczy, Carp i wsp. nie potwierdzili statystycznie istotnego związku allela 20210A z nawracającymi poronieniami wśród 108 izraelskich kobiet, gdzie częstość allela w grupie kobiet z poronieniami i bez wynosiła, odpowiednio 4,6 i 6,1%. (Carp i in. 2002) Mahmutbegovic i in., badając związek allela 20210A z poronieniami w grupie 154 bośniackich kobiet również nie potwierdzili jego wpływu na występowanie tego powikłania ciąży. (Mahmutbegovic i in. 2017)

Z jednej strony badacze sugerują, że u nosicielek allela 20210A, ryzyko wczesnego poronienia wzrasta, co najmniej 2-krotnie (Barlik 2014) lub 3-krotnie w przypadku poronień późnych (Brenner i in., 2010), jednak inni badacze tej zależności nie potwierdzają. (Carp i in., 2002; Mahmutbegović i in. 2017)

Do chwili obecnej zidentyfikowano kilka SNP-ów genu *FII*: 20209C>T, 20221C>T, 19911A>G. (Alvarez et al., 2014; Barlik et al., 2013) Jak dotąd ich wpływ na rozwój powikłań ciąży jest słabo zbadany.

- Mutacje 1691G>A i 4070A>G genu *FV*

W wyniku mutacji 1691G>A polegającej na tranzycji guaniny w adeninę w pozycji 1691 w eksonie 10., genu czynnika V dochodzi do substytucji argininy glutaminą w pozycji 506 (Arg506Glu) i oporności na aktywowany peptyd C. Mutacja ta występuje głównie w populacji kaukaskiej, a częstość jej występowania waha się od 3 do 15%. (Kujovich 2011)

Wyniki badań Meinardi i in., w grupie 228 kobiet z mutacją 1691G>A *FV* i 121 bez mutacji, potwierdziły statystycznie istotny związek tej mutacji poronieniami. (Meinardi i in. 1999) Także, Younis i in., badając związek allela 1691A w grupie 78 kobiet z Izraela z dwoma i więcej niewyjaśnionymi wczesnymi poronieniami, potwierdzili istotny związek między nosicielstwem zmutowanego allela i poronieniami, allel zbadano u 38% i 19% kobiet, odpowiednio z poronieniami i bez. (Younis i in. 2000) Wramsby i in., badając 84 szwedzkie

kobiety, z co najmniej trzema wczesnymi poronieniami, także potwierdzili ich związek z obecnością allela A (Wramsby i in., 2000)

Wiele badań potwierdza znaczenie mutacji 1691G>A genu czynnika V w etiopatologii poronień. (Jivraj i in. 2009; Robertson i in. 2006) Szacuje się, że ryzyko wystąpienia poronień jest od 2 do 5 razy wyższe u nosicielek mutacji genu *FV*, niż wśród kobiet bez mutacji. (Kujovich 2011) Ponadto sugeruje się, że homozygoty 1691A posiadają wyższe ryzyko wystąpienia poronień, w porównaniu do heterozygot GA (Kujovich, 2011). Rai i in. analizowali wskaźnik żywych urodzeń w grupie kobiet z poronieniami nawracającymi i stwierdzili, że wśród nosicielek allela 1691A wskaźnik żywych urodzeń był niższy (38%) w porównaniu do kobiet bez mutacji (69%) (Rai i in. 2001). Związek mutacji 1691G>A genu *FV* z występowaniem poronień w drugim trymestrze ciąży potwierdzają także wyniki metaanalizy Robertson i in. (Robertson i in. 2006)

Z drugiej strony, Rodger i in. w przeprowadzonej metaanalizie nie znaleźli związku między nosicielstwem allela 1691A i poronieniami (Rodger i in. 2010).

Dane literaturowe sugerują, że występowanie w eksonie 13. genu czynnika V tranzycji adeniny w guaninę w pozycji 4070 (4070A>G), która powoduje substytucją histydyny (allel R1), argininą (allel R2) w pozycji 1299 (His1299Arg) łańcucha białkowego w obrębie domeny B może prowadzić do występowania łagodnej oporności na aktywowane białko C i/lub powikłań w ciąży. (Lunghi i in. 1996) W osoczu homozygot R2R2 (4070G) obserwuje się podwyższone stężenie izoformy V1 czynnika V o właściwościach prozakrzepowych w stosunku do izoformy V2. (Castoldi i in. 2000)

Częstość rozpowszechnienia mutacji 4070A>G w populacji ogólnej waha się od 8 do 12%. (Faioni i in. 2004)

Do chwili obecnej istnieje niewiele publikacji dotyczących związku wariantów 4070A>G genu *FV* z ryzkiem występowania poronień. W niedawnej publikacji, Mahmutbegovic i in., nie potwierdzili istotnej zależności między nosicielstwem tego allela i poronieniami wśród bośniackich kobiet. (Mahmutbegovic i in. 2017)

- Polimorfizm 677C>T genu *MTHFR*

Polimorfizm 677C>T genu *MTHFR* polega na tranzycji cytozyny w tyminę w pozycji 677, zmiana ta skutkuje wbudowaniem waliny w kodonie 222 w miejsce alaniny (Ala222Val), co prowadzi do rearanżacji łańcucha proteinowego. (Frosst i in. 1995) Obecność allela T wiąże się z powstaniem termolabilnego wariantu białka MTHFR i znacznie obniżoną aktywnością enzymatyczną. Najniższą aktywność MTHFR stwierdza się u homozygot TT, pośrednią u nosicieli allela T i najwyższą u homozygot CC (Seremak-Mrozikiewicz i in.,

2013), co wiąże się m.in. ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zmian zakrzepowych (Wald i in. 2002).

Szacuje się, że częstość występowania heterozygot w populacji kaukaskiej waha się od 32 do 55%, zaś homozygot od 8 do13%. (Seremak-Mrozikiewicz, 2008) Metaanaliza przeprowadzona przez Nelen i in. w grupie kobiet z Holandii, Francji, UK, Włoch, USA i Izraela, z co najmniej dwoma poronieniami, potwierdziła związek między występowaniem homozygot 677T i ryzykiem poronień (Nelen i in. 2000). Wyniki badań Pasińskiej i in., wśród 116 kobiet rasy kaukaskiej również potwierdziły istotne różnice w częstości występowania allela 677T w grupie kobiet z poronieniami w porównaniu do kobiet bez poronień (Pasińska i in., 2012).

Z drugiej strony, wyniki wielu badań, nie potwierdziły związku między polimorfizmem 677C>T genu *MTHFR*, a utratą ciąży. Należą do nich badania: Hubacek i in., gdzie przebadano 464 kobiet z poronieniami samoistnymi i 2486 kobiet bez poronień, częstość allela 677T wynosiła odpowiednio: 32,1% i 34,6% (Hubacek i in. 2015). Brak związku polimorfizmu 677C>T genu *MTHFR* stwierdzono również w populacji angielskiej, bośniackiej, greckiej, irlandzkiej i niemieckiej (Holmes i in. 1999; Sotiriadis i in. 2007; Murphy i in. 2000; Pihusch i in. 2001; Mahmutbegovic i in. 2017). Także, Krabbendam i in. w metaanalizie przeprowadzonej w 2005 r. nie potwierdzili związku polimorfizmu 677C>T genu *MTHFR* z poronieniami nawracającymi (Krabbendam 2005).

3. Podsumowanie i wnioski

Przeanalizowane wyniki są niejednoznaczne, co sugeruje złożoność etiopatogenezy poronień. Istnieje niewiele prac, w których badanych jest kilka wariantów genów, przy czym grupy te są stosunkowo nieliczne. Otrzymane wyniki sugerują przeprowadzenie badań w grupach o większej liczebności kobiet i diagnostykę tego samego panela wariantów do porównań, co może dać wymierne korzyści w diagnostyce i terapii poronień.

4. Literatura

Alvarez S., Ollero E., Llinares Sanjuan F., Martínez F., Calvo Martín M., 2014. A deep vein thrombosis caused by 20209C>T mutation in homozygosis of the prothrombin gene in a Caucasian patient. Biochemia Medica, 24(1):159-66.

Barlik M., 2014. Ocena związku polimorfizmów genu czynnika VII krzepnięcia oraz genu tkankowego inhibitora aktywatora plazminogenu z poronieniami nawracającymi, 24-25.

Barlik M., Seremak-Mrozikiewicz A., Kraśnik W., Drews K., 2013. Polimorfizmy 20210G>A i 19911A>G genu protrombiny a występowanie poronień nawracających. Ginekol. Pol., 84:830-4.

Bombell S., McGuire W., 2008. Cytokine polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: meta-analysis. Aust N Z J Obstet Gynaecol.;48:147–54.

Brenner B., 2010. Hypercoagulability and recurrent miscarriages. Clin Adv Hematol Oncol., 8:467-469.

Brenner B., Sarig G., Weiner Z. i in.,1999. Thrombophilic polymorphisms are common in women with fetal loss without apparent cause. Thromb Haemost., 82:6-9.

Carp H., Salomon O., Seidman D., i in., 2002. Prevalence of genetic markers for thrombophilia in recurrent pregnancy loss. Hum Reprod., 17: 1633-1637.

Castoldi E., Rosing J., Girelli D., Hoekema L., Lunghi B., Mingozzi F. i in., 2000. Mutations in the R2 FV gene affect the ratio between the two FV isoforms in plasma. Thromb Haemost., 83:362–365.

Faioni EM., Castaman G., Asti D., Lussana F., Rodeghiero F., 2004. Association of factor V deficiency with factor V HR2. Haematologica., 89:195–200.

Frosst P., Blom H., Milos R. i in., 1995. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet., 10:111–113.

Gibson CS., MacLennan AH., Janssen NG. et al., 2006. Associations between fetal inherited thrombophilia and adverse pregnancy outcomes. Am J Obstet Gynecol, 194:947.e1–10.

Goddijn M., Leschot N., 2000. Genetic aspects of miscarriage. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2000;14:855–65.

Holmes Z. ., Regan L., Chilcott I., Cohen H., 1999. The C677T MTHFR gene mutation is not predictive of risk for recurrent fetal loss. Br J Haematol., 105:98 – 101.

Hubacek J., Rynekrova J., Kasparova D., Adamkova V., Holmes M.V., Fait T., 2015, Association of MTHFR genetic variants C677T and A1298C on predisposition to spontaneous abortion in Slavonic population. Clin Chim Acta., 440:104–107.

Jaslow C., Carney J., Kutteh W., 2010. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. Fertil Steril., 93:1234–43.

Jivraj S., Makris M., Saravelos S., Li TC., 2006. Pregnancy outcome in woman with factor V Leiden and recurrent miscarriage. BJOG. 2009;116:995 – 8; Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, et al. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. Br J Haematol., 132:171–196.

Krabbendam I., Franx A., Bots M.L. i in., 2005. Thrombophilias and reccurent pregnancy loss: a critical appriasal oft he literature. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 118:145-153.

Kujovich J., 2011. Thrombophilia and pregnancy complications. Am. J. Obstet. Gynecol., 191: 412-424.

Lissalde-Lavigne G., Cochery-Nouvellon E., Mercier E., [i in.], 2005. The association between hereditary thrombophilias and pregnancy loss. Hematologica., 90:1223-1230.

Lockwood C., 2002. Inherited thrombophilias in pregnant patients: detection and treatment paradigm. Obset. Gynecol., 99:331-341.

Lunghi B., Iacoviello L., Gemmati D., Dilasio MG., Castoldi E., Pinotti M. i in., 1996. Detection of new polymorphic markers in the factor V gene: association with factor V levels in plasma. Thromb Haemost., 75:45–8.

Mahmutbegovic E., Adler G., Edin M., Mahmutbegovic N., Serkan D., Pawińska-Matecka A., Czerska E., Damir M., 2017. Polymorphisms of 1691G>A and 4070A>G FV in Bosnian women with pregnancy loss. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017 435 A. Badnjevic (ed.), CMBEBIH. IFMBE Proceedings, 62:435-439.

Mahmutbegović E., Marjanović D., Medjedović E., Mahmutbegović N., Dogan S., Valjevac A., Czerska E., Pawińska-Matecka A., Madlani A., Adler G., 2017. Prevalence of F5 1691G>A, F2 20210G>A, and MTHFR 677C>T polymorphisms in Bosnian women with pregnancy loss. Bosn J Basic Med Sci., 2017(4):309-314.

Martinelli I., Taioli E., Cetin I., Marinoni A., Gerosa S., Villa MV., Bozzo M., Mannucci PM., 2000. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. N Engl J Med., 343(14):1015-8.

Meinardi J., Middeldorp S., de Kam P. i in., 1999. Increased risk for fetal loss in carriers of the factor V Leiden mutation. Ann Intern Med., 130:736-739.

Murphy R.P., Donoghue C., Nallen R.J., D'Mello M., Regan C., Whitehead A.S. i in., 2000, Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy. Arterioscler Thromb Vasc Biol., 20:266–270.

Nelen W.L., Blom H.J., Steegers E.A., den Heijer M., Eskes T.K., 2000. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. Fertil Steril., 74:1196–1199.

Pasińska M., Soszyńska K., Runge A., Dąbrowska A., Juraszek A., Janiszewska T., Olga H., 2012. Badania molekularne w kierunku trombofilii u pacjentek skierowanych do poradni genetycznej z powodu niepowodzeń ciążowych. Doświadczenia jednego ośrodka, Ginekol Pol., 83:78-182.

Pihusch R., Buchholz T., Lohse P., Rübsamen H., Rogenhofer N., Hasbargen U., i in., 2001. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. Am J Reprod Immunol., 46:124–131.

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2008. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. Fertil Steril, 89(6):1603.

Rai R., Shlebak A., Cohen H., Backos M., Holmes Z., Marriott K. i in., 2001. Factor V Leiden and acquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage. Hum Reprod., 16:961–965.

Rey E., Kahn S., David M., Shrier I., 2003. Thrombophilic disorders and fetal loss: a metaanalysis. Lancet, 361:901-908.

Reznikoff-Etievant MF., Cayol V., Carbonne B., Robert A., Coulet F., Milliez J., 2001. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage. BJOG, 108(12):1251–1254.

Robertson L., Wu O., Langhorne P., Twaddle S., Clark P., Lowe GD. i in., 2006. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. Br J Haematol., 132:171–196.

Rodger M., Betancourt M., Clark P., Lindqvist P., Dizon-Townson D., Said J. i in., 2010. The association of factor V leiden and prothrombin gene mutation and placenta-mediated pregnancy complications: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. PLoS Med., 7(6):e1000292.

Seremak–Mrozikiewicz A., Drews K., Puacz P., Kaluba-Skotarczak A., 2008. Trombofilia dziedziczna u kobiet z poronieniami nawracającymi oraz utratami ciąży w wywiadzie – doświadczenia własne. Ginekol. Pol., 79:630-634.

Skrzypczak J., Rajewski M., Wirstlein P., Goździewicz T., Bręborowicz G., Leszczyńska-Gorzelak B., Ludwikowski G., Preis K., Wołczyński S., Zimmer M., 2012. Częstość występowania trombofilii wrodzonej u kobiet z utratą ciąż w wieloośrodkowych badaniach w Polsce, Ginekol. Pol., 83:330-336.

Sotiriadis A., Vartholomatos G., Pavlou M., Kolaitis N., Dova L., Stefos T. i in., 2007. Combined thrombophilic mutations in women with unexplained recurrent miscarriage. Am J Reprod Immunol., 57:133–41.

Stirrat G., 1990. Recurrent miscarriage: definition and epidemiology. Lancet, 336:641-698.

Vaiman D., 2015. Genetic regulation of recurrent spontaneous abortion in humans. Biomed J.;38:11–24.

Wald D.S., Law M., Morris J.K., 2002. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on casuality from meta-analysis. BMJ., 325:1202.

www.obgyn.net/pregnancy-and-birth/miscarriage: dostęp 24.01.2018.

Younis J., Brenner B., Ohel G., Tal J., Lanir N., Ben-Ami M., 2000. Activated protein C resistance and factor V Leiden mutation can be associated with first-as well as second trimester recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol., 43:31-35.

Badanie preferencji konsumenckich dotyczących spożycia mleka ekologicznego

Angelika Kaczorowska [(1)]

[1] SKN Qualitas, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu
Angelika Kaczorowska: kaczorowska281997@gmail.com

Streszczenie
W obecnych czasach mleko ekologiczne coraz bardziej zyskuje na popularności. Z praktycznego punktu widzenia ekologiczna uprawa niesie za sobą bardzo duże korzyści m.in. powoduje ograniczenie lub całkowitąrezygnację z chemizacji, którama pozytywny wpływ na kondycje i żyzność gleb. Niewątpliwie najbardziej powszechnym i najpopularniejszym pokarmem dla nowonarodzonego organizmu jest mleko. Ze względu na swoje zalety prozdrowotne dzieci od najmłodszych lat są karmione tym produktem. Stanowi główne źródło łatwo przyswajalnego dla organizmu wapnia i fosforu oraz wielu innych cennych witamin i białek. Sprawdzenie preferencji konsumenckich dotyczących spożycia mleka ekologicznego stanowiło główny cel badania. Przeprowadzono internetową ankietę, w której respondenci odpowiadali na pytania dotyczące tego typu produktu.Wyniki kwestionariuszowe przedstawiają, że jedynie 2% konsumentów wybiera codziennie mleko ekologiczne, a reszta preferuje produkty oparte na konwencjonalnej uprawie i wciąż niechętnie decyduje się na zakup mleka pochodzącegoz certyfikowanych gospodarstw. Według ankietowanych głównymi przeszkodami nabycia są: wygórowana cena produktu orazjego słaba dostępność w asortymencie sklepu.

Słowa kluczowe: mleko ekologiczne, konsumpcja, certyfikowane gospodarstwa ekologiczne

Consumers preferencesresearch regarding the consumption of the organic milk

Summary
Nowadays organic milk is increasingly gaining popularity. From a practical point of view, organic farming brings great benefits, including causes a reduction or total abandonment of chemizations which has a positive effect on the condition and fertility of soils. Undoubtedly, milk is the most common and the most popular food for the newborn organism. Due to their pro-health benefits, children are fed with this product from an early age. It is the main source of easily absorbed calcium and phosphorus for the body and many other valuable vitamins and proteins. Checking consumer preferences regarding the consumption of organic milk was the main goal of the study. An online survey was conducted in which respondents answered questions about this type of product. The questionnaire results show that only 2% of consumers choose organic milk every day and the rest prefer products based on conventional cultivation and are still reluctant to buy milk from certified farms. According to the surveyed, the main obstacles to purchase are: the high price of the product and its poor availability in the store's assortment.

Keywords: organic milk,consumption, organic farming

1.Wstęp

Mleko zgodnie z przyjętą definicją PWN stanowi „biały, nieprzezroczysty płyn wytwarzany przez gruczoły mleczne kobiet i samic zwierząt, będący pokarmem dla nowo narodzonego potomstwa; służący ludziom, jako pożywienie".Mleko i przetwory mleczne są artykułami spożywczymi o bardzo bogatych walorach odżywczychniezbędnych w diecie każdego człowieka. Produkty mlecznedostarczają pełnowartościowego białka i stanowią uzupełnienie przetworówzbożowych w brakujące składniki odżywcze, zwłaszcza wapń, niezbędne aminokwasy oraz witaminy A, D i z grupy B (Peckenpaugh 2011). Proekologiczny chów zwierząt gospodarskich jest systemem produkcji żywności polegającym na takim

zarządzaniu gospodarstwem, który łączy najkorzystniejsze dla środowiska praktyki z wysokim stopniem różnorodności biologicznej, ochroną zasobów naturalnych oraz wysokim poziomem dobrostanu zwierząt (Walczak, SzewczykŚrodowiskowe uwarunkowania ekologicznego chowu bydła mlecznego, 2013).Wyżej opisany typ rolnictwa opiera się równieżna zaniechaniu stosowania wszelkich nawozów nienaturalnego pochodzenia oraz pestycydów, które stanowią szerokie spektrum toksyczności dla zwierząt oraz ludzi. Hodowla krów odbywa się w miejscu sterylnym i bezpiecznym dla środowiska, bez dodatku GMO i substancji takich jak, np. hormon wzrostu, a pasza pokrywająca zapotrzebowanie bytowe i produkcyjne zwierząt musi w przynajmniej 50% pochodzić z własnego gospodarstwa lub ewentualnie może być produkowana w innym gospodarstwie ekologicznym z tego samego regionu. Dzięki tym zabiegom gospodarstwa rolne są w stanie zarówno tym sposobem pozytywnie wpływać na otoczenie zewnętrzne, jak i kontrolować najwyższą jakość produktu, pozbawioną GMO oraz wszelkich zbędnych, sztucznych dodatków. Stosowanie jedynie naturalnych nawozów do nawożenia pastwisk pozwala uniknąć obniżenia aktywności biologicznej mikroorganizmów glebowych oraz zapobiega wielu zanieczyszczeń gleb i wód gruntowych. Stanowi to pozytywny aspekt środowiskowy, ponieważ żyzność gleby jest zachowana na stałym poziomie. Producent zobowiązany jest do udokumentowania wszystkich etapów produkcji, co musi być potwierdzone stosownym certyfikatem przez jednostkę kontrolną. Produkty ekologiczne muszą być wytworzone zgodnie z wytycznymi zawartymi w „Rozporządzeniu Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 2092/91”. Według wyżej wymienionego rozporządzenia Rady WE, za produkt ekologiczny uznaje się towar, który zawiera, co najmniej 95% składników wytworzonych zgodnie z zasadami rolnictwa ekologicznego.

W Polsce rynek ekologicznych produktów mlecznych znajduje się w początkowej fazie rozwoju i stanowi niewiele ok. 0,3% udziału w całym rynku żywności. Mimo to szacuje się, że od momentu przystąpienia Polski do Unii Europejskiej nastąpił 6-krotny wzrost liczby gospodarstw produkujących tego typu produkty (Zesz. Nauk. WSEI”, seria Ekonomia 2011). Z informacji zawartych w raportach IJHARS można wywnioskować, że sektor produkcji ekologicznej w Polsce systematycznie się rozwija. Liczba producentów ekologicznych w Polsce, według stanu na dzień 31 grudnia 2012 rok wynosiła 26 376. W tym samym roku najwięcej producentów ekologicznych prowadziło działalność naterenie województw: warmińsko-mazurskiego, zachodniopomorskiego oraz podlaskiego, a głównymi producentami ekologicznego mleka w Europie są: Niemcy, Austria, Wielka Brytania, Francja

i Dania. Produkcja mleka krowiego w UE w 2011 r. wyniosła 395 425,8 hektolitrów, a 2012 r. Spadła o 13,7%. Z danych GUS wynika, że w 2016 statystyczny Polak wypił 222 litrów mleka krowiego.W Polsce od 2006 r. obserwuje się stopniowy wzrost spożycia mleka i jego przetworów. Według danych GUS w latach 2005-2011 wzrost spożycia mleka na 1 mieszkańca wynosił 21 litrów. W 2011 r. spożycie mleka w Polsce (bez mleka zużytego do produkcji masła) w przeliczeniu na 1 mieszkańca wyniosło około 194 litrów i byłoo ponad 1% większeniż rok wcześniej oraz o 12,14% większe niż w 2005 r., gdy spożycie mleka osiągnęło historycznie najniższy poziom – 173 litrów/osobę (*Roczniki statystyczne*... 2006-2013). W celu zwiększenia dynamiki sprzedaży produktów rolnictwa ekologicznego Komisja Europejska ogłosiła w 2004 roku Europejski Plan Działań dla Żywności Ekologicznej oraz Rolnictwa. W Polsce przyjęto krajowy Plan Działań dla Żywności Ekologicznej i Rolnictwa mających na celu rozwój rynku zrywności ekologicznej oraz poprawę standardów (Chotkowski J, Czerwinska M: Instrumenty marketingu w rolnictwie ekologicznym. „Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Polityki Europejskie, Finanse i Marketing" 2010). W ostatnich latach producenci ekologiczni coraz częściej łączą się w różne organizacje, stowarzyszenia, grupy producenckie. Takie organizacje umożliwiają odbiór większych partii jednolitego odmianowo i jakościowo towaru, który jest pożądany przez przetwórnie, hurtownie oraz sklepy. Działanie w grupie producenckiej umożliwia także ograniczenie liczby pośredników handlowych, dzięki czemu zwiększa zyskowność produkcji. Uwarunkowania geograficzne Polski stwarzają bardzo dobre warunki do produkcji żywności ekologicznej, chrakteryzującej się zarówno wysoką jakością, jak i walorami odżywczymi. Niska intensyfikacja produkcji rolnej na wielu obszarach oraz bogaty wybór rodzimych ras bydła mlecznego są dodatkowym atutem, przemawiającym za rozwojem tej gałęzi produkcji. [Wiadomości Zootechniczne, R. LI Wójcik, Walczak, 2013]. Tendencja wzrostów a produkcji tego typu mleka w latach 2005-2016 oznacza wzrost popularności certyfikowanych gospodarstw ekologicznych.

2. Przedmiot badań

Przedmiotem badań jest mleko ekologiczne pochodzące z certyfikowanych gospodarstw ekologicznych na terenie Polski.Mleko stanowi cenne źródło białka i witamin łatwo przyswajalnych przez organizm, głównie wapnia i fluoru. Codziennie należy spożywać ok. 500 ml mleka lub innych produktów mlecznych, które stanowią odpowiednie uzupełnienie codziennej diety. Produkty o wysokiej zawartości tych pierwiastków są najbardziej wskazane dla dzieci, które wciąż rosną i potrzebują wysokiej dawki witamin.Polecane są również

osobom w podeszłym wieku, którym szczególnie grozi osteoporoza lub inne choroby kości i stawów.

Wyniki raportu naukowców z Uniwersytetu w Newcastle wskazują, że mleko ekologiczne ma więcej korzystnych składników odżywczych i kwasów tłuszczowych niż konwencjonalne. W tym produkcie przede wszystkim wykazano większą zawartość witaminy E oraz karotenoidów, będących prekursorami witaminy A oraz przeciwutleniaczami. Mleko ekologiczne zawiera więcej korzystnych białek, takich jak: α-laktoalbumina, β-laktoglobulina, laktoferyna i lizozym. Odnotowuje się również z reguły wyższą zawartość α-tokoferolu i β-karotenu, a także wyższy poziom CLA tj. sprzężonego kwasu linolenowego oraz kwasów omega 3 w porównaniu do mleka z gospodarstw konwencjonalnych (Maksymiec „Kształtowanie jakości mleka w ekologicznej produkcji", „Przegląd hodowlany" 2012). Niewielki niedobór wapnia początkowo objawia się skurczami mięśni, bólami w stawach, mrowieniem i drętwieniem kończyn oraz zwolnieniem tętna. Późniejsze objawy to szybko powstające ubytki w uzębieniu, zaburzenia snu, czasem nawet krwotoki, np. z nosa. Poważny ubytek Ca w organizmie prowadzi do hipokalcemii, której skutkami są, np. łamliwość kości, zaburzenia układu nerwowo-mięśniowego, pogorszenia krzepliwości krwi oraz powoduje problemy z naczyniami krwionośnymi.

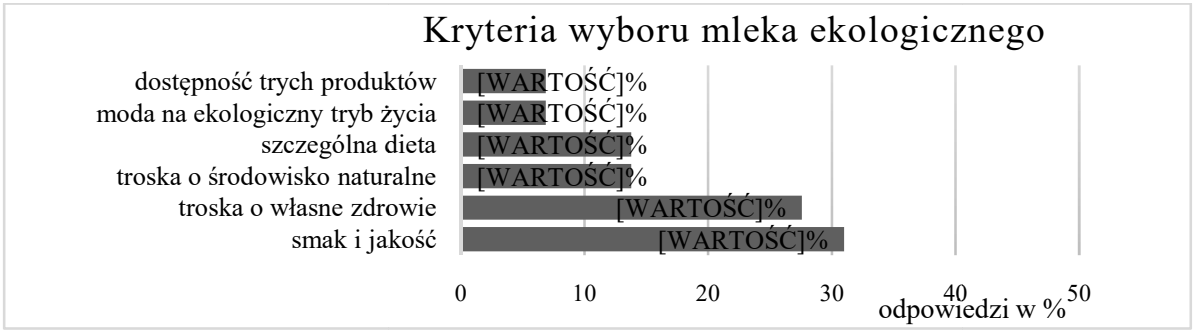
3. Metodyka badawcza

Celem projektu było zbadanie preferencji konsumentów dotyczących nabywania i spożywania mleka ekologicznego. Jako główne narzędzie posłużyła ankieta internetowa, która została przeprowadzona w styczniu 2018r. wśród 50 losowych respondentów (62% kobiet i 38% mężczyzn). Kwestionariusz składał się z ośmiu podstawowych pytań, w tym jednego otwartego. Znalazły się w nim m.in. pytaniao główne czynniki oraz bariery decydujące o nabyciu (o ile konsument w ogóle decyduje się na zakup) bądź rezygnacji z kupna.

4. Wyniki badań

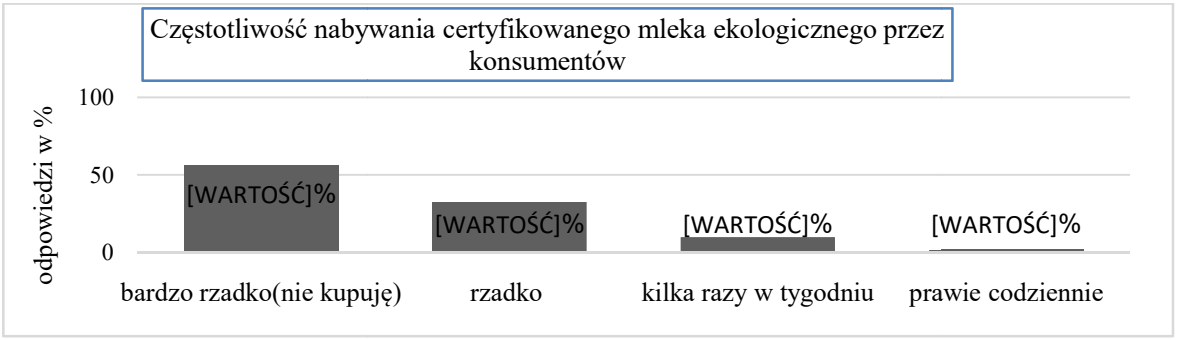
Badania potwierdziły, że wśród ankietowanych walory smakowe oraz jakość (31%) sąnajważniejszymimotywami nabywania mleka ekologicznego. Na jakość produktów mleczarskich, określaną przez konsumentów składa się przede wszystkim jakość rynkowa w relacji do wizerunku firmy, atrakcyjność sensoryczna, zdrowotność i bezpieczeństwo a także koszt produktu [Iwanicka A: Jakość produktów mleczarskich w opiniach nabywców finalnych, „Marketing i Rynek" 2011]. Praktycznie na podobnym poziomie kształtowała siętroskao własne zdrowie (27,6%). Na dalszych miejscach wymienionoszczególną dietę. Modę na ekologiczny styl życia jako motyw zakupu podało dokładnie 6,9% respondentów.

Warto podkreślić, że zapytani w decyzjach zakupuw niewielkim stopniu kierują się wpływem typu rolnictwa na środowisko przyrodnicze.Wśród ankietowanych walory smakowe oraz jakość ekologicznego mleka są głównymi determinantami nabywania tego typu produktu. Jak wynika z badań, istotne przy wyborze są zarówno takie czynniki jak certyfikat ekologiczny (36,8%),ale także aprobata rodziny (34,2%). Dla 28,9% ankietowanych nie ma znaczenia, to skąd pochodzi i gdzie jest produkowane. Dana grupa nie przywiązuje uwagi na certyfikat ekologiczny ani na oznaczenia etykiet produktów.



Wykres 1. Motywy decydujące o zakupie tego typu produktu ekologicznego; opracowanie własne

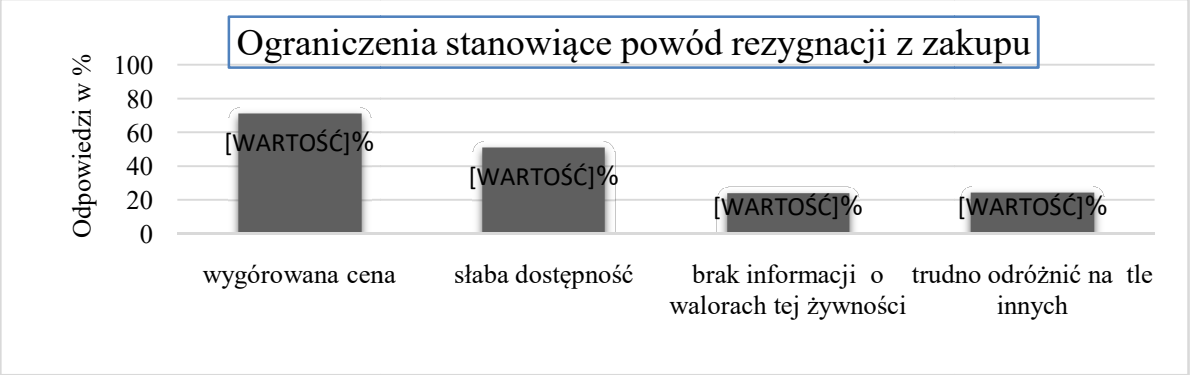
Z kwestionariusza wynika, że wśród najliczniejszej grupy ankietowanych (aż 56%) znalazły się osoby wcale nie kupujące certyfikowanego mleka ekologicznego. 32% respondentów bardzo rzadko sięga po mleczne produkty ekologiczne. Zaledwie 10% zapytanych decyduje się na zakup kilka razy w tygodniu a 2% prawie codziennie. Prawdopodobnie taki rozkład może być wywołany wieloma ograniczeniami stanowiących powód rezygnacji z kupna.



Wykres2. Częstotliwość nabywania mleka ekologicznego wśród wybranej grupy respondentów; opracowanie własne

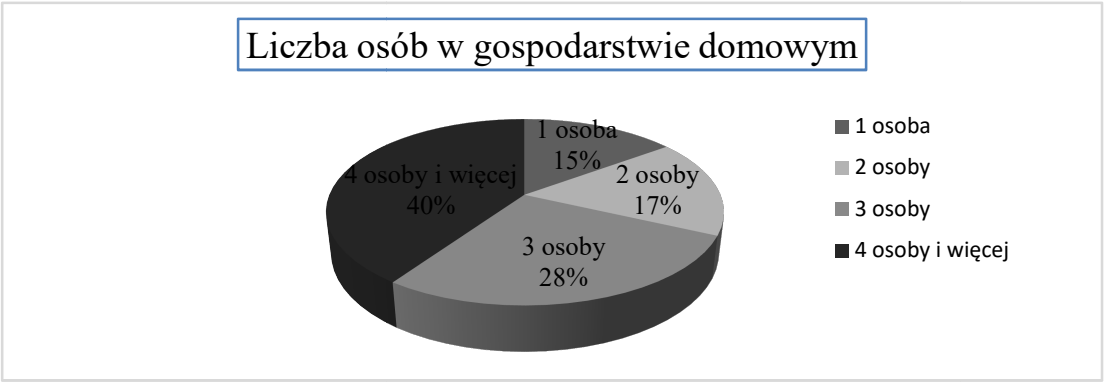
Istnieje wiele ograniczeń, które stanowią powód rezygnacji z nabycia i konsumpcji. Ze względu na zbyt wygórowaną cenę aż 71,1% osób nie może pozwolić sobie na ich zakup. Dla ponad połowy ankietowanych barierę stanowi słaba dostępność na rynku. Negatywnym zaskoczeniem okazało się, że aż 24,4% osób biorących udział w badaniu z trudemodróżnia produkty ekologiczne od konwencjonalnych.Ceny są wysokie ze względu na czasochłonność produkcji, niższe wydajności spowodowane wykluczeniem z ekologicznej uprawy

syntetycznych środków ochrony roślin, nawozów, pestycydów czy też stymulatorów wzrostu (J.Chotkowski, M.Czerwinska, M: Instrumenty marketingu w rolnictwie ekologicznym. Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Polityki Europejskie, Finanse i Marketing", 2010).



Wykres 3. Główne ograniczenia determinujące rezygnacje z zakupu; opracowanie własne

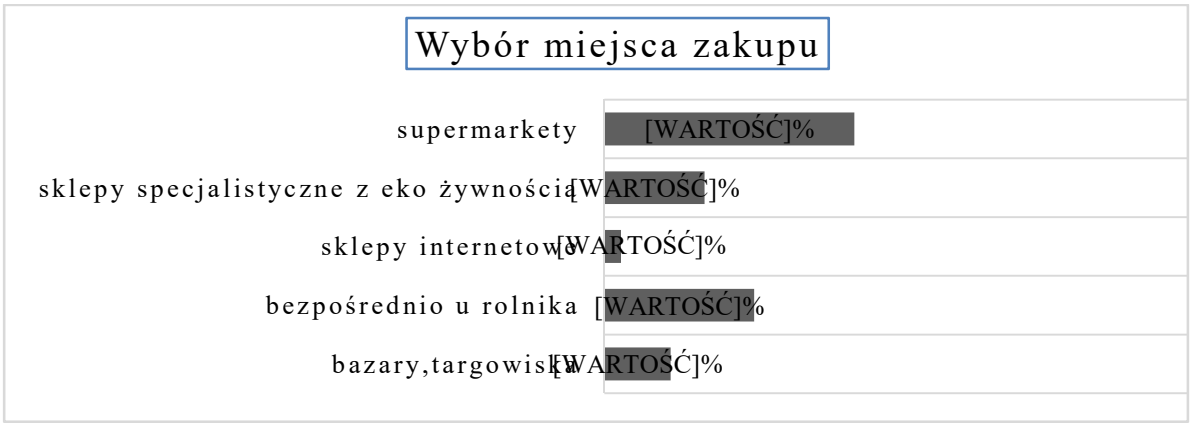
Jeśli chodzi o liczbę osób w gospodarstwie domowym a konsumpcję mleka ekologicznego wyniki przedstawiają się następująco:Największą aprobatę dla mleka ekologicznego wykazały gospodarstwa, w których liczba osób wynosi cztery lub więcej. Wśród jednoosobowego gospodarstwa wyżej wymieniony produkt nie cieszył się zbytnią popularnością (zaledwie 15% ankietowanych). Dla 28% respondentów układ domowników przedstawia się w sposób 2+1, czyli mama, taka i dziecko, a dla 17% układ 1+1.Taki układ może wynikać prawdopodobnie z troski o najbliższych lub stosowania szczególnej diety wśród osób znajdujących się w gospodarstwie domowym.



Wykres 4. Liczba osób w gospodarstwie domowym; opracowanie własne

Jak wskazują liczne badania naukowe, głównym miejscem dokonywania zakupów większości produktówżywnościowych są małe sklepiki osiedlowe oraz supermarket (Grzybowska-Brzezińska M: Zachowania nabywcze konsumentów na rynku żywności. „Marketing i Rynek" 2009). Wybierającmiejsce zakupu mleka ekologicznego, prawie większość zapytanych - 42,9%chętnie nabywa ten produktw supermarketach.Badania

ankietowe wykazują także rosnące zainteresowanie ofertą sklepów specjalistycznych z eko żywnością (17,2%), które posiadają szerokie spektrum produktów. Sklepy ekologiczne są istnym rajem dla konsumentów posiadających często wygórowane wymagania względem asortymentu i jakości produktu. Na drugim miejscu, jeśli chodzi o wybór miejsca zakupu mleka ekologicznego Statystycznie, co czwarta osoba preferuje zakup bezpośrednio u rolnika.Mimo dostępnej internetowej oferty handlowej, bardzo mała część osób z niej korzysta (jedynie 2,9% opowiedziało się pozytywnie). W ostatnich latach producenci ekologiczni coraz częściej łączą się w różne organizacje, stowarzyszenia, grupy producenckie. Takie organizacje umożliwiają odbiór większych partii jednolitego odmianowo i jakościowo towaru, który jest pożądany przez przetwórnie, hurtownie oraz sklepy. Działanie w grupie producenckiej umożliwia także ograniczenie liczby pośredników handlowych, dzięki czemu zwiększa zyskowność produkcji (Wiatrak A: Grupy producentów rolnych-istota działania i zarzadzania nimi "Roczniki Naukowe”2006).



Wykres 5. Wybór miejsca zakupu mleka ekologicznego; opracowanie własne

4. Dyskusja i wnioski

Polska posiada korzystne warunki do rozwoju ekologicznego rolnictwa. Szczególnie urodzajne gleby występują najczęściej w dolinach rzecznych Odry, Wisły i innych rzek, a także w północnej części kraju (głownie Żuławy Wiślane). Również bardzo żyznymi glebami występującymi na terytorium Polski są też czarne ziemie, które można spotkać głównie na Kujawach, oraz na Nizinie Wielkopolskiej**,** Nizinie Śląskiej, oraz na Równinie Błońskiej**.**

Celem pracy było przedstawienie preferencji konsumentów dotyczących spożycia mleka ekologicznego. Wyniki przeprowadzonej ankiety wskazują nadal ujemny trend nabywania tego typu produktów wśród konsumentów Konsumpcja certyfikowanego mleka ekologicznego jest nadal na bardzo niskim poziomie.Ponad połowa osób nawet nie decyduje się na zakup, a jedynie niewielki odsetek kupuje je prawie codziennie. Istnieją różne bariery

stanowiące podstawę do rezygnacji z nabycia tego typu towaru. Jak wynika z kwestionariusza, głównąprzeszkodę stanowi przede wszystkim dość wygórowana cena oraz wąski zakres asortymentu sklepu. Ankietowani, jeśli już decydują się na zakupnajczęściej wybierają supermarkety lub kupują bezpośrednio u rolnika, dzięki temu mają pewność, iż zakupione mlekojest ekologiczne.

Reasumując, ekologiczny chów jest pożądany nie tylko z punktu widzenia indywidualnych potrzeb konsumenta, lecz również z punktu widzenia jej wpływu na środowisko. Nabywcy żywności ekologicznej w rożnym stopniu przejawiają zachowania proekologiczne. Niestety duża część społeczeństwa jest dopiero na podstawowym etapie, który charakteryzuje się budową świadomości ekologicznej.

5. Literatura

Bugała A. Mleko i produkty mleczarskie; Raport sygnalny, Zespół Monitoringu Zagranicznych Rynków Rolnych– FAMMU/ Fundacja FAPA, 2013 Warszawa s. 261-286

Czarnocińska J.: Ocena postaw żywieniowych Polaków w zakresie spożycia mleka i produktów mlecznych, Nowiny Lekarskie, 2005 74(4), 384-388.

Chotkowski J. Czerwinska M: Instrumenty marketingu w rolnictwie ekologicznym. „Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Polityki Europejskie, Finanse i Marketing", 2010, nr 03 (52), s. 160-268

Grzybowska-Brzezińska M.: Zachowania nabywcze konsumentów na rynku żywności. „Marketing i Rynek" 2009, nr 8, s. 27-32.

Iwanicka A: Jakość produktów mleczarskich w opiniach nabywców finalnych, „Marketing i Rynek" 2011, nr 9, s. 24-30

Maksymiec N. (Koperska): Kształtowanie jakości mleka w ekologicznej produkcji, „Przegląd hodowlany" 2012, nr 10-12, s. 12-14

Rocznik statystyczny Rzeczpospolitej Polskiej. 2012: GUS, Warszawa.

Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 2092/91.

Runowski H. (2009) Ekonomiczne aspekty ekologiczne produkcji mleka, „Rocz. Nauk Roln. Ser. G" s

1Peckenpaugh N.J. : Podstawy żywienia i dietoterapia, Wyd. Urban & Partner, 2011 Wrocław, s. 58

Walczak J., Szewczyk A., 2013 Środowiskowe uwarunkowania ekologicznego chowu bydła mlecznego. Wiad. Zoot., R. LI, 3, 81-92

Wiatrak A: Grupy producentów rolnych-istota działania i zarzadzania nimi, „Roczniki Naukowe SERiA", 2006 s. 361-365.

Wójcik P., Walczak J. Parametry jakościowe mleka w gospodarstwie ekologicznym, Wiadomości Zootechniczne, R. LI (2013) s.73-80

Zuba M. Szanse i bariery w integracji łańcucha żywności ekologicznej w Polsce. „Zesz. Nauk. WSEI", seria Ekonomia 2011, nr 3, s. 261-286

Żakowska-Biemans S.: Bariery zakupu żywności ekologicznej w kontekście rozwoju rynku żywności ekologicznej. „Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering" 56(4)/2011 s. 218-220

http://geomatura.pl/index.php/geografia-polski/165-warunki-rozwoju-rolnictwa-w-polsce

http://portalhodowcy.pl/632-ekologiczna-produkcja-mleka

http://www.gazetaprawna.pl/artykuly/708485,ekologiczna-zywnosc-klucz-do-zdrowia-czy-wielkie-oszustwo-za-ktore-slono-przeplacamy.html

http://www.newseria.pl/news/rynek_zdrowej_zywnosci,p1028405149

http://www.poradnikzdrowie.pl/sprawdz-sie/sygnaly-ciala/wapn-objawy-niedoboru-i-nadmiaru_38084.html

Wermikompost – produkcja i zastosowanie

Andrea Kałuża-Haładyn [(1)]

[1] Instytut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Andrea Kałuża: andrea.kaluza@upwr.edu.pl

Streszczenie
Wermikompost jest to kompost, powstający w wyniku działalności dżdżownic i towarzyszących im mikroorganizmów. W produkcji wermikompostu może brać udział wiele gatunków dżdżownic, jednakże najodpowiedniejszym gatunkiem jest *Eiseniafetida* (Sav.), potocznie zwana dżdżownicą kalifornijską. Charakteryzuje się znacznie dłuższą przeżywalnością oraz większą płodnością od powszechnie spotykanych w glebie dżdżownic. Dzięki jej aktywności z odpadów organicznych powstaje produkt o dużej porowatości, wysokich zdolnościach kumulacji wody oraz wysokiej aktywności drobnoustrojów. Uzyskiwany w wyniku naturalnego procesu rozkładu odpadów organicznych produkt końcowy - dojrzały nawóz organiczny, może zostać wykorzystany do polepszenia jakości gleb, poprawiając przede wszystkim jej żyzność. Proces kompostowania z udziałem dżdżownic można wykorzystać również w przetwarzaniu frakcji biodegradowalnej osadów ściekowych lub do samej produkcji dżdżownic, które można wykorzystać między innymi do poprawiania jakości gleb, wprowadzając je bezpośrednio na tereny zdegradowane. W artykule przedstawiono proces powstawania wermikompostu powstałego w wyniku działalności dżdżownic oraz kierunki jego zastosowania.

Słowa kluczowe: wermikompost, materia organiczna, *Eiseniafetida* (Sav.)

Vermicompost – production and application

Summary
Vermicompost is a product of composting with a help of earthworms. Many species of earthworms can participate in the production of vermicompost, but the most appropriate species is *Eiseniafetida* (Sav.), colloquially called the California worm.The earthworm is characterized by a much longer survival rate and greater ability to reproduce than earthworms commonly found in the soil. During composting process due to activity of worms a product characterized by high porosity, high water accumulation capacity and high microbial activity is formed. Obtained as a result of the natural decomposition process of organic waste, the final product - a mature organic fertilizer, can be used to improve the quality of soils, improving primarily its fertility. The composting process with earthworms can also be used in the processing of biodegradable fraction of sewage sludge or for the production of earthworms, which can be used, among others, to improve the quality of soils, introducing them directly to degraded areas. The article presents the process of formation of vermicompost resulting from the activity of earthworms and the directions of its application.

Keywords: vermicompost, organic matter, *Eiseniafetida* (Sav,)

1. Introduction

Because of growing civilizational development of societies, development inlivestock and crop production and also of processing industry and mining, a big amount of organic substances in form of waste gets into the environment. The presence of such substances endangers purity of water, air and soil, and their excessive accumulation contributes in large degree to occurrence of disorders in the proper functioning of ecosystem - what as a consequence makes scientists search for methods enabling the disposal of organic substances and their recycling. On the other hand, according to Gone (2004), the amount of organic matter inside the soil is constantly vanishing. What is more, since the last decade of XX century there has been observed a decrease in the amount of manure used as a basic organic

fertilizer supporting renewing of organic matter and maintaining the proper level of humus (Maćkowiak 1997; Kalembasa and Wiśniewska 2001). For this reason there is a necessity to substitute manure with other organic materials in order to improve the content of organic matter of the soil.

One of more widely applied and low-input methods of disposal of organic matter, a method which leads to gain high quality of product is waste processing with the use of earthworms – so called process of vermicomposting which has been practiced already for 50 years in many European countries: England, Czech Republic, France, Spain, Sweden, and also in other countries in the world: Australia, Argentina, China, India, Japan, the USA (Kalembasa 2011). Vermiculture is a natural process of the decay of organic matter that takes place as a result of the activity of earthworms combined with microorganisms' participation. A compost gained in such a way, compared with a product gained using traditional methods, characterizes with highly beneficial properties. Main factors that affect such special properties are: the right compound of nutrients, amount of organisms per size of the surface (concentration), length of work period of macro-organisms in different layers of the material being composted, the latter process influencing the precise fragmentation and quality of end product (Kostecka 1994). The material gained as a result of activity of breeding earthworms contains a very big amount of microorganisms related with the metabolism of earthworms and also a lot of enzymes. An essential fact is that, resulting from vermicomposting, one is able to observe a diminishing problem of the content of toxic compounds of heavy metals that undergo transformation into fusions of metals with organic matter and occur to be hardly accessible for plants. Moreover, there is an increase of macroelements participation, such as: phosphorus, potassium, calcium and magnesium.

The aim of breeding earthworms, so called vermiculture that is lead on organic waste is, above all the production of fertilizers or products with properties supporting plant cultivation on basis of the Law of 10 July 2007 about fertilizers and fertilizer applicationnawożeniu [Dz.U. z 2007 r. nr 147, poz. 1033]. Breeding earthworms is more and more widely applied, for it brings a lot of benefits not only in gaining a high quality product which can be widely applied, but also in earthworms production itself because they can be used in pharmaceutical and medical purposes. The variety which proves to be the most effective is *Eiseniafetida*(Say) widely known as red Californian earthworm whose development in production took place in the 70s of XX century (Szczygłów 1988).

2. The characteristics of *Eisenia fetida* (Say) earthworm

Eiseniafetida(Say) earthworms, as a result of the nature of their nutrition, are ascribed to geophages and detritivores (Lee 1985). They represent invertebrates with characteristically elongated body, covered with skin-bone sack. These specimens belong to diploid (2n) species and have got 11 chromosomes (Rożen 2001). Their organisms contain both masculine (testicles) and feminine (ovaries) sexual organs, nevertheless, self-fertilization does not take place. As a result of fertilization, specimens that are reproductively mature lay cocoons whose color changes with their growth. In each of the cocoons there are from one to twenty fertilized egg cells[Stephenson 1930], though, only one or two of them survive and constitute the beginning of life of new specimens (Edwards and Lofty 1972). The process depends mainly on conditions of the habitat, meaning: temperature, humidity, pH scale of environment and so on[Rożen 2001]. In favorable conditions one pair of earthworms is able to produce up to about 100 cocoons in 6 months (Ismail 1997). Contrary to a very commonly appearing earthworm called *Lumbricusterrestris*L., the here presented earthworm is twelve times more fertile – moreover, its lifespan is four times longer. A high concentration of earthworms is related to the subsurface layer (about 30 cm) which contains organic matter – a place where they live. Earthworms have got a lot of mechanisms that protect them from infection being is a result of pathogenic microbes entering their organisms. Apart from anatomic – physiological barriers, they are protected from microbes also by cellular immunological system and by humoral system, too (lysozyme, peptidases) (Olchawa et al., 2003).

3. The production of vermicompost

Vermicomposting is a part of natural processes related to biochemical decomposition of organic substances appearing in waste. Vermicomposting takes place mainly as a result of metabolic processes generated by earthworms and also by other microorganisms that contribute to that (Chan 1988).Resulting from the work of earthworms, material being composted undergoes fragmentation and because of that the whole surface where microorganisms gather becomes bigger. Thanks to the work of earthworms such nutrients of plants as: nitrogen, calcium, phosphorus, potassium become soluble in a greater degree and more accessible for plants (Ndegwa and Thompson 2001). According to Lavelle (1988), the whole specificity of production of compost with earthworms' participation bases on the fact that they consume a small amount of organic matter, which appears inside waste, to build their organisms but they excrete a much bigger part of that waste in a not fully digested form. After short time, the matter undergoes decomposition and is formed into the final product –

the vermicompost. Earthworms' activity plays a very important role of physical, mechanical and biochemical nature in the process of composting.

As a result of vermicomposting of different kinds of waste (Kostecka 1997), a high-grade organic fertilizer is produced. According to Kale (1995), production of vermicomposts may base on a wide range of waste, starting from garden waste (for example mushroom soils), agricultural, animal, plant biomass (peat, bark from broad-leaved tree, sawdust, wood ashes), weeds, food and kitchen waste, ending with sewage sludge and biodegradable fraction of domestic waste. The place of composting ought to be located on an open space – this proves a comfort for reproduction and greater activity of earthworms. When the ground is well prepared (good-permeability and low level of groundwater of the soil, a shaded and covered from wind place) there may be created proper conditions to make the final product. The speed of decomposition of waste which undergoes composting depends in big extent on its fragmentation and how well it is mixed. During the processes of composting and also vermicomposting there are often greenhouse gases spread into the environment and their negative role in the environment is widely known. However, according to Lim et al., (2016) a bigger participation of invertebrates and a regular aeration of the mass being composted leads to a decrease in emissions of harmful greenhouse gases. In a study conducted by Federico's team [2007] it has been claimed that a vermicompost gained from processing of manure influenced the increase in growth of tomatoes (*Lycopersicumesculentum*), whereas the efficiency and yielding of plants has been improving with increased amounts of the compost added to the soil. There has also been noticed an increase in the amount of carbohydrates and in soluble and insoluble solids in tomato fruit. Huang and Xia [2018] have conducted a study on the role of mucus produced by earthworms in decomposition of organic matter and processes of its humification. Three types of waste have been used during the experiment: manure, fruit and vegetables and sewage sludge – all of the waste underwent composting for 20 days. It occurs that the presence of mucus in the composted material has got a lot of positive functions. Above all there has been noticed a faster process of mineralization and humification of organic matter in substrates that contained mucus contrary to those that lacked mucus. What is more, the presence of mucus initiated multiplication of bacteria, influenced an increase of the amount of microbes and their activity.

4. Vermicompost – application

According to the definition in the Law (Dz. U. z 2007 r. nr 62, poz. 628) on waste describing recovery as a number of activities aiming at the use of waste completely or partly and getting from them substances, materials or energy and utilizing them – a compost gained

as a result of composting with the use of earthworms may be classified as one of the processes of recovery (R3) or as a process of disposal (D8). Moreover, vermicompost may be marketed, in accordance with the Law on fertilizers and fertilization (Dz.U. z 2007 r. nr 147, poz. 1033), if it meets the requirements of the quality of produced fertilizers and quality of plant cultivation support agents. Table 1 shows requirements of Polish law that refer to the quality of organic fertilizers and plant support agents. It is necessary to pay attention to the fact that when the vermicompost produced in the process of recovery does not meet requirements of the Law on fertilizers and fertilizing, it ought to be classified as waste, meaning a product which cannot be used in any way (Bożym 2012). The use of composts as fertilizers is explained environmentally and it should be supported everywhere where there are no definite contraindications (Wierzbicki 2003).

Tabela2. Quality requirements for organic fertilizers and plant cultivation aids [Dz.U. z 2007 r. nr 147, poz. 1033]

Parameters	Fertilizers	Supportivemeasures
Organicsubstance	≥ 30	-
Nickel	≤ 60	≤ 60
Chrome	≤ 100	≤ 100
Lead	≤140	≤ 140
Cadmium	≤ 5	≤ 5
Mercury	≤ 2	≤ 2
Potassium	≥ 0,2	-
Phosphorus	≥ 0,2	-
Nitrogen	≥ 0,2	-

Nowadays, together with growing social awareness of negative environmental and economical consequences of using agrochemicals in plant cultivation, the focus is more frequently put on using products gained as a result of processes of composting or vermicomposting of organic waste in plant production (Follet 1981). Utilizing vermicomposts, mainly in agriculture, gives a lot of benefits because of a slow release of nutrients that are source of nutrition for plants, providesphysical, chemical and biological properties (Chaoui et al., 2003), improvement of the soil and an increase of activity of microbes inside it (Hidalgi et al., 2006). The studies done by Makulec and Olejniczak (2004) confirm it. Those studies have proved that vermicomposts used as fertilizer may enrich the soil with mesofauna, including Collembola, acari, Enchytraeidae, meaning organisms that are very necessary and important in soil environment. According to Sławiński and Songin (1998), using vermicomposts in agriculture may inhibit the appearance of different kinds of weeds during the cultivation of spring barley. Vermicompost is frequently used in vegetable growing – to fertilize many kinds of crops. It can be also used to fertilize lawns, fruit bushes, plantations and also in field crops in order to restore or improve the quality of soil and by that

to increase crops. One of the advantages of using vermicompost in gardening is the fact that it alleviates stress while replanting and it constitutes a protection barrier against the activity of pests capable to do a lot of harm (Kalisz et al., 2000). Since the 1990s composting of sewage sludge has been practiced more and more widely. In case of this type of waste there are additionally used such materials building the structure as: hey, straw, sawdust, leaves or wastepaper. According to Hurry (2004), the best addition is straw. The production of vermicompost is also a kind of production of earthworms that together with the compost may be placed on the degraded areas – the latter is confirmed by studies carried out by Pośpiech (2004). After placing *Eiseniafetida*earthworms into areas being restored in the closed area of Cracow Sodium Factory *Solvay* it occurred that they improved structure of the soil in a bigger extent.

The process of vermicomposting may not always be effective in production of organic fertilizers. The latter has been confirmed by studies carried out by Institute of Soil Science and Plant Cultivation in Puławy. The results of the study show that processing of manure – which is a fertilizer itself – is not justified because of the fact that primary fertilizing quality of manure is higher than after it has been composted with the use of earthworms. Vermicomposting of manure imposes clear loses of nitrogen and the organic substance inside it, hence – a product gained this way is of no use as fertilizing material (Maćkowiak 1999).

5. Conclusion

Vermicompost is a product of a process during which thanks to activity of earthworms that decompose organic matter a complete product is gained – a natural fertilizer rich in nutrients. The best species in this type of process is *Eiseniafetida* (Sav) whose lifespan is much longer and fertility better than that of commonly known earthworms. As a result of vermicomposting, the amount of organic waste decreases thanks to their disposal and use of them again. Moreover, their structure is improved and they are enriched with microorganisms, being a positive part of the product. In the process of vermicomposting it is possible to use organic solid wastes, animal waste, agricultural, industrial, household, sewage sludge and many other. While introducing a final product into the environment, compost has to meet requirements of the Law on fertilizers and fertilizing. In case of exceeding quality requirements for organic fertilizers and plant cultivation support agents, a given product must not be applied or its use ought to be limited.

6. References

Bożym M. 2012. Biologiczne przetwarzanie biodegradowalnej frakcji odpadów komunalnych i osadów ściekowych w wermikulturze. Scientific Works of Institute of Ceramics and Building Materials. Warszawa-Opole, nr 10

Chan PLS, Griffiths DA. 1988. The vermicomposting of pre - treated pig manure. Biological wastes, 24 (1): 57-69.

Edwards CA., Lofty JR. 1972. Biology of Earthworms; Chapman and Hall, London.

Gutiérrez-Micelia F. A., Santiago-Borrazaz J., Montes Molinaa J. A., Nafatea C. C., Abud-Archilaa M., Llaven M. A., Rincón-Rosales R., Dendooven L. 2007. Vermicompost as a soil supplement to improve growth, yield and fruit quality of tomato (Lycopersicumesculentum), Bioresource Technology, 98, 2781-2786

Follet R, Donahue R, Murphy L. Soil and Soil Amendments. Prentice- hall 1981;Inc.,New Jersey.

Hidalgo P. R., Matta F. B., Harkess R. L. 2006. Physical and chemical properties of substrates containing earthworm castings and effects on marigold growth. Hort Science 41: 1474-1476.

Huang K., Xia H. 2018. Role of earthworms' mucus in vermicomposting system: Biodegradation tests based on humification and microbial activity. Science of the Total Environment 610–611, 703–708

Hury G., 2004. Wpływ rodzaju dodatków organicznych do osadu ściekowego na skład chemiczny kompostu i wermikompostu, „Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych", z. 498, s. 81-86.

Ismail SA. 1997. Vermicology. The biology of Earthworms. In Orient Longman Limited, Chennai, pp.92.

Kalembasa D., Wiśniewska B. 2011. Zawartość Ti i As w biomasie trawy i glebie nawożonej podłożem popieczarkowym. Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych, IOŚ, Warszawa 49: 533–538

Kalisz L., Sałbut J., Kazmierczuk M., Nechay A., Szyprowska E. 2000. Wykorzystanie dżdżownic do przetwarzania osadów stabilizowanych tlenowo. Monografia, Instytut Ochrony Środowiska – Państwowy Instytut Badawczy. Warszawa.

Kostecka J. 1994. Poradnik hodowcy dżdżownic. Wydawnictwo „lomarket".

Kostecka J. 1997. Uzdatnianie osadów ściekowych w wermikulturze, [w:/in:] Materiały II Konferencji Naukowo-Technicznej „Przyrodnicze użytkowanie osadów ściekowych", Puławy

– Lublin - Jeziórko 26-28.05.1997, red. J. Siuta, Wydawnictwo Ekoinżynieria, Lublin, s. 171-176.

Levelle P. 1978. Les vers de terre de la savane de Lamto (cote d' lvoire). Peuplements, populations et fonctions de locosysteme. PubllabZool ENS; 12: 1-301.

Lee KE. 1985. Earthworms: Their ecology and relationships with soils and land use. Academic Press, Sydney, Australia; pp.411

Lim, S.L., Lee, L.H., Wu, T.Y., 2016. Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. J. Clean. Prod. 111, 262–278.

Maćkowiak Cz. 1997. Bilans substancji organicznej w glebach Polski. biul. Inf. IUNG, Puławy 5: 14–21

Maćkowiak Cz. 1999. Skład chemiczny i wartość nawozowa wermikompostu obornikowego, [w:/in:] Materiały I Konferencji Naukowo-Technicznej „Kompostowanie i użytkowanie kompostu, Puławy - Warszawa, 16-18.06.1999, red. J. Siuta, G. Wasiak, Wydawnictwo Ekoinżynieria, Lublin, s. 241-245.

Makulec G., Olejniczak I. 2004. Wpływ zróżnicowanej roślinności i nawożenia odchodami dżdżownic na mezofaunę glebową, „Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych", z. 498, s. 147-152.

Ndegwa P.M., Thompson S.A., 2001. Integrating composting and vermicomposting in the treatment of bioconversion of biosolids. Biores. Technol.; 76, 107-12.

Olchawa E., Czerny B., Płytycz B. 2003. Wpływ temperatury i bakterii glebowych na odbudowę układu odpornościowego i reprodukcję dżdżownic. Acta Agrophysica, 1(4), 705-710

Pośpiech N., 2004. Ocena aktywności *Eiseniafetida* (Sav.) w przetwarzaniu podłoża poprzemysłowego, „Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych", z. 498, 167-173.

Rożen A. 2001. Rozmnażanie się dżdżownic. Zesz. Nauk Akademii Rolniczej Kraków, 372, 101-106.

Sławiński K., Songin H. 1998. Działanie następcze wermikompostów na plonowanie i zachwaszczenie jęczmienia jarego, „Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie", nr 334, s. 67-74.

Stephenson J. 1930. The Oligochaeta. OxfordUniv. Press, London, 977.

Szczygłów A. 1988. Hodowla dżdżownic Red Hybrid of California dla produkcji humusu biologicznego. WOPR – Lubniewice.

Ustawa z dnia 27 kwietnia 2001 r. o odpadach, Dz.U. z 2001 r. nr 62, poz. 628

Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu, Dz.U. z 2007 r. nr 147, poz. 1033

Wierzbicki T.L., 2003. Rolnicze wykorzystanie komunalnych osadów ściekowych. Zesz. Nauk. Polit. Białost., Inż. Środow., 16, 2: 272–276.

Indeksy dojrzałości kompostów

Andrea Kałuża-Haładyn [(1)]

[1] Instytut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Andrea Kałuża-Haładyn: andrea.kaluza@upwr.edu.pl

Streszczenie
W związku ze wzrastającym postępem cywilizacyjnym i wzrostem demograficznym, pojawia się problem wzmożonej produkcji odpadów przemysłowych i gospodarczych, których zagospodarowanie stwarza coraz poważniejsze problemy środowiskowe i społeczne. W związku z powyższym obserwuje się dynamiczny rozwój dziedzin nauki i techniki, które prowadzą do działań skupiających się na racjonalnej gospodarce odpadami. Jedną z metod zagospodarowania odpadów jest kompostowanie ich organicznej części i wykorzystanie między innymi w produkcji rolniczej. Jednak, aby produkt powstały w wyniku procesu kompostowania mógł zostać wprowadzony do gleby musi spełnić bardzo ważne kryteria dojrzałości kompostów. Zastosowanie niedojrzałych kompostów jest przyczyną blokowania przyswajalnego przez rośliny azotu, pojawiania się związków fitotoksycznych, obniżania zawartości tlenu w glebie, jak również zwiększania rozpuszczalności metali ciężkich, wpływających hamująco na kiełkowanie i wzrost roślin. W artykule poruszono tematykę dojrzałości kompostów oraz zwrócono uwagę na konsekwencje związane z wprowadzaniem niedojrzałych kompostów do środowiska glebowego.

Słowa kluczowe: odpady, kompostowanie, indeksy dojrzałości kompostów,

Composts maturity indexes

Summary
Due to the increasing civilization progress and demographic growth, there is a problem with intensified production of industrial and economic wastes, the management of which creates increasingly serious environmental and social problems. In conjunction with above, dynamic development of science and technology areas is observed, which lead to activities focusing on rational waste management. One of the methods of waste management is composting of waste's organic part and use among others in agricultural production. However, in order for the product resulting from the composting process could be introduced into the soil, must meet very important compost maturity criteria. The use of immature composts is the reason for blocking the nitrogen that is available to plants, appearance of phytotoxic compounds, reducing the oxygen content in the soil, as well as increasing the solubility of heavy metals, floating inhibiting of germination and plant growth. In this article the subject of compost maturity was raised and paid attention to the consequences of introducing immature composts to the soil environment.

Keywords: wastes, composting, composts maturity indexes

1. Introduction

The demographic development and also the activity of human that are observed in today's world are linked with production of a big amount of waste and with introducing lots of additional substances into the environment. Waste include all of the products that are unnecessary, remaining and harmful for environment resulting from occupational and domestic activity of human (Baran andDrozd 2014). Organic matter (about 40-5-%) (Jamroz and Drozd 1999) constitutes a major part of waste, hence - it is possible to use the organic matter in processes of recycling and compost it which will allow a decrease in the amount of stored waste. The process of composting will facilitate the use of final product as an agent for the improvement of soil environment (Maćkowiaket al., 1993). The properly conducted

process of composting depends mainly on the material which is being composted and on conditions during the whole process. Important factors that influence the process of composting are: the temperature of surroundings and of the mass being composted, humidity, composition, C/N ratio, the amount of organic matter and of volatile compounds. The final effect of process of composting is making a permanent and refined product. It may be used as an agent for enriching the soil (Yusuf and Ramdhani 2016) and also improving its properties and fertility. The compost is introduced into the soil to increase its stability and to decrease its specific and bulk density (Jamroz 2000, 2004). The compost also provides nutrients necessary for growth and development of plants. Despite many benefits resulting from using composts and because of constantly growing amount of waste, there occurs a problem of rational use and management of waste. Having in mind the danger for environment which is linked with that problem (among other things: excessive charge of municipal waste with heavy metals, xenobiotics and detergents), danger for development of plants – it is necessary to do a research in the issue. This research will allow determining the quality and maturity of a compost and setting the right destination of its use.

2. Discussion

Composting bases on low-temperature, bio oxidative transformations of organic matter and mineral substances inside waste (Baran et al., 2004) and consists on aerobic fermentation of organic matter as a result of the activity of bacteria, Actinomycetes, Saccharomyces and filamentous fungi on whom the process of majority of transformation depends (Ishii et al., 2000). According to Maćkowiak et al. (1993), products gained from composting of municipal waste may contain about 40 – 50% of organic substance, 2.3 – 7.0% Ca, 0.3 – 0.44% Mg, 0,26 – 1,02% N, 0,09 – 0,25% P, 0,11 – 0,42% K and different amounts of Zn, Cu, Pb, Cd, Ni and other components. In case of an increased amount of heavy metals in the final product meaning – the compost, it must not be applied or its use is limited (Siebielec et al., 2004). In the process of biological decomposition of organic matter there are released those minerals (Chen et al., 1997; Drozdand Licznar 2002, 2003, 2004; Maćkowiak et al.,Orzechowska 1993; Pare et al., 1998; Tam et al., 1996) that include products of full oxidation of H_2O, CO_2, ions of NO_3^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-}, HPO_4^{2-}, Ca^{2+}, K^+ and other. Some of the products of mineralization process may be lost in a form of gaseous compounds: (CO_2, H_2O, NH_3) (Saad 2001). Further, during the process of composting, decomposition and re-synthesis of intermediate products into biologically active substances (Chanyasak et al., 1983; Szajdak 2004) and right humic compounds represented by more stable and complex compounds (Chen i in. 1996; Drozd et

al., 2001; Inbar et al., 1990; Lashermes et al., 2012) that create a stable fraction of a mature compost (Chefatez et al., 1996).

A very important factor influencing the possibility of use of a compost is its level of maturity. In many works the attention is put on maturity of composts as one of more important properties for its use in a form of organic fertilizers introduced into soil. It is maturity of composts what decides if, above all, it may be used for agricultural or environmental purposes in cultivation and fertilizing of plants. Immature composts contain many times phytotoxic elements that might include among others: phenol, hydrogens sulfide, ammonia, low molecular organic acids (Aritola-Fortuny and Fuller 1982, Chanyasak et al., 1983, Wong 1985) that may affect negatively germination and growth of plants, especially in the initial phase. The latter takes place as a result of introducing into the soil the not stabilized organic matter undergoing intensive processes of mineralization what results in creating reducing conditions because of the occurrence of anoxia in the surface layer of the soil. And that in turn leads to an increased solubility of heavy metals resulting in them being easily accessible for plants, causing inhibition of energy and strength of germination of seeds (Hunt et al., 1972). The most notable phenomenon resulting from the use of immature products of composting is biological block of nitrogenwhich is accessible for plants and this may lead to extreme decrease in the amount of this element in a plant. The latter may as a consequence contribute to have an effect contrary to the intentions (Hortenstine and Rothwell 1973). In order to minimize negative consequences for environment there have been applied indexes of maturity level for many years (Drozd et al., 1996a, Drozd and Licznar 2004a, Jędrczak 2008, Jimenez and Garcia 1992, Saviozzi et al., 1988). In the elaboration of these indexes the following criteria is applied:

- biological – determination of the influence of compost and extracts of compost (via incubation of seeds of plants in aqueous extract from composts) on germination, growth and development of test plants, carrying out ecotoxic tests;
- physical – determination of temperature, color, smell (presence of odorous substances) and composition during the process of composting;
- chemical – examining parameters of transformation of both mineral- and organic compounds occurring during composting – isolation of the amount of basic nutrients (C, N, P, K Ca, Mg, Na) in aqueous extract of the compost and also in dry matter: microelements, heavy metals and pH and sorption capacity, and also determination of the amount of N – NH_4 and N – NO_3 and characterization of quantity and quality of the composition of emergent humic substances;

- microbiological – precising the use and necessity for oxygen, amount and kinds of emerging enzymes, quality and morphology of biomass being transformed, accessibility of easily degradable organic and mineral compounds, content and activity of biologically active substances, presence of pathogenic microorganisms.

A special attention is put on chemical methods, as they include quantity and quality of humic substances emerging as a result of transformation of organic and mineral elements during composting. According to many authors, the improvement in soil fertility may take place only in case of using mature, stable and chemically and sanitary safe composts (Chen et al., 1993, 1996, Drozd et al., 1996 a, 1997, 2003a, 2004a, Jimenez et al., 1992, Saviozzi et al., 1988).

Based on the conducted research (Chen et al., 1993, 1996, Jimenez et al., 1992), the following chemical compost maturity indexes were developed:

- humification rate - $HR_1 = C_{kh1}/C_{kf1+kf2}$,
- humification index - $HI = CAC/CALK_1$,
- humification rate - $HR_2 = [(CAC+ CALK_1)/C_{org}] \cdot 100$,
- percentage share of humic acids – $P_{kh} = (C_{kh1}/CALK_1) \cdot 100$,
- percentage share of fulvic acids – $P_{kf} = (C_{kf2}/CALK) \cdot 100$,
- the ratio of total organic carbon to total nitrogen - C_{org}/N_{og} ,
- index of solubility of coal - $(C_w/C_{org}) \cdot 100$,
- the ratio of water-soluble nitrogen to total nitrogen - $(N_w/N_{og}) \cdot 100$,
- indicator of nitrogen mineralization in water extract - $(N_{min}/N_w) \cdot 100$,
- oxidation index of mineral nitrogen forms - $(N\text{-}NH_4/N\text{-}NO_3)$.

Explanations:

- C_{org} – totalorganiccarbon,
- C_w – water-soluble fraction of carbon,
- CAC – the organic carbon fraction separated with 0.05 molar sulfuric acid,
- CALK – the organic carbon fraction soluble in 0.1 molNaOH (lignin – humic complex),
- $CALK_1$ – organic carbon soluble in 0.1 molNaOH after separation of the CAC fraction,
- C_{kf1} – fulvic acid carbon extracted from the CAC solution,
- C_{kf2} – fulvic acid carbon extracted from the CALK1 solution,
- C_{kh1} – coal of humic acids separated from the CALK1 solution,

It is worth highlighting that majority of widely used indexes of maturity of composts is not authorized by law. Nevertheless, these indexes have got a big scientific and cognitive

importance enabling tracing the speed and the direction of transformations of organic matter and mineral substances during composting.

The organic matter and mineral compounds appearing in immature composts transformed in an inappropriate way may result in serious consequences for the environment (Chen et al., 1993, Drozd et al., 1996, 1997, Weber and Jamroz 2004). Among reasons that may delay the process of gaining a mature compost (Bekier 2007) there might be included:

- Inappropriate selection of substrates which may lead to occurrence of mechanical, chemical and biological pollution and also influence morphological properties (wrong fragmentation and mixing) or modify and deteriorate chemical composition of the mass being composted (presence of hardly biodegradable compounds, inappropriate content of basic nutrients);
- Inappropriate technology of composting which accepts application of solutions incompatible with BAT (Best Available Technology) requirements for given kind of waste. According to BAT, each operation both in economical and social aspect ought to be designed in a way which in the most maximal way limits the negative influence on form and quality of environment. Additionally, there may be joined unjustified modifications of the content of the mass being composted (for example a supplement for mineral fertilizers or inoculation with products of microorganisms) and also a possibility of the occurrence of failure which in many cases is a sudden and unexpected event.
- Derogations from compliance with optimal parameters of process of composting, including inconclusive and/or inappropriate application of aeration, irrigation and removing (homogenization) of the mass being composted.

3. Summary

The intromission of compost into the soil environment is connected with the necessity to meet the compost maturity requirements. Only mature composts contribute to the enrichment of soils with shaped humic compounds and to the growth of their abundance in nutrients, which have a positive effect on individual elements of soil fertility. Therefore, there are numerous compost maturity criteria that can be included in four main groups: physical, microbiological, chemical and biological. Of these, chemical indicators are particularly important, which take into account many parameters resulting from the transformation of organic and mineral components during composting.

4. Bibliography

Aritola - Fortuny J., Fuller W. H. 1982: Phenols in municipal solid wastes leachates and their attenuation by clay soils. Soil Sci. 133, 4: str. 218-227.

Baran S., Drozd J. 2004. Odpady komunalne oraz kierunki ich unieszkodliwiania i utylizacji. W: Komposty z odpadów komunalnych - produkcja wykorzystanie i ich wpływ na środowisko. Red. Drozd J., PTSH, Wrocław, 7-27.

Bekier J. 2007. Transformacja materii organicznej oraz składników mineralnych podczas kompostowania odpadów komunalnych. Maszynopis rozprawy doktorskiej, UP Wrocław, ss. 178.

dChanyasak V., Katayana A., Hirai F. M. Mori S., Kubota H. 1983: II. Growth inhibitory factors and assesment of degree of maturity by org-C/org-N ratio of water extract. Soil Sci. Plant Nutr.29,3:215-219.

Chefetz B., Hatcher P. G., Hadar Y., Chen Y., 1996. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. Journal of Environmental Quality 25:776-785.

Chen Y., Inbar Y. 1993. Chemical and spectroscopical analyses of OM transformations during composting in relation to compost maturity. W: Science and Engineering of Composting. Red.. Hoitink H. A. J, Keener H. M. Renaissance Publications, Worthington, OH, str. 551 – 600.

Chen Y., Chefetz B., Hadar Y., 1996. Formation and properties of humic substance originating from composts. In: de Bertoldi M., Sequi P., Lemmes B., Papi T. (eds) The Science of CompostingBlackie Academic &Proffesional, London pp. 382-393.

Chen Y., Chefez B., Adani F., Genevini P., 1997a: Organic Matter Transformation During Composting of Municipal Solid Wastes. W: The Role of Humic Substances in the Ecosystems and in Environmental Protection. J. Drozd, S. S. Gonet, N. Senesi. J. Weber (red.) PTSH, Wrocław: 795-804.

Drozd J., Licznar M., Weber J., Licznar S. E. 1996. Chemiczne indeksy dojrzałości kompostów produkowanych z odpadów miejskich. Zesz. Nauk. Post. Nauk Roln. 437, 1996, str. 139 – 146.

Drozd J., Jamroz E., Licznar M., Licznar E., Weber J. 1997. Organic Matter Transformation and Humic Indices of Compost Maturity Stage During Composting of Municipal Solid Waste W: The Role of Humic Substances in the Ecosystems and in Environmental Protection. Red. Drozd J., Gonet S. S., Senesi N., Weber J. PTSH, Wrocław 1997, 855 – 861.

Drozd J., Licznar M., Patorczyk – Pytlik B., Rabikowska B. 1996 a. Zmiany w składzie chemicznym kompostów z odpadów miejskich w czasie kompostowania. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 437, 1996, str. 123 – 130.

Drozd J., Jamroz E., Licznar M., Licznar E., Weber J. 1997. Organic Matter Transformation and Humic Indices of Compost Maturity Stage During Composting of Municipal Solid Waste W: The Role of Humic Substances in the Ecosystems and in Environmental Protection. Red. Drozd J., Gonet S. S., Senesi N., Weber J. PTSH, Wrocław, str. 855 – 861.

Drozd J., Chen Y., Jamroz E., Licznar M. 2001: Characteristic of humic substances during composting of municipal solid waste. Understanding and Managing Organic Matter in Soils, Sediments and Waters. Swift R., Spark K. K. (red.) IHSS Adelaide.

Drozd J., Licznar M. 2002: Wpływ uwilgotnienia odpadów miejskich na zawartość różnych form makroelementów. Acta Agrophysica 70: 107-116.

Drozd J., Licznar M. 2003: Wpływ uwilgotnienia na przemiany związków węgla i azotu podczas kompostowania stałych odpadów miejskich. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 493:749-758.

Drozd J., Licznar M., Jamroz E. Bekier J. 2003 a. Próchniczne indeksy dojrzałości kompostów. W: Substancje humusowe w glebach i środowisku. Red. Dębska B., Gonet S. S., PTSH, Wrocław 2003, 75 – 94.

Drozd J., Licznar M. 2004: Zmiany makro- i mikroskładników w czasie kompostowania odpadów komunalnych w różnych warunkach uwilgotnienia i przy różnym dodatku mocznika. W: Komposty z odpadów komunalnych, produkcja, wykorzystanie i wpływ na środowisko. Drozd J. (red.) PTSH, Wrocław: 151-170.

Drozd J., Licznar M. 2004 a. Indeksy dojrzałości kompostów wytworzonych w różnych warunkach uwilgotnienia i przy różnym dodatku mocznika. W: Komposty z odpadów komunalnych - produkcja wykorzystanie i ich wpływ na środowisko. Red. Drozd J., PTSH, Wrocław 2004, str. 197 – 216.

Hortenstine C. C., Rothwell D. F., 1973. Pelletized municipal refuse compost as a soil amendment and nutrient source for sorghum. J. Environ. Qual., 2, 343 -345.

Hunt P., Hortenstine C., Eno C. 1972. Direct and indirect effects of composted municipal refuse on plant seed germination. Soil L. Crop Sci. Soc. Florida Proc., 32, 92-95.

Inbar Y., Chen Y., Hadar Y. 1990: Humic substances formed during the composting of organic matter. Soil. Sci. Soc. Amer. J. 54: 1316-1323.

Ishii K., Fukui M., Takii S. 2000. Microbial succesion during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. Journal of Applied Microbiology, Vol. 89, 768 – 777.

Jamroz E., Drozd J. 1999. Organic matter in compost from municipal wastes on some physical properties of the soil. Agrophysics 13, 167-170.

Jamroz E. 2000. Wykorzystanie kompostów z odpadów komunalnych jako podłoży ogrodniczych. Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Rolnictwo, 396, 9-27.

Jamroz E., Drozd J., Licznar M., Weber J. 2004. Wpływ nawożenia gleb kompostami z odpadów komunalnych na wysokość i jakość plonu. W: Komposty z odpadów komunalnych - produkcja wykorzystanie i ich wpływ na środowisko. Red. Drozd J., PTSH, Wrocław 2004, 235-254.

Jędrczak A., 2008. Kompostowanie. W: Biologiczne przetwarzanie odpadów. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, str. 198-219.

Jimenez E.I., Garcia V.P., 1992. Determination of maturity indices for city refuse composts. Agriculture and Environ., 38, str. 331 – 343.

Kononova M. 1968. Substancje organiczne gleby. PWRiL, Warszawa.

Lashermes G., Barriuso E., Houot S., 2012. Dissipation pathways of organic pollutants during the composting of organic wastes. Chemosphere 87, 137–143.

Maćkowiak C., Orzechowska K. 1993. Produkcja, skład chemiczny oraz wartość nawozowa kompostu produkowanego z odpadów miejskich w ciągu technologicznym „DANO". Zesz. Problem. Post. Nauk Roln., 409.

Pare T., Dinel H., Schnitzer M., Dumontes S. 1998: Transformations of carbon and nitrogen during composting of animal manure and shredded paper. Biol. Fert. Soils 26: 173-178.

Saad S., 2001. Processes and balance of organic matter turnover and trans- formation of mineral compounds during decomposition of biogenic material in the presence of soil material. PhD thesis, Georg-August-University Göttingen, Germany, pp 7-34.

Saviozzi A., Levi – Minzi R., Riffaldi R. 1988. Maturity evaluation of organic waste. BioCycle 29, 3, str. 54 – 56.

Schnitzer M., Khan S. U. 1972. Humic substances in the environment (Ed. M. Dekker), New York .

Siebielec G., Barth J., Favoino E. 2004. Gospodarka odpadami organicznymi w krajach Unii Europejskiej. W: Komposty z odpadów komunalnych- produkcja wykorzystanie i ich wpływ na środowisko. Red. Drozd J., PTSH, Wrocław 2004, 28 – 44.

Szajdak L. 2004: Substancje aktywne biologicznie w kompostach z odpadów komunalnych na tle innych podłoży organicznych. W: Komposty z odpadów komunalnych, Produkcja, wykorzystanie i wpływ na środowisko. Drozd J. (red.) PTSH, Wrocław: 186 -196.

Tam N. F. Y., Tiquia S. A., Vrijmoed L. L. P., 1996. Nutrient transformation of pig manure under pig-on-litter system. W: The Science of Composting. Bertoldi M., Sequi P., Lemmes B., Papi T. (red.) Blackie Academic & Professional London. Glasgow. Weinheim. New York. Tokio, Melbourne. Madras: 96-105.

Weber J., Jamroz E., 2004. Wykorzystanie kompostów z odpadów komunalnych w produkcji rolniczej. Wpływ kompostów z odpadów komunalnych na właściwości środowiska glebowego. W: Komposty z odpadów komunalnych, produkcja, wykorzystanie i wpływ na środowisko. PTSH, str. 217-234.

Wong M. H. 1985: Phytotoxity of refuse compost during the process of maturation. Environ. Pollut. Ser.A. 37: str. 159-174.

Yusuf A., Ramdhani S.&S., 2016. Maize and pea germination and seedling growth responses to compost generated from biowaste of selected invasive alien plant species. Compost Science &Utilization, Vol. 24, No. 1, 30-41

Porównanie dwóch metod oceny potencjału antyoksydacyjnego krwi

Aleksandra Kiraga [(1)], Lilla Pawlik-Sobecka [(2)], Izabela Kokot [(2)], Katarzyna Sołkiewicz[(2)], Sylwia Płaczkowska [(3)]

[1] Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
[2] Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
[3] Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
Aleksandra Kiraga: a.kiraga94@gmail.com

Streszczenie
Wolne rodniki tlenowe powstają, jako naturalne produkty metabolizmu komórkowego. Mają one zdolność do oksydacyjnej modyfikacji białek, a także lipidów, co prowadzi do zaburzenia struktury i funkcji komórek oraz tkanek.W odpowiedzi na to zjawisko organizm wykształcił enzymatyczne i nieenzymatyczne mechanizmy obrony antyoksydacyjnej. Obniżenie potencjału antyoksydacyjnego, czyli zdolności do usuwania wolnych rodników tlenowych, jest obserwowane w wielu procesach patologicznych. Celem tego badania było porównanie dwóch najczęściej stosowanych metod pomiaru całkowitego potencjału antyoksydacyjnego surowicy krwi ludzkiej: TAS (ang. Total Antioxidant Status) i FRAP (ang. (Ferric Reducing Ability of Plasma). Grupę badaną stanowiło 153 zdrowych ochotników (40 mężczyzn i 113 kobiet) w wieku 19-31 lat, wśród obydwu grup przeprowadzono analizę statystyczną uzyskanych wyników. Nie zaobserwowano korelacji między TAS i FRAP w żadnej z grup. Wskazuje to, że metody te mierzą potencjał antyoksydacyjny na dwa różne sposoby, dlatego nie należy ich stosować w laboratorium zamiennie,a wyniki uzyskane tymi testami nie są jednoznacznei nie powinny być ze sobą porównywane.

Słowa kluczowe: potencjał antyoksydacyjny, TAS, FRAP

Comparison of two methods for blood antioxidant potential assessment

Summary
Free oxygen radicals are formed as natural products of cellular metabolism. They have an ability for oxidative modification of proteins and lipids which causes disturbance of cells' and tissues' structure and function. Human organisms have formed enzymatic and non-enzymatic mechanisms of antioxidant defense. Attenuation of antioxidant potential (the ability to eliminate oxygen free radicals) is connected to many pathological processes. The study's aim was to compare two most frequently applied methods of antioxidant potential measurements: TAS and FRAP. Study group consisted of 153 healthy volunteers (40 males and 113 females) aged 19-31 years. Results analysis was conducted in two groups: males and females. We did not found correlation between TAS and FRAP in any group. It indicates that these methods measure antioxidant potential in two different ways therefore they should not be used interchangeably in the laboratory and the results obtained with these tests are not equivalent, so they should not be compared.

Keywords: antioxidant potential, TAS, FRAP

1. Wstęp

Tlen cząsteczkowy ma zdolność utlenianiaróżnych związków chemicznych, reagując z nimi może przyjąć od nich elektrony i ulec redukcji. Do pełnej redukcji, w wyniku, której powstanie obojętna chemicznie woda, potrzebuje czterech elektronów. Jeśli jednak nie dojdzie do pełnej redukcji cząsteczki tlenu i przyłączona zostanie mniejsza liczba elektronów, to wówczas produktem reakcji będą reaktywne formy tlenu (RFT), takie jak anionorodnik ponadtlenkowy, nadtlenek wodoru czy rodnik hydroksylowy. Zarówno anionorodnik ponadtlenkowy, jak i rodnik hydroksylowy, są określane mianem wolnych rodników, które

definiuje się, jako cząsteczki zdolne do niezależnego istnienia, posiadające jeden lub więcej niesparowanych elektronów i charakteryzujące się zdecydowanie większą w porównaniu do tlenu cząsteczkowegozdolnością do reagowania z innymi cząsteczkami. Ich wytwarzanie może zachodzić pod wpływem działania czynników zewnętrznych, takich jak promieniowanie jonizujące, nadfioletowe czy ultradźwięki, jednak najważniejszym źródłem RFT są reakcje metaboliczne zachodzące w komórkach np. utlenianie białek oddechowych, niektóre reakcje enzymatyczne, a przede wszystkim metabolizm tlenowy zachodzący w mitochondriach.

Udowodniono, że działanie reaktywnych form tlenu na organizm człowieka ma wiele negatywnych skutków, uszkadzają one, bowiem komórki oraz ich elementy składowe. Jednym z lepiej poznanych procesów, w którym RFT odgrywają istotną rolę, jest peroksydacja lipidów, czyli ich utlenianie przez wolne rodniki, co prowadzi do powstania nadtlenków tych związków. Najczęściej reakcji tej ulegają reszty wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, któresą składową fosfolipidów, a te stanowią główny element budulcowy błon komórkowych.Peroksydacja lipidów prowadzi do ich modyfikacji i uszkodzenia, a - co za tym idzie - zmiany struktury i funkcji błony komórkowej poprzez obniżenie hydrofobowości jej wewnętrznej warstwy, zmianę organizacji dwuwarstwy białkowo-lipidowej, zaburzenie asymetrii lipidowej błon czy ich depolaryzację. W konsekwencji może dojść do wzrostu przepuszczalności błony komórkowej dla substancji polarnych, zaburzenia aktywności enzymów błonowych i białek transportujących, a w ostateczności utraty integralności błon wewnątrzkomórkowych i plazmatycznych.Co więcej, produkty peroksydacji lipidów mogą w efekcie dalszych przemian ulegać rozpadowi do mniejszych fragmentów dając takie związki jak aldehydy, np. dialdehyd malonowy (MDA) i hydroksyaldehydy, które również nie pozostają obojętne dla funkcjonowania komórek. Dowiedziono, iż mogą one wykazywać działanie cytotoksyczne, mutagenne i kancerogenne, mogą też hamować działanie niektórych enzymów czy zmieniać właściwości antygenowe białek, z którymi się łączą.

Reaktywne formy tlenu mogą również reagować z białkami komórkowymi i prowadzić do oksydacyjnej modyfikacji reszt aminokwasowych i składników nieaminokwasowych. W wyniku modyfikacji cząsteczek białek dochodzi do ich agregacji lub fragmentacji. Najczęstszym skutkiem powstawania oksydacyjnie zmienionych białek jest utrata ich biologicznej funkcji. Również kwasy nukleinowe narażone są na działanie RFT, głównie rodnika hydroksylowego, którego przyłączenie powoduje uszkodzeniem zasad nukleinowych,

reszt cukrowych bądź pęknięcia nici kwasów nukleinowych spowodowanego rozerwaniem wiązań fosfodiestrowych.

W odpowiedzi na zagrożenia dla prawidłowego funkcjonowania komórek i tkanek, jakie niosą ze sobą działania RFT, w organizmie powstały enzymatyczne i nieenzymatyczne mechanizmy obronne. Do najważniejszych enzymów, które neutralizują RFT, należą: dysmutaza ponadtlenkowa, która katalizuje reakcję dysproporcjonowania anionorodnika ponadtlenkowego z wytworzeniem nadtlenku wodoru i tlenu, katalaza będąca katalizatorem dysmutacji nadtlenku wodoru oraz peroksydaza glutationowa, która usuwa nadmiar nadtlenku wodoru katalizując reakcję, w której dochodzi do odtworzenia utlenionejcząsteczki glutationu. Nieenzymatycznymi mechanizmami obronnymi określane sądrobnocząsteczkowe antyoksydanty, czyli substancje, które w stosunkowo niewielkich stężeniach mają zdolność do reagowania z wolnymi rodnikami, dzięki czemu zostaje zahamowany lub opóźniony proces utleniania danej cząsteczki. Do najważniejszych antyoksydantów hydrofilowych zalicza się glutation, witaminę C, kwas moczowy, cysteinę oraz kreatyninę, natomiast istotnymi antyoksydantami hydrofobowymi są witamina E, witamina A, bilirubina i biliwerdyna oraz żeńskie hormony płciowe, czyli pochodne estronu i estradiolu.

Należy jednak wspomnieć, że ludzki organizm wykształcił mechanizm, w którym powstające reaktywne formy tlenu wykorzystywane są w reakcjach obronnych, np. podczas wybuchu tlenowego. Wybuch tlenowy jest procesem uwalniania dużej ilości anionorodnika ponadtlenkowego oraz nadtlenku wodoru przez komórki fagocytujące w odpowiedzi na pojawienie się patogenów w ich otoczeniu. Tlen cząsteczkowy ulega redukcji pod wpływem reakcji z wewnątrzkomórkowym NADPH, a enzymem katalizującym reakcję jest oksydaza NADPH. Powstający anionorodnik ponadtlenkowy może następnie ulec dysmutacji z wytworzeniem nadtlenku wodoru. Obie reaktywne formy tlenu są uwalniane na zewnątrz komórki lub do wnętrza fagosomów i wykazują efekt bakteriobójczy.

Do prawidłowego funkcjonowania organizmu konieczne jest zachowanie równowagi pomiędzy wytwarzaniem a usuwaniem reaktywnych form tlenu. Jeśli jednak dojdzie do zaburzenia tej równowagi na skutek zwiększonej produkcji RFT, czy też upośledzonego działania mechanizmów antyoksydacyjnych, komórki zostają narażone na wzmożone działanie wolnych rodników. Zjawisko to zostało nazwane stresem oksydacyjnym. Liczne badania wykazały występowanie stresu oksydacyjnego w wielu chorobach, wysnuto, więc wniosek, że reaktywne formy tlenu mogą pełnić istotną rolę w patogenezie tych schorzeń. Za jedno z istotniejszych źródeł stresu oksydacyjnegouważa się stan zapalny, w którym duża liczba pobudzonych fagocytów wytwarza znaczne ilości anionorodnika ponadtlenkowego.

Innymi stanami przebiegającymi ze stresem oksydacyjnym jest m.in. reumatoidalne zapalenie stawów (wzmożona generacja RFT w maziówce stawowej), miażdżyca (pobudzone monocyty oraz makrofagi wytwarzają RFT, które to utleniają LDL (ang. Low Density Lipiprotein) do ox-LDL), cukrzyca, choroba Parkinsona, choroba Alzheimera, nowotwory, AIDS, grypa i wiele innych.

Znając skutki działania reaktywnych form tlenu oraz ich udział w występowaniu licznych chorób dostrzeżono potrzebę oceny potencjału antyoksydacyjnego, czyli zdolności organizmu do usuwania wolnych rodników. Znajomość wielkości tego parametru, dostarcza osobie badanej istotnych informacji na temat rezerwy antyoksydacyjnej organizmu, wydolności mechanizmów antyoksydacyjnych i ewentualnej potrzeby suplementacji antyoksydantówdrobnocząsteczkowych, np. witaminą C, E czy A. Istnieją dwa sposoby oceny potencjału antyoksydacyjnego. Pierwszy z nich to oznaczanie stężeń poszczególnych antyoksydantów drobnocząsteczkowych lub aktywności enzymów antyoksydacyjnych, jednak jest to procedura czasochłonna, kosztowna i wymagający dużego nakładu pracy. Drugi zaś to oznaczenie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego za pośrednictwem jednego testu diagnostycznego, co wydaje się być opcją korzystniejszą zarówno dla pacjenta ze względu na możliwość oceny całkowitej rezerwy antyoksydacyjnej, jak i dla laboratorium, ze względów ekonomicznych. Pomimo istnienia wielu dostępnych metod oceny potencjału antyoksydacyjnego większość z nich wciąż nie jest możliwa do zastosowania w rutynowym laboratorium medycznym, ponieważ aktualnie tylko dla TAS opracowana jest metoda dostępna komercyjnie, a pozostałe oznaczenia pozostałych parametrów wykonywane są manualnie.

2. Cel badania

Celem badania było porównanie dwóch najczęściej stosowanych metod pomiaru całkowitego statusu antyoksydacyjnego surowicy krwi ludzkiej: TASi FRAP, ocena powiązania wyników uzyskanych przy użyciu tych dwóch metod ze stężeniami oksydacyjnie zmodyfikowanych białek i lipidów obecnych w surowicy krwi oraz sprawdzenie zależności między stężeniem kwasu moczowego, a wartością potencjału antyoksydacyjnego oznaczonego obiema metodami.

3. Materiały i metody

Grupę badaną stanowiło 153 zdrowych ochotników (40 mężczyzn i 113 kobiet) w wieku 19-31 lat. Od osób tych pobrano krew żylną na czczo do probówek z dodatkiem aktywatora krzepnięcia, pozostawiono do całkowitego wykrzepienia, a następnie próbki wirowano w celu oddzielenia surowicy. W otrzymanej surowicy oznaczono: całkowity

potencjał antyoksydacyjny (TAS), zdolność redukowania jonów żelaza (FRAP), stężenie grup tiolowych białek, stężenie zaawansowanych produktów utleniania białek (AOPP), stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBAR) i stężenie kwasu moczowego. Próbki badane przechowywano w temperaturze -20°C do czasu wykonania badań laboratoryjnych.

- TAS

  Zasada metody: w środowisku reakcji znajduje się 2,2'-azynobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), nadtlenek wodoru i mioglobina o aktywności pseudoperoksydazy. Pod wpływem działania mioglobiny i nadtlenku wodoru generowane są wolne rodniki, które utleniają bezbarwny ABTS do kationorodnika $ABTS^{\bullet+}$ o charakterystycznym zielono-niebieskim zabarwieniu. Obecne w próbce badanej antyoksydanty spowalniają zmianę barwy roztworu, ponieważ wchodzą w pierwszej kolejności w reakcje z wolnymi rodnikami oraz redukują kationorodnik $ABTS^{\bullet+}$.

  Oznaczenie wykonano przy użyciu gotowych odczynników firmy Randox z wykorzystaniem analizatora Konelab 20i. Do kalibracji metody użyto Troloxu – rozpuszczalnego w wodzie odpowiednika witaminy E. Wyniki pomiaru podawane są w milimolach ekwiwalentów Troloxu/litr.

- FRAP

  Zasada metody: obecne w środowisku reakcji Fe^{3+} ulegają redukcji do jonów Fe^{2+} pod wpływem działania zawartych w próbce badanej antyoksydantów, a następnie są kompleksowane przez TPTZ (2,4,6-tripirydylo-S-triazynę) z utworzeniem charakterystycznej niebieskiej barwy. Intensywność uzyskanego zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia antyoksydantów w materiale badanym. Krzywa wzorcowa została przygotowana przy użyciu roztworu wzorcowego 1,0 mM $FeSO_4$. Wyniki pomiaru podawane są w milimolach ekwiwalentów jonów żelazowych/litr.

- TBARs

  Zasada metody: obecne w surowicy produkty peroksydacji lipidów wchodzą w reakcję z kwasem tiobarbiturowym w środowisku kwaśnym i podwyższonej temperaturze. Produktem tej reakcji jest addukt o charakterystycznym różowym zabarwieniu, którego stężenie można ocenić metodą spektrofotometryczną.Stężenie TBARs zostało obliczone zapomocą milimolowego współczynnika absorpcji równego 156 $mM^{-1}cm^{-1}$ i wyrażone w nmol/ml.

- AOPP

  Zasada metody: stężenie zaawansowanych produktów utleniania białek mierzy się spektrofotometrycznie i kalibruje za pomocą roztworów chloraminy T o odpowiednich stężeniach, które w obecności jodku potasu wykazują absorbancję przy długości fali 340 nm. Zakres stężeń roztworów chloraminy T użyty do wykonania krzywej kalibracji wynosił: 0-100 µmol/L. Stężenie AOPP w badanej surowicy zostało wyrażone w µmol/litr równoważnika chloraminy.

- Oznaczanie zawartości grup tiolowych białek

  Zasada metody: obecne w próbce badanej grupy tiolowe białek reagują z zawartym w środowisku reakcji kwasem 5,5´-ditiobis (2-nitrobenzoesowym), co prowadzi do uwolnienia anionu 5-tio-2-nitrobenzoesowego, który charakteryzuje się intensywnie żółtym zabarwieniem. Intensywność zabarwienia można mierzyć metodą spektrofotometryczną.

  Krzywa wzorcowa została przygotowana przy użyciu roztworów wzorcowych glutationu o stężeniu 0-1 mmol/l.

- Oznaczanie stężenia kwasu moczowego

  Oznaczenie wykonano przy użyciu gotowych odczynników firmy ThermoScientific metodą z mtoluidyną(TOOS),z wykorzystaniemanalizatora biochemicznego Konelab 20i.

Wyniki uzyskane powyższymi metodami analizowano za pomocą testu korelacji rang Spearmana. Ze względu na występowanie fizjologiczne wyższych stężeń kwasu moczowego u mężczyzn analizę rezultatów przeprowadzono w dwóch grupach: mężczyzn i kobiet.

4.Wyniki

Analiza uzyskanych wyników wskazała, żemediana wartości TAS i FRAP w całej analizowanej grupie wynosiła odpowiednio: 1,38 mmol/l i 0,94 mmol/l.Wyniki oceny potencjału antyoksydacyjnego ocenianego porównywanymi metodami TAS i FRAP nie wykazałyistotnych korelacji w żadnej z analizowanych grup. Zarówno dla TAS, jak i FRAP, nie zaobserwowano istotnych korelacji ze stężeniami oksydacyjniezmodyfikowanych białek i lipidów. Zaobserwowano natomiast istotną korelację pomiędzy TAS i stężeniem grup tiolowych białek u mężczyzn i bardzo słabą u kobiet. Korelacja między FRAP i kwasem moczowym była silna u mężczyzn i słabsza u kobiet, podczas gdy dla TAS taka zależność była obserwowana tylko u mężczyzn. Uzyskane współczynniki korelacji przedstawiono w tabeli nr 1.

Tabela nr 1. Wartości uzyskanych współczynników korelacji wraz z poziomem istotności statystycznej (opracowanie własne)

Korelacje rang Spearmana		r	p
Kobiety			
TAS	Grupy tiolowe	0,19	0,043
FRAP	Kwas moczowy	0,50	0,047
Mężczyźni			
TAS	Grupy tiolowe	0,47	<0,002
	Kwas moczowy	0,32	0,047
FRAP	Kwas moczowy	0,76	<0,001

5. Dyskusja

Pomimo istnienia wielu metod pomiaru całkowitego potencjału antyoksydacyjnego wciąż nie udało się wprowadzić żadnej z nich do rutynowego stosowania w klinicznych laboratoriach diagnostycznych. Z tego powodu celem pracy było porównanie dwóch najczęściej stosowanych w badaniach naukowych metod oceny całkowitego potencjału antyoksydacyjnego krwi: TAS i FRAP. Uzyskane wyniki wskazują, iż testy te nie są ze sobą istotnie skorelowane. Przyczyn takiego rezultatu można upatrywać w dwóch różnych mechanizmach, na których opierają się badane metody. Test FRAP mierzy antyoksydacyjny efekt kwasu moczowego, bilirubiny, witaminy C, witaminy E, polifenoli, jednak efekt ten wywierany przez grupy tiolowe białek (które zaraz za kwasem moczowym stanowią główny komponent antyoksydacyjny surowicy) w tej metodzie jest słaby ze względu na niskie pH środowiska reakcji. Sytuacja ta nie ma natomiast miejsca w teście TAS. Brak istotnej korelacji między TAS i FRAP był obserwowany już wcześniej, aczkolwiek istnieją również doniesienia, w której stwierdzonoistotną korelację między wynikami uzyskanymi obiema metodami. Należy zwrócić jednak uwagę, że w przytoczonej analizie grupa osób badanych była mało liczna; w przypadku przeprowadzonego przez nas doświadczenia grupa ta była większa. Rozbieżność wyników porównania dwóch głównych metod oceny całkowitego statusu antyoksydacyjnego uzyskiwanych przez różnych naukowców wskazuje na konieczność przeprowadzania dalszych badań i doskonalenia istniejących już testów.

W naszej pracy niezaobserwowaliśmy również istotnej korelacji pomiędzy wynikami uzyskanymi zarówno testem TAS, jak i FRAP, a stężeniem oksydacyjnie zmodyfikowanych białek i lipidów. Może być to związane z wiekiem badanych osób. Analizie poddana była grupa osób młodych, w przedziale 19-31 lat, z której wszystkie deklarowały się, jako osoby zdrowe. W związku z tym mechanizmy antyoksydacyjne w ich organizmach powinny funkcjonować prawidłowo, a stężenie oksydacyjnie zmienionych białek i lipidów nie jest nieznaczne. Dlatego też warto byłoby przeprowadzić takie samo badanie w grupie osób w starszym wieku.

Wyniki uzyskane dla porównania poziomu potencjału antyoksydacyjnego i stężenia grup tiolowych białek wykazały istotną korelację dla testu TAS oraz jej brak dla testu FRAP. Potwierdza to, iż w metodzie FRAP udział grup tiolowych białek w mierzonym potencjalne antyoksydacyjnym jest niewielki, o czym wspomniano wcześniej.

Kwas moczowy jest uznawany za jeden z najważniejszych antyoksydantów występujących fizjologicznie we krwi. Twierdzi się również, iż ma on największy udział w całkowitym potencjale antyoksydacyjnym surowicy krwi.Wykazana korelacja między stężeniem kwasu moczowego a wynikami testów TAS i FRAP potwierdza te doniesienia. Należy jednak zauważyć, że korelacja ta była słabsza u kobiet (w metodzie FRAP) bądź nie zaobserwowano jej w ogóle (w metodzie TAS), co ma związek z fizjologicznie niższym stężeniem kwasu moczowego we krwi u kobiet. Podobnie korelacja między stężeniem grup tiolowych białek a wartościami TAS była znacznie słabsza u kobiet niż u mężczyzn. Można zastanawiać się, czy powodem takich wyników nie jest znaczący udział estrogenów, które uznawane są za bardzo silne antyoksydanty, w całkowitym potencjale antyoksydacyjnym. Obie porównywane metody nie mierzą udziału tych hormonów w mechanizmach antyoksydacyjnych.

6. Wnioski

Potencjał antyoksydacyjny mierzony za pomocą testu FRAP był związany głównie ze stężeniem kwasu moczowego i zdecydowanie wyraźniej widoczny u mężczyzn. Natomiast potencjał antyoksydacyjny oceniany metodą TAS był zależny od stężenia kwasu moczowego tylko u mężczyzn. Brak korelacji między TAS i FRAP wskazuje, że metody te mierzą potencjał antyoksydacyjny na dwa różne sposoby, a wyniki uzyskane tymi metodami nie są jednoznaczne. Poczynione obserwacje prowadzą do wniosku, iż wyniki uzyskane przy użyciu testu FRAP oraz TAS nie powinny być ze sobą porównywane, a analizowanych metod nie należy stosować w laboratorium zamiennie. Ze względu na udowodniony udział wolnych rodników w patogenezie wielu chorób pomiar potencjału antyoksydacyjnego, jako rezerwy antyoksydacyjnej (czyli zdolności do zmiatania wolnych rodników w stanach zaburzenia równowagi oksydacyjnej) jest wskazany i przydatny, ale wymaga jeszcze wielu badań i przystosowania metodyki do wymagań diagnostyki laboratoryjnej.

7. Literatura

Bartoń H., Fołta M., Zachwieja Z. Zastosowanie metod FRAP, ABTS i DPPH w badaniu aktywności antyoksydacyjnej produktów spożywczych. Nowiny Lekarskie. 2005, 74, 510-513.

Bartosz G. Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2004.

Czajka A. Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu. Nowiny Lekarskie. 2006, 75, 582–586.

Erel O., A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation, Clinical Biochemistry2004, 37, 277 – 285.

Karolkiewicz J. Wpływ stresu oksydacyjnego na strukturę i funkcję komórek oraz konsekwencje wynikające z uszkodzeń wolnorodnikowych — związek z procesami starzenia. Gerontologia Polska. 2011, 2, 59-67.

Kulbacka J., Saczko J., Chwiłkowska A. Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. Polski Merkuriusz Lekarski. 2009, Tom XXVII,44-47.

Potargowicz E. i wsp. Mitochondria jako źródło reaktywnych form tlenu. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (online). 2005, 59, 259-266.

Rice-Evans C.A., Diplock A.T., Symons M.C.R.: Techniques in free radical research. Amsterdam, Elsevier Sci Publ. BV, 1991.

Salmanowicz B., Noczyńska A., Krzystek-Korpacka M. Ocena markerów oksydacji białek (AOPP) i lipidów (TBARs) u dzieci z cukrzycą typu 1. Endokrynologia Pediatryczna. 2009, 8, 33-44.

Witko-Sarsat V., Friedlander M., Capeillere-Blandin C. et al.: Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. Kidney Int., 1994:49, 1304-1313.

Aktywność reduktazy azotanowej i azotynowej liści roszponki warzywnej

Ewelina Knop [(1)]

[1] Instytut Geograficzno-Biologiczny; Uniwersytet Pedagogiczny im KEN w Krakowie
Ewelina Knop: ewelinaknop@outlook.com

Streszczenie
Proces redukcji azotanowej w organizmie roślin składa się z dwóch etapów. Pierwszym etapie polega na redukcji azotanów do azotynów przez enzym reduktazę azotanową. Natomiast w drugim etapie azotyny zostają zredukowane do jonów amonowych przez enzym reduktazę azotynową. Metabolizm azotanów u roślin regulowany jest m.in. światłem. W centrum zainteresowania pozostaje stężenie azotanów w jadalnych częściach roślin. Celem doświadczenia było zbadanie aktywność reduktazy azotanowej i azotynowej liści roszponki. Materiał roślinny był doświetlany przy użyciu lamp LED. Kontrole stanowiły rośliny doświetlane lampą sodową (HPS). Materiał analizowano po 30 doświetlania. Testowano kolejność doświetlania na aktywność reduktazy azotanowej i azotynowej roszponki warzywnej. Natomiast udowodniono, że doświetlanie zróżnicowanym promieniowaniem stymuluje aktywność reduktazy azotynowej w liściach roszponki. Obiekt traktowany wyłącznie światłem czerwonym miał niższą aktywność reduktazy azotynowej.

Słowa kluczowe: redukcja azotanów, redukcja azotynów, doświetlanie,

Nitrate and nitritereductaseactivity in the leaves of lamb'slettuce

Summary
The process of reducingnitrate in the body plant consists of twostages. The first stageinvolves the reduction of nitrate to nitrite by enzyme nitrate reductase. However, in the second stage nitrite sare reduced to nitrite ammoniumions by enzyme nitrite reductase. Nitrate concentration in edibleparts of plantsisstillat the center of interest. Nitrate metabolism in plantsisregulatedamongothers by light. The aim of the experiment was to investigate the activity of nitrate and nitritereductase in the leaves of lamb'slettuce. The plant material was lit by using LED lamps. Controls wereplantswhich was lighting of lamp sodium (HPS). Material for analysis after 30 days of lighting. It was tested the order of lighting on the activity of nitratereductase in lamb'slettuce. On the otherhand, it was provedthatheadlights of diverseradiationwillstimulate the activityofnitritereductase in leaves of lamb'slettuce. Object was treatedonly the red lightithas the loweractivity of nitritereductase.

Keywords: reduction of nitrate, reduction of nitrite, headlights,

1.Wstęp

Jednym z pierwiastków niezbędnych do rozwoju i wzrostu roślin jest azot. Głównym źródłem azotu dla rośliny są azotany, które w komórkach roślinnych redukowane są do azotynów, a następnie do jonów amonowych lub są magazynowane w wakuoli. Redukcja azotanów do azotynów katalizowana jest przez enzym reduktazę azotanową i jest to pierwsza reakcja w szlaku asymilacji azotu przez rośliny (Sacała i in. 2005).

Drugi etap oparty jest na redukcji azotynów do jonów amonowych katalizowanych przez reduktazę azotynową, poprzez przeniesienie sześciu elektronów ze zredukowanej ferredoksyny na azotyn. Metabolizm azotowy odgrywa ważną rolę we wzroście i rozwoju roślin oraz pośredniczy procesach odpowiadających za odporność roślin na stresy środowiskowe. Asymilacja azotanów odgrywa ogromną rolę w przyswajaniu azotu przez rośliny (Luciński i in. 2002).

- Budowa reduktazy azotanowej

Reduktaza azotanowa (NR) jest dużym homodimerycznym enzymem o masie cząsteczkowej 200–500 kDa, należy do grupy białek enzymatycznych zawierających cytochrom b5, obejmującej reduktazę siarczanową oraz dehydrogenazę mleczanową. Reduktaza azotanowa może występować w komórkach w trzech formach: wolnej (aktywnej), ufosforylowanej (aktywnej) oraz połączonej z białkiem reulatorowym 14–3–3 (nieaktywnej). Enzym zbudowany jest z dwóch identycznych podjednostek. Każda podjednostka zawiera polipeptyd o masie około 100kDa, który posiada około 900 reszt aminokwasowych. Polipeptyd ma trzy domeny zawierające trzy różne centra redoks uczestniczące w transporcie elektronów. Pierwsza domena zawiera dinukleotydflawino –adeninowy (FAD), druga domena zawiera żelazo hemowe i została zidentyfikowana, jako cytochrom b557. Natomiast trzecia domena posiada kofaktor molibdenowy – molibdenopterynę. Domena wiążąca kofaktor molibdenowy znajduje się na N – końcu białka i zarazem stanowi połowę całej proteiny. Domena wiążąca żelazo hemowe zajmuje centralny rejon białka, a domena z grupą FAD położona jest na C–końcu monomeru (Reda i in.2000).

- Aktywność reduktazy azotanowej

Działanie NR jest zależne od czynników zewnętrznych i czynników wewnętrznych. Kompleksowa regulacja aktywności enzymu NR podlega wielokierunkowej regulacji na poziomie genetycznym, jak i posttranslacyjnym. Aktywność enzymu jest ściśle powiązana ze szlakami przemian związków węglowych, a także z procesem fotosyntezy.

Świetlna regulacja transkrypcji genów kodujących reduktazy azotanowej ma złożony charakter i jest także zależna od metabolitów występujących w procesie fotosyntezy. Wielokrotne badania udowodniły, iż w procesie fotosyntezy pośredniczą produkty fazy ciemnej, cukry takie jak glukoza, sacharoza czy fruktoza wpływają na syntezę NR–mRNA oraz aktywność enzymu reduktazy azotanowej (Lillo 2004).

Światło wpływając na intensywność fotosyntetyczną przyczynia się do wzrostu syntezy szkieletów węglowych niezbędnych do asymilacji zredukowanych form azotu oraz jest głównym czynnikiem regulującym aktywność reduktazy azotanowej i azotynowej. Zarówno niska intensywność światła, jak i krótki dzień powodują wzrost zwartości azotanów w roślinach. Związane jest to z wpływem światła na aktywność NR oraz procesu fotosyntezy. Światło absorbowane przez rośliny wpływa na ilość i aktywność enzymu reduktazy azotanowej także poprzez wytwarzanie cukrów w czasie procesu fotosyntezy. Niektóre cukry mają zdolność stymulacji ilości i aktywności reduktazy azotanowej, ich brak wpływa negatywnie na ekspresję enzymu. Synteza białka enzymatycznego reduktazy azotanowej oraz

aktywność tego enzymu jest regulowana także przez światło za pomocą fitochromu. Światło absorbowane przez fitochrom, zwiększało ekspresję genów Nia, a tym samym wpływało na aktywność reduktazy azotanowej (Lillo 2004).

Regulacja aktywności enzymu NR na poziomie posttranslacyjnym podlega odwracalnym lub nieodwracalnym modyfikacjom struktur białka enzymatycznego reduktazy azotanowej, wpływającym na aktywność kataboliczną enzymu. Aktywność reduktazy azotanowej zwiększa się podczas defosforylacji białka NR, natomiast zmniejsza się w czasie fosforylacji białka enzymu. Regulacja aktywacji NR na poziomie posttranslacyjnym, jest ściśle związana z odziaływaniem światła oraz aktywnością procesu fotosyntezy. Spadek aktywności reduktazy azotanowej obserwuję się po przeniesieniu roślin ze strefy światła do strefy ciemności. Natomiast przeniesienie roślin do strefy światła, powoduje wzrost aktywności enzymu. Efekt oświetlenia niwelowany jest przez zastosowanie odpowiednich enzymów kinaz oraz fosfataz (Reda i in.2000).

- Reduktaza azotynowa

Po redukcji azotanu do azotynu pod wpływem enzymu reduktazy azotanowej (NR) w cytoplazmie komórki roślinnej następuję drugi proces redukcji azotynów. Odbywa się on w chloroplastach lub plastydach gdzie dalszą reakcję redukcji azotynów katalizuje enzym reduktaza azotynowa (NiR). Rośliny podczas tego procesu wykorzystują ferredoksynę utworzoną w procesie fotosyntezy, jako donora elektronów lub w cyklu pentozofosforanowym (Lillo 2004).

Reduktaza azotynowa jest monomerem o masie cząsteczkowej około 60 kDa oraz posiada grupę prostetyczną sirohemową z układem 4Fe – 4S w części aktywnej. Enzym ma duże powinowactwo do substratu i kilkakrotnie większą aktywność od reduktazy azotanowej. Dzięki tym właściwościom azotyny nie gromadzą się w dużych stężeniach i nie są szkodliwe dla organizmu. W dużych ilościach azotyny stają się toksyczne przez zdolność do reakcji z grupami hemowymi i aminowymi aminokwasów oraz puryn i pirymidyn (Reda i in. 2000). W tkankach roślinnych fotosyntetyzujących enzym NiR występuje w chloroplastach, a redukcja związku ferredoksyny związana jest ściśle z transportem elektronów w trakcie fotosyntezy, dlatego cały proces jest zależny od działania światła. Natomiast w niefotosyntetycznych tkankach roślinnych reduktaza azotynowa występuję w plastydach, a związki ferredoksyny są zredukowane po przez NADPH, który powstał w szlaku pentozofosforanowym. Światło ma istotny wpływ na ilość NiR – mRNA oraz białka reduktazy azotynowej. Wszystkie reakcję związane z działaniem światła są ściśle regulowane przez stan fotostacjonarnyfitochromu roślin (Lillo 2004).

- Roszponka warzywna

Materiałem badawczym była roszponka warzywna *(Valerianellalocusta)*, jednoroczna lub dwuletnia roślina naczyniową. Należy do odmiany botanicznej sałaty liściowej. Ze względu na swoje walory odżywcze i niski indeks glikemiczny polecana jest w trakcie stosowania diet (preferowana dla cukrzyków). Zawarta w niej witamina A korzystnie działa na samopoczucie, cerę, paznokcie oraz na poprawę apetytu. Roszponka warzywna posiada bogaty skład odżywczy, mimo to może także wpływać negatywnie na organizm. Jest to związane ze zdolnością rośliny do akumulacji azotanów w komórkach. W tym celu prowadzi się szereg badań, dążących do obniżenia poziomu azotanów w roślinach. Zawartości azotanów w liściach roszponki warzywnej można kontrolować wykonując analizy aktywności reduktazy azotanowej oraz azotynowej (Kozik 2006).

Nasiona roszponki warzywnej możemy wysiewać od marca na zbiór przedwiosenny oraz do końca sierpnia na zbiór późnojesienny i zimowy. Okres wegetacji jest krótki i trwa około 6–8 tygodni. Roszponka posiada płytki system korzeniowy, dlatego preferuje stanowiska dobrze nawilżone. W przypadku braku odpowiedniej wilgotności liście stają się bardziej gorzkie, jednak nie można przesadzać z ilością nawilżenia, ponieważ powoduje to gnicie roślin. Odpowiednie dla roszponki są stanowiska słoneczne lub półcieniste. Roślina powinna być uprawiana na glebach gliniasto – piaszczystych, pH około 6–7 w systemach przepływowych lub doniczkach z substratem torfowym (Badełek i in.2005).

Rys.1 Roszponka warzywna w uprawie szklarniowej (fot. E. Knop)

- Doświetlanie lampamiLED

W ostatnich latach coraz szersze zastosowanie w doświetleniu roślin znajdują półprzewodnikowe źródła światła LED. Lampy LED wykazują większą trwałość niż zwykłe

lampy sodowe. Są wytrzymałe na uszkodzenia mechaniczne. Oprócz tego dają oszczędność energii, można je zasilać niskim napięciem, a także wykazują wysoką sprawność działania. Diody LED w przeciwieństwie do lamp sodowych HPS większą część pochłanianej energii zamieniają na światło, a niewielką ilość przekształcają na ciepło. Dzięki temu lampy LED w okresie wysokich temperatur obniżają koszty klimatyzacji. Nowoczesne doświetlanie lampami LED nie zanieczyszcza środowiska, a także jest tanie i proste w użyciu. Diody LED umożliwiają uzyskiwanie światła w wąskim zakresie pasma spektralnego, a tym samym dobranie takiego zakresu widma, które jest korzystne dla rozwoju roślin (Lisiecki2012).

2. Materiał imetody

Celem doświadczenia było określenie wpływu doświetlania przez lampy o różnej charakterystyce spektralnej (lampy LED) na aktywność NR i NiR liści roszponki.

Nasiona roszponki warzywnej wysiewano do substratu torfowego Klassmann KTS – 2:

Pierwszy termin wysiewu: 1 październik (uprawa jesienna) terminI

Drugi termin wysiewu: 13 grudnia (uprawa zimowa) terminII

Po wschodach roślin włączono lamy LED. Używano 200 W lamp LED o różnej charakterystyce spektralnej. Doświetlanie roślin było tak ustawione, aby dzień miał 12 h. Uzyskano promieniowanie na poziomie roślin o wartości 200 μmol $m^{-2}s^{-1}$. Tabela nr 1 przedstawia kombinacje przeprowadzonegodoświadczenia.

Tabela 1. Kombinacje przeprowadzonego doświadczenia

Kombinacja	Kodstanowiska	Promieniowanieemitowaneprzezlampy o różnejcharakterystycespektralnej (Lampy LED ilampysodowe HPS)
1	R 100	100% czerwone LED
2	R 70 B30	70 % czerwone 30 % niebieskie LED
3	R 50 B50	50 % czerwone 50 % niebieskie LED
4	R 90 B10	90 % czerwone 10% niebieskie LED
5	W(cool)	Lampabiałazimna LED
6	W(warm)	Lampabiałaciepła LED
7	HPS	Lampasodowa (HPS) - kontrola

Rośliny zbierano po 30 dniach doświetlania w obu cyklach uprawowych. Pobrany materiał mrożono w ciekłym azocie i -80^{o}C. Przeprowadzono analizę aktywności NR i NiR. Pomiar został wykonany w spektrofotometrze ”U-2900” przy długości fali 540nm.

Metodaanalityczna –opisana przez Buczka (1976)

- zasada oznaczania aktywności NR polega na pomiarze jonów azotynowych (NO^{2-}) produkowanych przez enzymw czasie trwania reakcji.

- zasada oznaczania aktywności NiR polega na pomiarze ubytku jonówazotynowych redukowanych przez reduktazę w określonej jednostce czasu.

- Analiza statystyczna

Wyniki aktywności NR i NiR liści roszponki warzywnej w doświadczeniu przeprowadzonym dla stanowisk doświetlanych przez lamy LED o różnej charakterystyce spektralnej, zostały poddane analizie statystycznej z użyciem programu statystycznego STATISTICA 10 (StatSoft). Średnie porównano z użyciem analizy wariancji (ANOVA) i testu NIR-FISHERA (więcej niż dwie średnie) oraz testu t – Studenta (dwie średnie). Przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$ dla wszystkich analiz gdzie: $p < \alpha$ – różnice statystycznie istotne, $p > \alpha$ – różnice statstycznie nieistotne. W prezentowanych wykresach litery przy średnich oznaczają grupy jednorodne, brak liter oznacza brak istotnie statystycznych różnic.

3. Wyniki

Wykonano analizę aktywności NR i NiR liści roszponki warzywnej w terminie jesiennym (termin I) i zimowym (termin II), po 30 dniach doświetlania.

- Aktywność NR liści roszponki warzywnej

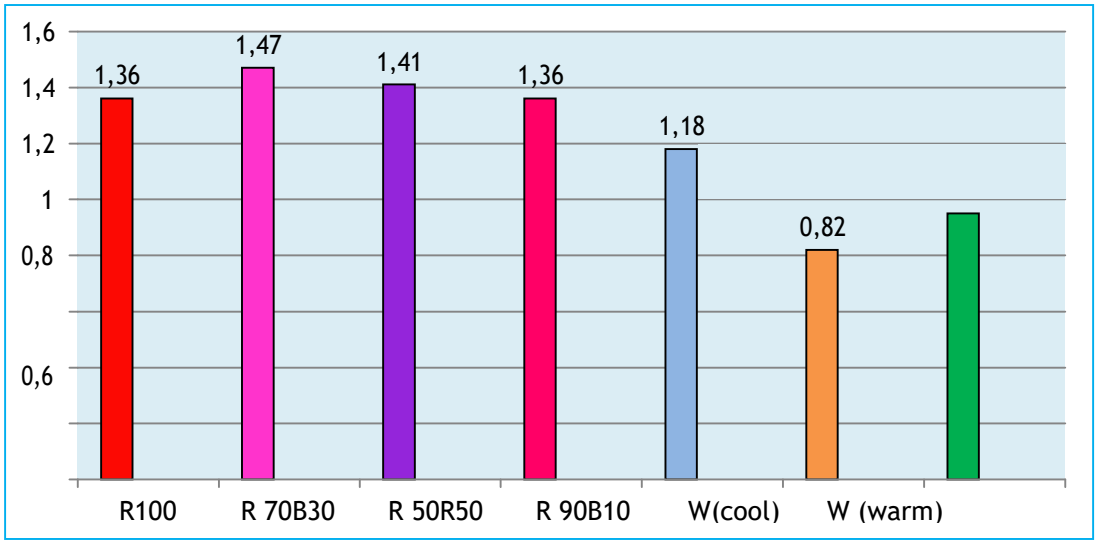


Tabela 1. Aktywność reduktazy azotanowej [$\mu \cdot g^{-1}$ ś.m.$\cdot h^{-1}$] liści roszponki warzywnej, [termin I – jesienny, po 30 dniach doświetlania] (p= 0,24; n=6)

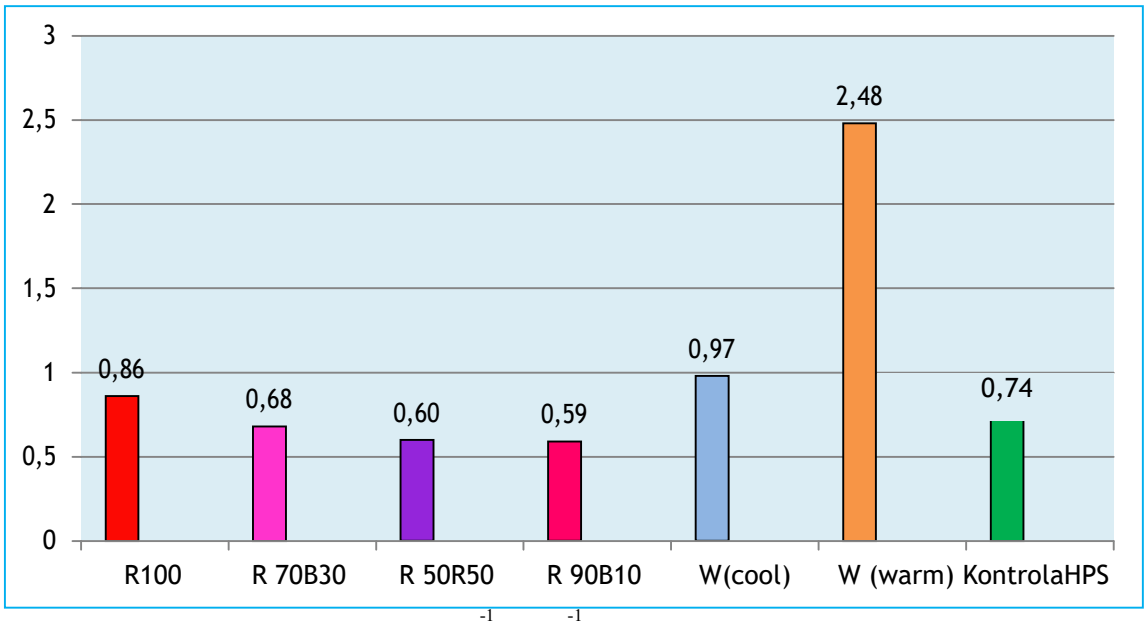


Tabela 2. Aktywność reduktazyazotanowej[$\mu \cdot g^{-1}$ ś.m.$\cdot h^{-1}$] liści roszponki warzywnej, [termin II – zimowy, po 30 dniach doświetlania] (p= 0,54; n=6)

Wyniki aktywności NR liści roszponki warzywnej w terminie jesiennym (tabela nr 1) i zimowym (tabela nr 2), po 30 dniach doświetlania nie różniły się istotnie statystycznie.

- Aktywność reduktazy azotynowej liści roszponki warzywnej

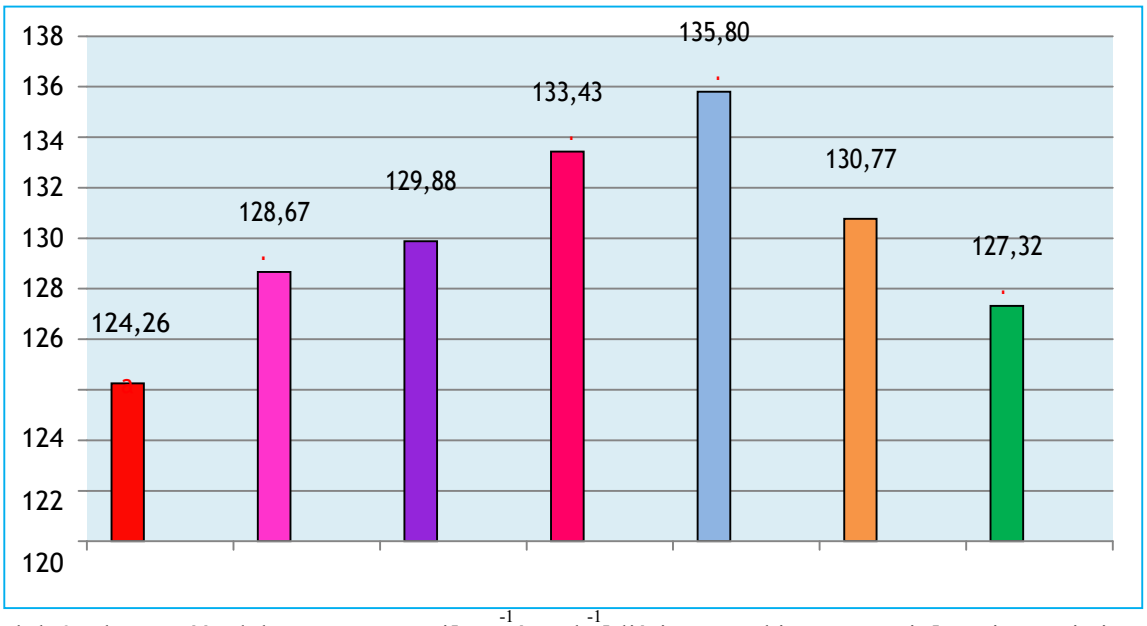


Tabela 3. Aktywnośćreduktazyazotynowej[$\mu \cdot g^{-1}$ ś.m.$\cdot h^{-1}$] liści roszponki warzywnej, [termin II – jesienny, po 30 dniach doświetlania] (p= 0,000000; n=6)

Przedstawiona aktywność NiR (tabela nr 3) różniła się istotnie statystycznie. Najwyższypoziom aktywności NiR zaobserwowano przy lampie LED białej zimnej. Najniższą aktywność odnotowano przy lampie LED 100% światło czerwone.

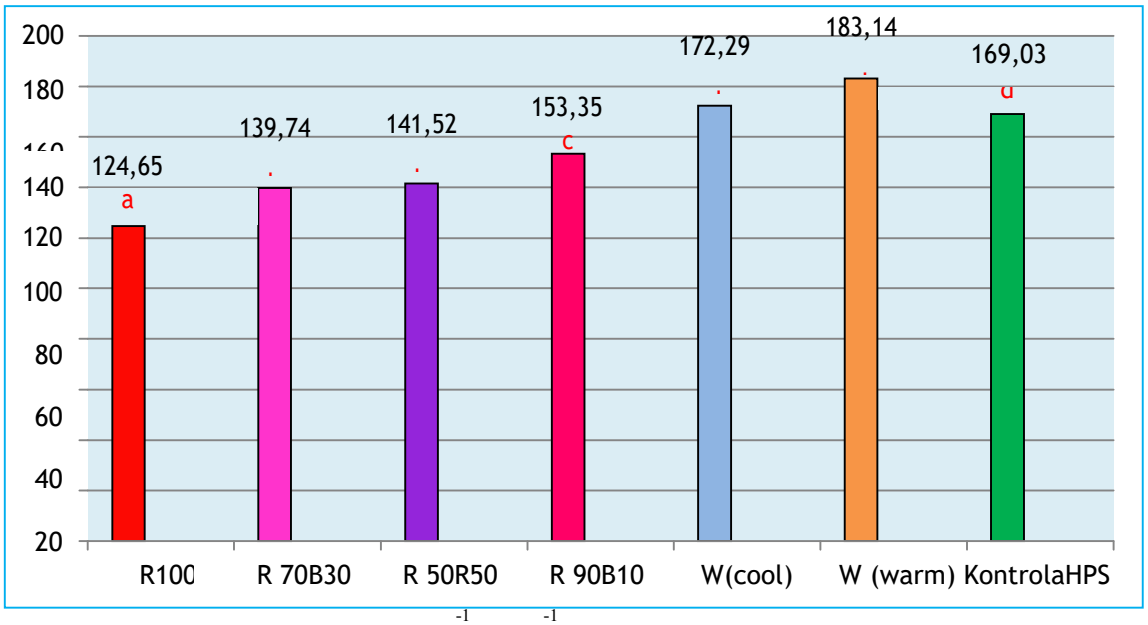


Tabela 4. Aktywnośćreduktazyazotynowej[$\mu \cdot g^{-1}$ ś.m.$\cdot h^{-1}$] liści roszponki warzywnej, [termin II – zimowy, po 30 dniach doświetlania] (p= 0,000000; n=6)

Przedstawiona aktywność NiR (tabela nr 4) różniła się istotnie statystycznie. Najwyższypoziom aktywności NiR zaobserwowano przy lampie LED białej ciepłej i zimnej oraz kontroli. Najniższą aktywność odnotowano przy lampie LED 100% światło czerwone.

4. Dyskusja

Celem doświadczenia było ustalenie wpływu doświetlania o zróżnicowanej charakterystyce spektralnej na aktywność reduktazy azotanowej i azotynowej liści roszponki warzywnej. Materiał roślinny roszponki warzywnej doświetlany był lampami elektroluminescencyjnymi LED w warunkach szklarniowych. Stanowisko kontrolne oświetlane było przez lampę sodową HPS.

Od dawna ustalono, że aktywność NR jest regulowana przez fitochrom. Badania przedstawiają, iż nawet niewielki wpływ światła niebieskiego połączonego ze światłem czerwonym, może zwiększyć poziom aktywności reduktazy azotanowej w roślinie. Doświadczenia wykonane na liściach *Arabidopsis* doświetlanych białym i czerwonym światłem wykazały, iż wyższa aktywność NR ujawniła się u roślin przy lampie emitującej światło białe. Z obserwacji wynikało, że nisza aktywność reduktazy azotanowej była u roślin pozostawionych w ciemności niż doświetlanych lampami emitującymi światło czerwone bądź niebieskie (Jonassen i in. 2009).

Badania nad wpływem fitochromu na aktywność NR w liściach kukurydzy, potwierdzają stymulujący wpływ doświetlania lampami emitującymi światło czerwone na aktywność tego enzymu. Wykazano u kukurydzy, iż fitochrom wpływał na aktywności NR w roślinie. Podobne doświadczenia zostały wykonane na jęczmieniu i innych roślinach (Appenroth i in.

2000). Natomiast doświadczenia badające wpływ fotoreceptorów na regulację aktywności NR wykonane na *Spirodelapolyrhiza*wykazały wzrost aktywności NR przez stymulację światłem czerwonym lub niebieskim (Lillo i in. 1998). Niska aktywność NR u badanego gatunku (roszponki warzywnej) sprzyja gromadzeniu azotanów w jego tkankach, co może być niekorzystne dla konsumenta. Dlatego warto dalej poszukiwać możliwości regulacji gospodarki azotanowej, aby wyeliminować tozagrożenie.

Dodatkowo w przeprowadzonym doświadczeniu oznaczono poziom aktywności NiR, jako kolejny etap redukcji azotanów. W innych badaniach udowodniono, iż światło reguluje aktywność reduktazy azotynowej u wielu roślin min.: u pomidora, szpinaku czy tytoniu. Wykazano, iż rośliny wystawione na światło charakteryzują się znacznie większym poziomem reduktazy azotynowej niż rośliny przetrzymywane wciemności.

Badania potwierdzają, że receptory światła niebieskiego znacznie wpływają na regulację poziomu aktywności reduktazy azotynowej roślin. Przykładowo u pomidora wykryto dwie formy reduktazy azotynowej: NiR1 i NiR2. W formie NiR1 regulacja poziomu aktywności NiR była związana wyłącznie ze światłem czerwonym. W formie NiR2 aktywność NiR była również stymulowana przez światło czerwone i niebieskie (Migge i in. 1998)

Również w przeprowadzonym doświadczeniu ewidentnie widać, że regulacja wyłącznie światłem czerwonym wpływa w mniejszym stopniu na aktywności NiR liści roszponki warzywnej niż stymulacja światłem złożonym (zawierającym światło czerwone a także światło niebieskie). Zróżnicowane promieniowanie (nie tylko czerwone) wpływa na podwyższenie aktywności reduktazyazotynowej.

5. Wnioski

Regulacja gospodarka azotanową odgrywa ważną role we wzroście i rozwoju roślin, zarówno na poziomie genetycznym jak i posttranslacyjnym. Duży wpływ w regulacji azotanów wywiera światło. Wyniki doświadczenia dotyczącego wpływu doświetlania o różnej charakterystyce spektralnej na aktywność enzymów NR i NiRliści roszponki warzywnej wykazały, iż doświetlanie lampami zróżnicowanym promieniowaniu sałaty w uprawie szklarniowej nie wpłynęło w istotny sposób na aktywność reduktazy azotanowej badanych liści. Natomiast aktywność reduktazy azotynowej w liściach materiału badanego była stymulowana doświetlaniem o różnej charakterystyce spektralnej w porównaniu z doświetlaniem tylko światłem czerwonym.

6. Literatura

Appenroth K.J., Meco R., Jourdan V., Lillo C. 2000. Phytochrome and post-translationalregulation of nitratereductase in higherplants. Plant Science, 159: 51–56.

Badełek E., Robak J., Rogowska M., Stępowska A. 2005. Metodyka integrowanej produkcji sałaty pod osłonami. PIORiN, Warszawa,1–35.

Buczek J. 1976. The role of light in the induction of nitrate and nitritereductase in cucumberseedlings. Acta Soc. Bot. Pol., 45: 77–92.

Jonassen E.M., Sevin D.C., Lillo C. 2009. The bZIPtranscriptionfactors HY5 and HYH arepositiveregulators of the mainnitratereductasegene in Arabidopsisleaves, NIA2, but negativeregulators of the nitrateuptakegene NRT1.1. Journal of Plant Physiology, 166 : 2071–2076.

Kozik E. 2006. Wpływ terminu zbioru oraz nawożenia azotem i potasem na zawartość azotanów w sałacie uprawnej. Acta Agrophysica, 7: 633–642.Lillo C. 2004. (red.) Lightregulation of nitrateuptake, assimilation and metabolism [w:] Amâncio S., Stulen I. Nitrogenacquisition and assimilation in higherplants. Plant Ecophysiology, 6(3): 149–184.

Lillo C., Provan F., Appenroth K.J. 1998. Photoreceptorsinvolved in the regulation of nitratereductase in *Spirodelapolyrhiza.* Journal of Photochemistry and Photobiology, 44: 205–210.

Lisiecki W. 2012. Od ilości do jakości: najnowsze osiągniecia w technologii LED. Inteligentny budynek, 2: 18–23.

Luciński R., Polcyn W., Rajtaczek L. 2002. Nitratereduction and nitrogenfixation in symbioticassociation*Rhizobium*– legumes. Acta Biochimica Polonica, 49(2): 537–546.

Migge A., Meya G., Carryol E., Hirel B., and Becker T. W. 1997. Coaction of light and the nitrogensubstrate in controlling the expression of the tomatogenesencodingnitritereductase and nitratereductase. Journal Plant Physiology, 151:151–158.

Reda M., Kłobus G., Buczek J. 2000. Structure and regulation of nitratereductase Postępy Biochemii, 46(1): 99–106.

Sacała E., Demczuk A., Grzyś E., Parlak D. 2005. Wpływ boru na aktywność reduktazy azotanowej oraz wzrost siewek pszenicy. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 502: 333–339.

Chemia biokoordynacyjna w badaniach toksyczności związków ołowiu

Mateusz Kowalik [(1)]

[1] Instytut Chemii, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
Mateusz Kowalik: mateuszkowalik.86@gmail.com

Streszczenie
Związki ołowiu są jednymi z bardziej toksycznych dla ludzi i środowiska. Powodują zmiany neurologiczne, anemię, choroby nerek, nadciśnienie, zaburzenia układu rozrodczego, pokarmowego, endokrynnego, immunologicznego i kostno-stawowego. Dlatego ważnym wyzwaniem jest poznanie zachowania się jonów ołowiu(II) w układach biologicznych. Praca przedstawia najnowsze doniesienia na temat struktur połączeń kompleksowych ołowiu z biocząsteczkami oraz powiązanie ich z mechanizmami toksycznego działania. Do najważniejszych należą połączenia z cytrynianem, D-glukonianem, flawinami i glutationem. Ponadto ołów(II) chętnie łączy się i zaburza działanie takich białek, jak dehydrataza kwasu δ-aminolewulinowego, 5'-nukleotydaza pirymidyny typu I, kalmodulina i białka z motywem palca cynkowego. Badania te przyczyniają się do lepszego zrozumienia wpływu jonów ołowiu(II) na organizmy żywe, co pozwoli na projektowanie skutecznych chelatorów do leczenia zatruć ołowiem i remediacji zanieczyszczonych wód i gleb.

Słowa kluczowe: związki ołowiu, chemia biokoordynacyjna, toksyczność, biocząsteczki

Biocoordination chemistry in lead compounds toxicity studies

Summary
Lead compounds are one of the most toxic to humans and environment. They cause neurologica changes, anemia, kidney diseases, hypertension, and many other disorders of reproductive, digestive, endocrine, immune and osteoarticular system. Therefore, an important challenge is to understand the behavior of lead ions in biological systems. This work presents the latest reports on the structures of lead complexes with biomolecules and their connection with mechanisms of toxic action. The most important are connections with citrate, D-gluconate, flavins and glutathione. In addition, lead(II) readily combines and interrupts function of proteins, like δ-aminolewulinic acid dehydratase, pyrimidine 5'-nucleotidase type I, calmodulin and proteins with zinc finger domains. These studies contribute to a better understanding of the influence of lead(II) ions on living organisms, which will allow the design of more effective chelators for the treatment of lead poisoning and remediation of polluted waters and soils.

Keywords: lead compounds, biocoordination chemistry, toxicity, biomolecules

1. Geneza badań nad ołowiem w kontekście chemii bionieorganicznej

Ołów był jednym z pierwszych metali stosowanych przez ludzi. Na powierzchni Ziemi występuje najczęściej w postaci rud, głównie galeny (PbS). Niska temperatura topnienia ołowiu (327 °C) sprawiła, że w przeszłości używany był do wyrobu różnych przedmiotów, np. w Cesarstwie Rzymskim do wyrobu naczyń, rur, monet i trumien, przez co stężenie ołowiu we krwi ludzi z tych czasów było 10-100 razy większe, co oczywiście miało wpływ na zdrowotność ówczesnej populacji (Nriagu 1983). Antropogeniczna emisja ołowiu do środowiska wzrosła dramatycznie podczas rewolucji przemysłowej. W czasach współczesnych ołów i jego związki stosowane były szeroko do wyrobu farb, baterii, materiałów budowlanych, amunicji i stopów lutowniczych. Jednak największym źródłem emisji ołowiu do atmosfery było stosowanie tetraetyloołowiu, jako środka przeciwstukowego,

dodawanego do benzyny. Ponadto szacuje się, że ok. 74% domów wybudowanych w USA przed rokiem 1980 jest zanieczyszczonych farbami zawierającymi związki ołowiu, przez co zatrucia ołowiem są w tym kraju do tej pory dużym problemem (Landrigan i in. 1994).

2. Zarys chemii ołowiu w środowisku

Ołów używany dawniej do produkcji rur miejskich sieci wodociągowych okazał się łatwo utleniany do związków ołowiu(II) i w tej postaci stopniowo uwalniany do wody, zapewniając ciągłe niskopoziomowe źródło jonów tego metalu na wielu obszarach miejskich. Narażenie organizmów na powstające związki zależy od ich specjacji i rozpuszczalności w wodzie. Stosowany wcześniej jako dodatek do benzyny tetraetyloołów w dużym stopniu jest redukowany do związków Pb(II), które są dominującą postacią ołowiu w środowisku, a przez co istotną z toksykologicznego punktu widzenia (Casas i in. 2006).

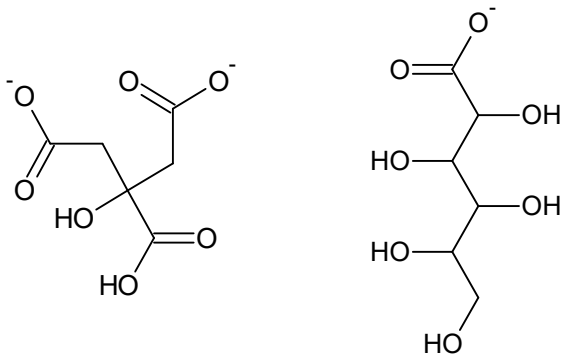
Mimo dużego rozpowszechnienia ołowiu, w porównaniu do innych ciężkich metali, większość nieorganicznych związków Pb(II) jest tak trudno rozpuszczalna, że wiele systemów biologicznych (w tym ludzi) narażonych jest na nie w niewielkim stopniu. W konsekwencji, organizmy żywe nie wykształciły mechanizmów radzenia sobie z zatruciami ołowiem. Ponadto ołów ma tendencję do tworzenia nierozpuszczalnych wodorotlenków i węglanów w obecności odpowiednich jonów obecnych w roztworze. Przez to ryzyko narażenia ołowiem pochodzącym z rur ołowianych jest dużo mniejsze w przypadku obszarów występowania twardej wody. Problem wysokiego stężenia ołowiu w wodzie jest też rozwiązywany przez dodawanie jonów kompleksujących, np. fosforanów oraz związków pasywujących powierzchnię rur (Patterson i in. 1991). Dlatego też jednym z ważniejszych aspektów chemii bionieorganicznej ołowiu jest poszukiwanie skutecznych chelatorów zarówno na potrzeby chemii środowiska, jak i procesów biochemicznych zachodzących w organizmach.

3. Kompleksy ołowiu z biocząsteczkami

Aby dobrze zrozumieć zachowanie jonów ołowiu w systemach biologicznych, bada się przede wszystkim struktury jego związków kompleksowych z biocząsteczkami występującymi w organizmach. Interakcje ołów-bioligandy, reakcje podstawienia w układach biologicznych oraz stabilność kompleksów wpływają na biodostępność ołowiu, a przez to na jego rolę, jako toksyny. Znanych jest niewiele małych biomolekuł, z którymi ołów może tworzyć połączenia w środowisku biologicznym. Należą do nich cytrynian, D-glukonian oraz pochodna flawiny. Struktura krystaliczna została rozwiązana dla tych związków i we wszystkich przypadkach ołów(II) tworzył zniekształcone struktury multimerowe, co ma przypuszczalnie znaczący wpływ na rozpuszczalność tych związków (Karlin 2003).

Cytrynian jest biocząsteczką znaną ze swojej zdolności do rozpuszczania związków metali w osoczu i zwiększania ich wchłaniania. Trikarboksylanowy jon cytrynianowy w przypadku połączenia z Pb(II) występuje w postaci podwójnie zdeprotonowanej (Rys. 1a), tworząc związek o wzorze ogólnym $[Pb(C_6H_6O_7)]_n \cdot nH_2O$. Sferę koordynacyjną kompleksu opisano, jako zniekształconą bipiramidę trygonalną. Składa się on z płaskich romboidalnych jednostek Pb_2O_2, w których jony ołowiu połączone są przez mostkujące cytrynianowe atomy tlenu. Terminalny nieskoordynowany karboksylan łączy ze sobą sąsiednie jednostki, prowadząc do struktury łańcuchowej (Kourgiantakis i in. 2000).

Kompleks ołowiu z D-glukonianem (Rys. 1b) jest 6-koordynacyjny i wykazuje zniekształconą oktaedryczną geometrię, chromofor $\{PbO_6\}$. Jon centralny jest chelatowany przez tlen grupy α-hydroksylowej oraz tlen karboksylanu, w wyniku czego powstaje pierścień pięcioczłonowy. Trzeci atom tlenu pochodzi z grupy karboksylowej sąsiedniego glukonianu. Każdy jon liganda jest tridentny, a każdy karboksylan łączy dwa centra ołowiowe, formując rozległą sieć dwuwymiarową (Lis 1984).



(a) **(b)**

Rys. 1. Wzory półstrukturalne (**a**) podwójnie zdeprotonowanego cytrynianu i (**b**) D-glukonianu

Ołów może łączyć się także z flawinami, np. 10-metyloizoalloksazyną. Izoalloksazyna jest płaskim, trzypierścieniowym, heteroaromatycznym kofaktorem ryboflawiny (witaminy B_2) i jest aktywna w reakcjach utleniania-redukcji. 10-metyloizoalloksazyna tworzy z ołowiem(II) 4-koordynacyjny kompleks, którego struktura opisana jest, jako zniekształcona piramida tetragonalna. W koordynacji jonu ołowiu uczestniczą dwie cząsteczki liganda organicznego, jedna jako O-donor, a druga jako N,O-donor i cztery cząsteczki wody (Yu i in. 1975).

Opisane struktury sugerują, że specjacja ołowiu(II) w środowisku biologicznym może być bardzo skomplikowana. Nie będzie on występował w płynach ustrojowych, jako nieorganiczny akwakompleks, tylko w połączeniach z małymi i większymi biocząsteczkami.

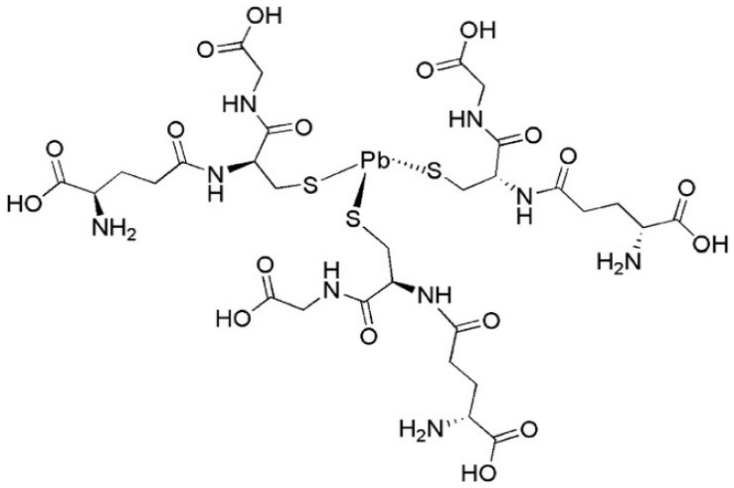
4. Mechanizmy toksycznej aktywności ołowiu(II)

Zatrucia ołowiem mogą dotykać zarówno dorosłych, jak i dzieci. U tych drugich symptomy występują jednak przy znacznie mniejszym stężeniu ołowiu we krwi. Dzieci narażone na chroniczne zatrucie związkami ołowiu (saturnizm) doznają upośledzeń rozwojowych i zmian neurologicznych, podczas gdy u dorosłych objawy mogą zanikać po usunięciu źródła zatrucia, nie wyrządzając znaczących szkód w organizmie. Ponadto zatrucie ołowiem może powodować anemię, choroby nerek, nadciśnienie, zaburzenia układu rozrodczego, pokarmowego, endokrynnego, immunologicznego i kostno-mięśniowego . Ołów może zakłócić wiele procesów fizjologicznych w całym organizmie przez wiązanie się z licznymi białkami i biocząsteczkami, a nawet z DNA i RNA (Maret i in. 2014). Poniżej przedstawiono niektóre z lepiej zbadanych i znaczących połączeń oraz ich powiązanie z objawami zatruć.

Mówiąc ogólnie, kompleksy ołowiu są termodynamicznie stabilne i kinetycznie labilne w środowiskach wodnych. Wymiana ligandów jest szybka w fizjologicznej skali czasowej i jest regulowana przez pH najczęściej utrzymywane na danym poziomie przez bufory. Chociaż ołów ma powinowactwo do różnych atomów donorowych, to w układach biologicznych preferuje ligandy siarkowe. Jednak w przypadku bardziej skomplikowanych ligandów, czyli miejsc wiążących ołów, posiadających różne grupy funkcyjne o różnych właściwościach chelatujących i sterycznych, ta preferencja nie jest już tak oczywista. Obszerna analiza 48 struktur krystalicznych białek związanych z ołowiem (Kirberger i in. 2008) potwierdziła, że ołów może łączyć się z różnymi ligandami i w różnych miejscach wiążących białek, nie tylko w centrach aktywnych.

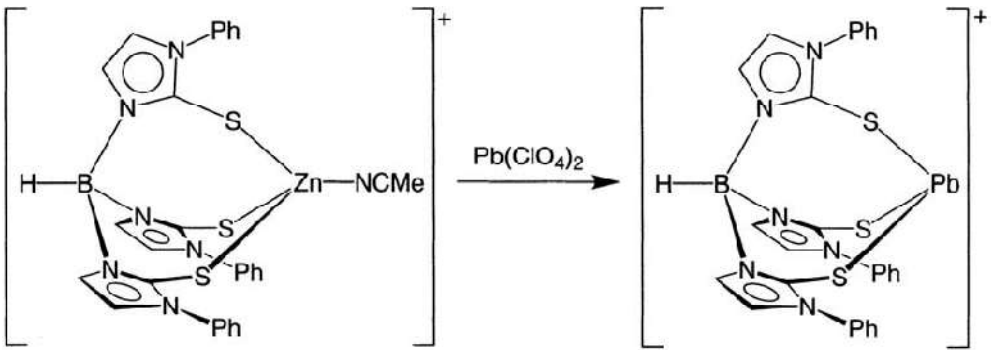
Najważniejsze z punktu widzenia toksykologii ołowiu są białka zawierające reszty cysteinowe i peptydy, takie jak glutation (γ-Glu-Cys-Gly, GSH). Ten tripeptyd występuje w komórkach w stosunkowo dużym stężeniu 0,1-10 mM. Posiada wiele biologicznych funkcji, z których jedna dotyczy ochrony błon biologicznych przed toksycznymi efektami metali ciężkich przez ich kompleksację, zanim zostaną one dostarczone do większych, bogatych w cysteinę peptydów, takich jak metalotioneiny, które usuwają toksyczne jony z organizmu. Chociaż wiązanie ołowiu przez glutation *in vivo* nie jest obserwowane bezpośrednio, to zauważa się zmniejszenie poziomu GSH we krwi ludzi narażonych na ekspozycję związków ołowiu, co potwierdza formowanie się kompleksów Pb(II)-GSH w organizmach. Badania z wykorzystaniem magnetycznego rezonansu jądrowego (^{207}Pb-NMR) dowodzą, że glutation tworzy z Pb(II) kompleks 3-koordynacyjny, w którym jon centralny skoordynowany jest przez atomy siarki trzech cząsteczek liganda, tworząc

chromofor {PbS_3} o geometrii piramidy trygonalnej (Neupane i in. 2011, Mah i in. 2012) (Rys. 2).



Rys. 2. Proponowana struktura kompleksu Pb(II) z glutationem (Neupane i in. 2011)

Anemia jest powszechnie występującym symptomem zatrucia związkami ołowiu, a powoduje ją zaburzenie szlaku biosyntezy hemu, skutkujące niedoborem hemoglobiny. Ołów hamuje bezpośrednio drugi etap syntezy hemu, w którym enzym dehydrataza kwasu δ-aminolewulinowego (ALAD) katalizuje kondensację dwóch cząsteczek kwasu δ-aminolewulinowego (ALA) w porfobilinogen (PBG). Ołów(II) wiąże się z aktywną katalitycznie częścią tego enzymu, zastępując jony Zn^{2+}, przez co hamuje jego aktywność już przy stężeniu mniejszym niż femtomolowe. Powinowactwo jonów Pb(II) do domen S_3 jest o 2-3 rzędy wielkości większe niż jonów Zn (II). Jako model tego enzymu wykorzystano skorpionowy kompleks cynku(II) połączony z ligandem przez fragment S_3. Ołów(II) podstawił cynk w tym związku i wykazywał 500 razy większe powinowactwo do liganda (Rys. 3). Szacuje się, że w rzeczywistości ołów ma 25 razy większe powinowactwo do ALAD niż cynk (Simons 1995).

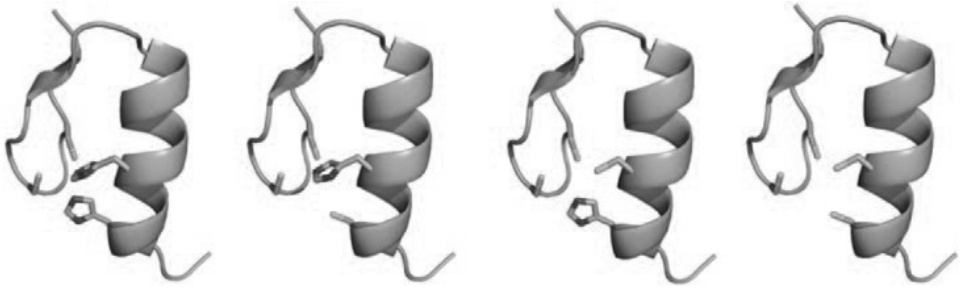


Rys. 3. Reakcja podstawienia Zn(II) przez Pb(II) w kompleksie imitującym centrum aktywne w dehydratazie kwasu δ-aminolewulinowego (Bridgewater i in. 2000)

Porównanie homo-oktamerycznych struktur krystalicznych Zn(II)-ALAD i Pb(II)-ALAD ukazuje, że ołów związany jest po stronie zawierającej ugrupowanie Cys_3 centrum aktywnego enzymu, powodując małe zniekształcenie tej części. Jon Pb^{2+} wystaje w głąb wnęki wiążącej, blokując przyłączenie ALA pod wymaganym kątem. ALAD jest głównym białkiem wiążącym ołów w erytrocytach. We krwi osób zawodowo narażonych na związki ołowiu 35-81% wykrytego w ich organizmach ołowiu związana jest właśnie z dehydratazą kwasu δ-aminolewulinowego (Bridgewater i in. 2000).

W erytrocytach znajduje się także 5'-nukleotydaza pirymidyny typu I (P5N-I), katalizująca defosforylację 5'-mononukleotydu pirymidyny. Jest to ważny etap w degradacji rybosomalnego DNA dojrzewających erytrocytów. Enzym ten wymaga do swojej aktywności jonów Mg(II) i jest silnie hamowany przez jony Pb(II). Inhibicja skutkuje przyspieszeniem destrukcji erytrocytów i zmniejszeniem produkcji hemoglobiny, mimo że P5N-I nie uczestniczy w procesie biosyntezy hemu. We krwi pracowników narażonych na kontakt z ołowiem 12-26 % tego metalu jest związana z tym enzymem (Maret i in. 2014).

Podczas gdy zakłócenie działania ALAD i P5N-I pomaga wyjaśnić przyczyny anemii związanej z zatruciem ołowiem, nie udowadnia problemów rozwojowych obserwowanych u dzieci ze stosunkowo niskim stężeniem ołowiu we krwi. Pewne procesy rozwojowe są regulowane w obrębie jąder komórkowych przez czynniki transkrypcyjne, a ołów gromadzi się przede wszystkim właśnie w nich. Białka z motywem palca cynkowego rozpoznają konkretne cele, jak DNA, RNA i inne białka. Motyw ten sprawia, że Zn(II) wiąże się do domen bogatych w Cys lub Cys/His, tworząc 4-koordynacyjną geometrię tetraedryczną, co stabilizuje strukturę białka. Produkowanie erytrocytów i rozwój neurologiczny jest zależny od czynników transkrypcyjnych z motywami palca cynkowego, takich jak receptory jądrowe hormonów i białka GATA. Zawierają one domeny Cys_4 i ich wiązanie przez Pb(II) wyjaśniałoby zakłócenie procesów rozwojowych u dzieci. Ołów(II) wiąże silnie miejsca występowania domen palca cynkowego, zawierających motywy Cys_4 (CCCC), Cys_3His (CCHC) i Cys_2His_2 (CCHH). Powinowactwo wzrasta ze wzrostem liczby reszt cysteinowych. Mimo dostępności czterech ligandów w tych domenach, Pb(II) jest po związaniu zawsze trój-koordynacyjny. Ołów(II), który preferuje geometrię piramidy trygonalnej, indukuje zmiany konformacyjne białka po zastąpieniu tetraedrycznego cynku(II). Motywy CCHC i CCHH wiążą silniej Zn(II) niż Pb(II), ale CCCC oddziaływuje 30 razy silniej z Pb(II) niż Zn(II). Natomiast powinowactwo do motywów Cys_3His zależy od pozycji reszt cysteinowych. Podczas gdy CCHC preferuje Zn(II), CCCH wiąże silniej Pb(II) (Magyar i in. 2005) (Rys. 4).



	CCHH	CCHC	CCCH	CCCC
K_D(Zn)	$5{,}7 \cdot 10^{-12}$	$3{,}2 \cdot 10^{-12}$	$3{,}2 \cdot 10^{-11}$	$1{,}1 \cdot 10^{-12}$
K_D(Pb)	$5{,}0 \cdot 10^{-11}$	$8{,}0 \cdot 10^{-11}$	$1{,}3 \cdot 10^{-11}$	$3{,}9 \cdot 10^{-14}$

Rys. 4. Modele domen białek palca cynkowego wraz ze stałymi dysocjacji ich połączeń z Zn(II) i Pb(II) w pH 7,2 (Magyar i in. 2005)

Wysokie powinowactwo Pb(II) do domen CCCC zostało potwierdzone w przypadku ludzkiego białka GTPA, zawierającego motywy palca cynkowego. Ten ważny czynnik transkrypcyjny odgrywa istotną rolę w regulacji rozwoju układu nerwowego, moczowo-płciowego i krwionośnego. Po związaniu ołowiu, GATA wykazuje zahamowaną zdolność aktywacji transkrypcji przez zmniejszenie powinowactwa do DNA (Ghering i in. 2005).

Pewne białka z motywem palca cynkowego typu Cys_3His, które wiążą mRNA i regulują posttranskrypcyjną ekspresję genów, mogą być celem dla ołowiu. Pb(II) współzawodniczy kompetycyjnie z Zn(II) *in vitro* o domeny palca cynkowego w ludzkiej protaminie 2 (HP2), która jest zaangażowana w spermatogenezę. Ołów wiąże się w dwóch różnych domenach zawierających obszary bogate w cysteinę, powodując zmianę konformacji białka i hamując wiązanie HP2 z DNA. Te obserwacje mogą pomóc w wyjaśnieniu spadku płodności u mężczyzn narażonych na zawodowy kontakt ze związkami ołowiu (Quintanilla-Vega i in. 2000).

Kalmodulina (CaM) jest wapniowo-zależnym białkiem sygnałowym, występującym we wszystkich komórkach eukariotycznych. Jest zaangażowana w przekazywanie sygnałów w ponad 100 procesach biologicznych, wliczając w to wzrost, pamięć, odpowiedź immunologiczną, procesy zapalne i skurcze mięśniowe. Kalmodulina zawiera cztery motywy tzw. EF-hand wiążące Ca(II). Motywy te wykazują strukturę helisa-pętla-helisa, składającą się z 30 aminokwasów, które wiążą wapń(II) w geometrii bipiramidy pentagonalnej. Pb(II) wykazuje większe powinowactwo do CaM niż Ca(II) i łączy się z tym białkiem we wszystkich czterech domenach wiążących. Struktury krystaliczne połączeń Ca(II)-CaM i Pb(II)-CaM ukazują, że obydwa jony skoordynowane są w podobnej geometrii. Zmiany konformacyjne miejsca wiążącego nie są, zatem duże i wynikają jedynie ze zmiany długości wiązań spowodowanej innym promieniem jonowym Ca(II i Pb(II). Dodatkowo poza czterema

jonami Pb(II) związanymi z motywem EF-hand w strukturze widocznych jest 10 innych jonów Pb^{2+} na powierzchni białka. Pierwsze cztery jony powodują aktywację białka, a oportunistycznie związane dodatkowe jony wywołują zmianę konformacji białka i zahamowanie jego aktywności (Wilson i in. 2003, Kirberger i in. 2013).

Neurotoksyczność ołowiu przejawia się, jako zaburzenie fizjologicznego funkcjonowania białek centralnego systemu nerwowego po skoordynowaniu tego pierwiastka w domenach wiążących wapń. Ołów wiąże się z otwieranymi potencjałem kanałami wapniowymi, blokując je i zaburzając przez to funkcjonowanie synaps. Synaptotagmina I odgrywa kluczową rolę w uwalnianiu neurotransmiterów podczas przekazywania sygnałów w neuronach. Pb(II) silniej niż Ca(II) wiąże miejsce aktywne synaptotagminy, ale zaburza jej funkcję nie przez zmianę konformacji, lecz przez zaburzenie interakcji z fosfolipidami i syntaksyną. Kinaza białkowa C (PKC) reguluje wzrost i funkcjonowanie komórek. Jest enzymem Ca- i Zn-zależnym i może być aktywowana albo inhibitowana przez toksyczne metale. Przy dużym stężeniu ołowiu(II) następuje zahamowanie aktywności PKC, natomiast w przypadku pikomolowych stężeń ołów aktywuje enzym. Aktywowana przez Pb(II) PKC-zależna ekspresja nowych genów może być przyczyną deficytów edukacyjnych u dzieci z wysokim poziomem ołowiu we krwi (Bouton i in. 2001).

5. Podsumowanie

Istnieje wiele biomolekuł, które są potencjalnymi donorami dla jonów ołowiu w organizmach. Dlatego dokładne zbadanie tych interakcji jest bardzo istotne, gdyż pozwoli na lepsze poznanie mechanizmów toksycznego działania tego metalu. Lepsze zrozumienie chemii biokoordynacyjnej ołowiu(II) przyczyni się również do właściwego projektowania nowych efektywnych ligandów chelatowych, które będą mogły być wykorzystane w terapii chelatującej, leczącej zatrucia związkami ołowiu oraz do remediacji zanieczyszczonych wód i gleb.

6. Literatura

Bouton C.M.L.S., Frelin L.P., Forde C.E., Godwin H.A., Pevsner J., 2001. Synaptotagmin I is a molecular target for lead. Journal of Neurochemistry 76: 1724-1735.

Casas J.S., Sordo J., 2006. Lead – Chemistry, Analytical Aspects, Environmental Impact, Health Effects. Elsevier.

Ghering A.B., Miller Jenkins L.M., Schenck B.L., Deo S., Mayer R.A., Pikaart M.J., Omichinski J.G., Godwin H.A., 2005. Spectroscopic and functional determination of the interaction of Pb^{2+} with GATA proteins. Journal of American Chemical Society 127: 3751-3759.

Karlin K.D., 2003. Progress in Inorganic Chemistry, Vol. 51. John Wiley & Sons.

Kirberger M., Wong H.C., Jiang J., Yang J.J., 2013. Metal toxicity and opportunistic binding of Pb^{2+} in proteins. Journal of Inorganic Biochemistry 125: 40-49.

Kirberger M., Yang J.J., 2008. Structural differences between Pb^{2+} - and Ca^{2+} - binding sites in proteins: Implications with respect to toxicity. Journal of Inorganic Biochemistry 102: 1901-1909.

Kourgiantakis M., Matzapetakis M., Raptopoulou C.P., Terzis A., Salifoglou A., 2000. Lead-citrate chemistry. Synthesis, spectroscopic and structural studies of a novel lead(II)-citrate aqueous complex. Inorganica Chimica Acta 297: 134-138.

Landrigan P.J., Todd A.C., 1994. Lead poisoning. Western Journal of Medicine 161: 153-159.

Lis T., 1984. Structure of lead(II) D-gluconate, $Pb[C_6H_{11}O_7]_2$. Acta Crystallographica C40: 374-376.

Magyar J.S., Weng T.-C., Stern C.M., Dye D.F., Rous B.W., Payne J.C., Bridgewater B.M., Mijovilovich A., Parkin G., Zaleski J.M., Penner-Hahn J.E., Godwin H.A., 2005. Reexamination of lead (II) coordination preferences in sulfur-rich sites: Implications for critical mechanism of lead poisoning. Journal of the American Chemical Society 127: 9495-9505.

Mah V., Jalilehvand F., 2012. Lead(II) complex formation with glutathione. Inorganic Chemistry 51:6285-6298.

Maret W., Wedd A., 2014. Binding, transport and storage of metal ions in biological cells. The Royal Society of Chemistry.

Neupane K.P., Pecoraro V.L., 2011. Pb-207 NMR spectroscopy reveals that Pb(II) coordinates with glutathione (GSH) and tris cysteine zinc finger proteins in a PbS_3 coordination environment. Journal of Inorganic Biochemistry 105:1030-1034.

Nriagu J.O., 1983. Lead and Lead Poisoning in Antiquity. John Wiley & Sons.

Patterson C., Ericson J., Manea-Krichten M., Shirata H., 1991. Natural skeletal levels of lead in Homo sapiens sapiens uncontaminated by technological lead. Science of the Total Environment 107: 205-236.

Quintanilla-Vega B., Hoover D.J., Bal W., Silbergeld E.K., Waalkes M.P., Anderson L.D., 2000. Lead interaction with human protamine (HP2) as a mechanism of male reproductive toxicity. Chemical Research in Toxicology 13: 594-600.

Simons T., 1995. The affinity of human erythrocyte porphobilinogen synthase for Zn^{2+} and Pb^{2+}. European Journal of Biochemistry 234: 178-183.

Wilson M.A., Brungerb A.T., 2003. Domain flexibility in the 1,75 Å resolution structure of Pb^{2+}-calmodulin. Acta Crystallographica D59: 1782-1792.

Yu M.W., Frichie C.J., 1975. Crystal structure of flavin-metal complex, bis (10-methylisoalloxazine) lead (II) perchlorate tetrahydrate. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions 377-380.

Ocena poziomu wiedzy studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego z zakresu pierwszej pomocy w wybranych stanach nagłych

Magdalena Magoń [(1)], Angelika Ciupińska [(1)], Paulina Sokołowska [(1)], Filip Osuchowski[(1)]

[1] Instytut Pielęgniarstwa i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Rzeszowski
Magdalena Magoń: magda.magon19@gmail.com

Streszczenie
Błyskawiczny rozwój cywilizacji bezsprzecznie łączy się ze wzrostem liczby wypadków czy chorób. Z tego względu umiejętność udzielania pierwszej pomocy przedmedycznej jest tak ważna. Środowisko studenckie jest jednym z liczniejszych i bardzo aktywnych, istnieje więc duże prawdopodobieństwo, że to właśnie ta grupa znajdzie się w sytuacji, w której konieczne będzie udzielenie pierwszej pomocy. Celem niniejszej pracy była ocena poziomu wiedzy studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego z zakresu wybranych elementów pierwszej pomocy. Badaniem objęto 100 studentów czterech kierunków niemedycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego. Badania wykonano za pomocą kwestionariusza ankiety. Badanie wykazało średni poziom wiedzy z zakresu pierwszej pomocy w wybranych stanach nagłych. Zdecydowana większość studentów ma wiedzę na temat postępowania z osobą nieprzytomną oraz poszkodowanym nieprzytomnym bez oddechu. Analizując poziom wiedzy studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego, można wysunąć wniosek, iż konieczne jest wprowadzenie dodatkowych szkoleń z zakresu pierwszej pomocy, nie tylko dla studentów, ale już na poziomie wcześniejszej edukacji.

Słowa kluczowe: stany nagłe, pierwsza pomoc, wiedza studentów

Assessment of the level of knowledge of students of the University of Rzeszów in the field of first aid in selected emergencies

Summary
The rapid development of civilization is unquestionably linked to the increase in the number of accidents or diseases. The student environment is one of the most numerous and very active, so there is a high probability that this group will be in a situation in which first aid will be necessary. The aim of this study was to assess the level of knowledge of students of the University of Rzeszów in the field of selected elements of first aid. The study involved 100 students of four non-medical majors at the University of Rzeszów. The research was carried out using a questionnaire. The study showed an average level of knowledge in the field of first aid in selected emergency states. Analyzing the level of knowledge of students, it can be concluded that it is necessary to introduce additional first aid training, not only for students, but already at the level of prior education.

Keywords: emergencies, first aid, students' knowledge

1. Wstęp

Wraz z rozwojem cywilizacji następuje przewartościowanie życia ludzkiego, a co za tym idzie obniżenie wartości dotychczas bardzo ważnych elementów, między innymi zagrożenia zdrowia i życia człowieka. Tymczasem postęp cywilizacyjny niesie ze sobą ryzyko występowania chorób cywilizacyjnych i prawdopodobieństwo wypadku (Musiał i in.2015). Dlatego tak ważna jest umiejętność udzielania pierwszej pomocy przedmedycznej oraz umiejętność prawidłowego wezwania służb ratowniczych. Niemałe znaczenie w procesie zdobywania tej wiedzy odgrywa szkoła, a następnie uczelnia (Strzyżewska i in.2012) (Grześkowiak i in.2007). Studenci stanowią w społeczeństwie liczną i aktywną grupę, dlatego z dużym prawdopodobieństwem mogą znaleźć się w sytuacji, w której konieczne będzie

udzielenie pierwszej pomocy, czy to w miejscu publicznym czy w rodzinie. Udzielanie pierwszej pomocy jest obowiązkiem każdego człowieka, w przypadku zagrożenia życia o dalszych losach poszkodowanego decydują pierwsze minuty (Skiteki in.2012, Żaba i in. 2007). Niejednokrotnie dochodzi do nieudzielenia pomocy, które wiąże się nie z niechęcią czy brakiem zainteresowania, ale z niewystarczającą wiedzą i umiejętnościami na ten temat. Z analizy dostępnych badańwynika, że poziom wiedzy społeczeństwa z zakresu pierwszej pomocy jest wciąż niewystarczający, z tego względu konieczne jest umiejętne wykorzystanie grup wiekowych o wysokim stopniu przyswajania wiedzy, aby zbudować podłoże do rozwoju(Seweryn i in.2016). Celem niniejszej pracy była ocena poziomu wiedzy studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego z zakresu wybranych elementów pierwszej pomocy.

2. Materiał i metody

Badaniem objęto grupę 100 studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego, studiujących na następujących kierunkach: pedagogika, ekonomia, mechatronika oraz informatyka. Dobór respondentów pod względem kierunku studiów był losowy. Udział w badaniu był dobrowolny. Studenci zostali poinformowani o metodzie, celu badania oraz jego anonimowości.

W badaniu wykorzystano metodę sondażu diagnostycznego, posługując się narzędziem badawczym w postaci anonimowego kwestionariusza ankiety, użytego w artykule „Ocena poziomu wiedzy studentów aglomeracjitrójmiejskiej z zakresu udzielania pierwszej pomocy", K. Strzyżewskiej i współautorów, zaktualizowanego w oparciu o Wytyczne Europejskiej Rady Resuscytacji 2010. Ankieta składała się z dwóch części, z których pierwsza zawierała 15 pytań, druga -12 oraz metryczki. Celem pierwszej z nich była ocena wiedzy studentów na temat RKO. Cel drugiej części to ocena wiedzy studentów z zakresu udzielania pierwszej pomocy w przypadkach innych niż NZK. Określając poziom wiedzy studentów, dokonano oceny odpowiedzi ankietowanych na pytania zawarte w ankiecie. Każdemu z pytań została przyporządkowana odpowiednia punktacja, gdzie 1 punkt- prawidłowa odpowiedź, 0- odpowiedź niepoprawna lub jej brak. Aby uzyskać statystyczny poziom wiedzy: niski, średni i wysoki, maksymalną liczbę punktów do uzyskania podzielono na trzy przedziały, gdzie niski poziom wiedzy: 0-9 punktów, średni 10-18, wysoki 19-27 punktów.

Do obliczeń statystycznych użyto programu Microsoft Office Excel 2010 i STATISTICA 13.1. Do analizy statystycznej przeprowadzonych badań wykorzystano test chi-kwadrat, test U Manna-Whitneya oraz test Kruskala-Wallisa. Jako poziom istotności przyjęto $p<0,05$.

Z analizy danych wynika, że w badaniu wzięło udział łącznie 64 kobiety, co stanowiło 64% ankietowanych i 36 mężczyzn (36% ankietowanych). Wśród respondentów najliczniejszą grupę stanowiły osoby w wieku 21 lat (35% ogółu badanych) i 22 lat (34% ogółu). Podział uczestników badania ze względu na miejsce zamieszkania wskazuje, że najwięcej ankietowanych to osoby mieszkające na wsi (65% ogółu), następnie osoby mieszkające w mieście do 100tys. mieszkańców – 29 osób, natomiast najmniej liczną grupę stanowią studenci mieszkający w mieście powyżej 100 tys. mieszkańców – 6% ogółu. Badane osoby to studenci ekonomii (32% ogółu), informatyki (27% ogółu), pedagogiki (22% ogółu) oraz mechatroniki (19% ogółu). Wśród badanych aż 90% ogółu deklarowało posiadanie prawa jazdy. Swój stan cywilny 100% ankietowanych określiło, jako panna/kawaler.

3. Wyniki

Badania oraz analiza wyników pokazały, że 37% badanych studentów posiada wysoki poziom wiedzy z zakresu pierwszej pomocy, natomiast 63% studentów prezentuje poziom średni. Żaden ze studentów nie wykazał niskiego poziomu wiedzy.

Aby zbadać, czy poziom wiedzy badanych studentów, wyrażony sumą poprawnych odpowiedzi na pytania jest różny względem kierunku studiów, wykorzystano nieparametryczny test Kruskala-Wallisa. Mimo iż istnieją różnice w odpowiedziach studentów poszczególnych kierunków, po wykorzystaniu powyższego testu okazuje się, że kierunek studiów nie wpływa istotnie statystycznie na poziom wiedzy respondentów.

Nie została stwierdzona istotna statystycznie zależność pomiędzy wiedzą studentów z zakresu pierwszej pomocy, a płcią. Wykazano, iż przedstawiciele obu płci mają podobny poziom wiedzy. W kilku pytaniach stwierdzono istotne statystycznie zależności pomiędzy odpowiedziami ankietowanych, a płcią.

Stwierdzono istotne statystycznie zależności pomiędzy płcią a odpowiedziami udzielonymi przez respondentów na pytanie „Czego nie należy robić podczas analizy rytmu serca przez AED". Prawidłowej odpowiedzi udzieliło 83,33% mężczyzn i 64,06% kobiet.

Stwierdzono również istotną statystycznie zależność w pytaniu „W przypadku kobiety w widocznej ciąży, nieprzytomnej, ale z zachowanym oddechem zastosujesz". Mężczyźni wykazali większą znajomość tego zagadnienia (55,56% prawidłowych odpowiedzi), niż kobiety (34,38%).

W pytaniu dotyczącym krwawienia z nosa 100% mężczyzn udzieliło prawidłowej odpowiedzi. Wykazano istotną statystycznie zależność w tym pytaniu ($p<0,02$) (Tab.1).

Wykazano, iż wiedza studentów z zakresu pierwszej pomocy nie jest istotna statystycznie względem posiadania prawa jazdy. Odpowiedzi obu grup ankietowanych były

na identycznym poziomie. Tym samym można stwierdzić, że posiadanie prawa jazdy nie jest czynnikiem determinującym prawidłowość odpowiedzi.

Tab.1 Wiedza studentów nt. postępowania w przypadku krwawienia z nosa (opracowanie własne)

	Kobieta		**Mężczyzna**	
	Liczba	**%**	**Liczba**	**%**
Pozycja siedząca i pochylenie głowy lekko do przodu, z uciśnięciem skrzydełek nosa. Zimny okład na kark.	57	89,06%	36	100%
Pozostałe odpowiedzi	7	10,94%	0	0%
Suma	64	100%	36	100%
P<0,02				

Jedynie w czterech pytaniach wykazano istotne statystycznie różnice w odpowiedziach pomiędzy grupą osób posiadających prawo jazdy i bez tego typu uprawnień. W pytaniu dotyczącym sekwencji uciśnięć klatki piersiowej do ilości oddechów ratowniczych zaledwie 1,11% osób posiadająca prawo jazdy udzieliło błędnej odpowiedzi, przy 20% nieprawidłowych odpowiedzi w grupie osób deklarujących brak tego dokumentu (Tab.2).

Tab.2 Wiedza studentów nt. prawidłowej sekwencji uciśnięć klatki piersiowej do oddechów podczas postępowania ratowniczego u dorosłego człowieka, w zależności od posiadania prawa jazdy (opracowanie własne)

	Prawo jazdy		Brak prawa jazdy	
	Liczba	%	Liczba	%
30:2	89	98,89%	8	80,00%
Pozostałe odpowiedzi	1	1,11%	2	20,00%
Suma	90	100%	10	100%
P<0,02				

Analizując pytanie „Czego nie należy robić podczas analizy rytmu serca przez AED" względem posiadania prawa jazdy, stwierdzono istotną statystycznie zależność pomiędzy odpowiedziami ankietowanych, a faktem posiadania przez nich dokumentu uprawniającego do kierowania. Osoby deklarujące posiadanie prawa jazdy udzieliły 74,44% prawidłowych odpowiedzi, natomiast ankietowani nie posiadający tego dokumentu – 40%.

W pytaniu sprawdzającym wiedzę na temat prowadzenia RKO u małego dziecka wykazano istotną statystycznie zależność względem nieposiadania prawa jazdy, a poprawną odpowiedzią. Ankietowani w większości wskazywali prawidłową odpowiedź, jednak aż 40% osób z prawem jazdy wskazało odpowiedź błędną (Tab.3).

Stwierdzono również istotną statystycznie zależność w pytaniu „Czy możesz ewakuować poszkodowanego urazowego?". Zdecydowanie większą wiedzą wykazały się osoby posiadające prawo jazdy – 82,22% poprawnych odpowiedzi. W grupie osób, które nie posiadają prawa jazdy 50% ankietowanych wskazało bezbłędną odpowiedź.

Tab.3 Wiedza studentów nt. RKO małego dziecka, a posiadanie uprawnień do kierowania pojazdami (opracowanie własne)

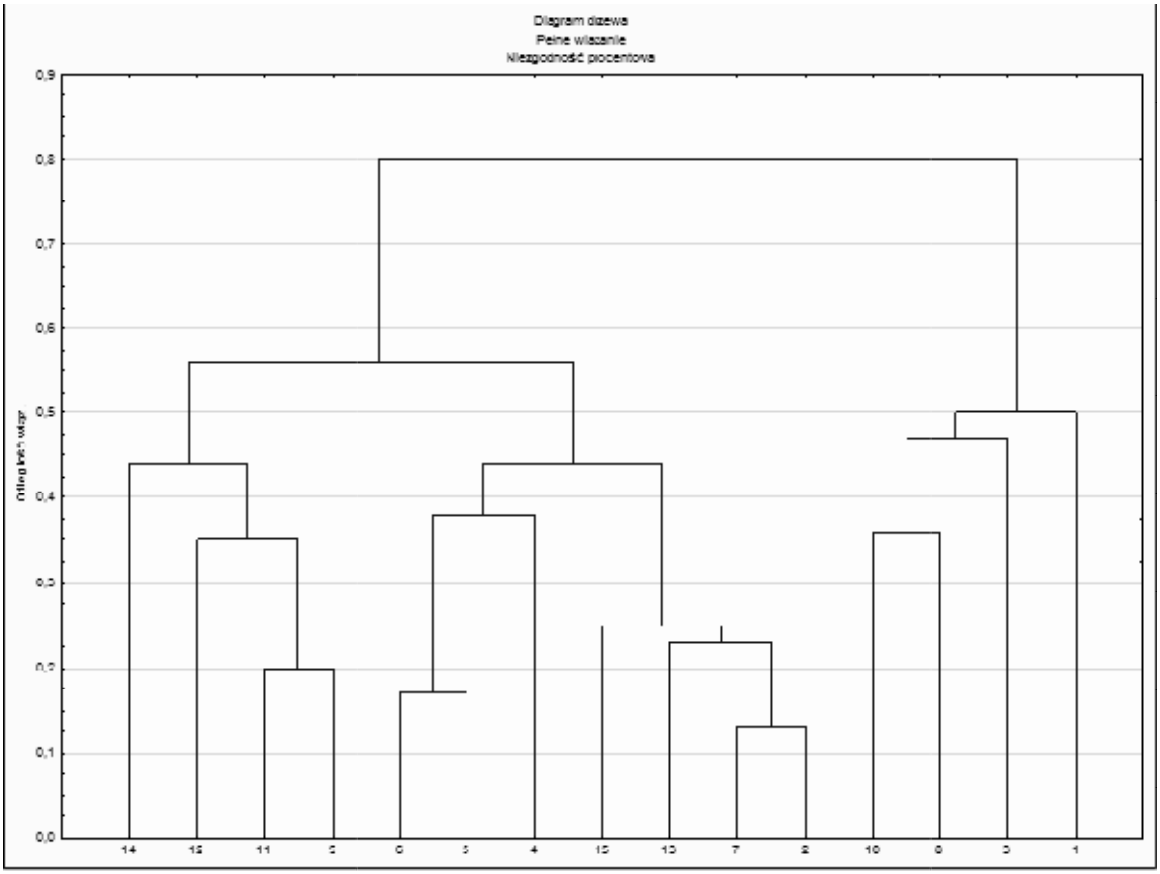
	Prawo jazdy		Brak prawa jazdy	
	Liczba	%	Liczba	%
Zaczynasz od 5 oddechów ratunkowych, a następnie sekwencja 30:2	54	60,00%	9	90,00%
Pozostałe odpowiedzi	36	40,00%	1	10,00%
Suma	90	100%	10	100%
P<0,05				

Zbadano również czy istnieje zależność pomiędzy wiedzą z zakresu RKO, a wiedzą z pytań ogólnych dotyczących pierwszej pomocy. Aby to sprawdzić obliczono współczynnik korelacji Spearmana, który wynosi 0,39 i jest istotny statystycznie. Siła zależności wynosi 16%.

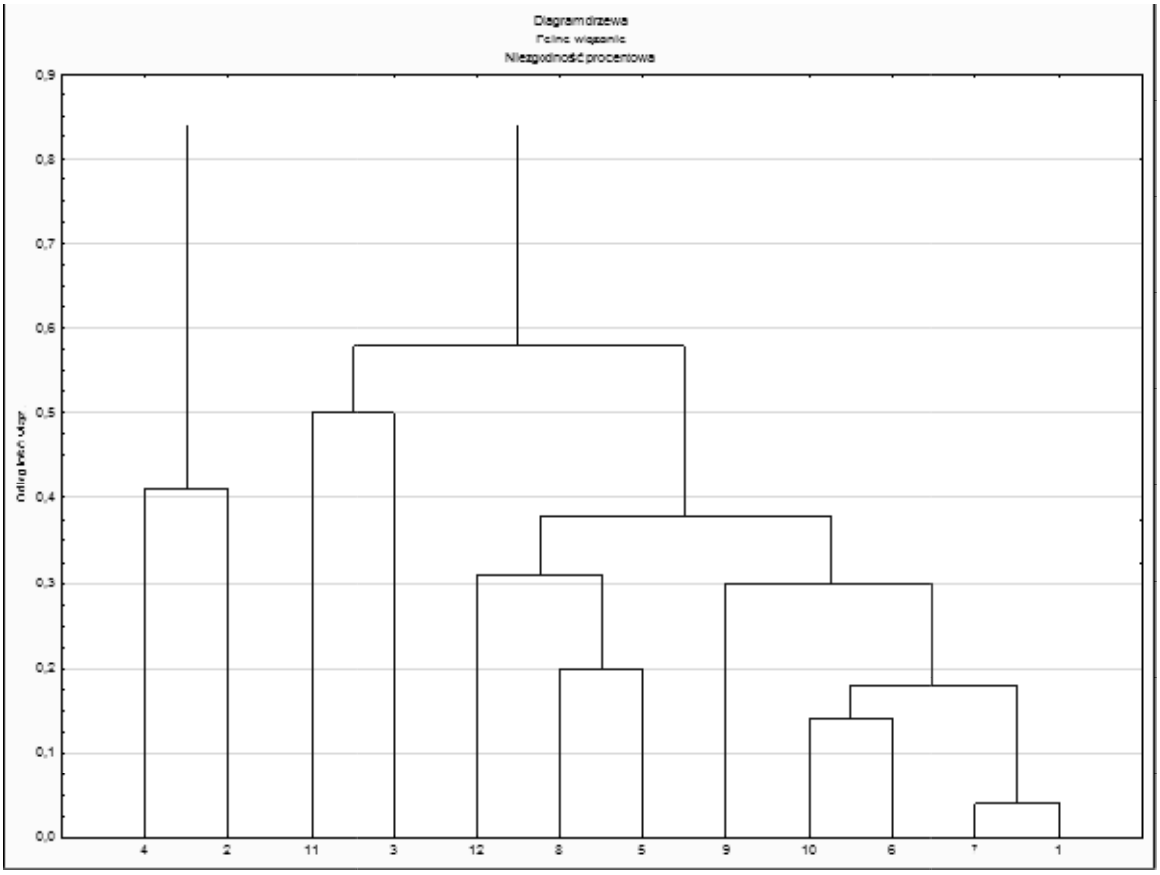
Wykorzystując analizę skupień sprawdzono, czy istnieją pytania, na które respondenci udzielali podobnych odpowiedzi. Wykonano to zarówno dla pytań dotyczących RKO, jak i części ogólnej. Jako miarę podobieństwa przyjęto niezgodność procentową, a jako metodę aglomeracji- metodę pełnego wiązania.

Z analizy części dotyczącej RKO wynika, iż powstały trzy grupy pytań, na które respondenci udzielali podobnych odpowiedzi (znając odpowiedź na jedno pytanie, zazwyczaj odpowiadali poprawnie na kolejne pytanie z tej samej grupy). Powstałe grupy można podzielić według tematów, których dotyczą: AED i technika prowadzenia defibrylacji, schemat BLS oraz sytuacje, w jakich należy podjąć konkretne działania. Możliwość wyodrębnienia poszczególnych grup tematycznych świadczy o rzetelności wypełniania ankiety przez respondentów (ograniczona liczba przypadkowych odpowiedzi) (Wykr.1).

Z analizy części ogólnej wynika, iż powstały cztery grupy pytań, na które respondenci udzielali podobnej odpowiedzi. Ze względu na szerszy zakres zagadnień, nie było możliwe uszeregowanie powstałych grup według zakresów tematycznych. Zastosowano inny podział: pytania szczegółowe (na temat których zazwyczaj nie są udzielane informacje na podstawowych kursach pierwszej pomocy, kursach prawa jazdy), pytania ogólne (dotyczące sytuacji najczęściej występujących w domu), pytania dotyczące priorytetowego postępowania na miejscu zdarzenia, pytania podstawowe (odpowiedź na nie, nie wymaga dużej wiedzy, wystarczająca wiedza zdobywana jest na kursie prawa jazdy, w szkole lub pochodzi z telewizji). Wyodrębnione grupy, podobnie jak w przypadku analizy pytań dotyczących RKO, pozwalają na wykluczenie dużej ilości przypadkowych odpowiedzi udzielanych przez badanych studentów (Wykr.2).



Wykr.1 Analiza skupień dla pytań dotyczących RKO (opracowanie własne)



Wykr.2 Analiza skupień dla pytań ogólnych z pierwszej pomocy (opracowanie własne)

4. Dyskusja

W piśmiennictwie tematyka pierwszej pomocy jest często poruszana w odniesieniu do różnych grup wiekowych, grup zawodowych, nierzadko także do studentów.

Głównym celem badań niniejszej pracy było określenie poziomu wiedzy studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego z zakresu pierwszej pomocy, w odniesieniu do płci, kierunku studiów oraz posiadania prawa jazdy.

Wiedza studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego z zakresu pierwszej pomocy jest na poziomie średnim. Tylko 37% badanych studentów, na podstawie przedziału punktowego, uzyskało wysoki poziom wiedzy. W analogicznym badaniu, przeprowadzonym przez K. Strzyżewską i współautorów, również najwięcej badanych studentów wykazało średni poziom wiedzy, przy czym aż 41% badanych mieściło się w przedziale punktowym, kwalifikującym ich poziom jako niski (Strzyżewska i in. 2012). Czyż R. oraz współautorzy, Wojczyk A. oraz Blicharz M. klasyfikują natomiast poziom wiedzy badanych studentów, jako niezadawalający (Czyż i in. 2016, Wojczyk 2015, Blicharz i in. 2016).

Zauważono różnice w poziomie wiedzy studentów w zależności od kierunku studiów. Studenci ekonomii oraz mechatroniki w większości kwalifikowali się do poziomu wysokiego, odpowiednio 56% i 63% badanych tych kierunków. Pomimo różnicy poziomu wiedzy z zakresu pierwszej pomocy, nie odnotowano istotnej statystycznie zależności względem kierunku studiów. W badaniach K. Strzyżewskiej i współautorów także odnotowano różny poziom wiedzy w zależności od kierunków studiów, najwyższy poziom wiedzy prezentowali studenci kierunków przyrodniczych, natomiast najniższy – kierunków humanistycznych. (Strzyżewska i in.2012).

Nie została wykazana istotna statystycznie zależność poziomu wiedzy studentów od płci. Kobiety i mężczyźni posiadają podobny poziom wiedzy z zakresu pierwszej pomocy. Do podobnych wniosków w sowich badaniach doszedł Jurczak A. i współautorzy, natomiast w badaniach K. Strzyżewskiej i współautorów, nieznacznie lepiej odpowiadają mężczyźni (Jurczak i in. 2015, Strzyżewska i in. 2012).

Zaobserwowano, że poziom wiedzy osób bez prawa jazdy nie odbiega od poziomu wiedzy kierowców. Wnioskować zatem można iż, dodatkowe szkolenie w trakcie kursu prawa jazdy nie zwiększa poziomu wiedzy z zakresu pierwszej pomocy, co w swojej pracy wykazuje Szpringer M. i współautorzy (Szpringer i in. 2014). Natomiast Patryn R. i współautorzy oceniają poziom wiedzy kierowców jako średni (Patryn i in. 2012).

W siedmiu pytaniach wykazano istotne statystycznie różnice w odpowiedziach ankietowanych. W pytaniu dotyczącym sekwencji uciśnięć klatki piersiowej do oddechów

ratowniczych u osoby dorosłej odnotowano istotną statystycznie zależność względem posiadania prawa jazdy ($p<0,02$), gdzie 80% osób bez tego dokumentu oraz 98,89% kierowców udzieliło prawidłowej odpowiedzi. Pytanie to pojawiło się również w badaniach A. Jurczaka i współautorów, gdzie 100% ankietowanych udzieliło poprawnej odpowiedzi oraz w badaniach Chemperek E. i współautorów, gdzie 72,6% ankietowanych udzieliło właściwej odpowiedzi (Jurczak i in. 2015) (Chemperek i in. 2011). W pytaniu „Czego nie należy robić podczas analizy rytmu serca przez AED?" stwierdzono istotne statystycznie zależności od płci ($p<0,05$) oraz posiadania prawa jazdy ($p<0,04$). Większy procent poprawnych odpowiedzi uzyskali mężczyźni oraz osoby posiadające prawo jazdy. W żadnym z dostępnych opracowań podobne pytanie nie było analizowane pod względem płci, czy posiadania prawa jazdy. Pytaniem, w którym stwierdzono istotność statystyczną ($p<0,05$) było również pytanie dotyczące RKO małego dziecka. Ankietowani w większości wskazywali prawidłową odpowiedź, jednak aż 40% osób posiadających prawo jazdy odpowiedziało nieprawidłowo. Pytanie o RKO małego dziecka pojawiło się również w badaniach A. Jurczaka i współautorów, nie było jednak analizowane pod kątem posiadania prawa jazdy, a jedynie pod względem ilości prawidłowych odpowiedzi, które wynosiły 50% (Jurczak i in. 2015). Kolejne pytanie, w którym wykazano istotną statystycznie zależność, dotyczyło postępowania w przypadku kobiety w widocznej ciąży, nieprzytomnej z zachowanym oddechem. Zależność ta została wykazana względem płci ($p<0,04$) i to mężczyźni częściej wskazywali prawidłową odpowiedź. To pytanie nie było szczegółowo analizowane w żadnym z innych badań. Kolejne pytanie, w którym stwierdzono istotną statystycznie zależność względem płci dotyczyło krwotoku z nosa ($p<0,02$), więcej prawidłowych odpowiedzi udzielili mężczyźni. Takie samo pytanie zostało poddane analizie w badaniach A. Jurczaka i współautorów, gdzie 100% ankietowanych udzieliło właściwej odpowiedzi (Jurczak i in. 2015). Ostatnim pytaniem, w którym stwierdzono istotną statystycznie zależność ($p<0,05$) było „Czy możesz ewakuować z miejsca zdarzenia poszkodowanego urazowego (z podejrzeniem urazu kręgosłupa)?" – prawidłowej odpowiedzi „tak, tylko gdy jest bezpośrednie zagrożenie życia" udzieliło 50% osób bez prawa jazdy i 82,22% kierowców. W żadnym z prowadzonych wcześniej badań nie przeprowadzono szczegółowej analizy podobnego pytania. Do pozostałych pytań nie wykazano zależności istotnych statystycznie.

Wykorzystując analizę skupień sprawdzono, odpowiedzi, na które pytania są do siebie podobne. Wykonano to zarówno dla pytań dotyczących RKO, jak i pytań ogólnych. Jako miarę podobieństwa przyjęto niezgodność procentową, a jako metodę aglomeracji- metodę pełnego wiązania. Powyższa analiza umożliwiła wyodrębnienie grup pytań, na które

ankietowani odpowiadali podobnie, co pozwoliło na stwierdzenie rzetelności wypełniania ankiet przez badanych studentów. Podobnej analizy nie przeprowadzono w żadnym z dostępnych opracowań.

5. Wnioski

1. Wiedza studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego z zakresu udzielania pierwszej pomocy jest na poziomie średnim.
2. Poziom wiedzy studentówUniwersytetu Rzeszowskiego z zakresu pierwszej pomocy nie jest zależny od płci badanych.
3. Poziom wiedzy badanych studentów nie jest zależny od posiadania prawa jazdy.
4. Wśród badanych studentów kierunek studiów nie wpływa na poziom wiedzy na temat udzielania pierwszej pomocy.
5. Wskazane jest wprowadzenie dodatkowych szkoleń z zakresu pierwszej pomocy, zarówno dla studentów, jak i na poziomie wcześniejszej edukacji.

6. Literatura

Blicharz M., Biernacka B.: Poziom wiedzy społeczeństwa na temat udzielania pierwszej pomocy przedmedycznej (w:) Aspekty zdrowia i choroby, 2016, Tom 2, Nr 2, str.35-49.

Chemperek E., Goniewicz M., Włoszczak-Szubzda A. i in.: Poziom wiedzy uczniów szkół ponadgimnazjalnych i studentów w zakresie pierwszej pomocy (w:) Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu, 2011, Tom 17, Nr 4, str. 174-179.

Czyż R., Kwiatoń M., Górniak I.: Ocena poziomu wiedzy studentów wybranych polskich uczelni wyższych na temat zasad udzielania pierwszej pomocy osobie dorosłej w stanach nagłych (w:) Journal of Education, Health and Sport, 2016; 6(7): 399-410.

Grześkowiak M., Frydrysiak K.: Wiedza młodzieży szkolnej i studentów pierwszego roku z zakresu udzielania pierwszej pomocy (w:) Nowiny Lekarskie, 2007; 76;5; str. 402-205.

Jurczak A., Kopański Z., Gajdosz R.: Wiedza z zakresu pierwszej pomocy młodzieży ponadgimnazjalnej (w:) Journal of Clinical Healthcare 2/2015, str. 28-34.

Musiał P., Makowski K., Adamczyk-Krupska D. i in.: Assessment of the level of adults' knowledge about Cardio-Pulmonary Resuscitation (CPR) and the use of an Automated External Defibrillator (AED) in public places (w:) Journal of Public Health, Nursing and Medical Rescue, 2015, 4; str.44-47.

Patryn R., Żyśko M., Sobczyńska M.: Analiza poziomu wiedzy i znajomości prawa dotyczącego zasad udzielania pierwszej pomocy wśród grupy aktywnych kierowców województwa lubelskiego (w:) Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu, 2012, Tom 18, Nr 4, str. 324-329.

Seweryn B., Spodaryk M., Ziarko A.: Stan wiedzy studentów o zasadach udzielania pierwszej pomocy i Systemie Państwowego Ratownictwa Medycznego w Polsce (w:) Państwo i Społeczeństwo, 2016,nr 4, str. 69-86.

Skitek I., Witt M., Goniewicz M.: Ocena znajomości zagadnień z pierwszej pomocy wśród studentów uczelni uniwersyteckich miasta Poznania (w:) Nowiny Lekarskie, 2012;81;6, str.641-646.

Strzyżewska K., Mędrzycka-Dąbrowska W., Dąbrowski S. i in.: Ocena poziomu wiedzy studentów aglomeracji trójmiejskiej z zakresu udzielania pierwszej pomocy (w:) Anestezjologia i Ratownictwo, 2012; 6: 41-52.

11. Szpringer M., Komendacka O., Kosecka J. i in.: Ocena wiedzy kierowców na temat zasad udzielania pierwszej pomocy (w:) Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu, 2014, Tom 20, Nr 3, str. 260-264.

Wojczyk A.: Stan wiedzy studentów pielęgniarstwa na temat resuscytacji krążeniowo-oddechowej (w:) Puls Uczelni, 2015, (9) 2; str.7-11.

Żaba C., Żaba Z., Orłowski M. i in.: Prawno-medyczne problemy udzielania pierwszej pomocy, Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii, 2007, LVII, str. 128-133.

Kliniczne zastosowanie deksmedetomidyny w anestezjologii u pacjentów pediatrycznych

Mirosław Malec [(1)], Agnieszka Bienert [(1)]

[1] Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
Mirosław Malec: miroslawmalec90@gmail.com

Streszczenie
Deksmedetomidyna jest wysoce selektywnym agonistą receptoraα2-adrenergicznego, wykazującym działanie uspokajające i przeciwbólowe.Zmniejsza ryzyko wystąpieniadelirium a także stabilizujeukład sercowo-naczyniowy. Zapewnia sedację z minimalnym ryzykiemdepresji oddechowej, co jest korzystne w praktyce klinicznej. Odpowiedni poziom sedacji może skrócić czas trwania zabiegów chirurgicznych, stworzyć doskonałe warunki do leczenie bólu i zwiększyć komfort pacjenta. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie najnowszych zagadnień dotyczących zalet stosowania deksmedetomidyny w znieczuleniu ogólnymi intensywnej terapii, szczególnie na oddziałach pediatrycznych orazjej działań niepożądanych.

Słowa kluczowe: deksmedetomidyna, anestezjologia, pacjenci pediatryczni, intensywna terapia

Clinical use of dexmedetomidine in anaesthesiology in pediatric patients

Summary
Dexmedetomidine is a highly selective α 2 -adrenoceptor agonist that has sedative and analgesic effects, reduces delirium and agitation, and also has stabilizing effect on the cardiovascular system. Dexmedetomidine provides sedation without respiratory depression, which is beneficial in clinical practice. Appropriate levels of sedation can shorten the duration of surgery, create excellent conditions for pain management and increase patient comfort. The aim of this study is to present the latest issues regarding the advantages of dexmedetomidine in clinical anesthesia and intensive care, especially in pediatric care units, while discussing its side effects.

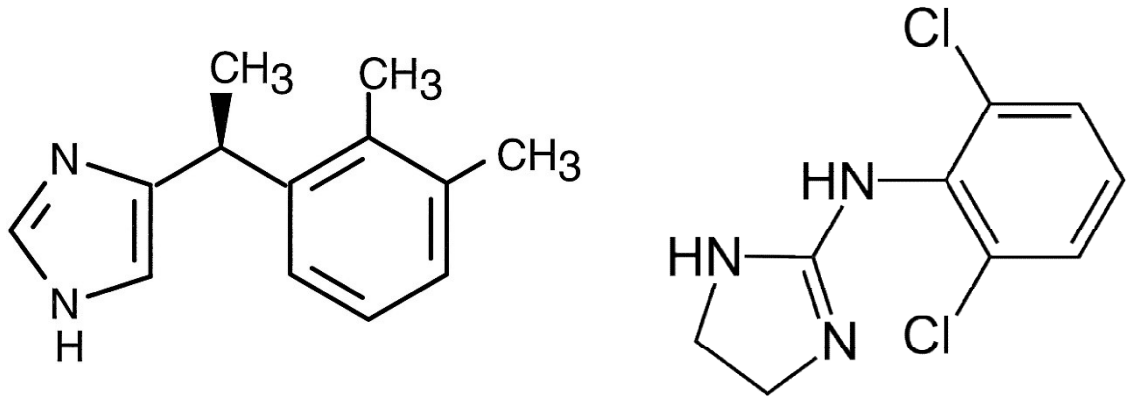
Key words: dexmedetomidine, anaesthesiology, pediatric patients, intensive care

1. Wstęp

Deksmedetomidyna jest selektywnym agonistą receptorów α2-adrenergicznych. Strukturalnie zbliżona jest do klonidyny (Rys. 1), charakteryzuje ją jednak większe powinowactwo do receptorów α2 niż receptorów α1 (stosunek 1600:1, w porównaniu do 200:1 dla klonidyny). Wykazuje ona aktywność w różnych rejonachośrodkowego układu nerwowego. Działanie anksjolityczne i uspokajające deksmedetomidyny wynika głównie z jej aktywności w miejscu sinawym (locuscoeruleus) pnia mózgu. Stymulacja receptorów α2-adrenergicznych w części pre- i/lub postsynaptycznej tkanki mózgowej i rdzenia kręgowego prowadzi do zahamowania aktywności neuronalnej, hipotensji, bradykardii, sedacji i analgezji. Obecność deksmedetomidyny w receptorze α2-adrenergicznym w rogu grzbietowym rdzenia kręgowego moduluje uwalnianie substancji P i wywołuje działanie przeciwbólowe (Munoz i in. 2005).

Deksmedetomidyna została zatwierdzona przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) 24 grudnia 1999 roku ze wskazaniem do sedacji dorosłych pacjentów przebywających na oddziałach intensywnej opieki medycznej, wymagających mechanicznej

wentylacji. Europejska Agencja Leków (EMA) dopuściła deksmedetomidynę do obrotu w 2011 roku, ze wskazaniem do stosowania na oddziałach intensywnej terapii, bez dawki nasycającej, w zakresie dawek 0,2 – 1,4 µg/kg/godz. (Weerink i in. 2017). Przy zalecanej szybkości wlewu deksmedetomidyna zapewnia sedację z minimalnym wpływem na układ oddechowy i stosowana może być zarówno przed, podczas jak i po ekstubacji. (Munoz i in. 2005)



Rys. 1. Porównanie wzorów strukturalnych deksmedetomidyny i klonidyny (opracowanie własne)

2. Farmakokinetyka

Po podaniu dożylnym deksmedetomidyna wykazuje szybką dystrybucję z biologicznym okresem półtrwania(t½) w fazie alfa wynoszącym około 6 minut, a objętość dystrybucji (Vd) równa jest 118 L. Lek wiąże się z białkami w 94% i wykazuje kinetykę liniową w zalecanym zakresie dawek. Jest intensywnie metabolizowana zarówno przez układ enzymatyczny cytochromu P450, przez alifatyczne hydroksylowanie przy udziale CYP2A6 oraz w wyniku bezpośredniego sprzęgania z kwasem glukuronowym. Metabolity te wydalane są z moczem (95%) i kałem (4%). Okres półtrwania deksmedetomidyny w fazie beta wynosi około 2 godzin, aklirens39L/godz. u dorosłych, zdrowych pacjentów. Zalecane jest zmniejszenie dawki u pacjentów z zaburzeniami czynności wątroby (Buck 2010).

Petroz i in. (2006) przeprowadzili badanie oceniające farmakokinetykęi farmakodynamikę leku u dzieci poddawanych zabiegom chirurgicznym. Wzięło w nim udział 36 pacjentów w wieku od 2 do 12 lat, którym podawano dożylny wlew deksmedetomidynę w dawce 2,4 i 6 µg/kg/godz. przez 10 minut lub placebo. Wiązanie leku z białkami osocza wynosiło 92,6 ± 0,7%. Okres półtrwania w fazie beta wynosił 1,8 godziny.W drugim badaniu farmakokinetycznym oceniano 10 dzieci w wieku od 4 miesięcy do 7 lat, które otrzymywały deksmedetomidynę w trakcie pooperacyjnej wentylacji mechanicznej. Podawano im dożylnie dawkę nasycającą 1 µg/kg, a następnie wlew 0,2 - 0,7 µg/kg/godz. Infuzję kontynuowano średnio przez 18,8 godziny (zakres 8 – 24 godziny). Średnia objętość dystrybucji w stanie

stacjonarnym wynosiła 2,53 ± 0,37 L/kg, przy średnim klirensie wynoszącym 0,57 ± 0,14 L/kg/godz. Okres półtrwania wynosił 2,65 ± 0,88 godziny (Diazi in. 2007). Autorzy obu tych badań wywnioskowali, że parametry farmakokinetyczne u dzieci są podobne do dorosłych.

W kolejnych latach przeprowadzono badania, które oceniały wpływ wieku na parametry farmakokinetyczne deksmedetomidyny. Do badań włączono ośmioro dzieci w wieku od 28 dni do 23 miesięcyi kolejne 8 w wieku od 2 do 11 lat.Deksmedetomidyne podano w dawce 1 μg/kg dożylnie, w celu uspokojenia proceduralnego. Klirens nie różnił się istotnie między grupami i wynosił 17,4 ml/kg/min u młodszych dzieci i 17,3 ml/kg/min u starszych dzieci, ale mediana objętości dystrybucji w stanie stacjonarnym, była znacznie większa u młodszych dzieci (3,81 L/kg wobec 2,21 L/kg, $p<0,05$). Okres półtrwania w fazie eliminacji był również znacznie dłuższy u młodszych dzieci, z medianą 139 minut w porównaniu do 96 minut u starszych dzieci (Viloi in. 2008). Badanie dotyczące populacyjnej analizy farmakokinetycznej z wykorzystaniem nieliniowego modelowania efektówmieszanych opublikowano w 2008 roku. Opisano 148 obserwacji od 45 dzieci w wieku od 4 dni do 14 lat, którym podawano deksmedetomidynę po operacji kardiochirurgicznej. Model dwukompartmentowy z eliminacją pierwszego rzędu został wybrany na podstawie najlepszego dopasowania danych. Klirens oszacowano na 39,2 L/h na 70 kg (CV 30,36%). Autorzy stwierdzili, że wartosciklirensu u noworodków stanowią około jedną trzecią wartości obserwowanych u dorosłych (Potts i in. 2008). Zidentyfikowali oni również kolejną różnicę w klirensie: pacjenci, którzy otrzymywali wlew deksmedetomidyny po operacji kardiochirurgicznej mieli znacznie wolniejszy klirens, niż pacjenci, którzy poddawani byli krótkoterminowym sedacjom. Na podstawie powyższych danych wydaje się, że szybkość wlewu deksmedetomidyny powinna być ustalana zarówno na podstawie wieku jak i stanu klinicznego pacjenta (Potts i in. 2009).

3. Działania niepożądane

Najważniejszymi działaniami niepożądanymi deksmedetomidyny jest niedociśnienie i bradykardia, wynikające z aktywności sympatykolitycznej. W badaniach klinicznych u dorosłych, u 25% pacjentów otrzymujących deksmedetomidynę wystąpiło niedociśnienie, w porównaniu do 13% pacjentów otrzymujących placebo. Bradykardię obserwowano u 5% leczonych pacjentów w porównaniu z 3% w grupie kontrolnej (Buck 2010). W obu przeprowadzonych badaniach z udziałem populacji pediatrycznej opisywano zarówno niedociśnienie jak i bradykardię, chociaż rzadko występowały istotne klinicznie lub wymagające interwencji sytuacje. W badaniu z udziałem 12 dzieci poddawanych ablacji

nadkomorowych ścieżek dodatkowych podawanie deksmedetomidyny (dawka nasycająca i.v. 1 μg/kg, następnie infuzja 0,7 μg/kg/godz.) spowodowało znaczny spadek częstości akcji serca i epizody przemijającego nadciśnienia tętniczego (wpływ zarówno na węzeł zatokowy jak i przedsionkowo-komorowy). Autorzy zalecili, aby nie stosować deksmedetomidyny podczas badań elektrofizjologicznych serca (Hammer i in. 2008).

Zastosowanie większych niż zalecane dawek deksmedetomidyny przez niektórych klinicystów miało na celu wzrost skuteczności sedacji. Powodowało to jednak zwiększenie liczby pacjentów z niekorzystnymi efektami hemodynamicznymi (Mason i in. 2008). Badanie retrospektywne 747 dzieci miało na celu ocenę bezpieczeństwa i skuteczności dużych dawek w terapii. Zastosowano dawkę wysycającą 2 – 3 μg/kg podawaną dożylnie, a następnie infuzję 1-2 μg/kg/godz. Podczas gdy autorzy osiągnęli odpowiedni poziom sedacji u 97% swoich pacjentów, u 16% z nich wystąpiła bradykardia. Częstość bradykardii nie różniła się u pacjentów, którzy dodatkowo otrzymywali pentobarbital, w porównaniu do tych, którym podawano samą deksmedetomidynę (13% w porównaniu do 16%).

Inne działania niepożądane zgłaszane po zastosowaniu deksmedetomidyny podczas badań klinicznych obejmują nudności (9%), wymioty (4%), gorączkę (4%), hipowolemię, niedodmę i suchość w jamie ustnej (3%), tachykardię, dreszcze, pobudzenie (2%). Istnieją rzadkie doniesienia o zaburzeniach rytmu serca. Zaleca się ostrożne stosowanie tego leku u pacjentów z blokiem węzła przedsionkowo-komorowego w wywiadzie lub z ciężką dysfunkcją komór, jak również u pacjentów z hiperwolemią lub z przewlekłym nadciśnieniem (Weerink i in. 2017).

4. Interakcje z lekami

Podawanie deksmedetomidyny z innymi lekami uspokajającymi i znieczulającymi zazwyczaj powoduje interakcje farmakodynamiczne prowadzące do nasilonej sedacji. Ten efekt addytywny pozwala na zmniejszenie dawki środków uspokajających o bardziej znaczącym profilu działań niepożądanych, takich jak benzodiazepiny. W związku ze sposobem, w jaki deksmedetomidyna ulega metabolizmowi, badano hamowanie enzymów cytochromu P450, w tym cytochromu CYP2B6, przezdeksmedetomidynęz zastosowaniem hodowli mikrosomów wątroby ludzkiej. Badaniain vitrosugerują, że możliwa jest, interakcjain vivopomiędzy deksmedetomidyną i substratamimetabolizowanymi głównie przy udziale cytochromu CYP2B6.Obserwowano indukcję deksmedetomidyny in vitrodotyczącą CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9 i CYP3A4, dlatego nie można wykluczyć indukcji in vivo. Znaczenie kliniczne tego faktu nie jest znane, ponieważ w literaturzebrakuje badań na

ten temat. Nie zmienia ona natomiast odpowiedzi na niedepolaryzujące środki blokujące przewodnictwo nerwowo-mięśniowe (Weerink i in. 2017).

Efekt hipotensyjny deksmedetomidyny może być zwiększony przez łączne podawanie z innymi lekami,o podobnym działaniu na układ krążenia.Berkenbosh i in. (2003) opisali interakcję między digoksyną a deksmedetomidyną.Zaobserwowali przypadek bradykardii u 5-tygodniowego niemowlęcia otrzymującego oba leki jednocześnie. Częstość akcji serca dziecka zmniejszyła się ze 133 uderzeń na minutę do 116 uderzeń na minutę podczas podawania dawki nasycającej deksmedetomidyny. W późniejszym etapie częstość akcji serca spadała do 90 uderzeń na minutę, z okresowymobniżeniem do 40uderzeń na minutę. Częstość akcji serca powróciła do wartości wyjściowej w ciągu 1 godziny od zaprzestania podawania deksmedetomidyny. Autorzy wysunęli teorię, że leki wywoływały bradykardię poprzez dodatkowy wzrost napięcia nerwu błędnego.

5. Doświadczenia kliniczne u dzieci

- Pierwsze badania

Początkowe doniesienia o stosowaniu deksmedetomidyny jako środka uspokajającego w populacji pediatrycznej zostały opublikowane w dwóch badaniach z tej samej placówki (Tobias i in. 2002; Tobias i in. 2003). Pierwsza, opublikowana w 2002 roku opisywała zastosowanie deksmedetomidyny u trójki dzieci podczas wentylacji mechanicznej. Szybkość wlewu wahała się od 0,25 do 0,7 μg/kg/godz. U trójki dzieci uzyskano sedację na odpowiednim poziomie, aczkolwieku 11-letniego pacjenta poddawanego endoskopii wymagane było podanie midazolamui ketaminy, zanim możliwe było wykonanie u niego zabiegu. Deksmedetomidyna powodowała nieznaczne zmniejszenie częstości akcji serca i obniżenie ciśnienia tętniczego. W drugiej publikacji opisano zastosowanie deksmedetomidyny u 5 dzieci. Troje z nich otrzymało dożylną dawkę nasycającą 0,5 μg/kg przez 10 minut, następnie infuzję 0,25 μg/kg/godz. Dwaj pozostali pacjenci otrzymali pojedynczy dożylny bolus w dawce 0,5 μg/kg. U wszystkich pacjentów osiągnięty został odpowiedni poziom sedacji. Dzieci tolerowały lek bez znaczących działań niepożądanych. Opierając się na skutecznym zastosowaniu deksmedetomidyny w tych dwóch przypadkach autorzy doszli do wniosku, że środek ten powinien zostać poddany dalszym badaniom, jako lek uspokajający dla dzieci.

- Użycie podczas wentylacji mechanicznej

W 2004 roku ci sami lekarze przeprowadzili prospektywne, randomizowane badanie porównujące midazolam i deksmedetomidynę u dzieci wymagających wentylacji mechanicznej (Tobias i in. 2004). Trzydzieścioro dzieci podzielono losowo na trzy grupy:

1. otrzymującą midazolam zdawką nasycającą 0,1 mg/kg, następnie we wlewie o szybkości 0,1 mg/kg/godz.,
2. otrzymującą małą dawkę deksmedetomidyny; dawka nasycająca 0,25 μg/kg, a następnie infuzję 0,25 μg/kg/godz.,
3. otrzymującą dużą dawkę deksmedetomidyny; dawka nasycająca 0,5 μg/kg, a następnie wlew 0,5 μg/kg/godz.

Nie zaobserwowano różnic między badanymi grupami w aspekcie oceny poziomu sedacji oraz w wynikach indeksu bispektralnego (BIS). Średnie wartości BIS wynosiły57 ± 8 dla grupy otrzymującej midazolam, 51 ± 12 dla grupy, której podano małe dawki deksmedetomidyny oraz 60 ± 10 dla grupy z dużymi dawkami deksmedetomidyny. Dzieci należące do trzeciej grupy wymagały znacznie mniejszych dawek morfiny niż dzieci otrzymujące midazolam, w związku, z czym otrzymały mniejszą całkowitą dawkę morfiny. Liczba dzieci, u których nie osiągnięto wymaganego poziomu sedacji była również niszaw obu grupach otrzymujących deksmedetomidynę niż w grupie midazolamu.

Deksmedetomidyna może odgrywać wyjątkową rolę w sedacji dzieci z zaburzeniami neurologicznymi, które wymagają wentylacji mechanicznej. Bardzo często trudno jest uzyskać odpowiedni poziom sedacji u tych pacjentów, a stosowanie dużych dawek leków może zwiększyć ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. Benzodiazepiny, najczęściej stosowane środki uspokajające u dzieci, mogą powodować paradoksalnie pobudzenie lub niedociśnienie. Korzyści z zastosowania deksmedetomidyny u tych pacjentów zostały zasugerowane w kilku badaniach, począwszy od opisu badaniach u 5 dzieci z trisomią 21 pary chromosomów (Kalyanaraman i in. 2007). Pacjenci w wieku od 2 miesięcy do 3 lat poddawani byli wentylacji mechanicznej po operacji kardiochirurgicznej. Deksmedetomidyna podawana była we wlewie dożylnym od 0,2 do 2,5 μg/kg/godz. Bardzo istotne jest to,że sedacja na odpowiednim poziomie została utrzymana nawet po odstawieniu fentanylui midazolamu. U żadnego z dzieci nie wystąpiło pobudzenie.

W dużym badaniu retrospektywnym, do którego włączono 121 dzieci w wieku od 2 miesięcy do 21 lat, deksmedetomidynę(zakres od 0,15 do 0,7 μg/kg/godz.) podawano podczas wentylacji mechanicznej (Czaja i in. 2009).U 18 chorych była ona jedynym lekiem uspokajającym. Pozostali pacjenci otrzymywali terapię skojarzoną z opiatami i/lub benzodiazepinami. Dodatek deksmedetomidyny spowodował zmniejszenie o odpowiednio 42% i 36% dawek podawanych jednocześnie benzodiazepin i opiatów. Na postawie powyższych wyników stwierdzić można, że stosowanie deksmedetomidyny pozwoliło na redukcję dawek innych leków uspokajających.

6. Dawkowanie

W oparciu o dostępne badania, zalecany zakres dawek u dorosłych pacjentów wynoszący 0,2 – 0,7 μg/kg/godz. można również z powodzeniem stosować u dzieci. Podanie leku można rozpocząć od dawki nasycającej1 μg/kg podawanej przez 10 minut, aczkolwiek niektóre szpitale pediatryczne zmniejszają lub pomijają dawkę nasycającą, aby uniknąć bradykardii i niedociśnienia. Wlew należy dostosować indywidualnie do pacjenta, z sugerowaną maksymalną dawką 2 μg/kg/godz (Buck i in. 2008; Koroglu i in. 2006).

7. Odstawienie

Nagłe zaprzestanie stosowania deksmedetomidyny może wywołać objawy odstawienia podobne do tych, które obserwowane są po odstawieniu klonidyny, w tym pobudzenie, drażliwość, ból głowy i nadciśnienie tętnicze. W praktyce klinicznej, infuzje trwające dłużej niż 24 godziny nie powodowały wystąpienia skutków niepożądanych. Hammer i in. (2005) opisali udane stosowanie deksmedetomidyny przez okres 4 dni u dziecka wymagającego wentylacji mechanicznej po rekonstrukcji tchawicy. Walkeri in. (2006) opisali podawanie deksmedetomidyny podczas wentylacji mechanicznej 65 dzieci po oparzeniu. Nie stwierdzono żadnych objawów odstawienia, pomimo średniego czasu trwania wlewu 11 dni. Retrospektywne badanie54 dzieci otrzymujących deksmedetomidynę po operacji kardiochirurgicznej również nie wykazało działań niepożądanych po długotrwałym stosowaniu (średni czas podania wynosił 16,7 godziny) (Bejian i in. 2009).

8. Podsumowanie

Nieustannie trwają badania mające na celu zsyntetyzowanie środka zapewniającego skuteczną sedację przy jednoczesnym niewielkim wpływie na ważne funkcje życiowe pacjenta. Wykorzystanie deksmedetomidyny do sedacji dzieci poddawanych wentylacji mechanicznej w warunkach intensywnej terapii, stanowi próbę rozwiązania tego problemu. Ze względu na korzyści obejmujące niewielki wpływ na ośrodek oddechowy, stosunkowo krótki okres półtrwania oraz łagodny profil działań niepożądanych może być szczególnie przydatny w sedacji pacjentów pediatrycznych. Stanowić może ona alternatywę dla leków (benzodiazepiny, opiaty), które powoduj silny zespół odstawienia, szczególnie u pacjentów z zaburzeniami neurologicznymi (Tab. 1). Deksmedetomidyna wydaje się być dobrze tolerowana w zalecanym zakresie dawek. Ze względu na możliwość wystąpienia bradykardii i niedociśnienia, powinna być stosowana tylko wtedy, gdy jest możliwość odpowiedniego monitorowania pacjenta i gdy nie ma dla niej przeciwwskazań. Pomimo szeregu danych sugerujących, że lek ten może być z powodzeniem stosowany w pediatrii, potrzebne są dalsze badania, w celu zdefiniowania roli deksmedetomidyny w intensywnej opiece pediatrycznej.

Tabela 1. Porównanie działania deksmedetomidyny z innymi lekami stosowanymi na oddziałach intensywnej terapii (Kaur i in. 2011; opracowanie własne)

Efekt	Deksmedetomidyna	Benzodiazepiny	Propofol	Opioidy
Sedacja	✓	✓	✓	✓
Analgezja	✓			✓
Złagodzenie lęku	✓	✓		
Depresja oddechowa		✓		✓
Brak delirium	✓			
Kardioprotekcja	✓			

9. Literatura

Bejian S, Valasek C, Nigro JJ, et al. 2009. Prolonged use of dexmedetomidine in the pediatric cardiothoracic intensive care unit. Cardiol Young., 19: 98–104

Berkenbosch JW, Tobias JD. 2003. Development of bradycardia during sedation with dexmedetomidine in an infant concurrently receiving digoxin. PediatrCrit Care Med., 4: 203–205.

Buck Marcia L. 2010. Dexmedetomidine Use in Pediatric Intensive Care and Procedural Sedation. J PediatrPharmacolTher., 15: 17–29.

Buck ML, Willson DF. 2008. Use of dexmedetomidine in the pediatric intensive care unit. Pharmacotherapy., 28: 51–57.

Czaja AS, Zimmerman JJ. 2009. The use of dexmedetomidine in critically ill children. PediatrCrit Care Med., 10: 381–386.

Diaz SM, Rodarte A, Foley J, et al. 2007. Pharmacokinetics of dexmedetomidine in postsurgical pediatric intensive care unit patients: preliminary study. PediatrCrit Care Med., 8: 419–424.

Hammer GB, Drover DR, Cao H, et al. 2008. The effects of dexmedetomidine on cardiac electrophysiology in children. AnesthAnalg., 106: 79–83.

Hammer GB, Philip BM, Schroeder AR, et al. 2005. Prolonged infusion of dexmedetomidine for sedation following tracheal resection. PaediatrAnaesth., 15: 616–620

Kalyanaraman M, Costello JL, Starr JP. 2007. Use of dexmedetomidine in patients with trisomy 21 after cardiac surgery. PediatrCardiol., 28: 396–399

Kaur M., Singh PM. 2011. Current role of dexmedetomidine in clinicalanesthesia and intensivecare. AnesthEssays Res.; 5(2): 128–133

Koroglu A, Teksan H, Sagir O, et al. 2006. A comparison of the sedative, hemodynamic, and respiratory effects of dexmedetomidine and propofol in children undergoing magnetic resonance imaging. AnesthAnalg., 103: 63–67

Mason KP, Zurakowski D, Zgleszewski SE, et al. 2008. High dose dexmedetomidine as the sole sedative for pediatric MRI. PaediatrAnaesth., 18:403–411.

Munoz R., Berry D. 2005. Dexmedetomidine: promising drug for pediatric sedation? PediatrCrit Care Med., 6: 493–494

Petroz GC, Sikich N, James M, et al. 2006. A phase I, two-center study of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexmedetomidine in children. Anesthesiology., 105: 1098–1110.

Potts AL, Anderson BJ, Warman GR, et al. 2009. Dexmedetomidine pharmacokinetics in pediatric intensive care - a pooled analysis. PaediatrAnaesth., 19: 1119–1129.

Potts AL, Warman GR, Anderson BJ. 2008. Dexmedetomidine disposition in children: a population analysis. PaediatrAnaesth., 18: 722–730.

Tobias JD, Berkenbosch JW, Russo P. 2003 Additional experience with dexmedetomidine in pediatric patients. South Med J., 96: 871–875

Tobias JD, Berkenbosch JW. 2002. Initial experience with dexmedetomidine in paediatric-aged patients. PaediatricAnaesth., 12: 171–175.

Tobias JD, Berkenbosch JW. 2004. Sedation during mechanical ventilation in infants and children: dexmedetomidine versus midazolam. South Med J., 97: 451–455.

Vilo S, Rautiainen P, Kaisti K, et al. 2008. Pharmacokinetics of intravenous dexmedetomidine in children under 11 years of age. Br J Anaesth., 100: 697–700.

Walker J, MacCallum M, Fischer C, et al. 2006. Sedation using dexmedetomidine in pediatric burn patients. J Burn Care Res., 27: 206–210.

Weerink MAS., Struys MMRF., Hannivoort LN., Barends CRM., Absalom AR., Colin P. 2017. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine. ClinPharmacokinet., 56: 893-913

Zespół policystycznych jajników

Anna Nowak [(1)], Urszula Ambroziak [(2)]

[1] Studenckie Koło Naukowe „Endocrinus", Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny
[2] Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa
Anna Nowak: anian09@interia.pl

Streszczenie
Zespół policystycznych jajników (ang. PolcysticOvarianSyndrome, PCOS) jest jedną z najczęściej występujących chorób ginekologiczno-endokrynologicznych na świecie. Charakteryzuje się obecnością objawów zespołu hiperandrogennego, wielotorbielowatością jajników i zaburzeniami owulacji. Ponadto, choroba stanowi czynnik ryzyka takich patologii jak insulinooporność, cukrzyca typu 2, otyłość oraz w konsekwencji schorzeń układu sercowo-naczyniowego. Z uwagi na różnorodność fenotypów oraz nie w pełni wyjaśnioną etiologię, PCOS sprawia trudności diagnostyczne. Zauważono znaczący wpływ czynników genetycznych, środowiskowych oraz etnicznych na rozwój choroby. Zespół policystycznych jajników jest jedną z najważniejszych przyczyn niepłodności. Leczenie PCOS koncentruje się przede wszystkim na modyfikacji stylu życia oraz farmakologicznym redukowaniu objawów hiperandrogenizacji i poprawie płodności.

Słowa kluczowe: zespół policystycznych jajników, niepłodność, jajniki

Polycystic ovarian syndrome

Summary
Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is one of the most common reproductive and endocrine disease occuring worldwide. It is characterized by presence of hyperandrogenism, polycystic ovaries and oligo- or even anovulation. Moreover, the disease is a risk factor for insulin resistance, diabetes mellitus type 2, obesity and other conditions of cardiovascular system. Taking into account the diversity of phenotypes as well as not fully explained etiology of the disease, making appropriate diagnosis is difficult. Genetic, environmental as well as ethnical factors has been noted as important for developing this disease. Polycystic ovarian syndrome is accounted as one of the most important causes of infertility. Until today no cure has been developed, but there are symptoms-based therapies available, which are capable of alleviating symptoms in women with PCOS.

Keywords: polycystic ovarian syndrome, infertility, ovaries

1. Wstęp

Zespół policystycznych jajników (PCOS) jest jednym z najczęściej występujących zaburzeń endokrynologiczno-ginekologicznych oraz najpowszechniejszą przyczyną hirsutyzmu (występowania nadmiernego owłosienia typu męskiego u kobiet) i niepłodności spowodowanej brakiem owulacji. Choroba dotyczy 6-10% populacji kobiet (Erin i in. 2014). Podstawowymi cechami klinicznymi PCOS są: objawy hiperandrogenizmu, obecność jajników policystycznych w obrazie ultrasonograficznym oraz dysfunkcja jajników (Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop, 2003). Zespół policystycznych jajników jest związany również z innymi zaburzeniami, przede wszystkim z otyłością, opornością na insulinę (dotyczącą 60-80% kobiet chorujących na PCOS) (Carmina i in. 2010), hiperinsulinemią oraz cukrzycą typu 2. Rozpoznanie PCOS ściśle koreluje z dolegliwościami ze strony układu sercowo-naczyniowego, zaburzeniami neurologicznymi i psychologicznymi (depresja, odczuwanie niepokoju) oraz zapadalnością na

nowotwory piersi i endometrium (Li i in. 2011). Schorzenie stanowi główny powód cykli bezowulacyjnych u kobiet (Adams i in. 1986). Dowiedziono, iż PCOS jest przyczyną niepłodności u 20% kobiet mających problemy z zajściem w ciążę lub jej donoszeniem (Erin i in. 2014). Dokładna etiologia zespołu policystycznych jajników nie została w pełni wyjaśniona, aczkolwiek dotychczasowe badania wskazują na występowanie w patogenezie PCOS czynników genetycznych, etnicznych jak i środowiskowych (Frank i in. 1997).

2. Opis zagadnienia i przegląd literatury

- Rys historyczny

Pierwsza publikacja naukowa dotycząca dolegliwości, opisywanych współcześnie, jako zespół policystycznych jajników, została opublikowana we Włoszech w 1721 roku. Pierwotne patomorfologiczne opisy jajników ze zmianami wielotorbielowatymi powstały w 1844 roku (Gabor i in. 2007).

Zespół policystycznych jajników został po raz pierwszy rozpoznany w 1935 roku przez dwóch amerykańskich lekarzy Irvinga Freiler Steina i Michaela Leventhala, którzy opisali przypadki kobiet z chronicznym brakiem owulacji, hirsutyzmem oraz powiększonymi jajnikami. Od nazwisk odkrywców pochodzi początkowa nazwa schorzenia: zespół Steina – Leventhala (Stein i in. 1935).

Kontynuację badań przeprowadzili lekarze Goldzieher i Axelrod w 1963 roku, wykazującznamienne zróżnicowanie objawów powiązanych ze zwłóknieniem torebki jajników. Zauważono, że część kobiet z zespołem policystycznych jajników nie prezentuje dolegliwości klinicznych, natomiast w bardzo nasilonych postaciach choroby występuje również maskulinizacja (Axelrod i in. 1965).

Do chwili obecnej trwają intensywne prace badawcze dotyczące PCOS. Wraz z rozpowszechnieniem metod diagnostyki ultrasonograficznej oraz szerokiej palety badań biochemicznych i genetycznych dysponujemy obecnie obszerną wiedzą dotyczącą PCOS.

- Epidemiologia

Zespół policystycznych jajników jest powszechnie występującą chorobą endokrynologiczno-ginekologiczną. Dane dotyczące częstości występowania choroby różnią się w zależności od kryteriów diagnostycznych (March i in. 2010). Ujednolicone badania naukowe dowodzą, iż PCOS dotyczy 6-10% światowej populacji kobiet w krajach wysokorozwiniętych (Erin i in. 2014).

- Etiologia

Zespół policystycznych jajników jest schorzeniem wynikającym z interakcji czynników genetycznych, środowiskowych oraz etnicznych (Rosenfield i in. 2016). Wiele

przeprowadzonych prac badawczych wykazuje nieprawidłowe działanie insuliny jako podstawową przyczynę PCOS (Corbould i in. 2005).

Do czynników środowiskowych biorących udział w patogenezie PCOS zaliczamy status socjoekonomiczny kobiet oraz nawyki niesprzyjające zdrowiu, zwłaszcza palenie papierosów, błędy dietetyczne i małą aktywność fizyczną (Barkley, 2008). Największa korelacja została wykazana pomiędzy niskim statusem socjoekonomicznym kobiet i współwystępowaniem otyłości (Martorell i in. 2000). Udowodniono również powiązanie niskiego statusu socjoekonomicznego w okresie dzieciństwa z występowaniem zespołu PCOS w życiu dorosłym (Merkin i in. 2011).

Wpływ czynników genetycznych na rozwój PCOS można wyrazić hipotezą „dwóch zderzeń" (ang. Two-Hits), według której choroba rozwija się w konsekwencji wrodzonych predyspozycji (pierwsze zderzenie). Do ujawnienia się cech klinicznych choroby konieczny jest czynnik wyzwalający (drugie zderzenie) (Tab. 1).

Tab. 1. Patogeneza PCOS. Źródło: Robert R Rosenfield, Mitchell E Geffner, Alison G Hoppin, 2017, Etiology and pathophysiology of polycystic ovary syndrome in adolescents.

Wrodzone predyspozycje „pierwszego zderzenia"
• Warianty wrodzonych cech i genów wpływające na funkcje jajników • Warianty wrodzonych cech i genów predysponujących do insulinooporności, otyłości i cukrzycy typu 2 • Wrodzona wirylizacja płodu • Nieprawidłowe odżywianie płodu
Czynnik wyzwalający „drugie zderzenie"
• Hiperinsulinizm: -zespół metaboliczny -otyłość poporodowa • Dojrzewanie płciowe

Czynniki genetyczne mogą być zaprogramowane lub nabyte przez matkę w okresie prenatalnym (na przykład w skutek nieprawidłowego odżywiania czy stosowania środków farmakologicznych). Insulinooporność, predysponująca do rozwoju PCOS, może również rozwinąć się w okresie postnatalnym, jako powikłanie występowania u dziecka otyłości. Dziedziczenie zespołu policystycznych jajników jest szacowane na około 70%. Charakter

dziedziczenia jest zbliżony do autosomalnego dominującego, ze zmienną penetracją (Rosenfield i in. 2017).

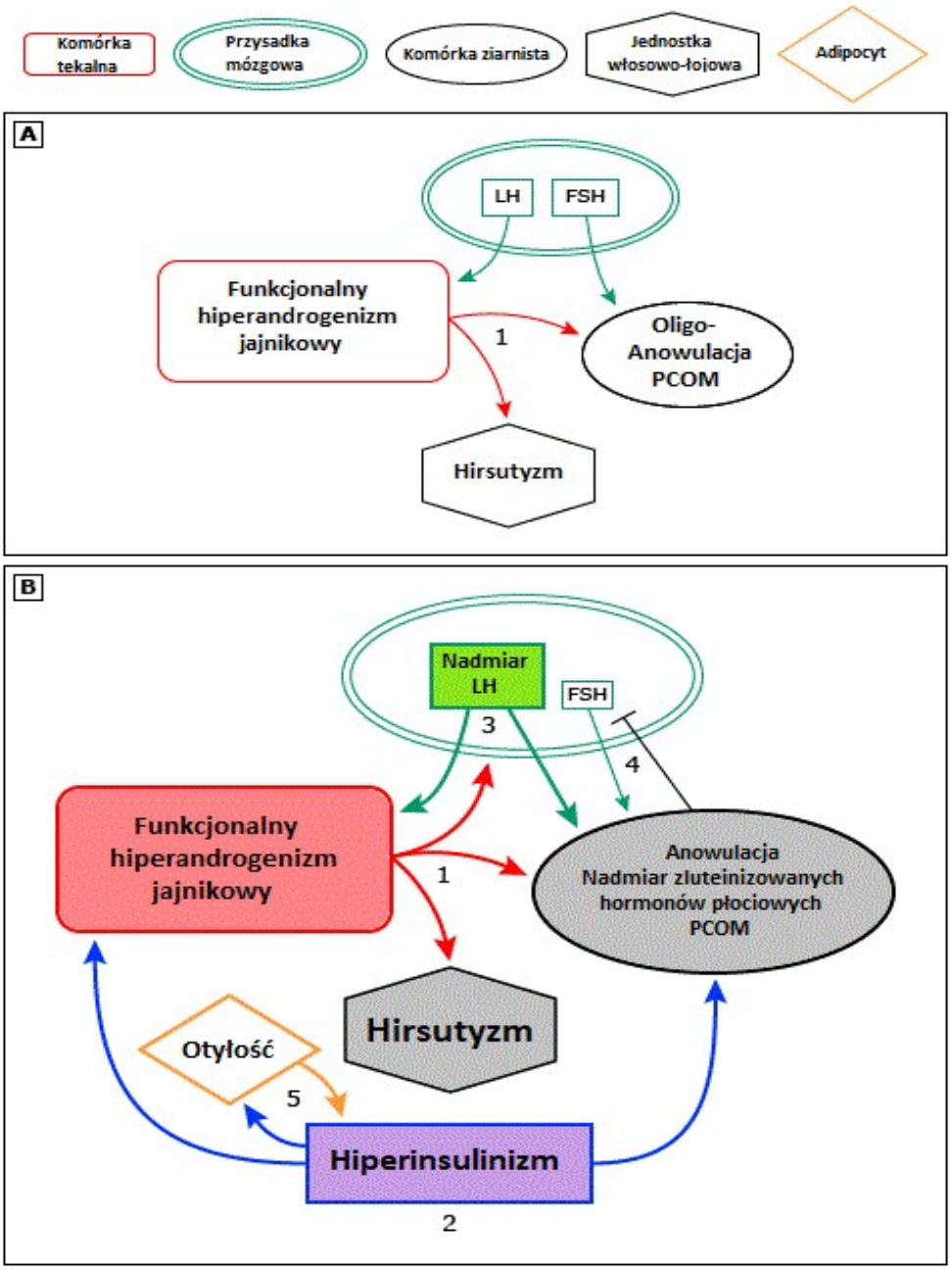
Przynależność etniczna również odgrywa rolę w patogenezie PCOS. Przeprowadzone analizy wskazują, iż częstość występowania choroby u kobiet rasy afroamerykańskiej wynosi 8,0%, natomiast u kobiet rasy kaukaskiej 4,8% (Azziz i in. 2004). Wśród kobiet mieszkających w Grecji odsetek ten wynosi 8% (Diamanti-Kanaraksis i in. 1999). Mieszkanki Meksyku stanowią grupę największego ryzyka zachorowania na zespół policystycznych jajników, dotyczy on 13% z nich (Erin i in. 2014).

- Patofizjologia i zaburzenia hormonalne

Pełny mechanizm zespołu policystycznych jajników nie został jeszcze wyjaśniony. U podłoża PCOS leżą nieprawidłowe działania generatora pulsów gonadoliberyny (GnRH), a w konsekwencji zwiększone uwalnianie hormonu luteinizującego (LH) z przysadki. Przyczynę zaburzeń ośrodka podwzgórzowego mogą stanowić schorzenia ośrodkowego układu nerwowego przebiegające ze zmniejszonym hamowaniem wydzielania gonadoliberyny (GnRH) przez dopaminę lub opioidy.

Zaburzenia hormonalne mogą kształtować się w okresie życia płodowego lub noworodkowego. W przebiegu uwarunkowanych genetycznie bloków enzymatycznych kory nadnerczy występuje ekspozycja na nadmierną ilość androgenów, które mogą doprowadzić do zaburzeń układu neuroendokrynnego, a zarazem zwiększonego wydzielania LH w okresie dojrzewania. Nadmierne stężenie hormonu luteinizującego występuje również w przypadku braku zwrotnego hamowania podwzgórza przez estradiol (E2) i progesteron.Wysokie stężenie hormonu luteinizującego, mającego receptory na komórkach osłonki, może nadmiernie aktywować 17α-hydroksylazę i 17,20c-liazę,doprowadzając do nadprodukcji androgenów: androstendionu i testosteronu. Podwyższony poziom androgenów predysponuje do wystąpienia otyłości androidalnej, redystrybucji tkanki tłuszczowej trzewnej oraz dyslipidemii, które wraz z czynnikami genetycznymi skutkują powstaniem insulinooporności (Zachurzok-Buczyńska i in. 2002).

Głównym źródłem nadmiaru hormonów androgennych u pacjentek z PCOS są jajniki aczkolwiek ich zwiększoną ilość produkują również nadnercza. Hiperandrogenemia powoduje wzrost liczby pęcherzyków jajnikowych i zatrzymanie ich rozwoju, skutkuje powstaniem policystycznej morfologii jajników (Rosenfield i in. 2016).



Rys.1 Koncepcjapatomechanizmu PCOS.; źródło: Rosenfield RL i in. 2016, The pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism.

(Panel A) Funkcjonalny hiperandrogenizm pochodzenia jajnikowego (ang. FunctionalOvarianHyperandrogenism, FOH) jest uniwersalny dla PCOS i może wyjaśnić wszystkie kardynalne cechy kliniczne zespołu: hiperandrogenizm, oligoowulację, anowulację i policystyczne jajniki. (krok 1) Wydzielanie LH przez przysadkę mózgową jest konieczne do utrzymania nadmiaru hormonów androgennych, ale nie wystarczające do wywołania hiperandrogenizmu. (Panel B) W przybliżeniu połowa pacjentek z FOH ma nieprawidłowy stopień hiperinsulinizmu opornego na insulinę (krok 2), który oddziałując na komórki tekalne

zwiększa zaawansowanie objawów hiperandrogenizmu; ponadto synergizuje z androgenami doprowadzając do przedwczesnego luteinizowania komórek ziarnistych oraz gromadzenia tłuszczów. Podwyższony hiperandrogenizm prowokuje nadmiarowe wydzielanie LH, oddziałując na komórki tekalne i zluteinizowane komórki ziarniste, doprowadzając do zintensyfikowania objawów (krok 3). LH stymuluje również zluteinizowane komórki ziarniste do wydzielania estradiolu (krok 4), który hamuje wydzielanie FSH. Wywołane hiperinsulinizmem zmiany funkcjonowania komórek ziarnistych zaostrzają zmiany morfologii policystycznych jajników (ang. polycysticovarymorphology, PCOM) utrudniając owulację. Otyłość zwiększa oporność na insulinę, a spowodowany stan hiperinsulinizmu pogłębia hiperandrogenizm (krok 5).

- Cechy kliniczne, diagnostyka i różnicowanie

Zespół policystycznych jajników, wg kryteriów ESHRE/ASRM, opublikowanych w Rotterdamie w 2003 roku, charakteryzuje się trzema podstawowymi cechami:

- oligoowulacją lub brakiem owulacji,
- klinicznymi lub biochemicznymi wykładniki hierpandrogenizmu,
- obrazem wielotorbielowatych jajników (co najmniej 12 pęcherzyków o średnicy 2-9 mm lub objętość jajnika >10 ml) w badaniu ultrasonograficznym.

Warunkiem postawienia rozpoznania PCOS jest spełnianie minimum dwóch z trzech wyżej wymienionych kryteriów (Johnstone i in. 2010). W zależności od prezentowanych cech diagnostycznych wyróżniono cztery fenotypy zespołu wielotorbielowatych jajników: (Rosenfield i in. 2017)

- fenotyp 1 – hiperandrogenizm, oligoowulacja lub brak owulacji, policystyczne jajniki,
- fenotyp 2 – hiperandrogenizm, brak owulacji,
- fenotyp 3 – hiperandrogenizm, policystyczne jajniki (bez zaburzeń owulacji),
- fenotyp 4 – oligoowulacja lub brak owulacji, policystyczne jajniki

Obecność zaburzeń owulacji jest jednym z kryteriów PCOS. Oligoowulacja objawia się klinicznie, jako zaburzenia cyklu menstruacyjnego o typie oligomenorrhoea (około 70% pacjentek), natomiast anowulacja jako wtórny brak miesiączki (20% przypadków) (Bręborowicz, 2017). Zaburzenia miesiączkowania stanowią główną przyczynę bezpłodności. Szacuje się, iż 90% cykli bezowulacyjnych jest spowodowanych PCOS (Erin i in. 2014).

Hiperandrogenizm, dotyczący 60% kobiet z PCOS (Balen i in. 1995), jest pochodzenia głownie jajnikowego, ale też nadnerczowego. W celu stwierdzenia hiperandrogenemii należy oznaczyć stężenia testosteronu, siarczanu dehydroepiandrosteronu (DHEAS) oraz androstendionu. Podwyższone stężenia androgenów objawiają się występowaniem

hirsutyzmu (owłosienia typu męskiego). Ponadto hormony androgenne stymulują gruczoły łojowe, powodując zmiany łojotokowe, trądzik oraz przetłuszczanie włosów. Wypadanie włosów dotyczy 5-50% pacjentek z PCOS (Bręborowicz, 2017). U chorych z PCOS rozpoznaje się otyłość androidalną z rozmieszczeniem tkanki tłuszczowej w obrębie ściany jamy brzusznej i okolicy jej narządów. Nadmiar tkanki tłuszczowej skutkuje uaktywnieniem czynników prozapalnych (TNF-α, IL-6, IL-1, IP-10, CRP, IL-18), które wywołując stan zapalny, również przyczyniają się do rozwoju insulinooporności, cukrzycy typu 2 oraz innych zaburzeń metabolicznych (Erin i in. 2014). Rozpoznanie PCOS wymaga wykluczenia innych przyczyn hiperandrogenizmu, takich jak: akromegalia, niedoczynność tarczycy, hiperprolaktynemia, nieklasyczna postać wrodzonego przerostu nadnerczy, zespół Cushinga, guzy hormonalnie czynne wydzielające androgeny (Erin i in. 2014).

- Ryzyko rozwoju innych jednostek chorobowych

Zespół policystycznych jajników skutkuje wieloma zaburzeniami ze strony innych układów i narządów. Najczęściej występującym powikłaniem PCOS jest zespół metaboliczny oraz zwiększone ryzyko chorób ze strony układu sercowo-naczyniowego (Thurston i in. 2005). Oporność na insulinę dotyczy 60-80% kobiet chorujących na PCOS oraz 95% otyłych kobiet z PCOS (Carmina i in. 2010). Insulinooporność stanowi natomiast podłoże rozwoju cukrzycy typu 2, hiperandrogenizmu oraz bezowulacyjnych cykli menstruacyjnych (Erin i in. 2014). Ponadto zaobserwowano zwiększone ryzyko upośledzonej tolerancji glukozy i cukrzycy ciążowej wśród kobiet z PCOS. Wykazano również negatywny wpływ PCOS na działanie układu nerwowego, który może objawiać się obniżoną jakością życia u pacjentek z PCOS oraz zwiększoną częstością występowania depresji, niepokoju i obniżenia samooceny (Deeks i in. 2011). Zespół policystycznych jajników może predysponować do zwiększenia ryzyka zapadalności na raka endometrium i raka sutka (Hardiman i in. 2003).

- Leczenie

Podstawą leczenia pacjentek z zespołem policystycznych jajników jest zmiana stylu życia, zarówno w aspekcie diety jak i aktywności fizycznej, umożliwiająca redukcję masy ciała u kobiet otyłych. Dieta powinna być zbilansowana, z ograniczeniem spożycia cukrów prostych oraz tłuszczów nasyconych. Ważne jest regularne spożywanie posiłków, najlepiej pięć razy dziennie oraz wybieranie produktów spożywczych o niskim indeksie glikemicznym. Regularna aktywność fizyczna również w połączeniu z odpowiednią dietą uwrażliwia komórki na insulinę, doprowadzając do zmniejszenia objawów klinicznych oraz powikłań choroby.

Leczenie farmakologiczne PCOS służy regulacji cyklu miesięcznego i zmniejszeniu objawów hiperandrogenizacji. Stosowane w tym celu dwuskładnikowe tabletki antykoncepcyjne zmniejszają także ryzyko zachorowania na raka jajnika i endometrium. Działaniem antyandrogennym charakteryzuje się między innymi spironolakton, octan cyproteronu i flutamid oraz inhibitor 5-α-reduktazy - finasteryd.

Farmakologiczna stymulacja owulacji stanowi nadrzędny cel leczenia niepłodności kobiecej. Stosowany w tym celu jest selektywny modulator receptora estrogenowego (klomifen), a w przypadku braku jego skuteczności również analogi FSH i LH. Ponadto preparaty gonadotropiny kosmówkowej (HCG), podawane po ostatniej dawce gonadotropin, powodują uwalnianie pęcherzyka jajnikowego w sposób analogiczny do LH. Udowodniono, iż lek pierwotnie zarejestrowany do leczenia insulinooporności i cukrzycy typu 2, metformina, w połączeniu z odpowiednią dietą oraz aktywnością fizyczną również stymuluje owulację (Erin i in. 2014). W przypadku braku skuteczności farmakologicznej indukcji owulacji, wskazane jest leczenie laparoskopowe (elektrokauteryzacja lub technika laserowa). Techniki zapłodnienia pozaustrojowego, wiążące się jednak z wyższym odsetkiem ciąż wielopłodowych, stanowią kolejny etap leczenia bezpłodności (Bręborowicz, 2017).

3. Podsumowanie i wnioski

Zespół policystycznych jajników jest często występującą chorobą endokrynologiczno-ginekologiczną. Manifestacja kliniczna choroby obejmuje objawy hiperandrogenizacji (hirsutyzm, trądzik, łysienie) oraz zaburzenia cyklu miesięcznego a w konsekwencji niepłodność. PCOS doprowadza również do innych schorzeń, przede wszystkim do zaburzeń ze strony układu sercowo-naczyniowego oraz układu nerwowego a także do ryzyka rozwoju raka endometrium i sutka. Leczenie pacjentek z zespołem policystycznych jajników polega na zmianie stylu życia oraz farmakologicznym leczeniu objawów hiperandrogenizacji, regulacji cykli menstruacyjnych i poprawie płodności.

4. Literatura

Adams J, Polson DW, Franks S., 1986, Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsituism. Br Med J (Clin Res Ed), 293:355–359

Axelrod LR, Goldzieher JW., 1965, The polycystic ovary. V. Alternate pathways of steroid aromatization in normal, pregnancy and polycystic ovaries, J ClinEndocrinolMetab., 25(9): 1275-8

Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO., 2004, The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. J ClinEndocrinolMetab., 89:2745–2749.

Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, Techatrasak K, Manning PJ, West C, Jacobs HS., 1995, Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. Hum Reprod., 10:2107–2111.

Barkley GS., 2008, Factors influencing health behaviors in the National Health and Nutritional Examination Survey, III (NHANES III). Soc Work Health Care., 46:57–79.

Bręborowicz G., 2017, Położnictwoiginekologia, PZWL, 2:122-127

Carmina E, Oberfield SE, Lobo RA., 2010, The diagnosis of polycystic ovary syndrome in adolescents. Am J Obstet Gynecol., 203:201.e1–201.e5

Corbould A, Kim YB, Youngren JF, Pender C, Kahn BB, Lee A, Dunaif A., 2005, Insulin resistance in the skeletal muscle of women with PCOS involves intrinsic and acquired defects in insulin signaling. Am J PhysiolEndocrinolMetab., 288:E1047–E1054

Deeks AA, Gibson-Helm ME, Paul E, Teede HJ., 2011, Is having polycystic ovary syndrome a predictor of poor psychological function including anxiety and depression? Hum Reprod., 26:1399–1407.

Diamanti-Kanarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GG, Zapanti ED, Bartzis MI., 1999, A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. J ClinEndocrinolMetab., 84:4006–4011.

Erin K. Barthelmess, Rajesh K. Naz, 2014, Polycystic ovary syndrome: current status and future perspective, Frontiers in Bioscience, 6: 104-119

Franks S, Gharani M, Waterwoth D, Batty S, White D, Williamson R, McCarthy M., 1997, The genetic basis of polycystic ovary syndrome, Hum Reprod., 12:2641-2648

Gabor T. Kovacs, Robert Norman, 2007, Polycystic Ovary Syndrome, Cambridge University Press, s. 4.

Hardiman P, Pillay OC, Atiomo W., 2003, Polycystic ovary syndrome and endometrial carcinoma. Lancet., 361:1810–1812

Johnstone E.B., Rosen M.P., Neru R. et all., 2010, The polycystic ovary post-Rotterdam: a common, age-dependent finding in ovulatory women without metabolic significance. J. Clin. Endocrinol. Metab., 95 (11): 4965–4972

Li Y, Li Y, Yu Ng EH, Stener-Victorin E, Hou L, Wu T, Han F, Wu X., 2011, Polycystic ovary syndrome is associated with negatively variable impacts on domains of health-related quality of life: evidence from a meta-analysis. FertilSteril., 96:452–458.

March WA, Moore VM, Willson KJ et al., 2010, The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria, Hum Reprod, 25:544

Martorell R, Khan LK, Hughes ML, Grummer-Strawn LM., 2000, Obesity in women from developing countries. Eur J ClinNutr., 54:247–252

Merkin SS, Azziz R, Seeman T, Calderon-Margalit R, Daviglus M, Kiefe C, Matthews K, Sternfeld B, Siscovick D., 2011, Socioeconomic status and polycystic ovary syndrome. J Womens Health., 20:413–419.

Robert L Rosenfield, Amy B Middleman, Mitchell E Geffner, Alison G Hoppin, 2017, Definition, clinical features and differential diagnosis of polycystic ovary syndrome in adolescents, UpToDate

Robert R Rosenfield, Mitchell E Geffner, Alison G Hoppin, 2017, Etiology and pathophysiology of polycystic ovary syndrome in adolescents, UpToDate

Rosenfield RL, Ehrmann DA., 2016, The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. Endocr Rev, 37:467.

Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). Hum Reprod. 2004;19:41–47

Stein IF, Leventhal ML., 1935, Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. Am J Obstet Gynecol., 29:181–191.

Thurston RC, Kubzansky LD, Kawachi I, Berkman LF., 2005, Is the association between socioeconomic position and coronary heart disease stronger in women than in men? Am J Epidemiol., 162:57–65.

Zachurzok-Buczyńska A., Małecka-Tendera E., Lewin-Kowalik J., 2002, Patogeneza i klinika czynnościowych zaburzeń jajnikowych u dziewcząt. Endokrynologia Pediatryczna, 1:55-65.

Aktywność przeciwbakteryjna wybranych substancji pochodzenia roślinnego względem *Staphylococcus aureus*, w obecności i przy braku emulgatora - Tween 80

Elżbieta Piątkowska [(1)], Maciej Włodarczyk [(2)], Filip Kominek [(3)], Aleksandra Chwiećko[(3)] Malwina Brożyna [(3)]

[1] Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
[2] Katedra i Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
[3] Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
Filip Kominek: philip.kom@gmail.com

Streszczenie
Celem pracy było sprawdzenie aktywności przeciwbakteryjnej wybranych wyciągów roślinnych i olejków eterycznych względem *Staphylococcus aureus*. Badaniu poddano ekstrakty metanolowe oraz wodno - metanolowe: korzenia mydlnicy (*Saponaria officinalis),* plechy porostu islandzkiego (*Cetraria islandica*), kory topoli *(Populus nigra),* kory brzozy (*Betula*), ziela fiołka (*Viola tricolor*) oraz dwa olejki eteryczne: kadzidłowcowy i manuka. Jako substancję referencyjną wybrano kurkuminę. Wykonano także doświadczenie oceniające wpływ Tween 80 na wzrost *Staphylococcus aureus.* Aktywność przeciwbakteryjną badanych substancji sprawdzono w płynnym podłożu CAMHB wykorzystując metodę mikrorozcieńczeń. Wszystkie ekstrakty zahamowały wzrost gronkowca złocistego, a najniższe wartości MIC (*minimum inhibitory concentration*) osiągnęły: metanolowy wyciąg z porostu islandzkiego (1,56%) oraz metanolowy roztwór olejku manuka (0,98%). Dodanie jako emulgatora Tween 80 podwyższyło wartości MIC wszystkich badanych próbek poza wodno - metanolowym wyciągiem z mydlnicy lekarskiej oraz metanolowym roztworem olejku kadzidłowcowego. Badanie wpływu Tween 80 wykazało również, że emulgator ten zwiększa intensywność wzrostu bakterii.

Słowa kluczowe: wyciągi roślinne, olejki eteryczne, *S.aureus*, Tween 80

Antibacterial activity of selected natural substances against *Staphylococcus aureus*, in the presence and absence of emulsifier - Tween 80

Summary
The reaserch was conducted to determine the antibacterial activity of selected plants extracts and essential oils against *Staphylococcus aureus.* A variety of methanol and aqueous-methanol extracts obtained from: soapwort root (*Saponaria officinalis)*, Iceland moss thallus (*Cetratia islandica*), black poplar bark (*Populus nigra*), birch bark (*Betula sp.*), heartsease herb (*Viola tricolor*) and two essential oils: frankincense and manuka were investigated. Moreover, the effect of Tween80 on growth of *Staphylococcus aureus* was tested. The antibacterial activity was assessed in liquid growth medium (*CAMHB*) by broth microdilution method. All extracts inhibited the growth of *S.aureus* whereas the lowest MIC (mimum inhibitory concentration) values had methanol extract of Iceland moss (1,56%) and methanol solution of manuka oil (0,98%). Addition of Tween80 as an emulsifier increased MIC values of all samples save two: aqueous-methanol extract of soapwort and methanol solution of frankincense oil. Furthemore, the study indicated that Tween80 enhanced the intensity of bacterial growth.

Keywords: plant extracts, essential oils, *S.aureus*, Tween 80

1. Wstęp

Narastająca oporność mikroorganizmów na stosowane obecnie antybiotyki, skłania do poszukiwania alternatywnych metod zwalczania zakażeń bakteryjnych (Ventola 2015). Światowa Organizacja Zdrowia (ang. WHO, *World Health Organization*) opublikowała 27 września 2017 roku listę dwunastu gatunków chorobotwórczych dla człowieka bakterii,

dla których znalezienie nowych antybiotyków jest niezbędne. Wśród wymienionych drobnoustrojów znalazły się również szczepy *Staphylococcus aureus* (gronkowca złocistego) (WHO 2017).

Staphylococcus aureus to Gram - dodatnia względnie beztlenowa bakteria (Fuchs et al. 2007). Około 30% populacji może być jej nosicielem, głównie na skórze i błonach śluzowych górnych dróg oddechowych (Thomer, Schneewind, and Missiakas 2016). Jest też jednym z najbardziej rozpowszechnionych ludzkich patogenów, wywołujących liczne infekcje. Należą do nich m.in.: zakażenia skóry i tkanek miękkich, infekcyjne zapalenie wsierdzia, zakrzepowe zapalenie żył, zapalenie szpiku, stawów, opon mózgowo - rdzeniowych, infekcje układu moczowego oraz sepsa. Innymi charakterystycznymi schorzeniami wywołanymi przez gronkowca złocistego są: ropień nadtwardówkowy, zespół wstrząsu toksycznego, zespół poparzonej skóry, czy zatrucia pokarmowe. Oprócz posiadania szeregu czynników wirulencji, patogen ten ma także zdolność do tworzenia struktury biofilmu, co utrudnia usuwanie go z miejsc skolonizowanych i zwiększa jego oporność na antybiotyki. Przyczynia się to do powstawania infekcji u osób posiadających implanty, protezy, cewniki, jak również do rozwoju chronicznych zapaleń błon śluzowych i kolonizacji ran przewlekłych (Archer et al. 2011).

Obecnie, poszukując nowych leków przeciwbakteryjnych, coraz większą uwagę zwraca się na substancje izolowane z roślin (Cragg and Newman 2013). Celem pracy było sprawdzenie aktywności przeciwbakteryjnej wybranych wyciągów roślinnych oraz olejków eterycznych względem gronkowca złocistego. Badaniu poddano ekstrakty metanolowe oraz wodno-metanolowe. Dodatkowo przetestowano wpływ obecności emulgatora (Tween 80) na rozpuszczalność analizowanych ekstraktów w bulionie CAMHB oraz na aktywność przeciwbakteryjną.

2. Materiały i metody

- Szczepy bakteryjne.

Do badań użyto szczepu referencyjnego *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Przed doświadczeniem bakterie hodowano w warunkach tlenowych na podłożu Columbia Agar z 5% krwią baranią (24h, temp. 37°C). Po inkubacji 2-3 kolonie zawieszano w 0,85% roztworze NaCl, przygotowując zawiesinę o gęstości 0,5 w skali McFarlanda (1,5 x 10^8CFU/ml) i rozcieńczając ją 20-krotnie w podłożu CAMHB (*cation adjusted Mueller-Hinton Broth*).

- Wyciągi roślinne

Wybrane do testów substancje roślinne pochodziły z: korzenia mydlnicy (*Saponaria officinalis),* plechy porostu islandzkiego (*Cetraria islandica),* kory topoli *(Populus nigra),* kory brzozy *(Betula sp.*) i z ziela fiołka *(Viola tricolor)*. Do badań przygotowano ekstrakty metanolowe oraz wodno–metanolowe. Każdy surowiec zmikronizowano w młynku elektrycznym (IKA A11) i przygotowano dwa rodzaje wyciągów poprzez tygodniową maceracje, odpowiednio w 100% i 50% alkoholu metylowym, w stosunku 1:10. Maceraty przesączono i przefiltrowano przy użyciu filtrów strzykawkowych (KTL 0,22 µm PTFE *membrane*).

- Olejki eteryczne

Olejki eteryczne pochodziły ze źródeł komercyjnych: olejek kadzidłowcowy (*Boswellia carterii*), (Young and living Essentials oils, USA); olejek manuka (*Leptospermum scoparium*), (Dr. Beta, Polska). Olejki rozcieńczono 100% alkoholem metylowym do stężenia 40 mg/ml.

- Substancja referencyjna

Kurkuminę (CarlRoth, Niemcy) rozpuszczono w 100% DMSO (dimetylosulfotlenek) uzyskując jej końcowe stężenie 40 mg/ml.

Aktywność przeciwbakteryjną uzyskanych roztworów wyznaczono wykorzystując metodę mikrorozcieńczeń, umożliwiającą ustalenie wartości MIC (*minimum inhibitory concentration*) substancji. W tym celu do 96-dołkowej płaskodennej płytki polistyrenowej naniesiono po 100 µl podłoża, a następnie dodano po 100 µl roztworów badanych próbek (1:1 v/v) i przygotowano ich seryjne rozcieńczenia w zakresie stężeń 0,098 - 50%. Następnie do studzienek nanoszono przygotowaną jak wyżej zawiesinę *S. aureus* w objętości 10 µl. Końcowe stężenie komórek bakteryjnych w studzienkach wynosiło $6{,}8\times10^5$ CFU/ml. Kontrolę wzrostu szczepu stanowiło CAMHB z dodaną zawiesiną bakteryjną, kontrolę jałowości podłoża - samo podłoże. Po 20 godzinach inkubacji w temp. 35°C z wytrząsaniem (400 obrotów/min) studzienki zakrapiano 0,1% roztworem wodnym TTC (chlorek 2,3,5-trifenylotetrazolu) i inkubowano w cieplarce w temp. 35°C przez kolejne 20 h. Za wartość MIC przyjęto najniższe stężenie wyciągu, przy którym nie obserwowano już wzrostu drobnoustrojów oraz, przy którym równocześnie nie było widocznego różowego zabarwienia wynikającego z metabolizowania TTC do barwnego formazanu przez żywe komórki. Badania wykonano, co najmniej w trzech powtórzeniach, a z uzyskanych wyników wyciągnięto średnią wartość MIC dla poszczególnych ekstraktów.

W drugim wariancie metody do podłoża dodano emulgator - Tween 80 (Polysorbate 80, polyoxyethylenesorbitanmonooleate, 4%, m/m), tak aby jego końcowe stężenie w podłożu wynosiło 2% (1:1, v/v). Pozostałe etapy wykonano analogicznie. Kontrolę jałowości podłoża stanowiło podłoże CAMHB z 2% Tween 80. Kontrolę wzrostu szczepu stanowiło to samo podłoże z dodaną zawiesiną bakteryjną w objętości 10µl.

Dodatkowo wykonano doświadczenie umożliwiające ocenę wpływu Tween 80 na wzrost *Staphylococcus aureus.* W tym celu przygotowano wyjściowy, 10% roztwór emulgatora w podłożu CAMHB. Zdolność wzrostu bakterii sprawdzano przy następujących stężeniach Tween 80: 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5%; 3,0%; 3,5%; 4,0%; 4,5%; 5,0%. Do poszczególnych studzienek płytki polistyrenowej nałożono po 100 µl roztworu Tween 80 w stężeniu dwukrotnie większym, niż docelowe. Dla porównania intensywności wzrostu *S. aureus*, jedna ze studzienek zawierała 100µl podłoża bez emulgatora. Następnie dodano 100 µl podłoża CAMHB z zawiesiną bakteryjną (końcowe stężenie w studzience $7,5 \times 10^5$ CFU/ml). Kontrolę jałowości stanowiło podłoże bez szczepu. Płytkę inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 godziny z wytrząsaniem (400 obrotów/min). Poziom zmętnienia, zależny od intensywności wzrostu hodowli bakteryjnej odczytano przy pomocy czytnika Multiskan GO (Thermo Fisher Scientific, Finland). Pomiaru dokonano przy długości fali 580 nm, po 10s wytrząsania. Całą procedurę przeprowadzono w minimum trzech powtórzeniach.

3. Wyniki

Tabela nr 1 przedstawia wartości MIC badanych substancji, uzyskane w metodzie mikrorozcieńczeń.

- Analiza wyników doświadczenia bez dodatku emulgatora.

Z powyższych średnich wartości MIC wynika, iż 100% wyciągi metanolowe z korzenia mydlnicy lekarskiej, plechy porostu islandzkiego, kory topoli czarnej i ziela fiołka trójbarwnego silniej hamują wzrost *S. aureus* niż ich wyciągi wodno-metanolowe (50%). Największe działanie wykazywał metanolowy wyciąg z plechy porostu islandzkiego (MIC=1,56%) i był on 4-krotnie bardziej aktywny od wyciągu wodno-metanolowego (MIC=6,25%). Z kolei brak różnic w wartości MIC przy zastosowaniu obu ekstrahentów wykazywał wyciąg z kory brzozy. Jego aktywność była porównywalna z działaniem metanolowego wyciągu z kory topoli czarnej (MIC=3,13%).

Najsłabsze działanie i najwyższe wartości MIC odnotowano dla wyciągu wodno-metanolowego z korzenia mydlnicy lekarskiej oraz dla metanolowego roztworu olejku kadzidłowcowego (MIC=12,50%). Ze wszystkich testowanych substancji, najsilniejsze

działanie przeciwbakteryjne i najniższe stężenie hamujące wzrost *S. aureus* wykazywał metanolowy roztwór olejku manuka. Jego wartość MIC= 0,98% była prawie dwukrotnie niższa niż minimalne stężenie hamujące wyciągu z plechy płucnicy islandzkiej. Kurkumina o udowodnionej aktywności przeciwgronkowcowej została użyta jako substancja referencyjna (MIC=2,21%).

Tabela 1. Średnie wartości MIC badanych próbek względem *S. aureus* ATCC 29213, oznaczone w metodzie mikrorozcieńczeń, w obecności i przy braku Tween 80

Substancja	Rodzaj ekstrahenta	MIC [%]	
		CAMHB	CAMHB + 2% TWEEN 80
Saponariae officinalis radix	100	6,25	6,25
	50	12,50	6,25
Lichen islandicus	100	1,56	6,25
	50	6,25	7,81
Populi Nigrae cortex	100	3,13	6,25
	50	6,25	6,25
Violae tricoloris herba	100	5,47	6,25
	50	8,75	12,50
Betulae cortex	100	3,13	6,25
	50	3,13	6,25
Olejek manuka	100	0,98	1,17
Olejek kadzidłowcowy	100	12,50	5,28
Kurkumina	DMSO	2,21	6,25
Metanol	100	17,50	6,25
	50	25,00	12,38

100, 50 – procentowe stężenia metanolu użytego do przygotowania wyciągów (DER 1:10); CAMHB – (ang. *cation adjusted Mueller-Hinton Bulion*), podłoże płynne do oznaczania lekowrażliwości bakterii; MIC – (ang. *minimum inhibitory concentration*) minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii

Średnie minimalne stężenie metanolu hamujące wzrost *S. aureus wynosiło* 17,50%, gdy wyjściowym roztworem był 100% metanol, oraz 25,00%, gdy metanol był rozcieńczony wcześniej wodą destylowaną w stosunku 1:1 (v/v). Powyższe rezultaty pozwalają stwierdzić, że aktywność przeciwbakteryjna testowanych związków nie jest wynikiem działania samego rozpuszczalnika. Podobnie DMSO, którego MIC wynosi 12,50% nie wydaje się mieć wpływu na wyniki testów z kurkuminą.

Podczas przygotowywania seryjnych rozcieńczeń badanych substancji obserwowano częściowe wytrącanie się składników roztworów. W związku z tym kolejną serię badań przeprowadzono dodając do podłoża znany emulgator - Tween 80. Jego obecność w podłożu

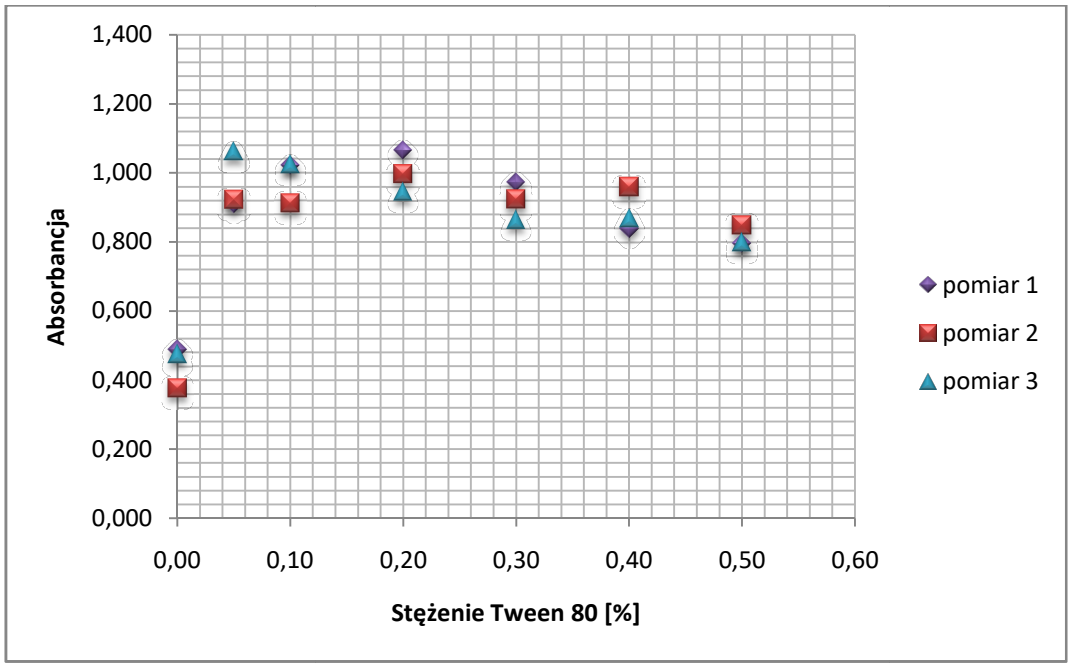
powodowała lepszą rozpuszczalność badanych substancji. Miała jednak wpływ na ich aktywność przeciwbakteryjną.

Użycie emulgatora Tween 80 obniżało średnie wartości MIC w przypadku wodno-metanolowego wyciągu z mydlnicy lekarskiej oraz metanolowego roztworu olejku kadzidłowcowego. Ponadto, spadek wartości MIC w związku z dodaniem emulgatora odnotowano również dla samego metanolu. Wszystkie pozostałe badane próbki osiągały wyższe wartości MIC, co w porównaniu z wynikami dla metanolu mogło świadczyć np. o utracie przez nie aktywności. Największy wzrost MIC zaobserwowano w przypadku metanolowego wyciągu z plechy płucnicy islandzkiej (czterokrotny) oraz kurkuminy (blisko trzykrotny).

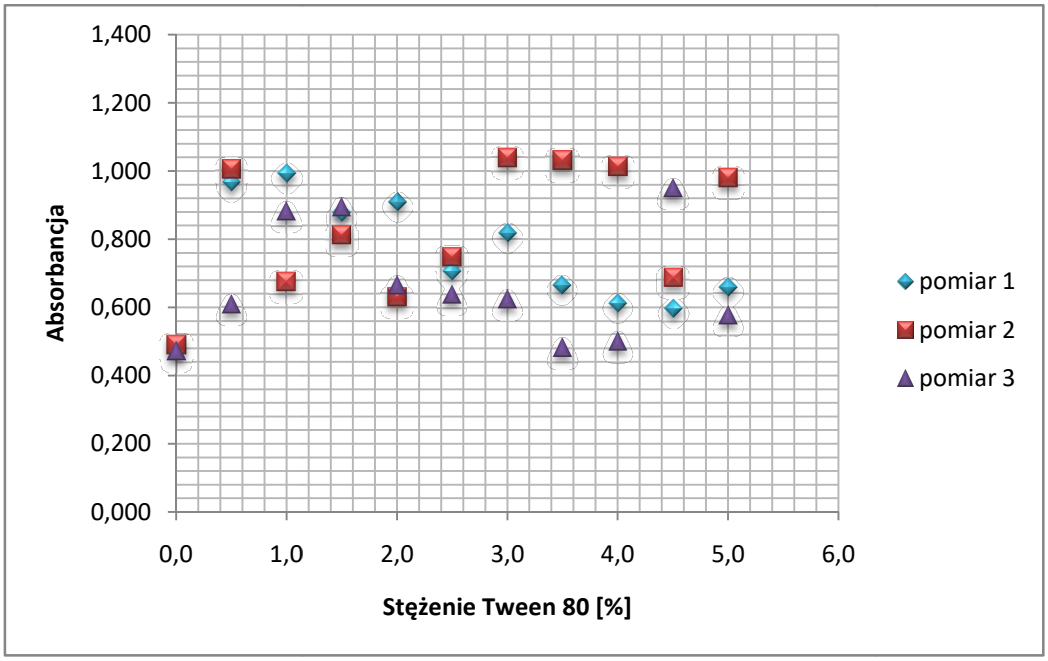
- Wpływ Tween 80 na wzrost *Staphylococcus aureus.*

Chcąc wyjaśnić, jaki wpływ na wzrost *S. aureus* może mieć Tween 80, wykonano doświadczenie, w którym hodowano bakterie w różnych, wzrastających stężeniach emulgatora. Wykresy nr 1 i 2 przedstawiają wyniki przeprowadzonych doświadczeń.

Absorbancja kontroli podłoża bez bakterii wynosi 0,176. Porównanie wyników wzrostu bakterii w samym podłożu ze wzrostem w różnych stężeniach Tween 80, na podstawie absorbancji próbek, wykazało korzystny wpływ emulgatora na wzrost bakterii. Nie obserwowano jednak by istniała wprost proporcjonalna zależność pomiędzy wzrastającym stężeniem emulgatora, a intensywnością wzrostu *S. aureus*.



Wykres 1. Stopień zmętnienia hodowli *S. aureus* w obecności różnych stężeń emulgatora (0 - 0,5%).



Wykres 2. Stopień zmętnienia hodowli *S. aureus* w obecności różnych stężeń emulgatora (0 - 5%)

4. Dyskusja i wnioski

Narastająca oporność bakterii na powszechnie używane antybiotyki staje się coraz większym problemem klinicznym. Trudności związane z syntezą antybiotyków posiadających nowy mechanizm działania przeciwbakteryjnego, wymuszają poszukiwanie alternatywnych źródeł substancji bakteriobójczych (Balouiri, Sadiki, and Ibnsouda 2016). Szczególną uwagę zaczęto zwracać na surowce roślinne i ich przetwory, od lat używane w medycynie ludowej (Al-Mariri and Safi 2014). Obecnie istnieje wiele potwierdzonych badaniami doniesień, iż związki pochodzenia naturalnego posiadają działanie antybakteryjne. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa przypisywana jest wielu składnikom wyciągów roślinnych. Wśród izolowanych z nich metabolitów wtórnych o udowodnionym działaniu wymienia się takie grupy związków jak: flawonoidy, terpeny, garbniki, fenole czy alkaloidy (Cowan 1999).

Spośród roślin o mniej udokumentowanym działaniu, wybrano do badań takie, których skład chemiczny sugerował obecność substancji o wysokiej aktywności przeciwbakteryjnej. Wyniki przeprowadzonych doświadczeń potwierdziły, że wszystkie wyciągi z wybranych surowców roślinnych hamują wzrost gronkowca złocistego. Różnią się jednak siłą działania. Stwierdzono też różny poziom aktywności poszczególnych wyciągów, w zależności od stężenia ekstrahenta. Cztery z pięciu wyciągów metanolowych wykazały niższą średnią wartość MIC od ich metanolowo - wodnych odpowiedników. Może to wskazywać, że związki o działaniu antybakteryjnym zawarte w badanych częściach roślin cechują się lepszą rozpuszczalnością w alkoholach lub oddziałują z nimi synergistycznie względem komórek gronkowca złocistego. W dalszych badaniach należałoby, więc zwrócić szczególną uwagę na

substancje zawarte we frakcji alkoholowej tych wyciągów. Potwierdzenie tej tezy można znaleźć w publikacji [Cowan] M.M, w której przedstawiono zmienną rozpuszczalność związków pochodzenia naturalnego, zależną od użytego ekstrahenta.

Kolejnym istotnym czynnikiem, który mógł mieć wpływ na wyniki oznaczania aktywności przeciwbakteryjnej jest rozpuszczalność związków obecnych w wyciągach roślinnych czy olejkach eterycznych. Po dodaniu ekstraktów do wodnych roztworów podłoży (np. CAMHB), często obserwowane jest wytrącanie części substancji w postaci osadu. Może to być spowodowane słabą rozpuszczalnością związków zawartych w wyciągach w środowisku wodnym lub reakcją pomiędzy składnikami bulionu, a substancjami zawartymi w badanych ekstraktach. W celu wyeliminowania tego zjawiska zwykle zaleca się dodanie do podłoża DMSO lub emulgatorów, takich jak Tween 20 czy Tween 80, zwiększających rozpuszczalność substancji. (Alaribe et al. 2011), (Deng et al. 2016).

Tween 80 to niejonowy surfaktant i emulgator, powszechnie używany do produkcji maści, kremów, balsamów i innych preparatów medycznych oraz spożywczych (Coors et al. 2005). Jego cząsteczka składa się z około 20 polioksyetylenowych (POE) pochodnych sorbitanu i kwasu oleinowego (Zhang et al. 2012). Tween 80 jest jednym z najczęściej używanych emulgatorów w testach sprawdzających aktywność przeciwbakteryjną olejków eterycznych. Ma na to wpływ jego zdolność do tworzenia trwałych emulsji (Chilton and Laws 1980), zwiększanie rozpuszczalności związków w środowisku wodnym oraz brak działania hamującego wzrost wielu patogenów, w tym gronkowca złocistego. Używane do badań stężenia Tween 80 zazwyczaj nie przekraczają 5% (Rebouças de Araújo et al. 2017).

Podczas prowadzonych doświadczeń zaobserwowano, że zarówno w 100% jak i 50% wyciągach metanolowych, po dodaniu bulionu CAMHB część związków ulegała wytrąceniu. W kolejnej serii badań użyto, więc Tween 80. Podejrzewano, że związki tworzące osad posiadające ewentualną aktywność przeciwbakteryjną, nie będą miały możliwości oddziaływania w miejscu docelowym w komórce bakteryjnej. Porównując uzyskane wcześniej wartości MIC w podłożu bez Tween 80 i w podłożu z emulgatorem stwierdzono, że wbrew wielu doniesieniom znalezionym w publikacjach, wartość MIC w większości próbek wzrosła (Rebouças de Araújo et al. 2017). Jedynie w przypadku 50% metanolowego wyciągu z mydlnicy lekarskiej, metanolowego roztworu olejku kadzidłowcowego oraz przy testowanych stężeniach metanolu, dodany surfaktant obniżał wartość MIC (średnio dwu- lub trzykrotnie). Jednocześnie wartości MIC większości roztworów metanolowych w obecności Tween 80 odpowiadały wynikom uzyskanym dla 100% metanolu (MIC=6,25%). Może to sugerować, że aktywność badanych substancji została zahamowana. Analiza wyników

i literatury doprowadziła do podejrzeń, iż Tween 80 może istotnie wpływać na wzrost badanych bakterii. Nielsen i wsp. udowodnili wpływ wspomnianego emulgatora na wzrost bakterii *Staphylococcus aureus*, a także formowanego przez ten szczep biofilmu, już przy stężeniu emulgatora równym 0,1% (Nielsen et al. 2016). Dodatkowo wykazali, iż emulgator ten może zmniejszać działanie przeciwbakteryjne olejków eterycznych i antybiotyków na przykładzie izoeugenolu i hydrofobowego antybiotyku - rifampicyny. Mann i Markham zasugerowali, że w zależności od testowanych substancji, Tween może podwyższać lub obniżać wartości MIC, szczególnie w przypadku olejków eterycznych (Mann and Markham 1998). W pracy Remmal i wsp. zaproponowano mechanizm dezaktywacji niektórych związków pochodzących z olejków eterycznych przez Tween 80. Może on polegać na tworzeniu wiązań wodorowych pomiędzy wolnymi grupami hydroksylowymi ugrupowania sorbitanowego surfaktantu, a związkami fenolowymi, co uniemożliwia ich interakcję z komórką bakteryjną. Dla porównania ci sami autorzy w metodzie z użyciem agaru, jako emulgatora uzyskali niższe średnie wartości MIC (Remmal et al. 1993).

Wyniki prezentowane w niniejszej pracy wydają się potwierdzać powyższe założenia. Doświadczenie sprawdzające oddziaływanie Tween 80 na wzrost *Staphylococcus aureus* wykazało, iż surfaktant ten ma korzystny wpływ już przy stężeniu 0,05%, czyli dwukrotnie niższym, niż sugerowano (Nielsen et al. 2016). Silniejszy wzrost bakterii w obecności emulgatora nie wydaje się być jednak wprost proporcjonalny do użytego stężenia Tween 80 i trudno ocenić w jakim stopniu jego obecność może zaburzać działanie związków o aktywności przeciwbakteryjnej. Dane prezentowane w pracy Mann i Markham prowadzą do podobnych wniosków. Należałoby, więc rozważyć zasadność zastosowania Tween 80 jako emulgatora w testach mikrobiologicznych sprawdzających aktywność przeciwbakteryjną nowych substancji.

Przedstawione wyniki badań potwierdziły działanie przeciwdrobnoustrojowe wybranych przez nas substancji roślinnych, jednak jednoznaczne określenie siły tego działania wymaga dalszych badań, polegających m.in. na modyfikacji metodyki. W celu zwiększenia rozpuszczalności związków lipofilnych, powinno się przetestować emulgatory innego rodzaju oraz oprzeć badania także na metodach, w których nie są one wykorzystywane, a substancją przeciwdziałającą tworzeniu osadu jest np. agar.

5. Literatura

Al-Mariri, Ayman and Mazen Safi. 2014. “In Vitro Antibacterial Activity of Several Plant Extracts and Oils against Some Gram-Negative Bacteria.” Iranian Journal of Medical Sciences 39(1):36–43.

Alaribe, Chinwendum S.tephenie et al. 2011. “Antimicrobial Activities of Hexane Extract and Decussatin from Stembark Extract of Ficus Congensis.” International Journal of Molecular Sciences 12(4):2750–56.

Archer, Nathan K. et al. 2011. “Staphylococcus Aureus Biofilms: Properties, Regulation and Roles in Human Disease.” Virulence 2(5):445–59.

Balouiri, Mounyr, Moulay Sadiki, and Saad Koraichi Ibnsouda. 2016. “Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review.” Journal of Pharmaceutical Analysis 6(2):71–79.

Chilton, H. M. and D. R. J. Laws. 1980. “STABILITY OF AQUEOUS EMULSIONS OF THE ESSENTIAL OIL OF HOPS.” Journal of the Institute of Brewing 86(3):126–30.

Coors, Esther A., Heidi Seybold, Hans F. Merk, and Vera Mahler. 2005. “Polysorbate 80 in Medical Products and Nonimmunologic Anaphylactoid Reactions.” Annals of Allergy, Asthma and Immunology 95(6):593–99.

Cowan, M. M. 1999. “Plant Products as Antimicrobial Agents.” Clinical Microbiology Reviews 12(4):564–82.

Cragg, Gordon M. and David J. Newman. 2013. “Natural Products: A Continuing Source of Novel Drug Leads.” Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects 1830(6):3670–95.

Deng, Ling Li, Maierhaba Taxipalati, Fei Que, and Hui Zhang. 2016. “Physical Characterization and Antioxidant Activity of Thymol Solubilized Tween 80 Micelles.” Scientific Reports 6.

Fuchs, Stephan, Jan Pané-Farré, Christian Kohler, Michael Hecker, and Susanne Engelmann. 2007. “Anaerobic Gene Expression in Staphylococcus Aureus.” Journal of Bacteriology 189(11):4275–89.

Mann, C. M. and J. L. Markham. 1998. “A New Method for Determining the Minimum Inhibitory Concentration of Essential Oils.” Journal of Applied Microbiology 84(4):538–44.

Nielsen, Christina K., Jørgen Kjems, Tina Mygind, Torben Snabe, and Rikke L. Meyer. 2016. “Effects of Tween 80 on Growth and Biofilm Formation in Laboratory Media.” Frontiers in Microbiology 7(NOV).

Rebouças de Araújo, Ítalo Diego et al. 2017. “Chemical Composition and Evaluation of the Antibacterial and Cytotoxic Activities of the Essential Oil from the Leaves of Myracrodruon Urundeuva.” BMC Complementary and Alternative Medicine 17(1).

Remmal, A., T. Bouchikhi, A. Tantaoui-Elaraki, and M. Ettayebi. 1993. “Inhibition of Antibacterial Activity of Essential Oils by Tween 80 and Ethanol in Liquid Medium.” Journal de Pharmacie de Belgique 48(5):352–56.

Thomer, Lena, Olaf Schneewind, and Dominique Missiakas. 2016. “Pathogenesis of Staphylococcus Aureus Bloodstream Infections.” Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease 11(1):annurev-pathol-012615-044351.

Ventola, C.Lee. 2015. “The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats.” P & T : A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management (2015) 40(4):277–83.

WHO. 2017. “Prioritization of Pathogens to Guide Discovery, Research and Development of New Antibiotics for Drug-Resistant Bacterial Infections, Including Tuberculosis.” WHO 88.

Zhang, R., Y. Wang, L. Tan, H. Y. Zhang, and M. Yang. 2012. “Analysis of Polysorbate 80 and Its Related Compounds by RP-HPLC with ELSD and MS Detection.” Journal of Chromatographic Science 50(7):598–607.

Inwazja biedronki azjatyckiej *Harmonia axyridis* na świecie

Marta Piotrowska [(1)], Karolina Bodzon [(2)], Dominika Sitarska [(3)]

[1] Wydział Biologii i Nauk o Środowisku, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego wWarszawie,
[1] EkoMeritum Sp. z o. o., ul. Zawiślańska 43,03-068, Warszawa
[2] Pracownia Ekotoksykologii, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego
[3] Zakład Genetyki, Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie,
Marta Piotrowska: mpmartapiotrowska@gmail.com

Streszczenie
Biedronka azjatycka *Harmonia axyridis* to drapieżny gatunek pochodzenia azjatyckiego, występujący w kilkunastu formach barwnych. Przez lata była ona wykorzystywana do biologicznego zwalczania szkodników upraw, m. in. w Stanach Zjednoczonych, byłym Związku Radzieckim czy niektórych krajach Europy Zachodniej. Pod koniec XX wieku gatunek ten zaaklimatyzował się, najpierw w Ameryce Północnej, a następnie w Europie, Ameryce Południowej i na południu Afryki, stając się gatunkiem inwazyjnym. Rozprzestrzeniające się na świecie populacje *H. axyridis*zagrażają rodzimym gatunkom biedronek, w Europie przede wszystkim biedronce dwukropce (*Adaliabipunctata*) oraz w mniejszym stopniu takim gatunkomjak *Adaliadecempunctata, Exochomusquadripustulatus* czy *Propyleaquatuordecimpunctata*. Biedronka azjatycka, mając zwyczaj gromadnego zimowania w budynkach mieszkalnych, może być uciążliwa dla ludzi, a także wywoływać u nich reakcje alergiczne. W okresie jesiennym może też być szkodnikiem w sadach i w winnicach.

Słowa kluczowe: *Harmonia axyridis*, inwazja biologiczna, biedronka azjatycka, kontrola biologiczna, gatunek inwazyjny

The invasion the harlequin ladybird *Harmonia axyridis* in the world

Summary
The harlequin ladybird*Harmonia axyridis* is a predatory species of Asian origin that occurs in over a dozen colour forms. Over the years, it was used as a biocontrol agent of pest insects, among others in the United States, the former Soviet Union or in some western European countries. In the late 20th century, this species established, at first in North America and then in Europe, South America and the southern part of Africa, becoming an invasive species. Populations of *H. axyridis* spreading in the world threaten the native ladybird species, in Europe mostly the two-spot ladybird (*Adaliabipunctata*) and to a lesser extent other species, such as *Adaliadecempunctata, Exochomusquadripustulatus* or *Propyleaquatuordecimpunctata*. The harlequin ladybird, having a habit of gregarious overwintering inside houses, may be a nuisance to people and may cause allergic reactions. In autumn, *H. axyridis* may be a pest in orchards and vineyards.

Keywords: *Harmony axyridis*, biological invasion, Asian ladybug, biological control, invasive species

1.Wstęp

Biedronka azjatycka, *Harmonia axyridis*(Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) to gatunek pochodzenia azjatyckiego, po raz pierwszy opisany w 1773 roku przez Pallasa.

Naturalny zasięg występowania *Harmonia axyridis* obejmuje południową Syberię, Mongolię, Chiny, Koreę, Japonię i Tajwan (Iablokoff-Khnzorian 1982). Obecnie zasiedla również większą część kontynentu północnoamerykańskiego i Europy, a także znaczne obszary Ameryki Południowej i Afryki Południowej (Brown i in. 2011a). *Harmonia axyridis* jest gatunkiem wysoce inwazyjnym. Preferuje tereny zurbanizowane, gdzie w szybkim tempie zajmuje siedliska rodzimych gatunków (Adriaens i in. 2008, Brown i in. 2008).

Obserwowana współcześnie inwazja biedronki azjatyckiej została prawdopodobnie zapoczątkowana przez próby introdukcji *H. axyridis*, jako czynnik kontroli biologicznej.

Pierwsze próby podjęto w 1916 roku w Ameryce Północnej. Kolejne prowadzono również w Azji, Europie i byłym Związku Radzieckim (Brown i in. 2008). *Harmonia axyridis* od lat 90. XX wieku bardzo szybko się rozprzestrzeniła obejmując swoim zasięgiem prawie wszystkie kontynenty (Brown i in. 2008, 2011). Na skolonizowanie takich krajów europejskich jak Belgia, Szwajcaria czy Holandia potrzebowała zaledwie 4 lat (Brown i in. 2008). Sukces *H. axyridis*jako gatunku inwazyjnego prawdopodobnie wynika z braku wrogów naturalnych na nowo zasiedlanych terenach, oraz szerokiego spektrum pokarmowego i tolerancji na różne warunki klimatyczne.

Rys. 1 *Harmonia axyridis*(Zdjęcie: Gilles San Martin)

2.Kontrola biologiczna

Biedronki od dawna były wykorzystywane do biologicznej kontroli upraw przed szkodnikami. Introdukcja *H. axyridis*w różnych miejscach na świecie umożliwiła szybkie rozprzestrzenienie się tego gatunku również na terenach, na których nie był on wypuszczany (Brown i in. 2011b).

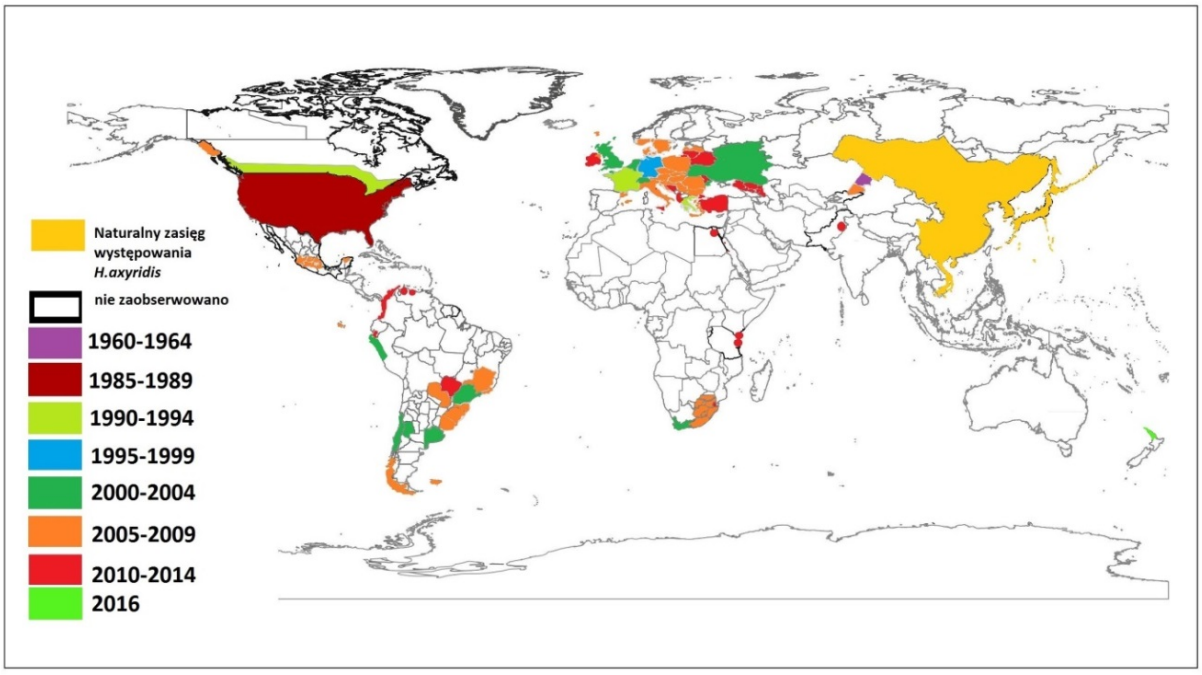
Na początku lat 90 XX wieku, *Harmonia axyridis* stała się w Europie komercyjnie dostępnym środkiem ograniczającym populacje mszyc, wykorzystywanym w szklarniach, na polach uprawnych oraz w miejskiej przestrzeni (Coutanceau 2006, Poutsma i in. 2008).

Komercyjna sprzedaż tych chrząszczy została zatrzymana w krajach europejskich dopiero na przełomie lat 2003 i 2004, ze względu na coraz częstsze doniesienia o niekontrolowanym rozroście populacji tego gatunku poza obszarem introdukcji.

W literaturze fachowej pojawiły się liczne doniesienia dokumentujące niekorzystny wpływ inwazji *H. axyridis*na różnorodność biologiczną zajmowanych terenów (Koch 2003, Majerus i in. 2006, Majerus i in. 2006, Pervez i Omkar 2006, Kenis i in. 2008, Koch i Galvan 2008, Pell i in. 2008, Sloggett 2012, Roy i in. 2012, Roy i Brown 2015).

3. Inwazja *Harmonia axyridis* na świecie

Harmonia axyridis jest obecnie jednym z najbardziej rozpowszechnionych gatunków biedronkowatych na świecie (Rys 2.). Występuje na wszystkich kontynentach, oprócz Antarktydy i Australii. Tempo ekspansji tego gatunku oszacowano na 442 km rocznie (Roy i Wajnberg 2008).



Rys. 2 Inwazja biedronki azjatyckiej *Harmonia axyridis* na świecie wg Roy i in. 2016, zmienione i uzupełnione

Naturalny zakres występowania *H. axyridis* obejmuje rozległe obszary Azji. Jest to gatunek rodzimy dla Mongolii, Japonii i Korei, części Chin i Rosji oraz północnego Wietnamu. Historia introdukcji *H. axyridis* rozpoczyna się od wypuszczenia chrząszczy w Kalifornii (USA) w 1916 roku. Później wielokrotnie wypuszczano *H. axyridis* w różnych miejscach w Ameryce Północnej i Południowej, w Europie, w Azji i w północnej Afryce (Brown i in. 2011).Jednakże przez bardzo długi czas *H.axyridis* nie mogła zaaklimatyzować się nigdzie poza swoim naturalnym zasięgiem występowania (Ceryngier i in. 2013). Dopiero pod koniec lat 80. XX wieku wykryto zaaklimatyzowane populacje *H.axyridis*na południu

Stanów Zjednoczonych (Koch i in. 2006, Harmoni in. 2007, Brown i in. 2008a). Obecnie gatunek ten jest w Stanach Zjednoczonych bardzo pospolity.

W Europie zachodniej pierwsza introdukcja*H. axyridis* w celu kontroli biologicznej miała miejsce we Francji w 1982 roku (Coutanceau 2006). W późniejszych latach próby introdukcji podejmowano w innych krajach zachodnioeuropejskich (m. in. w Belgii, Holandii, Niemczech), jednak zaaklimatyzowane populacje *H. axyridis* zaczęto obserwować dopiero od około 2000 roku.

W latach 2005-2009 *H. axyridis*opanowała większość krajów europejskich, stając się gatunkiem inwazyjnym (Roy i in. 2016).W Polsce *H. axyridis*została po raz pierwszy odnotowana w 2006 roku (Przewoźny i in. 2007).

4. Skutki inwazji *Harmonia axyridis*

- Wpływ na rodzime gatunki

Harmonia axyridis jest gatunkiem o niewielkich wymaganiach środowiskowych, mało wyspecjalizowanym, dlatego łatwo przystosowuje się do nowo zajmowanych obszarów, bardzo szybko stając się na nich gatunkiem dominującym (Pell i in. 2008). Prowadzone na całym świecie badania wskazują na negatywny wpływ biedronki azjatyckiej na populacje biedronek rodzimych dla opanowywanych przez nią terenów (Wheeler Jr i Hoebeke 1995, Colunga-Garcia i Gage 1998, Alyokhin i Sewell 2004, Evans 2004, Majerus i in. 2006, Harmon i in. 2007, Hesler i Kieckhefer 2008, Roy i in. 2012, Bahlai i in. 2014, Losey i in. 2014). W Europie obserwuje się znaczny spadek liczebności *Adaliabipunctata* (Santi i in 2003, Sato i Dixon 2004, Verizhnikova 2011, Roy i in. 2012, Iazlovdetchii i Sumencova 2013), a w mniejszym stopniu także innych gatunków biedronek (m. in. *Adaliadecempunctata, Exochomusquadripustulatus, Propyleaquatuordecimpunctata*) (Verizhnikova 2011, Roy i in. 2012).

- Szkodnik w gospodarstwach domowych i rolnictwie

Na czas zimowania biedronki wybierają miejsca chroniące je przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi. Niektóre gatunki zimują w ściółce leśnej, inne w szczelinach skał lub kory drzew, a także budynków. *Harmonia axyridis*często zimuje w szczelinach budynków, w ościeżnicach czy nawet wewnątrz domów (Nalepa 2007, Roy i Brown 2015). Gatunek ten podczas zimowania tworzy duże skupiska, zwykle po stronie południowej budynków (Koch i Galvan 2008, Wang i in. 2011, Roy i Brown 2015). Rejestracja biedronek prowadzona w ramach amerykańskiej inicjatywy „The Lost Ladybug Project" wykazała, że 97% osobników spotykanych w budynkach mieszkalnych lub innych zabudowaniach to *H. axyridis* (Ramsey i Losey 2012). Zimowanie *H. axyridis* w budynkach bywa dla ich

mieszkańców bardzo uciążliwe. Biedronki mogą pozostawiać na ścianach i sprzętach domowych bardzo nieestetyczne, trudne do usunięcia plamy. Zdarzają się również niekiedy reakcje alergiczne na zawarte w hemolimfie tych owadów chemiczne związki obronne (Goetz 2008, Koch i Galvan 2008).

Rys. 3 Skupiska *Harmonia axyridis* w szczelinach ościeżnicach (Zdjęcie: Gilles San Martin)

*Harmonia axyridis*wyrządza niekiedy szkody w sadownictwie. W różnych krajach opisywano przypadki występowania dużych populacji biedronki azjatyckiej w uprawach owoców takich jak winogrona, jabłka, dynie i rośliny jagodowe (Koch i in. 2004). Głównym problemem sadownictwa i upraw, z perspektywy ekonomicznej są zniszczenia winogron wykorzystywanych do produkcji wina (Koch i Galvan 2008). Dorosłe chrząszcze można znaleźć wśród winogron już na wczesnym etapie ich dojrzewania, aż do zbiorów (Galvan i in. 2008). Podczas przetwarzania winogron w procesie produkcji wina może dochodzić do kontaminacji moszczu gronowego. Biedronki wydzielając metoksypirazyny, powodują zmianę aromatu i smaku produktu końcowego (Galvan i in. 2008, Botezatu i in. 2013).

6. Literatura

Adriaens T., Gomez G.M.Y., Maes D.2008. *Invasion history, habitat preferences and phenology of the invasive ladybird Harmonia axyridis in Belgium*. Biocontrol 53:69–88

Adriaens T., San Martin y Gomez G., Bogaert J., Crevecoeur L., Beuckx J-P, Maes D. 2015. *Testing the applicability of regional IUCN Red List criteria on ladybirds (Coleoptera, Coccinellidae) in Flanders (north Belgium): opportunities for conservation.* Insect Conserv Divers 8:404–417

Alyokhin A., Sewell G. 2004. *Changes in a lady beetle community following the establishment of three alien species*. BiolInvasions 6:463–471

Bahlai C. A., Colunga-Garcia M., Gage S. H., Landis D. A. 2014. *The role of exotic species in the decline of native ladybeetle populations: evidence from long-term monitoring.* BiologicalInvasions 17:1005–1024

Bahlai C.A., van der Werf W., O'Neal M., Hemerik L., Landis D.A., 2015. *Shifts in dynamic regime of an invasive lady beetle are linked to the invasion and insecticidal management of its prey.*Ecol. Appl. 25, 1807–1818

Botezatu A.I., Kotseridis Y., Inglis D. Pickering G.J. 2013. *Occurrence and contribution of alkyl methoxypyrazines in wine tainted by Harmonia axyridis and Coccinellaseptempunctata.Journal of the Science of Food and Agriculture,* **93**, 803–810

Brown P.M.J, Frost R., Doberski J., Sparks *T., Harrington R., Roy H.E. 2011a. Decline in native ladybirds in response to the arrival of Harmonia axyridis: early evidence from England*. EcolEntomol 36:231–240

Brown P.M.J, Thomas C.E., Lombaert E., Jeffries D.L., Estoup A., Lawson Handley L-J. 2011b. *The global spread of Harmonia axyridis (Coleoptera: Coccinellidae): distribution, dispersal and routes of invasion.* BioControl.56:623–641

Brown P.M.J., Adriaens T., Bathon H., Cuppen J., Goldarazena A., Hagg T., Kenis M., Klausnitzer B.E.M., Kovar I., Loomans A.J.M., Majerus M.E.N., Nedved O., Pedersen J., Rabitsch W., Roy H.E., Ternois V., Zakharov I.A., Roy D.B. 2008a. *Harmonia axyridis in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid*. BioControl 53:5–21

Brown P.M.J., Roy H.E., Rothery P., Roy D.B., Ware R.L., Majerus M.E.N. 2008b. *Harmonia axyridis in Great Britain: analysis of the spread and distribution of a non-native coccinellid*. BioControl 53:55–67

Ceryngier P., Romanowski J., Szymańska J., Galanciak M., Bardzińska M., Romanowski M. 2013. *Population of the invasive harlequin ladybird* Harmonia axyridis *(Coleoptera: Coccinellidae) from Pelješac Peninsula, southern Croatia. Studi*a Ecologiae et Bioethicae, 11, 79–91.

Colunga-Garcia M., Gage S.H. 1998. *Arrival, establishment, and habitat use of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) in a Michigan landscape*.EnvironEntomol 27:1574–1580

Coutanceau J.P. 2006. *Harmonia axyridis (Pallas, 1773): unecoccinelleasiatiqueintroduite, acclimate´e et en extension en Fr.* Bulletin de la SocieteEntomologique de France 111:395–401

Evans E.W. 2004. *Habitat displacement of North American ladybirds by an introduced species.*Ecology 85:637–647

Galvan T.L., Koch R.L., Hutchinson W.D. 2008 *Impact of fruit feeding on overwintering survival of the multicolored Asian lady beetle, and the ability of this insect and paper wasps to injure wine grape berries.*EntomolExpAppl 128:429-436

Glemser E.J., Dowling L., Inglis D., Pickering G.J., McFadden-Smith W., Sears M.K., Hallett R.H. 2012. *A novel method for controlling multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) in vineyards*. EnvironmentalEntomology**41**, 1169–1176.

Goetz D.W. 2008. *Harmonia axyridis ladybug invasion and allergy.*AllergyAsthma Proc 29:123–129

Guo J.Y., Wan F.H. 2001. *Effect of three diets on development and fecundity of the ladybeetles Harmonia axyridis and Propylaea japonica.* Chin J Biol Control 17:116–120

Harmon J.P., Stephens E., Losey J. 2007. *The decline of native coccinellids (Coleoptera: Coccinellidae) in the United States and Canada.* J InsectConserv 11:85–94

Hesler L.S., Kieckhefer R.W. 2008. *Status of exotic and previously common native coccinellids (Coleoptera) in South Dakota landscapes*. J KansEntomolSoc 81:29–49

Iablokoff-Khnzorian, S. M. 1982. *Les Coccinelles (Cole´opte`resÐCoccinelidae)*. Socie´te´ Nouvelle des E´ ditionsBoube´e, Paris

Iazloveţchii I., Sumencova V. 2013. *New invasive species in the Republic of Moldova: multicolored Asian ladybird Harmonia axyridis Pallas (Coleoptera: Coccinellidae).* In: VIII international conference of zoologists. Actual problems of protection and sustainable use of the animal world diversity (Chisinau, 10–12.10. 2013). Book of abstract. Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, pp 136–137

Kenis M., Roy H.E., Zindel R., Majerus M.E.N. 2007. *Current and potential management strategies against Harmonia axyridis*. BioControl 53:235–252

Koch R.L. 2003. *The multicolored Asian lady beetle, Harmonia axyridis: a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts*. J InsectSci 3

Koch R.L., Burkness E.C., Burkness S.J., Hutchison W.D. 2004. *Phytophagous preferences of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) to autumn ripening fruit*. J EconEntomol 97:539–544

Koch R.L., Galvan T.L. 2008. *Bad side of a good beetle: the North American experience with Harmonia axyridis.*Biocontrol 53:23–35

Koch R.L., Venette R.C., Hutchison W.D. 2006. *Invasions by Harmonia axyridis (Pallas)(Coleoptera: Coccinellidae) in the Western Hemisphere: implications for South America*. NeotropEntomol 35:421–434

Losey J. E., Allee L. L., Stephens E., Smyth R. R., Priolo P., Tyrrell L., Chaskey S., Stellwag L. 2014. *Lady beetles in New York: insidious invasions, erstwhile extirpations, and recent rediscoveries.*Northeastern Nat. 21: 271–284

Majerus M., Strawson V., Roy H. 2006. *The potential impacts of the arrival of the harlequin ladybird, Harmonia axyridis (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae), in Britain.*EcolEntomol 31:207–215

Nalepa C.A. 2007. *Harmonia axyridis (Coleoptera: Coccinellidae) in buildings: relationship between body height and crevice size allowing entry.* J EconEntomol 100:1633–1636

Nedvěd O. 2014. *Slunéčkovýchodní (Harmonia axyridis) – pomocník v biologickéochraněneboohroženíbiodiverzity?*Jihočeskáuniverzita, ČeskéBudějovice, 65

Pell J.K., Baverstock J., Roy H.E., Ware R.L., Majerus M.E.N. 2007. *Intraguild predation involving Harmonia axyridis: a review of current knowledge and future perspectives.*BioControl 53:147–168

Pervez A., Omkar. 2006. *Ecology and biological control application of multicoloured Asian ladybird, Harmonia axyridis: a review.*BiocontrolSciTechnol 16:111–128

Pickering G.J., Blake A.J., Soleas G.J., Inglis D. 2009. *Remediation of wine with elevated concentrations of 3-alkyl-2-methoxyprazines using cork and synthetic closures*.Journal of Food, Agriculture and Environment 8:97–101

Poutsma J., Loomans A.J.M., Aukema B., Heijerman T. 2008. *Predicting the potential geographical distribution of the harlequin ladybird, Harmonia axyridis, using the CLIMEX model*. BioControl 53:103–125

Ramsey S., Losey J.E. 2012. W*hy is Harmonia axyridis the culprit in coccinellid biting incidents? Ananalysis of means, motive, and opportunity.* Am Entomol 58:166–170

Roy H. E., Adriaens T., Isaac N. J. B., Kenis M., Onkelinx T. , Martin G. S., Brown P. M. J., Hautier L., Poland R., Roy D. B., Comont R., Eschen R., Frost R., Zindel R., Van Vlaenderen J., Nedvěd O., Ravn H. P., Grégoire J.-C., de Biseau J.-C., Maes D. 2012.*Invasive alien predator causes rapid declines of native European ladybirds.Divers. Distrib.* 18, 717–725

Roy H.E., Brown P.M.J. 2015. *Ten years of invasion: Harmonia axyridis (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) in Britain*. EcolEntomol 40:336–348

Roy H.E., Brown P.M.J., Adriaens T., Berkvens N., Borges I., Clusella-Trullas S., Comont R.F., De Clercq P., Eschen R., Estoup A., Evans E.W., Facon B., Gardiner M.M., Gil A., Grez

A.A., Guillemaud T., Haelewaters D., Herz A., Honek A., Howe A.G., Hui C., Hutchison W.D., Kenis M., Koch R.L., Kulfan J., LawsonHandley L., Lombaert E., Loomans A., Losey J., Lukashuk A.O., Maes D., Magro A., Murray K.M., San Martin G., Martinkova Z., Minnaar I., Nedvěd O., Orlova-Bienkowskaja M.J., Rabitsch W., Ravn H.P., Rondoni G., Rorke S.L., Ryndevich S.K., Saethre M-G, Sloggett J.J., Soares A.O., Stals R., Tinsley M.C., Vandereycken A., van Wielink P., Viglášová S., Zach P., Zaviezo T., Zhao Z. 2016. *The harlequin ladybird, Harmonia axyridis: global perspectives on invasion history and ecology*. BiolInvas 18:997–1044

Roy H.E., Wajnberg E. 2008. *From biological control to invasion: the ladybird Harmonia axyridis as a model species*. Biocontrol 53:1–4

Santi, F., Burgio G., Maini S. 2003. *Intra-guild predation and cannibalism of Harmonia axyridis and Adaliabipunctata in choice conditions.*Bulletin of Insectology LVI(2): 207– 210

Sato S., Dixon A.F.G. 2004. *Effect of intraguild predation on the survival and development of three species of aphidophagous ladybirds: consequences for invasive species*. Agric. For. Entomol. 6:21-2

Savojskaja G.I. 1971. *On the acclimatization of Leis axyridis Pallas (Coleoptera, Coccinellidae) in Ile-Alatau*. Trudy XIII Mezhdunarodnogoentomologicheskogokongressa 2:181–182

Sloggett J.J. 2012. *Harmonia axyridis invasions: deducing evolutionary causes and consequences.*EntomolSci 15:261–273

Verizhnikova I. 2011. *Invasion by Harmonia axyridis (Coleoptera: Coccinellidae): population growth in Kyiv region.*Bull Kharkiv Nat AgricUniv (PhytopatholEntomol) 9:23–26

Wang S., Michaud J.P., Tan X.L., Zhang F., Guo X.J. 2011. *The aggregation behavior of Harmonia axyridis in its native range in Northeast China.*BioControl 56:193–206

Wheeler A. Jr., Hoebeke E. 1995. *Coccinellanovemnotata in northeastern North America: historical occurrence and current status (Coleoptera: Coccinellidae).*EntomolSocWash, USA

Yang Y.W., Zhang Q.M., Du L .QU A. 2006. *Study on selective preferences of Harmonia axyridis (Pallas) collected from different habitats to predating aphids.*China Plant Prot 26:5–7

Emocje i ich rola w życiu społecznym osób z zespołem Downa

Edyta Polaczek [(1)]

[1] Wydział Nauk Pedagogicznych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Edyta Polaczek: edytapolaczek@onet.pl

Streszczenie
Emocjonalność ludzka ma duże znaczenie przystosowawcze. Sprawne wyrażanie własnych i rozpoznawanie emocji osób z naszego otoczenia pozwala nam unikać zagrożeń (np. rozpoznać gniew czy niechęć na twarzy obcego nam człowieka), wzmacniać więzi społeczne czy przekazywać informacje. W przypadku wielu schorzeń, takich jak na przykład zespół Downa [ZD], rozwój emocjonalny może przebiegać zakłóconym torem. Dla bliskich, opiekunów i terapeutów znajomość „warunków wewnętrznych" (uczuć, nastroju, motywacji czy postaw) pacjentów z ZD ma znaczenie min. w zakresie sprawnej komunikacji czy procesów edukacyjnych. W niniejszej pracy dokonano przeglądu dostępnej literatury w zakresie kształtowania się inteligencji i wrażliwości emocjonalnej pacjentów z ZD. Z przeprowadzonych dociekań wynika, iż istnieją różnice w zakresie ekspresji i interpretacji emocji między zdrowymi rówieśnikami a np. dziećmi z ZD, co wpływa na ich relacje z najbliższym środowiskiem.

Słowa kluczowe: trisomia 21, komunikacja, emocjonalność, terapia, środowisko

Emotions and their role in social life of people with DownSyndrome

Summary
Human'semotionality is important to survive in environment. Expression and interpretation emotions our and others letusavoid dangerous (for example – recognize angerora version on face strangers), streng then relation ship sortransmit information. In case of man ydiseases like a Down Syndrome emotional development can be disturbed. For relatives, guardians and theraphistknowledgeabout „emotional life" (feelings, mood, motivation and attitude) theirpatientsis import ant for communicationoreducation. In thispaperweremade a reviev of availableliterature in terms of formationemotionalinteligence and sensibilitypersons with Down Syndrome. Resultsshowsthattherearedifferences in expression and recognizeemoctionbeetwenchildren with Down Syndrome and healthypeerswhich influence on theirrelation with family, friends, teachers and society.

Keywords: trisomy 21, communication, emotionality, therapy, environment

1. Wstęp

Emocje w ewolucji człowieka pełnią funkcję przystosowawczą i są integralnym elementem jego psychiki oraz inteligencji. Dzięki nim zdobywamy wiedzę, podejmujemy decyzje dotyczące naszych działań czy sprawnie komunikujemy się z otoczeniem (Wojtas-Klima 2014). Współcześnie istnieje wiele koncepcji dotyczących zjawiska, jakim jest ludzka emocjonalność. Zaliczamy do nich między innymi teorie fizjologiczno-cielesne, poznawcze, nastawieniowe czy wieloskładnikowe. Ostatnia zakłada, że natura takich zjawisk psychicznych jak emocje/uczucia jest złożona z wielu komponentów –na przykład intencji (min. sądy lub przekonania), ocen informacji i ich wartości, reakcji fizjologicznych (w tym tych zachodzących na poziomie układu nerwowego), subiektywnych odczuć oraz reakcji behawioralnych i ekspresji (Dąbrowski 2014). Ponadto, w literaturze przedmiotu mówi się o istnieniu fenomenu *inteligencji emocjonalnej* (obecnej także u naczelnych i innych zwierząt stadnych). Niektórzy badacze (Bar-On 1997-2000, za: Knopp 2006) definiują ją, jako „szereg

„pozapoznawczych" zdolności, kompetencji i umiejętności, które umożliwiają jednostce efektywne radzenie sobie z wymaganiami i naciskami środowiskowymi". Ten rodzaj zasobów psychicznych człowieka wywiera wpływ na takie aspekty naszego funkcjonowania jak chociażby: zdrowie, relacje międzyludzkie, sukcesy w życiu szkolnym czy zawodowym oraz ogólny poziom przystosowania do życia w społeczeństwie (Knopp 2006). Mimo, iż nie wszyscy zgadzają się, co do zasięgu oddziaływania sfery emocjonalnej na całość naszej egzystencji trudno jest zaprzeczyć, iż rola wrażeń czy uczuć jest niełatwa do zmierzenia – zwłaszcza, iż każdy człowiek stanowi indywiduum.

Naturalnie wspólne jest biologiczne podłoże powstawania ludzkiej emocjonalności. Począwszy od receptorów znajdujących się w skórze, bodźców odbieranych przez wzrok, słuch, węch czy smak - aż po struktury mózgu odpowiedzialne za przekształcenie recepcji w percepcję. Udział w tym procesie biorą chociażby takie obszary jak kora przedczołowa (odpowiadająca po części za integrację emocji z *poznaniem*) czy układ limbiczny w skład, którego wchodzi ciało migdałowate (biorące udział w kontroli zachowań lękowych) lub hipokamp (kontrolujący procesy pamięciowe). Człowiek posiada np. pamięć emocjonalną oraz epizodyczną, która pozwala mu na tworzenie asocjacji pomiędzy zdarzeniami a ich konsekwencjami (jak odruchowa reakcja na poparzenie i uwarunkowany lęk przed powtórzeniem takiego zajścia). Ujawnia nam to kolejną – bardziej specyficzną – rolęwrażeń/odczuć, jaką jest unikanie zagrożeń (także tych ze strony innej osoby).

Warto w tym punkcie skupić się na wpływie emocji na przystosowanie społeczne jednostki. Istnieje szereg czynników kształtujących prawidłowe relacje ze społecznością w jakiej żyjemy. Zaliczamy do nich wiek, stan zdrowia – gdyż uszkodzenia CUN [Centralny Układ Nerwowy] czy OUN [Obwodowy Układ Nerwowy] wpływają na behawior (dotyczy to chociażby autoagresji czy odhamowania (zachowań*nieakceptowanych* w danym kręgu kulturowym)), status społeczny oraz min. przestrzeganie ogólnie przyjętych norm czy pozytywne/negatywne sprzężenia zwrotne w bezpośrednim kontakcie. Determinanty te dotyczą nie tylko zdrowych osób, lecz także i tych zagrożonych wykluczeniem społecznym (jest to grupa, która z powodu niekorzystnych warunków we wspomnianych obszarach ma szczególne trudności z asymilacją). Mowa tutaj na przykład o cierpiących na zespół Downa.

2. Opis zagadnienia

Zespół Downa [ZD] po raz pierwszy opisany został przez Johna Langdona Downa w 1866 roku, jednakże dopiero w 1959 roku zidentyfikowano jego przyczynę – trisomię chromosomu 21. Dzięki owemu odkryciu możliwe stało się sklasyfikowanie ZD, jako jednostki chorobowej będącej „zespołem cech morfologicznych i behawioralnych w fenotypie

na skutek jego modyfikacji wywołanej obecnością dodatkowej informacji genetycznej zawartej w chromosomie 21" (Midro 2014). ZD jest jedną z najczęściej występujących aberracji genetycznych w populacji ludzkiej. Dla przykładu w Polsce odchylenie tego typu występuje w 1:588 żywych urodzeń (Matthews-Brzozowska i in. 2009).Do najbardziej charakterystycznych cech tego schorzenia należą: płaski profil twarzy, skośne szpary powiek, krótka szyja, palce i tułów czy chociażby małe genitalia. Ponadto odnotowuje się liczne zaburzenia w pracy poszczególnych układów: w tym układu szkieletowego (wiotkość mięśni, nadmierna ruchomość stawów), wady układu oddechowego i aparatu mowy (wysuwający się do przodu język, problemy w oddychaniem), zaburzenia krążenia (nieprawidłowy przebieg tętnic), wady układu pokarmowego i rozrodczego (Chuchracki i in. 2014). Ze względu na ważne funkcje pełnione przez geny należące do regionu krytycznego ZD uszkodzenia dotyczą w rzeczywistości niemal wszystkich podstawowych funkcji pełnionych przez organizm.

Swoje odbicie znajduje to w codziennym funkcjonowaniu chorych – nie tylko w odniesieniu do umiejętności samoobsługi, lecz także relacji interpersonalnych (również tych aspektów dotyczących wyrażania, przekazywania informacji o przeżyciach/ emocjach/ uczuciach czy odczytywania emocji). Jak obecnie wiadomo człowiek za pośrednictwem mimiki twarzy przekazuje (w sposób wolicjonalny lub nieuświadomiony) informacje – mogą one dotyczyć np. stanu emocjonalnego (radości, gniewu, zdziwienia) lub przyjętej postawy (np. zmarszczone brwi w wyrazie niedowierzania) (Przybyło 2008).

Za ekspresję emocjonalną twarzy odpowiedzialny jest układ limbiczny, który umożliwia generowanie oraz odczytywanie poszczególnych emocji. Obejmuje on takie struktury jak: hipokamp, zakręt obręczy, zakręt oczodołowy, ciało migdałowate, gałkę bladą, prążkowie oraz niektóre struktury śród – i międzymózgowia (Świerkocka-Miastkowska i in. 2005). Ponadto, istotna jest zdolność do rozpoznawania twarzy (prozopagnozja) za którą odpowiada płat skroniowy (człowiek uczy się „czytać" emocje wyrażane przez osoby ze swojego otoczenia) (Dworzańska i in. 2015). Znaczenie mają także procesy zachodzące oddolnie – recepcja wzrokowa, a także motoryka mięśni twarzy (w przypadku jej zaburzeń np. porażenia nerwów twarzowych niemożliwe jest okazywanie nastroju/emocji).

Dzieci z ZD bardzo często miewają nieprawidłowo wykształcony zgryz oraz hipotonię, przyczyniającą się do osłabienia mięśni – w tym np. mięśni okrężnych ust. Jej objawy widoczne są już w okresie niemowlęcym. Przyczynia się to do zaburzeń w przyjmowaniu pokarmu, rozwoju mowy oraz ekspresji emocjonalnej (opadające kąciki ust, utrudniające „uśmiechanie się") - trudności obecne są zatem już na etapie generowania wyrazu twarzy (obecnie podejmuje się różne rodzaje terapii, np. ortodontyczno-logopedyczne w celu

usprawnienia czynności mięśniowej w okolicy czaszki, co służy poprawie ekspresji mimicznej) (Matthews-Brzozowska i in. 2009). Badacze wskazują też na występowanie zaburzeń percepcji ogólnej – integracji sensorycznej (definiowanej jako zdolność do postrzegania zmysłowego i pojmowania np. związków między zjawiskami) (Sadowska i in. 2008).

Poza trudnościami na poziomie neurologiczno-anatomicznym należy wziąć pod uwagę także cechy osobowościowe osób z ZD – takie jak temperament, stopień rozwoju inteligencji czy usposobienie (np. pogodę ducha). Z doświadczenia badawczego w ramach prowadzonych przeze mnie badań wynika, iż dzieci i młodzież z ZD (odnośnie obserwowanej grupy) są stosunkowo radosne – a przez to otwarte i przyjazne. Chętne do okazywania emocji. Spostrzeżenia te potwierdzają doniesienia z literatury dotyczące omawianego zagadnienia.Bartłomiej Skowroński (2004, za: Kostrzewski 1963) powołuje się na badania przeprowadzone przez Domino et. al. (1964) zgodnie, z którymi chorzy z ZD ujawniają pewne specyficzne cechy osobowości, do których zaliczają między innymi radość/wesołość/pogodność, wrażliwość (np. czułość) czy chociażby przywiązanie do bliskich. Zwraca się też uwagę na fakt, że podobnie jak w przypadku zdrowych ludzi – nie ma dwóch identycznych pacjentów z ZD. W związku z tym nie ma też jednego charakterystycznego typu osobowości. Wśród badanej grupy wyróżniamy zarówno osoby ciepłe, spokojne i pozytywnie nastawione, jak i drażliwe, chwiejne emocjonalne czy zamknięte w sobie (Andersz-Nalewajek 2018).Wyniki niektórych badań wskazują nawet, iż zdarza się tak, że osoba dotknięta tym zespołem (badania na grupie dzieci i młodzieży) odznacza się występowaniem zaburzeń w postaci wybuchowości, wycofania czy odhamowania (Skowroński 2004, za: Topczak 1997).

Z kolei umiejętność interpretowania wyrazu twarzy/odczuć innych ma szczególne – z perspektywy ewolucyjnej – znaczenie, ponieważ pozwala nam na spostrzeganie intencji innych osób. Dzięki temu rozpoznajemy potencjalne zagrożenia („wychwytujemy" kłamstwo, dostrzegamy gniew) czy zacieśniamy więzi społeczne, co następuje poprzez tzw. *zarażanie afektywne*.Jest to zjawisko zachodzące w sposób automatyczny. Polega na „przejęciu" nastrojów osób, z którymi przebywamy. W badaniach przeprowadzonych na Uniwersytecie Louisville (USA, 2018)[2] wykazano, iż nieletni pacjenci z ZD stosunkowo dobrze radzą sobie ze zrozumieniem i przyswojeniem emocji pozytywnych (dzieci np. nawiązują kontakt

[2] Doniesienia z wyników badań opublikowane na stronie: https://www.promykslonca.pl/badania-i-rozwoj/diagnostyka/78-badania-i-rozwoj/diagnostyka/772-jak-dzieci-z-zespoem-downa-zd-rozwijaj-umiejtnoci-spoeczne.

wzrokowy, uśmiechają się) natomiast w przypadku emocji pejoratywnych (lęk, gniew) odbiór ten był zakłócony. Uczestnicy badania nie potrafili dostrzec potencjalnego niebezpieczeństwa w postawie eksperymentatora, nie przejawiali typowych reakcji na nie (Fundacja „Promyk Słońca" 2012). Znaczenie emocjonalności najłatwiej dostrzec w kontekście funkcjonowania społecznego danej jednostki. Dopiero szersze spojrzenie na owe zjawisko pozwala zrozumieć jej rolę w życiu człowieka.

3. Przegląd literatury

Podobnie jak w przypadku zdrowych osób rozwój społeczny pacjentów z ZD rozpoczyna się od kontaktów z wąskim gronem najbliższych. W późniejszych latach podejmowane są relacje z terapeutami czy rówieśnikami szkolnymi, a w końcu partnerami. Stosunki dziecka z otoczeniem kształtują się między innymi poprzez postawę, jaką wykazuje rodzeństwo, rodzice czy opiekunowie prawni małoletniego z ZD. Jeżeli w domu panują napięte stosunki objawiające się konfliktami, agresją czy brakiem akceptacji obserwuje się problemy z ukształtowaniem się takich cech osobowości jak pewność siebie, otwartość czy chęć do podejmowania działań/inicjatyw, co z kolei wywiera wpływ na to, jaka będzie, jakość i intensywność więzi dziecka/nastolatka/dorosłego z innymi. Ponadto, również relacje przywiązania do np. matki czy ojca mogą charakteryzować się z tego powodu pewną toksycznością (nadmierna zależność lub oziębłość/wycofanie w kontaktach) – a są one jednymi z najważniejszych w życiu każdego człowieka (Dębska i in. 2011).

ElżbietaMaria Minczakiewicz (2015) zwraca uwagę na fakt, że bardzo często pierwszą reakcją przyszłych wychowawców dziecka z ZD na diagnozę genetyczną jest strach, niepewność czy nawet poczucie krzywdy oraz ograniczenie osobistej wolności. Dopiero upływ czasu, wiedza i narodziny dziecka sprawiają, iż pary – zwłaszcza młode – dojrzewają do roli rodziców wyjątkowej pociechy i nierzadko odnajdują w tym swoje powołanie. Tego rodzaju zmiana jaką jest pojawienie się dziecka z aberracją genetyczną stanowi wyzwanie dla integralności rodziny jako takiej i każdego jej członka z osobna – w tym dla przychodzącego na świat potomka, który internalizuje obserwowane wzorce min. w zakresie okazywania uczuć/emocji/wrażeń czy nawiązywania znajomości oraz ich utrzymywania. Można powiedzieć, że im trudniejsze jest środowisko dorastania, im mniej potrzeb zostaje zaspokojonych (w tym potrzeba bezpieczeństwa) tym ciężej jest niepełnosprawnemu odnaleźć się w większej grupie i uzyskać względną samodzielność – także w życiu uczuciowym.

Chorzy z ZD bardzo często mimo wyraźnego opóźnienia intelektualnego cechują się dojrzałością społeczną, co przejawia się także w podejmowanych przez nich aktywnościach. Zdecydowana większość od najmłodszych lat zaangażowana jest w różnego rodzaju terapie –

psychologiczne, logopedyczne czy ruchowe. Co więcej – dzieci i mlodzież szkolna (zwłaszcza z terenów miejskich) podejmuje edukację w placówkach oświaty państwowej, ośrodkach integracyjnych czy w ramach warsztatów terapii zajęciowej. Nierzadko można spotkać się wśród nich z działalnością charytatywną – np. wolontariat. Z reguły za organizację nauki, życia towarzyskiego czy czasu wolnego podopiecznemu odpowiada rodzina. Naturalnie inna jest sytuacja osób mieszkających na terenach wiejskich gdzie zdarza się, iż zainteresowany musi zapewnić sobie odpowiedni transport czy odnaleźć najbliższą w okolicy placówkę mogącą udzielić wsparcia (Barczykowska 2011).

Bezpośredniej pomocy osobie z niepełnosprawnością udzielają wszelkiego rodzaju prywatne Stowarzyszenia oraz Fundacje (w Polsce istnieje kilkadziesiąt tego rodzaju placówek, które odnaleźć można niemal w każdym mieście wojewódzkim) a także instytucje charytatywne czy państwowe. Do tych ostatnich zaliczamy chociażby PFRON (Państwowy Fundusz na Rzecz Osób Niepełnosprawnych), Ośrodki Pomocy Społecznej czy szkoły z nauczaniem specjalnym (lub integracyjne). Ponadto – odnaleźć można także zrzeszenia sieciowe (strony internetowe np. www.zespoldowna.info), gdzie znajdują informacje odnośnie możliwości finansowania np. sprzętu medycznego, przeprowadzenia badań czy inicjatyw towarzyskich.

4. Podsumowanie i wnioski

Każdy z nas od dnia narodzin staje pełnoprawną i niezależną (w sensie ontologicznym) cząstką złożonej społeczności, która towarzyszy nam aż do śmierci. Obecność innych ludzi pozwala nam między innymi kreować (poprzez doświadczenie, nabywanie wiedzy) i wyrażać własną osobowość – swoje pragnienia (potrzeby), przeżycia czy myśli. Niezwykle istotne jest, zatem budowanie sieci kontaktów społecznych w taki sposób by nikt nie był z nich wyłączony – chociażby poprzez przeciwdziałanie marginalizacji. Istnieją grupy społeczne, które doświadczają tego zjawiska – osoby niepełnosprawne oraz wykolejone. Naturalnie sytuacja prawna tej grupy w porównaniu do lat wcześniejszych (np. przed wprowadzeniem ustawy z 1989 roku o osobach niepełnosprawnych) jest znacznie lepsza, jeżeli chodzi o dostępność funduszy (np. pomocy materialnej) lub szkolnictwa. Dawniej osoby wychodzące poza przyjęte normy często nie miały możliwości skorzystania z odpowiedniego zaplecza medycznego, kształcenia się czy rozwoju zawodowego. Rośnie też świadomość społeczeństw w zakresie szeroko pojętego zjawiska niedostosowania społecznego.

Jednakże wychodząc poza perspektywę „teoretyczną" nie da się nie dostrzec obszarów wymagających usprawnienia. Przykładem jest brak nauczania o wspomnianym zjawisku w szkołach państwowych, który jest przyczyną izolowania dzieci i młodzieży z ZD (a później

dorosłych) i ograniczania ich przestrzeni (często dzieci dotknięte tym zespołem nie mają przyjaciół wśród zdrowej populacji – co przecież wpływa na wykorzystanie ich ogólnego potencjału poznawczego. Jeżeli nie doświadczamy i nie percypujemy zróżnicowanych zachowań, to również ich nie przejawiamy - jest to poważne ograniczenie). Z jednej strony obserwujemy, więc dbałość o standard życia pacjentów z ZD na szczeblu państwowym, z drugiej zaś dostrzec można pomijanie kwestii dobrostanu psychicznego tych osób, (o co można by było zadbać włączając chorych z np. lekkim stopniem niepełnosprawności intelektualnej do standardowych szkół – umożliwiłoby to względną normalizację). Jest to szczególnie ważne zwłaszcza, że im starsza jest dana osoba tym mniejsze są jej zdolności przystosowawcze, (czyli szansa na niezależność) – a biorąc pod uwagę fakt, iż rodzice nie są w stanie przez całe życie opiekować się potomstwem (z powodu chociażby starzenia się czy wcześniejszego odejścia) rodzi się pytanie o to, co dalej ma się dziać z osamotnionym/osieroconym człowiekiem, który nie został zasymilowany przez lokalne grupy.

5. Literatura

Andersz-Nalewajek A (2018) Dziecko z zespołem Downa. Materiały niepublikowane. Dostęp online: http://ppp.ostroleka.pl/?p=84

Barczykowska E, Jaworska J, Kurylak A (2011) Ocena społecznego funkcjonowania dzieci z zespołem Downa. Problemy pielęgniarstwa 19 (4): 447-453.

Chuchracki M, Ziółkowska K, Sklepik AK (2014) Występowanie zespołu Downa w wybranych wskazaniachdo wykonania amniopunkcji genetycznychw latach 1997-2012. Perinatologia, Neonatologia i Ginekologia 7 (3): 143-153.

Dąbrowski A (2014) Czym są emocje? Prezentacja wieloskładnikowej teorii emocji. Analiza i Egzystencja 27: 123-146.

Dębska G, Cisoń-Apanasewicz U, Potok H i in. (2011) Postawy rodziców wobec dziecka z zespołem Downa. Repozytorium Insytucjonalne Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego: 67-78.

Dworzańska E, Makarewicz A, Koncewicz R i in. (2015) Zaburzenia Neurologiczne w Autyzmie. Zdrowie i dobrostan 1: 37-44.

Fundacja „Promyk Słońca" (2018) Jak dzieci z zespołem Downa rozwijają umiejętności społeczne? Dostęp online: https://www.promykslonca.pl/badania-i-rozwoj/diagnostyka/78-badania-i-rozwoj/diagnostyka/772-jak-dzieci-z-zespoem-downa-zd-rozwijaj-umiejtnoci-spoeczne.

Knopp K (2006) Rola inteligencji emocjonalnej w życiu człowieka. Studia Psychologica 6: 221-235.

Matthews-Brzozowska T, Walasz J, Matthews Z (2009) Zespół Downa – wczesna terapia ortodontyczna płytką stymulacyjną Castillo-Moralesa. Nowiny Lekarskie 78 (3-4): 253-255.

MidroA (2014) Zespół Downa -przyczyny powstawania, diagnoza i elementy poradnictwa genetycznego [w]: Wspomaganie rozwoju dzieci z zespołem Downa – teoria i praktyka. Red. naukowa: B. B Kaczmarek, Impuls 2008, Kraków.

Minczakiewicz ME (2015) Rodziny z dzieckiem z zespołem Downa w sytuacji kryzysu ekonomicznego, przemian społecznych i obyczajowych.Wychowanie w rodzinie, tom XI (1/2015): 345-358.

Przybyło J (2008) Automatyczne rozpoznawanie elementów mimiki w obrazie twarzy i analiza ich przydatności do sterowania. Rozprawa doktorska: Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica w Krakowie Wydział Elektrotechniki, Automatyki, Informatyki i Elektroniki.

Sadowska L, Mysłek-Prucnal M, Choińska MA i in. (2008) Diagnostyka i terapia dzieci z zespołem Downa w świetle badań własnych i przeglądu literatury przedmiotu. Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego 1: 8-30.

Skowroński B (2004) Cechy osobowości chłopców z zespołem Downa w wieku 12-14 lat, ich rówieśników niepełnosprawnych umysłowo bez zespołu Downa oraz o prawidłowym rozwoju umysłowym. Szkoła specjalna 2: 88-101.

Świerkocka-Miastkowska M, Klimarczyk M, Mazur R (2005) Zrozumieć układ limbiczny. Via Medica. Wydawnictwo medyczne: 47-50.

Wojtas-Klima M (2014) Gdy emocje już opadną – czyli co wpływa na podejmowanie decyzji. Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej: Organizacja i zarządzanie 1917: 315-325.

Agroturystyka jako alternatywne źródło dochodów na przykładzie gospodarstw leżących na terenie Bieszczadów

Beata Prukop [(1)]

[1] Katedra Turystyki i Rekreacji, Uniwersytet Rzeszowski
Beata Prukop: bprukop@ur.edu.pl

Streszczenie
Każdy podmiot gospodarczy, niezależnie od swojej formy organizacyjno-prawnej, działa w jednym celu, aby przynosić zyski. Usługi agroturystyczne także są skierowane na osiąganie jak największych zysków, niejednokrotne stając się jednym z ważniejszych źródeł dochodów rolników. Szczególnego znaczenia ten fakt nabiera w dobie wysokorozdrobnionych gospodarstw rolnych, które nie są w stanie utrzymać się wyłącznie z środków uzyskiwanych z rolnictwa. W artykule przedstawiono wyniki badań ukazujące aktualny poziom dochodów uzyskiwanych z agroturystyki oraz ich znaczenie dla badanej grupy kwaterodawców. Badania zostały przeprowadzone na terenie Bieszczadów w 2017 roku, w formie wywiadu standaryzowanego oraz ankiety.

Słowa kluczowe: agroturystyka, rachunek ekonomiczny, Bieszczady

Agritourism as an alternative source of income on the example of farms located in the Bieszczady

Summary
Each economic entity, regardless of its organizational and legal form, operates for one purpose only to generate profits. Agritourism services are also directed at achieving the greatest possible profits, often becoming one of the most important sources of farmers' income. This fact is particularly important in the era of fragmented farms, which are not able to survive only from the funds obtained from agriculture. The article presents the results of research showing the current level of income obtained from agritourism and their significance for the examined group of holiday farm owners. Research was carried out in the Bieszczady Mountains in 2017 in the form of standardized interview and poll.

Key words: agritourism, economic calculation, Bieszczady

1.Wstęp

Agroturystyka w swoim założeniu ma za zadanie przede wszystkim przynosić zyski rolnikowi oferującymi tego typu usługi. Jako podmiot ekonomiczny- agroturystyka, kieruje się na rynku tymi samymi zasadami, co pozostałe przedsiębiorstwa produkcyjne, usługowe czy też handlowe. Rolnik oferuje swoim klientom usługi turystyczne a w zamian otrzymuje środki finansowe, które zalicza na poczet przychodu. W kontekście przedsiębiorstwa-agrogospodarstwa nie różnią się nadto od konwencjonalnych działalności gospodarczych, także funkcjonują na zasadzie pozyskania środków finansowych oraz ich prawidłowym ewidencjonowaniu oraz opłacaniu wynikających z tego tytułu opłat i podatków. Gospodarstwo agroturystyczne jak każde przedsiębiorstwo dąży do maksymalizacji zysków przy tym pragnie ponosić jak najmniejsze koszty związane z działalnością. Usługi agroturystyczne nabierają coraz większego znaczenia dla rolników szczególnie teraz, kiedy mamy do czynienia z tak dużym rozdrobnieniem gospodarstw rolnych oraz kiedy hodowla roślin i zwierząt stała się tak nisko dochodowa. Niejednokrotnie dochodzi do sytuacji,

w której głównym czy też jedynym źródłem utrzymania całej rodziny rolnika stają się usługi noclegowe oferowane letnikom.

2. Cel zakres i metodyka działań

Artykuł stanowi próbę oceny dochodowości usług agroturystycznych na badanym terenie w świetle badań ankietowych przeprowadzonych w 2017 roku. Poddano szczegółowej analizie szereg czynników mających wpływ na wyniki finansowe badanych gospodarstw agroturystycznych. Szczególną uwagę zwrócono na deklarowaną wielkość przychodów z agroturystyki w porównaniu do dochodów całkowitych badanych gospodarstw. Ankietę skierowano do 200 gospodarstw agroturystycznych leżących w powiecie bieszczadzkim, leskim oraz sanockim które były zarejestrowane w odpowiadającym ich urzędom gmin oraz które prowadziły działalność minimum dwa lata, ankietę zgodziło się wypełnić 150 rolników. Badania zostały przeprowadzone w formie wywiadu standaryzowanego oraz ankiety (ankieta zawierała 30 pytań dotyczących stosowania metod ewidencji finansów rolników prowadzących działalność agroturystyczną). W pracy przedstawiono analizę odpowiedzi istotnych z punktu widzenia tematu artykułu, które dotyczyły wykorzystania marketingu w własnej działalności. Zebrane dane statystyczne po odpowiednim zgrupowaniu i przetworzeniu poszerzono o metody analizy i opisu.

3. Agroturystyka jako forma przedsiębiorczości na terenach wiejskich

Agroturystyka od lat na trwale wpisuje się w pejzaż wsi polskiej, a w ostatnich latach stała się jedną z najbardziej popularnych form wypoczynku. Stanowi ona kluczowy i priorytetowy składnik wielofunkcyjnego rozwoju obszarów wiejskich. Obecnie jest szansą na zmianę sytuacji obszarów wiejskich przez tworzenie nowych miejsc pracy poza rolnictwem oraz aktywną formą spędzania czasu wolnego, umożliwiającą mieszkańcom miast kontakt z przyrodą i środowiskiem wiejskim (Jalinik, 2016).

Bardzo często pojęcie agroturystyki jest zamiennie stosowane z turystyka wiejską oraz turystyką na obszarach wiejskich. Jednak należy zaznaczyć, iż między nimi zachodzą swoiste różnice, które zauważył między innymi Drzewiecki (1995) pisząc, że turystyka wiejska stanowi formę rekreacji odbywającą się na obszarach „prawdziwej wsi" zaś agroturystyka jest oparta o bazę noclegową i aktywności rekreacyjne związane z gospodarstwem rolnym lub równoważnym jego otoczeniem (przyrodniczym, produkcyjnym i usługowym).

Profesor Sawicki (2007) wprowadza podział turystyki na obszarach wiejskich na:

- **Turystykę wiejską** – stanowiącą formę rekreacji odbywającej się na obszarze wsi o znaczeniu funkcjonalnym i wykorzystującym jej specyficzne walory i zasoby, przez co

wpływa dodatnio na rozwój wielofunkcyjny obszarów wiejskich, nie odbywa się w funkcjonującym gospodarstwie rolnym lub równoważnym.

- **Agroturystykę** – formę wypoczynku odbywająca się na terenach wiejskich o charakterze rolniczym, opartą o bazę noclegową i atrakcyjności rekreacyjne związane z gospodarstwem rolnym lub równoważnym jego otoczeniem(przyrodniczym, produkcyjnym lub usługowym)
- **Sylwanoturystykę** – turystykę związaną integralnie z obszarami leśnymi poprzez kwatery, wyżywienie i czynności rekreacyjne, pobyt w leśniczówkach, leśnych domkach myśliwskich)
- **Turystyka wyobcowana**- formy turystyki uprawniane na obszarach wiejskich, ale niemające z nimi związków społeczno-ekonomicznych. Są zamknięte na środowisko społeczno-gospodarcze, ośrodki wypoczynkowe, sportowe lub podobne mieszczance się na terenach wiejskich. Te podmioty nie korzystają zwykle z lokalnej siły roboczej, sieci handlowej i szeroko rozumianego kontaktu z lokalnym środowiskiem przyrodniczym i społecznym (Sawicki, 2007).

Obecnie coraz więcej rolników w Polsce podejmuje działalność usługową, handlową, produkcyjną, rzemieślniczą, wykorzystując do tego zasoby własnego gospodarstwa. Jednym z pozarolniczych źródeł dochodu jest turystyka, coraz chętniej uprawiana szczególnie na obszarach atrakcyjnych turystycznie (Pałka, 2014). Dla przeważającej części gospodarstw niezbędnym warunkiem przetrwania będzie znalezienie dodatkowego, alternatywnego wobec rolnictwa źródła utrzymania. Niesprzyjająca sytuacja ekonomiczna wywarła wpływ na tradycyjne gospodarstwa rolne, w których konieczne okazało się łączenie dochodu z kilku różnych źródeł. Spośród wielu kierunków działalności pozarolniczej na obszarach wiejskich istotną gałęzią lokalnej gospodarki w wielu regionach kraju stało się świadczenie usług turystycznych (Bednarek-Szczepańska, Bański, 2014)

Agroturystyka, jako alternatywne źródło utrzymania mieszkańców wsi wciąż zyskuje coraz więcej zwolenników, i to zarówno wśród samych rolników, którzy coraz chętniej zakładają gospodarstwa agroturystyczne jak i w liczbie odbiorców tych usług, których to z roku na rok przybywa. Szczególnie zaś w ostatnich latach agroturystyka staje się coraz częściej wybieraną forma wypoczynku, preferowaną głównie przez rodziny z dziećmi, osoby starsze oraz osoby, które chcą odpocząć w ciszy i spokoju na wsi. Główne problemy, z jakimi borykają się gospodarstwa agroturystyczne to niska wiedza na temat prowadzenia działalności gospodarczej, wiedza z zakresu podatków, finansów, marketingu a w szczególności reklamy.

Prowadzenie tradycyjnego gospodarstwa rolnego w Polsce, bardzo często nie zapewnia jego właścicielom satysfakcjonującego poziomu dochodu. Jedną z możliwości dywersyfikacji źródeł utrzymania dla licznych rodzin rolniczych jest działalność agroturystyczna. Wielu

rolników decyduje się w związku z tym na świadczenie usług agroturystycznych w swoich gospodarstwach. Muszą oni wykazać się jednak wyjątkową pomysłowością, aby oferta była odpowiednio dobrana i realizowana zgodnie z charakterem wiejskości i potrzebami klienta. Prowadzenie usług turystycznych na wsi, stwarza możliwości rozwoju polskiej gospodarki przez zmianę struktury rolnictwa i zatrudnienia na obszarach wiejskich (Wiatrak, 1996).

Usługi agroturystyczne z roku na rok cieszą się coraz większym zainteresowaniem turystów jak i tez kawaterodawców, występują rejony w Polsce, w których spotkać można duże skupiska gospodarstw agroturystycznych, jest to ściśle związane z walorami przyrodniczo-krajobrazowymi tych terenów. Działalność agroturystyczna, mimo iż w Polsce praktykowana od dziesiątków lat, jako typowa działalność gospodarcza rządzi się nietypowymi wymogami prawno-formalnymi. Wynika to głównie z faktu, iż agroturystyka, jako forma działalności gospodarczej jest podporządkowana odrębnym przepisom różniącym się od większość firm działających na terytorium Polski. Agroturystyka z racji swojego zasięgu staje się istotnym czynnikiem wielopoziomowego rozwoju Polskiej wsi. Jako swoisty podmiot przynoszący dochody pozytywnie wpływa na rozwój gospodarczo-społeczny terenów wiejskich. Rolnicy dzięki działalności agroturystycznej są w stanie w dalszym ciągu pracować w swoich gospodarstwach i nie muszą rezygnować z jego funkcji rolno-hodowlanej (Prukop i Golian, 2017).

Agroturystyka podobnie jak inne podmioty gospodarcze podlega przepisom prawno-podatkowym i jak każdy podmiot, który chce podjąć działalność gospodarczą na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, musi spełniać liczne wymagania formalne i prawne wynikające z obowiązujących w Polsce regulacji prawnych (Targalski, 2014). Podmioty podejmują działalność gospodarczą, której rozpoczęcie i zakończenie jest wolne dla każdego na równych prawach i zgodnie z przepisami prawa. Poza zasadą wolności istotne jest przestrzeganie zasady równości oraz zasady poszanowania prawa i obyczajów (Grzegorzewska-Mischka i Wyrzykowski, 2009) W przypadku agroturystyki przyjmuje się, że wytwarzanie tych usług odbywa się w gospodarstwie rolnym, a dochody z tej działalności są uzupełnieniem, a nie podstawowym źródłem dochodów w budżecie gospodarzy (Smoleńska i Machnik, 2013). Bardzo często jednak gospodarze korzystają z możliwości zwolnienia z opłacania podatku dla osób osiągających dochody z tytułu wynajmowania pokoi gościnnych, przy spełnieniu następujących warunków (Jalinik, 2010):

-wynajmowane pokoje znajdują się w budynkach mieszkalnych (nie podlegają zwolnienia z podatku uzyskane z wynajmowania domków turystycznych, a także pomieszczeń w budynkach, np. gospodarczych, adaptowanych na cele usługowe);

-budynki mieszkalne, w których wynajmowane są pokoje i należą do gospodarstwa rolnego;

-pokoje wynajmowane są osobom przebywającym na wypoczynku (oznacza to, że zwolnienie nie dotyczy wynajmowania pokoi na stałe; wynajmowania robotnikom sezonowym i innym pracownikom);

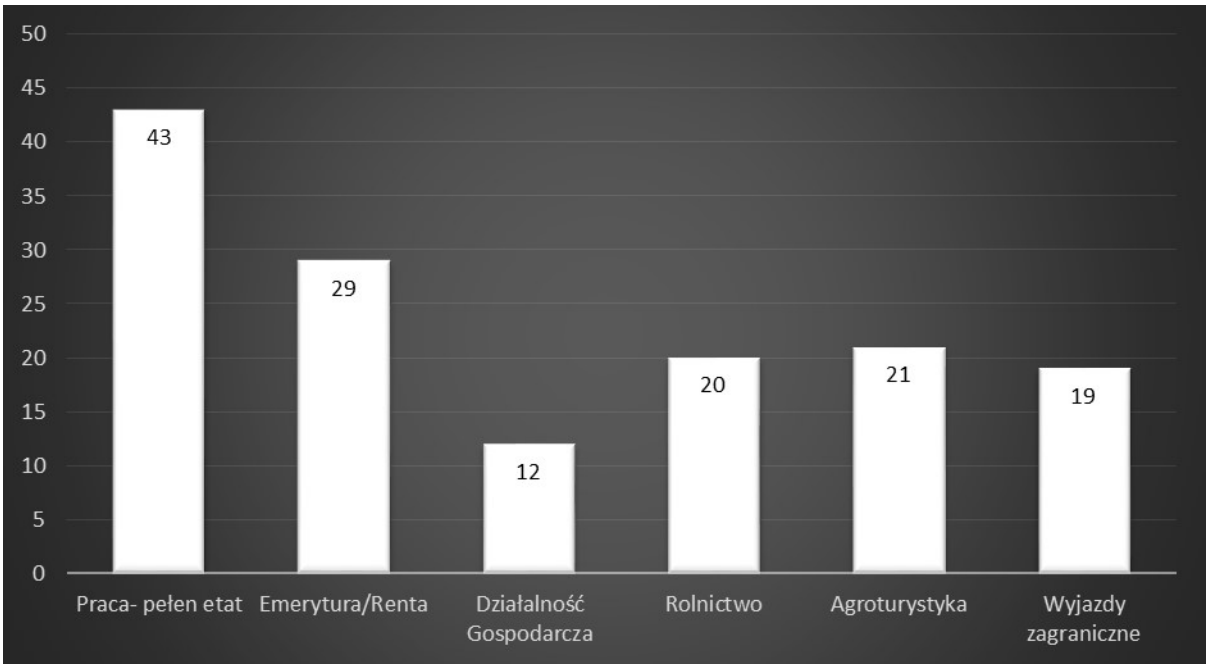
-budynki mieszkalne, w których wynajmowane są pokoje muszą być położone na terenach wiejskich, poza granicami administracyjnymi miast;

-liczba wynajmowanych pokoi nie przekracza pięciu (do tej liczby wlicza się jedynie pokoje oddawane do wyłącznej dyspozycji gości, bez jadalni, pomieszczenia rozrywkowego, werandy i innych pomieszczeń ogólnie dostępnych).

Zwolnienie z podatku przysługuje każdemu właścicielowi gospodarstwa agroturystycznego, który spełnia wymienione warunki, nawet w przypadku, jeżeli osiąga dodatkowe dochody z innego źródła, na przykład działalności handlowej. Zwolnienie obejmuje także dochody uzyskane z tytułu wyżywienia gości mieszkających w wynajmowanych pokojach. Dochody zwolnione w tej sytuacji z opodatkowania nie łączą się dla celów podatkowych z innymi dochodami, nie wpływają także na wysokość innych podatków, poza podatkiem VAT. Z całkowitego zwolnienia z podatku dochodowego przysługuje właścicielowi gospodarstwa rolnego, położonego poza granicami administracyjnymi miast, jeżeli posiada nie więcej niż pięć pokoi (Jalinik, 2010).

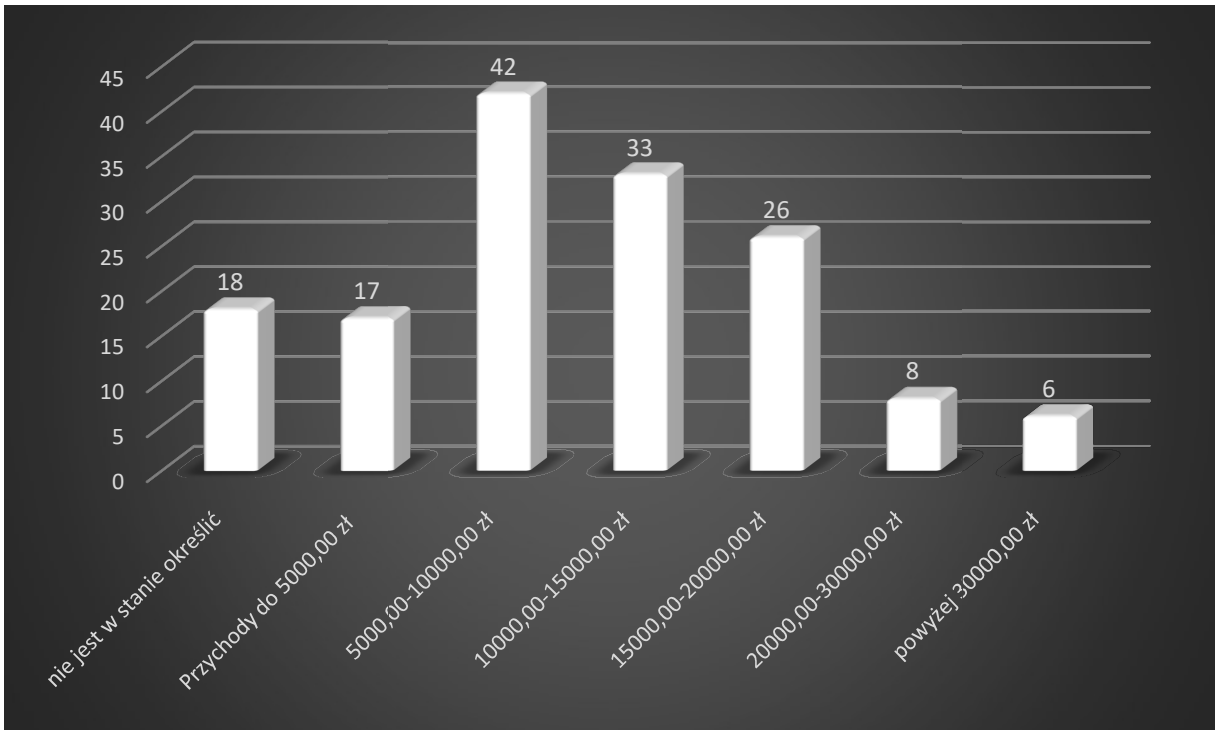
4. Wyniki badań

Badaną grupę kwaterodawców stanowiły głównie kobiety (68%), które zdecydowanie należały do osób głównie zarządzających gospodarstwami. Większość gospodarstw to gospodarstwa rodzinne, (82%) w który zaangażowane są całe rodzinny. Spora grupa respondentów to osoby młode w przedziale wiekowym 29-45 lat (45%), widać tu coraz wyraźniej, iż młodzi ludzie chętnie podejmują pracę we własnych gospodarstwach domowych, często po zakończeniu studiów wyższych powracają w rodzime miejscowości. Według badanych kwaterodawców, aby utrzymać swoje rodziny muszą oni pracować głównie, jako pracownicy w zewnętrznych firmach. Spora grupę stanowią emeryci i renciści, którzy agroturystykę traktują, jako formę dodatkowego zarobku. Ponad połowa (68%) badanych gospodarstw położona jest w powiecie leskim, pozostałe (32%) to gospodarstwa leżące na terenie powiatu bieszczadzkiego. Najliczniejszą grupę badawczą stanowiły gospodarstwa leżące w gminie Solina oraz Lesko, natomiast najmniej liczni respondenci zamieszkiwali gminy: Czarna oraz Lutowiska.



Rys.1. Główne źródła dochodów badanych rolników (badanie własne)

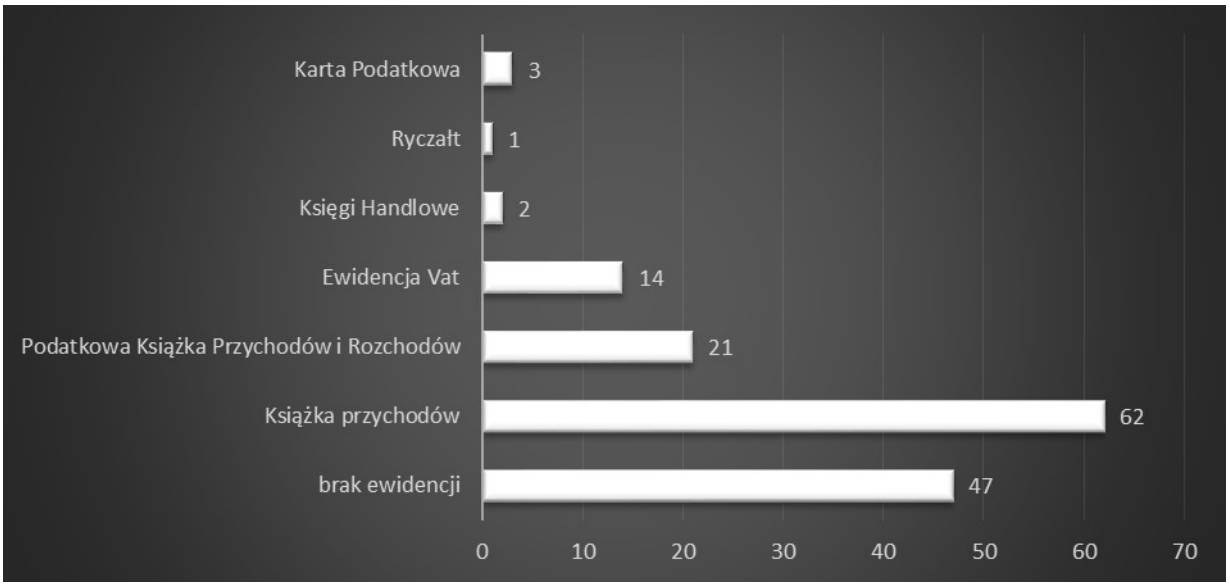
Jedynie 15,58 % gospodarstw zadeklarowało, iż głównym źródłem utrzymania dla rodziny jest działalność turystyczna, spora grupa w celach zarobkowych jest zmuszona wyjeżdżać za granicę. Jedynie 13,88% gospodarstw utrzymuje się z rolnictwa, głównie z upraw roślin lub hodowli zwierząt.



Rys.2. Deklarowana wysokość przychodów badanych rolników w skali roku (opracowanie własne)

Spora grupa (12,33%) badanych rolników nie jest w stanie podać wysokości swoich przychodów, nie posiadają oni wiedzy na temat czy ich działalność agroturystyczna przynosi

im realne zyski -rys. 2. Największa liczba rolników (28,77%) deklaruje swoje dochody między kwota 5000,00-10000,00 zł, jedynie (4,11%) kwaterdawców określiło, iż przychody z działalności agroturystycznej są więcej niż satysfakcjonujące i wynoszą powyżej 30000,00 zł, nie są oni jednak w stanie określić dokładnej wysokości swojego zysku. Jednym z głównych powodów świadczących o barku wiedzy na temat wysokości przychodów z działalności agroturystycznej jest brak prowadzenia przez rolników ewidencji księgowych. Większość kawtaterodawców podaje swoje przychody, jako kwoty szacunkowe, tylko nieliczni prowadzą dokładną ewidencję swoich przychodów- rys. 3.



Rys. 3. Metody ewidencji księgowo-podatkowych stosowane przez badanych rolników (badania własne)

Większość rolników 41,33 % prowadzi prostą ewidencję przychodów w postaci książki przychodów, jest to jedna z najprostszych form ewidencji jednak ze względu na swą prostotę nie posiada ona strony kosztowej, co powoduje, iż rolnicy nie są w stanie wyliczyć zysku jaki osiągają z działalności turystycznej. Spora grupa nie prowadzi żadnej ewidencji księgowej, za powód podając fakt, iż nie są zobligowani do tego żadnym rozporządzeniem ani ustawą, co jest oczywiści zgodne z prawdą, jednakże nie daje żadnego obrazu, jakiej wysokości gospodarstwa uzyskują dochody z działalności agroturystycznej, a co za tym idzie te przychody są jedynie szacunkowe.

Jak widać na rys. 4, kwaterodawcy jako główną przyczynę braku prowadzenia ewidencji swoich przychodów podają brak obowiązku prowadzenia tego typu zestawień (45%), uważają oni tak, ponieważ agroturystyka nie jest typowa forma prowadzenia działalności i jest ona zwolniona z rozliczania się z urzędem skarbowym. Kolejnym ważnym powodem, dla którego żadna forma rachunkowości nie jest prowadzona przez badanych rolników to brak znajomości przepisów zarówno prawnych (10%) jak i podatkowych (18%).

Najmniej istotnym powodem, dla kawterodawców jest stopień trudności ewidencjonowania zdarzeń finansowych w swoim gospodarstwie (11%).

Rys.4. Bariery wskazane przez rolników jako wynik nie prowadzenia przez nich ewidencji księgowych (opracowanie własne)

5. Wnioski

Zdecydowana większość gospodarstw poszerza swoje źródła utrzymania poza produkcję rolniczą, co stało się w dużym stopniu przymusem ekonomicznym, podyktowanym obecnymi uwarunkowaniami gospodarki rynkowej. W dobie gospodarstw rozdrobnionych, mało hektarowych, fakt ten nabiera coraz większego znaczenia, rolnicy nie są w stanie utrzymać się jedynie z produkcji rolnej czy też hodowli zwierząt, często zmuszeni są poszukiwać dodatkowych alternatywnych źródeł przychodów. Agroturystyka, jako przedsięwzięcie nie rolnicze bardzo dobrze wykorzystuje już posiadane dobra i jest w stanie wygenerować spore zyski bez konieczności inwestowania w gospodarstwo, w wielu przypadkach stanowi ona jedyne źródło utrzymania rolnika. Bieszczady stanowią bardzo dobry przykład ukazujący jak wiele kwaterodawców wykorzystując pozytywne uwarunkowania przyrodnicze wykorzystuje ten fakt w celu podwyższania swoich dochodów. Jednak największym problemem, z jakim borykają się rolnicy jest niska wiedza na temat księgowo-podatkowy to zaś skutkuje niską świadomością wiedzy na temat uzyskiwanych zysków z działalności agroturystycznej. Aby poprawić ten stan rolnicy musza mieć możliwość korzystania ze szkoleń z zakresu przedsiębiorczości, jest to jedna z najefektywniejszych metod zdobycia potrzebnej im wiedzy.

6. Literatura

Cieślik J. (2006), Przedsiębiorczość dla ambitnych. Jak uruchomić własny biznes, Wydawnictwa Akademickie i Profesjonalne, Warszawa, s. 64

Grzegorzewska-Mischka E., Wyrzykowski W., (2009), Przedsiębiorczość, przedsiębiorca, przedsiębiorstwo, Oficyna Wyd. Bookmarket VM Media Sp. z o.o., Gdańsk, s. 32-35

Jalinik M,(2010) Zrównoważony Rozwój Obszarów Wiejskich Wybrane Aspekty Społeczne, red.Kryk Barbara, Szczecin, Instrumenty ekonomiczno-prawne w działalności agroturystycznej w Polsce , s. 113-114

Jalinik M., (2016) Nazewnictwo w agroturystyce, Turystyka wiejska zagadnienia ekonomiczne i marketingowe , Poznań, s.63

Pałka, E. (2014). Wpływ otoczenia instytucjonalnego na rozwój gospodarstw agroturystycznych w wielofunkcyjnym regionie Gór Świętokrzyskich. Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego. Seria Rolnictwo, 599 (CVIII), 29–42.

Prukop B., Golian S., Finance and accounting used in agritourism as an element of agribusiness management on the example of holiday farms located in Bieszczady, Scientific Review of Physical Culture, volume 7, Issue 3, Rzeszów 2017, p. 67.

Sawicki B., 2007: Agroturystyka w aktywizacji obszarów wiejskich, Wyd. Akademii Rolniczej w Lublinie, Lublin

Smoleńska, O. i Machnik, A. (2013). Współczesne uwarunkowania funkcjonowania turystyki wiejskiej — rozwój gospodarstw agroturystycznych w kierunku specjalizacji w rekreacji i ekologizacji oferty. Zeszyty Naukaukowe WWSTiZ w Poznaniu, 2 (10), s. 129

Sznajder, M., Przezbórska, L. (2006). Agroturystyka. Warszawa: Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne

Targalski J., (2014) Przedsiębiorczość i zarządzanie małym przedsiębiorstwem, Difin, Warszawa, s.64

Targalski J., (2014), Przedsiębiorczość i zarządzanie małym i średnim przedsiębiorstwem, Difin, Warszawa, s.27

Wiatrak A.P., Wpływ agroturystyki na zagospodarowanie obszarów wiejskich, „Zagadnienia Ekonomiki Rolnej" 1996, nr 1, s. 35–36

Wszelaki A.,(2016) Wybór formy ewidencji podatkowo-księgowej małych i średnich przedsiębiorstw jako element zarzadzania finansami przedsiębiorstwa – aspekt teoretyczny, Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego w Katowicach, nr 267, s. 204

Przyczyny zawałów serca u młodych ludzi

Zuzanna Pyś [(1)], Paulina Sokołowska [(1)], Magdalena Magoń [(1)]

[1] Instytut Pielęgniarstwa i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Rzeszowski
Zuzanna Pyś: zuzanna.pys1@o2.pl

Streszczenie
W ostatnich latach notuje się istotny wzrost zachorowalności na zawał serca w grupie młodych ludzi. Coraz częściej etiologią zawału stają się inne przyczyny niż choroba niedokrwienna serca. Nieprawidłowe odżywianie i związana z nim otyłość, palenie tytoniu, siedzący i stresujący tryb życia, antykoncepcja hormonalna oraz coraz częściej spotykany doping w sporcie to tylko jedne z wielu przyczyn powstawania ostrych zespołów wieńcowych w coraz to młodszej grupie wiekowej.Ponadto choroby układu krążenia są często bagatelizowane przez ludzi do 30 r.ż., ponieważ wydają im się przydomkiem starości, a często nawet występujące u nich nadciśnienie nie wiąże się z podjęciem konsultacji lekarskich.

Słowa kluczowe: zawał, choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie, otyłość, palenie tytoniu, sterydy anaboliczne

Causes of heart attacks in young people

Summary
In recent years, there has been a significant increase in the incidence of myocardial infarction among young people. Increasinglyfrequently, the etiology of myocardial infarction are different causes than other ischemic heart disease. Inadequate nutrition and related obesity, smoking, sedentary and stressful lifestyle, hormonal contraception and increasingly common doping in sports are just several of many reasons for acute coronary syndromes in the younger age group. Moreover , cardiovascular diseases are often downplayed by people under the age of 30, because they seem to be old-age disorders, and often even hypertension they suffer from does not result in seeking medical help is not associated with medical consultations.

Keywords: myocardial infarction, heart attack, ischemic heart disease, hypertension, obesity, smoking, anabolic steroids

1. Wstęp

Choroby układu krążenia są wciąż w czołówce przyczyn zgonów w Polsce. Taki stan rzeczy wiąże się ze stylem życia Polaków, a przede wszystkim ich dietą oraz brakiem aktywności fizycznej. W ramach ochrony zdrowia Narodowy Fundusz Zdrowia gwarantuje pacjentom po przebytym zawale serca dożywotnią opiekę kardiologiczną w ramach poradni kardiologicznych. System opieki zdrowotnej zapewnia również pomoc w powrocie do zdrowia refundując rehabilitacje i pobyty w ośrodkach uzdrowiskowych

Choroba niedokrwienna serca jest poważnym problemem, a zarazem wyzwaniem dla dzisiejszej służby zdrowia. Z powodu ostrych zespołów wieńcowych w 2009 roku zmarło 178 tysięcy osób w Polsce, a aż 28% osób z tej liczby stanowili ludzie w wieku produkcyjnym (20-64 lat). W 2013 roku w 28 krajach Unii Europejskiej współczynnik umieralności na tę przypadłość wynosił 132 zgony na 100 tys. mieszkańców. Bardziej podatni na zgon z powodów naczyniowych byli mężczyźni.

Palenie tytoniu, otyłość, nadciśnienie powodują szereg zmian w układach krążenia. Przyczyną większości problemów z krążeniem wieńcowym u osób po 50 r.ż. jest postępująca miażdżyca, inaczej jest u młodych ludzi. W przypadku osób do 40 r.ż. najczęstszą przyczyną ostrych zespołów wieńcowych jest uraz w obrębie klatki piersiowej, skurcz i dalej zamknięcie światła tętnic wieńcowych, choroba zakrzepowo-zatorowa oraz problemy z krzepnięciem krwi.

2. Zawał

W przebiegu ostatnich 25 lat strategia działania w reperfuzji tętnic wieńcowych w zawale zmieniła się dzięki lepszej dostępności pracowni hemodynamiki, poprawie komunikacji pomiędzy ośrodkami leczniczymi oraz pogotowiem ratunkowym. Pozwala to na skrócenie czasu do rozpoczęcia leczenia metodą PPCI, co przełożyło się na poprawę statystyki umieralności na ostre zespoły wieńcowe w Polsce

Tabela 1. Kryteria ostrego zawału serca K. J. Filipiak, *„Trzecia Uniwersalna Definicja Zawału Serca”*, Kardiologia Polska 2012; 70, supl. V.

Kryteria ostrego zawału serca
Diagnoza ostrego zawału serca (MI) musi być poparta przez minimum jeden z poniższych warunków • Wzrost lub spadek aktywności biomarkera sercowego (najczęściej Troponiny sercowe cTn), lecz musi wystąpić nie mniej niż jedna wartość ≥ 99. centyla maksymalnej granicy wartości referencyjnej w skrócie URL oraz do tego nie mniej niż jeden z następujących przypadków: ➢ Oznaki niedokrwienia ➢ Nowe lub przypuszczalnie nowe, specyficzne zmiany odcinka ST ewentualnie niedawno powstały LBBB ➢ nieprawidłowe załamki Q w elektrokardiogramie ➢ Świeże pole martwicy w miokardium albo uchwycone w badaniach obrazowych patologie związane z kurczliwością serca ➢ Zdiagnozowanie skrzepliny zlokalizowanej w tętnicy wieńcowej podczas sekcji zwłok lub w badaniu angiograficznym • Śmierć sercowa z towarzyszącymi symptomami, sugerującymi niedokrwienie mięśnia sercowego i świeżymi zmianami niedokrwiennymi w badaniu EKG lub powstanie nowego bloku lewej odnogi pęczka Hisa, gdzie zgon sercowy powstał zanim biomarkery sercowe zostały zmierzone albo zostały zmierzone zbyt szybko- przed wzrostem owych biomarkerów we krwi • MI spowodowane pierwotną interwencją wieńcową (PCI) • Powstanie MI gdzie powodem jest wykonywanie pierwotnej interwencji wieńcowej w skrócie PCI, możemy stwierdzić tylko wtedy gdy występuje wzrost wartości Troponin tj. (> 5 x 99. centyla URL) u pacjentów, którzy przed zabiegiem mieli prawidłowe wartości lub był wzrost wartości Troponiny sercowej większy niż 20%, jeżeli wartości wyjściowe spadały bądź były już podwyższone i stabilne. Dodatkowymi wymagane jest spełnienie przynajmniej jednego z poniższych punktów: ➢ Objawy, które istotnie wskazują na niedokrwienie mięśnia sercowego ➢ Nowe zmiany charakterystyczne dla niedokrwienia mięśnia sercowego obrazujące się na zapisie EKG ➢ Obraz angiograficzny, który ukazuje nam potwierdzenie powikłań powstałych podczas zabiegu ➢ Zobrazowanie za pomocą odpowiednich badań świeżego obszaru martwiczego serca bądź nowych patologicznych odcinkowych zmian kurczliwości serca • Ostry zawał serca powstały z powodu zakrzepicy znajdującej się w stencie rozpoznaje się, gdy w trakcie badania koronarograficznego zostaje wykryta zakrzepica bądź autopsji, gdy wystąpiło niedokrwienie mięśnia sercowego razem ze wzrostem bądź spadkiem stopnia

wartości biomarkerów sercowych, przy wykryciu minimum jednej wartości, która przekracza 99. centyla URL • MI, który jest związany z wykonanym pomostowaniem tętnic wieńcowych w skrócie CABG, jego definicją jest „ Wzrost wartości Troponin tj. (większe niż 10 x 99. centyla URL) przy prawidłowych wyjściowych wynikach wartości cTn”, oraz stwierdzenie co najmniej jednego z poniższych podpunktów: ✓ Nowych nieprawidłowych załamków Q w zapisie EKG bądź nowego bloku lewej odnogi pęczka Hisa ✓ Zobrazowanie za pomocą badania angiograficznego nowego zamknięcia światła pomostu bądź własnej tętnicy wieńcowej pacjenta ✓ Zobrazowanie za pomocą odpowiednich badań świeżego obszaru martwiczego serca bądź nowych patologicznych odcinkowych zmian kurczliwości serca
Kryteria przebytego zawału serca
• Zarejestrowanie na zapisie EKG patologicznych załamków Q przy wystąpieniu lub niewystąpieniu charakterystycznych objawów gdy nie ma przyczyn nie – niedokrwiennych • Obecność świeżego obszaru martwiczego serca, z wykrytym jego ścieńczeniem oraz brakiem kurczliwości, gdy nie zdiagnozowano przyczyn nie – niedokrwiennych • Obraz histopatologiczny przebytego zawału serca

Najczęstszymi objawami zawału serca jest nieustający, piekący, gniotący ból w klatce piersiowej, promieniuje on do szczęki, łopatki, pleców oraz górnej części brzucha. Często zdarzają się również mdłości, wymioty, duszności i problemy z oddychaniem oraz podwyższona temperatura ciała.

3. Choroba niedokrwienna i miażdżyca

Powodem aż 95% przypadków choroby niedokrwiennej serca przez zwężenie ściany naczyń jest miażdżyca. Czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej są: wiek, cukrzyca, zaburzona gospodarka lipidowa (hiperlipidemia), brak lub mała aktywność fizyczna, otyłość, alkoholizm, nikotynizm, czynniki hormonalne i nadciśnienie tętnicze. Jeżeli nie jest stwierdzone zwężenie światła tętnic blaszką miażdżycową, powodem niedokrwienia serca może być ciężka anemia, nadczynność tarczycy, zator lub skurcz ścian naczynia. W diagnostyce choroby niedokrwiennej serca ważny jest wywiad rodzinny. W wywiadzie pyta się pacjenta o występowanie chorób układu krążenia wśród rodzeństwa, rodziców i dziadków. Ryzyko związane z incydentami wieńcowymi u chorych, których członek rodziny przed ukończeniem 60 rż. jest o 2,5 razy większe niż wśród osób nieobciążonych genetycznie.

Konsekwencją niedokrwienia mięśnia sercowego jest zawał serca. Zawał serca to przerwanie dostępu utlenowanej krwi do serca skutkiem, czego jest jego martwica.

U młodych ludzi, u których przyczyną wystąpienia ostrych zespołów wieńcowych są najczęściej zaburzenia krzepliwości krwi, skurcz i zapalenia tętnic, urazy w rejonie klatki piersiowej oraz nadpłytkowość. Wymienione procesy chorobowe są przyczyną choroby zakrzepowej powodującej powstawanie skrzeplin w naczyniach wieńcowych.

Promotorem powstania zakrzepicy jest uszkodzony wskutek stanu zapalnego śródbłonek, do którego „przyklejają” się płytki krwi tworząc zalegający materiał zatorowy.

Skrzepy mogą wchłonąć się samoistnie lub uszkadzać zastawki naczynia wskutek cofania krwi. Jeżeli materiał zatorowy oderwie się od ściany naczynia, może spowodować udar lub zawał.

Tabela 2. Przyczyny choroby zakrzepowej (opracowanie własne)

Przyczyny związane z interwencją medyczną	**Przyczyny chorobowe**
Przebyte operacje chirurgiczne	Gęsta krew i szybkie krzepnięcie
Poród	Żylaki kończyn dolnych
Długotrwałe unieruchomienie kończyn,	Choroby zakaźne
Stosowanie antykoncepcji hormonalnej	Leki uszkadzające śródbłonek
	Choroby żył

Skrzepliny w lewej komorze i dużych naczyniach powodowane są najczęściej przez zmiany w składzie krwi, zastój krwi oraz uszkodzenie śródbłonka wyścielającego naczynia. Skrzep może powstać w wyniku nieefektywnego skurczu przy wcześniejszym poszerzeniu naczyń takich jak aorta, lewa komora i lewy przedsionek serca. Słaby skurcz i zwiększona ilość krwi w sercu są spowodowane migotaniem komór lub zawałem serca. Powstawanie skrzepów może być zainicjowane przez podwyższoną lepkość i zwiększenie ilości płytek krwi, czerwienicą, a także w przebiegu chorób powodujących zmiany rozcieńczenia krwi.

Najczęstszym powodem wystąpienia zawału u dorosłych jest miażdżyca.W dzisiejszych czasach sądzi się, że geneza miażdżycy leży w uszkodzonym śródbłonku naczynia. Uszkodzony śródbłonek inicjuje zlepianie się ze sobą płytek krwi, a także pozwala na wnikanie tłuszczów, namnażanie fibroblastów wewnątrz ściany chorego naczynia. Na podstawie badań autopsyjnych stwierdzono, że pierwsze blaszki miażdżycowe tworzą się już w wieku dziecięcym. Dzieci w grupie wiekowej 5-8 lat mają już pierwsze nacieczenia tłuszczowe, które z wiekiem będą przybierać w naczyniach wieńcowych nieodwracalne formy płytki włóknistej. Szacuje się, że u 70% osób od 26 do 39 roku życia naczynia wieńcowe mają już zmienione patologicznie światło naczynia.

4. Antykoncepcja hormonalna

Stosowanie antykoncepcji hormonalnej wiąże się z wzrostem ryzyka choroby zakrzepowo zatorowej, ryzyko to dodatkowo wzrasta przy stosowaniu antykoncepcji hormonalnej pierwszej generacji.

W składzie leków antykoncepcyjnych znajduje się składowa progestagenna i estrogenna. O ile estrogenna ma działanie ochronne i wpływa na zwiększenie frakcji „dobrego cholesterolu" HDL a zmniejszenie LDL, o tyle frakcja progestagenna działa odwrotnie a w dodatku jej działanie jest silniejsze. Taki wpływ na gospodarkę lipidową powoduje zwiększoną częstość występowania zawałów u kobiet stosujących antykoncepcję

porównując do całej populacji.Składowa estrogenowa zawarta w lekach antykoncepcyjnych może wpływać na zwiększenie ciśnienia tętniczego.

Leki antykoncepcyjne występują w trzech generacjach, z czego każda ma istotny wpływ na układ krążenia. Preparaty pierwszej generacji zwiększają dwukrotnie ryzyko wystąpienia choroby zakrzepowo- zatorowej i ryzyko zawałów serca jest 5 krotnie większe niż u reszty populacji. Preparaty trzeciej generacji powodują dwukrotny wzrost ryzyka wystąpienia choroby zakrzepowo zatorowej.

5. Palenie tytoniu

Palenie tytoniu oraz bierna ekspozycja na dym papierosowy sprawiają, że ryzyko wystąpienia nowotworów oraz chorób układu krążenia wzrasta. Szacunkowo w 2015 roku w Polsce do nałogowego palenia papierosów przyznaje się 24% Polaków. Częściej po papierosa sięgają mężczyźni. Ryzyko uzależnienia się dziecka od nikotyny wzrasta, jeżeli osoby w jego rodzice oraz osoby w jego bliskim otoczeniu palą.

W dymie papierosowym znajduje się ponad 4000 substancji szkodliwych dla zdrowia. Obok czynników karcinogennych znajdują się substancje o wysokim powinowactwie do działania na układ krążenia, m.in.: nikotyna, tlenek węgla, cytokiny prozapalne i wolne rodniki tlenowe

Nikotyna zawarta w dymie tytoniowym podnosi o 40 % poziom noradrenaliny, a o 150% adrenaliny. Skutkuje to podwyższeniem ciśnienia tętniczego o 6%, a tętna aż o 14%. Prędkość przepływu wieńcowego ulega zmniejszeniu przy większym oporze naczyń wieńcowych. Palacze narażeni są przez te czynniki na ryzyko nagłego zgonu sercowego- nikotyna powoduje obniżenie nawet do 35% progu migotania komór.

Substancje zawarte w dymie tytoniowym sprawiają, że we krwi podnosi się ilość czynnika VII i fibrynogenu, odpowiadających za lepkość krwi i tworzenie skrzepliny. Ściany naczyń są oklejone przez płytki krwi, co w połączeniu z mniejszą aktywnością plazminogenu powoduje stan prozakrzepowy.

Tlenek węgla zawarty w dymie papierosowym sprawia, że we krwi wzrasta poziom karboksyhemoglobiny aż do 10% ponadto ma on 270 razy większą zdolność do wchłaniania niż tlen. Takie stężenie karboksyhemoglobiny we krwi sprawia, że mięsień sercowy cierpi z powodu niedotlenienia oraz jest przyczyną poliglobulii.

Wolne rodniki to cząsteczki, mające jeden niesparowany elektron walencyjny. Sprawiają one, że cholesterol LDL zawarty w krwi łączy się nimi, a następnie ma zdolność do uszkodzenia ściany naczynia krwionośnego i wnikania w nie tworząc blaszkę miażdżycową.

6. Nieprawidłowe odżywianie- otyłość i zespół metaboliczny

Otyłość w XXI wieku jest coraz bardziej istotnym problemem zdrowotnym. Przetworzona żywność, nadmierny apetyt podczas stresu, dieta uboga w surowe produkt zaś bogata w cukry proste i tłuszcz powoduje znaczne przybieranie na masiedorosłych i ich dzieci. Najbardziej niebezpieczną formą otyłości jest otyłość brzuszna wiążąca się z otłuszczeniem narządów wewnętrznych. International DiabetesFederation określiła warunki koniczne do diagnozy otyłości brzusznej. Obwód pasa kobiety u której podejrzewamy otyłość tego typu przekracza 80 cm, zaś u mężczyzn jest to 94 cm. Przez niektórych klinicystów brany jest również pod uwagę wskaźnik WHR czyli waist to hip ratio, jest on ilorazem obwodów pasa do bioder.Wykazano, że zwiększenie masy ciała o 10 kg skutkuje podwyższeniem ciśnienia tętniczego o 2-3 Hg. Taki wzrost ciśnienia krwi podnosi o 24 % ryzyko udaru mózgu i wystąpienia incydentów wieńcowych o 12%. Przypuszcza się, że przerost lewej komory serca może być indukowany zbyt wysoką masą ciała. Ponadto skutkami otyłości jest też szybkie wapnienie tętnic wieńcowych, zwiększona sztywność arterii i zwężenie tętnic szyjnych.

Zaburzenia metaboliczne otyłości skutkujące nadciśnieniem tętniczym mają wpływ na stwardnienie kłębuszków nerkowych i wzmożone wydalanie albumin z moczem.

Zwrotne wchłanianie sodu, insuliooporność i pobudzenie układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz zaburzenia hematologiczne (zaburzenia krzepnięcia) silnie wiążą się z otyłością.

Zespół metaboliczny to współistnienie ze sobą przynajmniej trzech postaci klinicznych takich jak otyłość brzuszna, nadciśnienie, zaburzenia gospodarki lipidowej oraz insulinooporność.

7. Sterydy anaboliczne

Sterydy anaboliczne to pochodne testosteronu. Hormon ten został wyizolowany około 1930 roku, a dziesięć lat później został wytworzony jego syntetyczny zamiennik. W późniejszych badaniach naukowych wykryto, że zmiana 17 pozycji w pierścieniu powoduje zanik działania androgennego przy niezmienionym działaniu anabolicznym i od tego odkrycia steroidy anaboliczne były masowo stosowane wśród hodowców bydła oraz osób uprawiających sport. Steroidy anaboliczne działają na błonę komórkową, a dokładnie na receptory androgenowe inicjując namnażanie komórki i zatrzymując apoptozę istniejących komórek. Dzięki temu w dużo krótszym czasie obserwowany jest wzrost masy mięśniowej i kostnej.

Według statystyk Międzynarodowej Komisji Olimpijskiej ponad połowa próbek, w których zostały wykryte zakazane substancje zawiera sterydy anaboliczno-androgenowe. Działanie testosteronu (a także jego pochodnych) dzieli się na aspekt androgenny i anaboliczny, dlatego bardziej poprawną nazwą są sterydy androgenno-anaboliczne (AAS), gdyż nie można do końca oddzielić tych dwóch spektrów działania.W praktyce klinicznej AAS stosowane są w celu zahamowania działania katabolicznego, dlatego stosowane są w chorobach prowadzących do zanikania mięśni. Trwają również badania nad wykorzystaniem AAS w andropauzie.

Sterydy anaboliczno-androgenowe mają wpływ na układ krążenia poprzez:

- Mechanizm aterogenny- zmiana gospodarki lipoproteinowej
- Mechanizm wazospastyczny – przemiany azotu, uszkodzenia śródbłonka naczyń
- Bezpośrednie działanie na mięśnień sercowy (przerost lewej komory)
- Efekt trombotyczny- zlepianie płytek krwi (zakrzepy prowadzące do udarów i zawałów)

Skutkiem ubocznym ich stosowania jest nadciśnienie tętnicze i zaburzenie gospodarki lipidowej prowadzące do szybkich zmian miażdżycowych.

W ciele człowieka receptory zdolne wiązać AAS znajdują się w mięśniówce gładkiej ścian naczyń, śródbłonku i kardiomiocytach, zaś wszystkie te receptory mają jednakową zdolność do wiązania sterydu. Dorastający ludzie szybciej uzyskują efekt dopingujący przez większa ilość receptorów androgenowych cytosolu, dlatego nawet przy niezwiązanej biologicznie aktywnej dawce testosteronu, w mięśniach poprzecznie prążkowanych występuje już nasycenie substancją.

Wpływ sterydów na układ krążenia wiąże się z ich działaniem na gospodarkę lipidową. Cholesterol całkowity pozostaje cały czas na stałym poziomie. Anaboliki powodują wzrost stężenia lipoprotein niskiej gęstości LDL, a spadek lipoprotein wysokiej gęstości HDL we krwi krążącej. Wolny cholesterol LDL osadza się na ścianach tętnic powodując miażdżycę. Badania wykazały, że stosowanie sterydów anaboliczno-androgenowych powoduje wiąże się ze wzrostem aż od 3 do 6 razy ryzyka powstania zmian miażdżycowych. Dzieje się tak, ponieważ sterydy anaboliczne działają prozapalnie na śródbłonek naczyń krwionośnych. Najbardziej narażeni na ten typ objawów niepożądanych są kobiety, osoby w podeszłym wieku i młodzież dorastająca. Zaburzone wydalanie wody jest przyczyną nadciśnienia tętniczego.

Prozakrzepowy efekt AAS powodowany jest podwyższeniem stężenia czynników krzepnięcia w układzie hemostazy. Rośnie ilość czynnika VIII i X oraz fibrynogenu. Zlepianie się ze sobą płytek krwi i powstawanie zakrzepów jest możliwe dzięki wysokiemu stężeniu tromboksanu A_2 i zmniejszonej ilości prostaglandyn. Utrudniony przepływ krwi, podwyższona ilość erytrocytów i płytek krwi oraz jej wysoka krzepliwość powoduje powstawanie zakrzepów nawet w miejscach gdzie występuje zdrowy śródbłonek. Ponadto stosowanie AAS przyczynia się do patologicznego rozrostu składowych macierzy pozakomórkowej i kardiomiocytów co powoduje zaburzenia skurczu i rozkurczu serca.

Jako przykład toksyczności sterydów anabolicznych może posłużyć przypadek 19- latka, który zgłosił się na szpitalny oddział ratunkowy w Sanoku z dolegliwościami bólowymi w klatce piersiowej. Pacjent ten nie przyznał się do stosowania sterydów w ankiecie przy przyjęciu do szpitala. Po wykonaniu EKG stwierdzono uniesienie odcinka ST w odprowadzeniach II, III i aVR. Koniecznością był zabieg koronarografii, udrożnienie zamkniętego światła lewej tętnicy wieńcowej oraz wprowadzenie tam stentu, by zapobiec ponownemu zamknięciu naczynia (restenozie).

8. Wnioski

Choroby układu krwionośnego są pierwszymi przyczynami zgonów młodych ludzi zarówno w Polsce jak i na świecie. Ludzie do 30 r.ż. bojąc się skutków nowotworów zapominają o cichym zabójcy, jakim jest zawał serca. Leki antykoncepcyjne, otyłość, palenie tytoniu, bagatelizowanie nadciśnienia oraz niewystarczające dbanie o własne zdrowie, powodujenarastanie blaszki miażdżycowej i zwiększenie ryzyka zawału serca.

By problem zaczął istnieć w podświadomości Polsków, zaczęły być prowadzone kampanie społeczne mające na celu edukację zdrowotną. Dzięki takim kampaniom ludzie znają podstawowe objawy zawału serca. W roku 2017 ruszyła akcja „Zawał serca- Czas to życie" organizowana pod patronatem Agaty Kornhauser- Dudy.

Edukacja zdrowotna młodych ludzi powinna w dużej mierze opierać się na ukazywaniu skutków nieprawidłowego odżywiania oraz braku aktywności fizycznej prowadzącej do otyłości. Problem otyłości nie może być sprowadzany tylko do jego natury estetycznej, ale powinien zwracać uwagę na choroby z nią związane, tj.: nadciśnienie i miażdżyca.

9. Literatura

Becker R., „Ból w klatce piersiowej", D.W. Publishing Co., USA 2001;3-10

Bodera P., Wpływ palenia papierosów i stresu oksydacyjnego na mechanizmy metaboliczne i immunologiczne prowadzące do rozwoju otyłości, Czasopismo aptekarskie Nr3 (183), 2009:14-15

Chrostowska M, Szyndler A, Polonis K, Tykarski A, Narkiewicz K. Rozpowszechnienie otyłości brzusznej u chorych z nadciśnieniem tętniczym w Polsce: konsekwencja zmiany kryteriów diagnostycznych w zaleceniach Polskiego
Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego z 2011 roku. Nadciśnienie Tętnicze, 2011; 15: 155–16

Filipiak K. „Trzecia Uniwersalna Definicja Zawału Serca", Kardiologia Polska 2012; 70, supl. V.

Llewellyn's W., ANABOLICS,10th ed. Molecular Nutrition, LLC in Jupiter, FL 33458. 2011:149-171

Myung K. Park, Kardiologia dziecięca, Elsevier&Urban, Wrocław 2011: 390-399

Poirier PP, Giles TD, Bray GA, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: Pathophysiology, Evaluation, and the Effect of Weight Loss. An Update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease From the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Circulation 2006; 113: 898-918.

Szyndler A., Chorostowska M., Narkiewicz K., Nadciśnienie tętnicze u osób otyłychKardiologia po Dyplomie 2013; 12 (5): 17-23

ŚcibiorskiC.,Kardiologia w praktyce codziennej, Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa 1999: 7-20

Wiedza o zdrowiu a wybrane zachowania zdrowotne studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego

Paulina Sokołowska [(1)], Zuzanna Pyś [(1)], Angelika Ciupińska [(1)], Filip Osuchowski [(1)]

[1] Instytut Pielęgniarstwa i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Rzeszowski
Paulina Sokołowska: paulinasok1445@gmail.com

Streszczenie
Zdrowie oraz zachowania zdrowotne stanowią główną kategorie stylu życia. Dotyczą one wszystkich działań, jakie podejmuje człowiek w codziennym życiu. Na zdrowie oraz zachowania zdrowotne młodzieży akademickiej ma wpływ wiele elementów: aktywność fizyczna, prawidłowe nawyki żywieniowe, unikanie używek oraz profilaktyka zdrowotna. Aby dobrze dbać o zdrowie należy realizować wszystkie formy począwszy od prawidłowego odżywiania po stosowanie wszystkich zasad zdrowego stylu życia. Młodzi ludzie są bardziej narażeni na angażowanie się w antyzdrowotne zachowania niż inne grupy społeczne. Dlatego też odpowiednia wiedza może im zapewnić prawidłowe stosowanie się do zasad zdrowego stylu życia. Celem pracy było określenie poziomu wiedzy studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego na temat zdrowia oraz zachowań zdrowotnych. Badanie zostało przeprowadzone wśród 120 studentów. W badaniu posłużono się autorskim kwestionariuszem ankiety. Średnia wieku badanych to 21-24 lat.

Słowa kluczowe: Zachowania zdrowotne, zdrowie, studenci

Health knowledge and selected health behaviors of students at the University of Rzeszów

Summary
Health and health behaviors are the main categories of lifestyle. They concern all activities that a person undertakes in everyday life. Many elements influence the health and health behavior of academic youth: lifestyle, physical activity, proper eating habits, avoidance of stimulants and health prophylaxis. To take good care of your health, all forms should be implemented, from proper nutrition to applying all the principles of a healthy lifestyle. Young people are more exposed to engaging in anti-health behaviors than other social groups. Therefore, appropriate knowledge can ensure that they adhere to the principles of a healthy lifestyle. The aim of the work was to determine the level of knowledge of students of the University of Rzeszów on health and health behaviors. The study was conducted among 120 students. The survey used a proprietary questionnaire. The average age of the respondents is 21-24 years.

Keywords: Health behaviors, health, students

1.Wstep

Zdrowie należy do bardzo trudnych do zdefiniowaniapojęć, ponieważ istnieje ponad 300 definicji, z których żadna nie jest dostatecznie precyzyjna. Fakt ten ma ogromne znaczenie w wielu sytuacjach życiowych danej populacji do całkowitej oceny zdrowia. Według WHO zdrowie to stan pełnego fizycznego, umysłowego i społecznego dobrostanu, a nie tylko całkowity brak choroby czy niepełnosprawności. Powyższa definicja kładzie ogromny nacisk na działania obejmujące prozdrowotny tryb życia, osobistą troskę o swoje zdrowie, dobre nastawienie psychiczne oraz zapobieganie różnorodnym chorobom (Wojnarowska 2007). Człowiek w codziennym życiu dokonuje oceny stanu swojego zdrowia. Należy jednak pamiętać o zdolności realizacji własnych jak i środowiskowych potrzeb, aby

zrealizować wszystkie stawiane cele życiowe. Żeby dobrze ocenić swoje zdrowie należy poznać trzy jego typy a mianowicie fizyczne, psychiczne i społeczne (Muszkieta i in. 2012).

Zdrowie fizyczne odnosi się do ciała jak i do biologicznego funkcjonowania organizmu, narządów oraz układów. Zależy od genetyki, cech wrodzonych oraz autonomii człowieka. Natomiast w zdrowiu psychicznym wyróżniamy dwa komponenty poznawczy i afektywny. Pierwszy odpowiada za zdrowie umysłowe, oznaczające zdolność do uczenia się oraz spójnego myślenia. Z kolei afektywny odpowiada za zdrowie emocjonalne, czyli jest to zdolność kontrolowania emocji oraz radzenia sobie z trudnościami życia codziennego takich jak: lęk, żal czy złość. Natomiast zdrowie społeczne jest zdolnością do utrzymywania dobrych relacji międzyludzkich, odnajdywania się w społeczeństwie, odgrywania ról społecznych oraz dostosowanie się do życia w świecie (Muszkieta i in. 2012).

Całokształt zdrowia zależy także od środowiska może ono mieć pozytywny jak i negatywny wpływ. Pozytywny wpływ przejawia się dobrostanem fizycznym, psychicznym i społecznym. Do czynników, które pozytywnie wpływają na zdrowie można zaliczyć: jakość powietrza, wody oraz bezpieczeństwo w pracy czy uczelni. Negatywnym przejawem środowiska na zdrowie jest niekorzystne oddziaływanie promieniowania, hałas czy też czynniki biologiczne. Wyznacznikiem dbałości o własne zdrowie jest kształtowanie stylu życia, czyli dążenie do eliminowania wszelkich czynników, które mogą zagrażać zdrowiu na każdym podłożu (Muszkieta i in. 2012).

Aby dokładnie zdefiniować zdrowie należy podać jego kryteria, a mianowicie obiektywne i subiektywne. Kryteriami obiektywnymi są wszystkie działania wynikające najczęściej z badań medycznych wspartych odpowiednimi czynnościami, które umożliwiają przystosowanie się organizmu do większych obciążeń oraz zwiększonych wyzwań. Natomiast w subiektywnych znajduje się samoocena jednostki, która stanowi istotny wyróżnik stanu zdrowia gdzie dobrostan zajmuje najwyższe miejsce. Całkowita ocena zdrowia prowadzona jest za pomocą składowych, którymi są: odporność na obciążenie fizyczne, obecność lub brak chorób, a także odchyleń od stanu prawidłowego. W populacji ma to wysokie znaczenie w celu promocji zdrowia w wymiarze społecznym, zapobieganiu rozmaitym chorobom oraz pozwala ocenić zagrożenia stanu zdrowia całego społeczeństwa (Kryk i in.2011).

Współczesna nauka dostarcza światu niezbędnych informacji ukazując mierniki zdrowia. Pozwalają one na ocenę pełnego stanu fizycznego, umysłowego oraz społecznego w skali globalnej jak i jednostkowej, a także pomagają określić czynniki, warunki i działania chroniące zdrowie jednostki, jaką jest człowiek. Nauka wyodrębniła wszystkie czynniki w wymiarze jednostkowym, na które człowiek nie ma wpływu. W sposób bardzo ogólny

wszystkie czynniki decydujące o stanie zdrowia mają swój podział. Dzielą się na wewnętrzne (genetyczne) oraz zewnętrzne (środowiskowe). Ostatnie szacunki wskazują, że czynniki środowiskowe wpływają w około 30% na nasze zdrowie. Natomiast wpływ czynników genetycznych oszacowany jest na około 15-20%. Największy wpływ na zdrowie ma całkowity styl życia, który tworzy zaplecze ludzkiego bytowania. To właśnie w środowisku kształtują się zachowania dotyczące utrzymania zdrowia i rozstrzygają się zdrowotne losy jednostki (Michalak 2011).

2. Zachowania zdrowotne

Większość społeczeństwa traktuje zdrowie, jako najważniejszą wartość w życiu, co przekłada się na zachowania zdrowotne. Na zdrowie ma wpływ wiele czynników determinujących zachowania człowieka. Na większość z nich człowiek nie ma bezpośredniego wpływu. Istnieje bardzo dużo prób, które maja na celu jednoznaczne zdefiniować zachowania zdrowotne zwłaszcza w odrąbie medycyny, psychologii oraz socjologii. Najogólniej zachowania zdrowotne można zdefiniować, jakowszystkie zachowania, które są podejmowane przez ludzi na rzecz zdrowia oraz w szerokim stopniu zależą od zrozumienia jego istoty.Wszystkie zachowania szeroko związane są z umiejscowieniem kontroli zdrowia. W celu zwiększenia swojego zdrowia ludzie zaczęli świadomie podejmować działania korzystne jak i niekorzystne dla zdrowia. Zachowania zdrowotne wynikają z interakcji społecznych. Człowiek pobiera ze środowiska wszystkie czynniki, które negatywnie bądź pozytywnie wpływają na zdrowie. Osoba fizyczna uczy się wszelkich zachowań po przez obserwację społeczeństwa oraz naśladownictwo (Smoleń i in. 2012). Zachowania zależą również od wszelkich czynników podmiotowych. Do tych czynników można zaliczyć: wiarę, postawy, wiedzę, wartości oraz poczucie istnienia w społeczeństwie czy istnienie biologiczne. Wszystkie działania, jakie podejmujemy można podzielić na dwie grupy a mianowicie: zachowania prozdrowotne i antyzdrowotne. Zrachowaniami prozdrowotnymi są wszystkie działania, które wpływają na dobrostan psychiczny fizyczny i społeczny, czyli sprzyjają zdrowiu. Natomiast przeciwieństwem są zachowania antyzdrowotne, które mogą zarażać, niszczyć zdrowie a także utrudniać proces zdrowienia (Seń i in. 2012).

Do typowych zachowań prozdrowotnych można zaliczyć: aktywność fizyczną, odpowiednią długość snu, wypoczynek dbanie o higienę osobistą, właściwą dietę, umiejętne radzenie sobie ze stresem, zachowania związane z profilaktyką czy w końcu właściwe relacje z ludźmi (Muszkieta i in. 2012). Przeciwieństwem tych zachowań są zachowania antyzdrowotne. Prowadzą one do niszczenia bądź osłabienia zdrowia oraz świadomego wprowadzenia się

w stan choroby przez niedostosowanie się do prawidłowego stylu życia. Takimi nieprawidłowościami może być: palenie papierosów, stosowanie narkotyków oraz spożywanie w nadmiernych ilościach alkoholu. Biorąc pod uwagę całokształt zachowań a związek miedzy zdrowiem można je podzielić na:

- działające bezpośrednio np. picie alkoholu czy palenie papierosów
- działają pośrednio np. nieprawidłowa dieta, która może doprowadzić do podwyższenia cholesterolu, co w konsekwencji może skutkować miażdżycą (Juczyński i in.2003).

3.Materiał i metoda

Terenem badań był Uniwersytet Rzeszowski będący największą uczelnią akademicką Polski południowo-wschodniej. Badania zostały przeprowadzone na przełomie lutego i marca 2017 roku. Do badań wykorzystano autorski kwestionariusz ankiety. Zawierał on 29 pytań w większości były to pytania zamknięte zaopatrzone w zestaw wszystkich możliwych odpowiedzi. Celem pracy była analiza wiedzy o zdrowiu oraz zachowań zdrowotnych prezentowanych przez studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego. Do opracowania statystycznego zastosowano test niezależności chi-kwadrat.Wydziały, które zostały objęte badaniami to: medyczny, humanistyczny oraz matematyczno-przyrodniczy, studialicencjackie i magisterskie w trybie stacjonarnym. Grupę łącznie stanowiło 120 studentów. Poniższe tabele przedstawiają szczegółowe dane.

Z analizy przeprowadzonych badań wynika, że w badaniu wzięło udział 70 kobiet, co stanowiło 58,3% ankietowanych oraz 50 mężczyzn, co stanowiło 41,7% ankietowanych (tab.1).

Tabela 1. Podział badanych ze względu na płeć, (opracowanie własne)

Płeć	**Ogółem**	
	N	%
Kobiety	70	58.3%
Mężczyźni	50	41.7%
Ogółem	**120**	**100%**

Podział uczestników ze względu na wiek wskazuje, że najliczniejsza grupę stanowią studenci w wieku 21-24 lat, co stanowi 78,3% całej grupy, następnie studenci w wieku 25-27 lat jest to 21,7% wszystkich. Jak wynika z tabeli w badaniu nie brali udziału studenci w wieku 19-20 lat oraz 28 i więcej (tab.2).

Podział uczestników badania, ze względu na wydział wykazuje, że wszystkie grupy są równoliczne. Każda z grup liczy 40 osób, co stanowi 33, (3) % całej grupy (tab.3).

Tabela 2. Podział badanych ze względu na wiek, (opracowanie własne)

Granica wiekowa	**Ogółem**	
	N	%
19-20 lat	0	0%
21-24 lat	94	78,3%
25-27 lat	26	21.7%
28 i więcej lat	0	0%
Ogółem	**120**	**100%**

Tabela 3. Podział badanych ze względu na wydział, (opracowanie własne)

Wydział	**Ogółem**	
	N	%
Medyczny	40	33.(3)%
Humanistyczny	40	33.(3)%
Matematyczno – przyrodniczy	40	33.(3)%
Ogółem	**120**	**100%**

4.Wyniki

Wyniki badań własnych przeprowadzonych na uczelni wykazują, iż młodzież akademicka z wydziału medycznego posiada najlepszą wiedze na temat zdrowia i zachowań zdrowotnych. Niestety nieco gorzej wypada wydział humanistyczny oraz matematyczno-przyrodniczy. Badania te również pokazują, że to kobiety posiadają lepszą wiedze od mężczyzn.Natomiast głównym źródłem informacji na temat zdrowia jest Internet.

Ogólna wiedza całej młodzieży akademickiej okazuje siębyć, co najwyżej na poziomie średnim. Przeprowadzona analiza udowodniła, że wiedza na temat podstawowych zachowań zdrowotnych nie zawsze idzie w parze z dostosowywaniem się do prawidłowych zasad zdrowego stylu życia. W zdecydowanej większości zdobytą wiedze najczęściej wykorzystują studenci z wydziału medycznego (tab.4).

Tabela 4. Wykorzystywanie zdobytej wiedzy, (opracowanie własne)

	Humanistyczny		**Matematyczno - przyrodniczy**		**Medyczny**		**∑**	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Tak	1	2.5%	6	15%	22	55%	19	24.2%
Nie	12	30%	15	37.5%	4	10%	42	25.8%
Czasami	27	67.5%	19	47.5%	14	35%	38	50%
∑	**40**	**100%**	**40**	**100%**	**40**	**100%**	**120**	**100%**
p<0.001								

Biorąc pod uwagę angażowanie się w zachowania zdrowotne młodzieży akademickiej też nie jest na wysokim poziomie. Jednak najbardziej liczną grupą, która angażuje się w zachowania zdrowotne i stara się przestrzegać wszystkich zasad zdrowego stylu życia są

studenci wydziału medycznego. Nieco gorzej wypadają studenci kierunków humanistycznych, natomiast najmniej w zachowania zdrowotne angażują się mężczyźni studiujący nakierunkumatematyczno– przyrodniczym (tab.5).

Tabela 5.Stosunek badanych osób do przestrzegana zasad zdrowego stylu życia, (opracowanie własne)

	Humanistyczny		**Matematyczno-przyrodniczy**		**Medyczny**		∑	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Staram się przestrzegać zasad	19	47.5%	12	30%	28	70%	19	49.2%
Nie przestrzegam zasad	11	27.5%	15	37.5%	4	10%	42	25%
Obojętny	10	25%	13	32.5%	8	20%	38	25.8%
∑	**40**	**100%**	**40**	**100%**	**40**	**100%**	**120**	**100%**
p<0.01								

Niedostateczna wiedza ogólna z zakresu zdrowia i zachowań zdrowotnych może wynikać ze źródeł, jakich studenci używają do pogłębiania swojej wiedzy. Głównym źródłem jest Internet niestety nie daje on gwarancji wiarygodnych informacji, ponieważ wiedza ta może pochodzić z nierzetelnych źródeł, które nie zawsze ukazują prawdę (tab.6).

Tabela 6. Źródła posiadania informacji na temat zdrowia, (opracowanie własne)

	Ogółem	
	N	%
Książki	7	5.8%
Czasopisma	8	6.7%
Internet	72	60%
Znajomi	7	5.8%
Zajęcia	26	21.7%
∑	**120**	**100%**

5.Dyskusja

W piśmiennictwie można wyszukać wiele informacji na temat zdrowia oraz zachowań zdrowotnych. Tematyka ta jest bardzo często poruszana ze względu na epidemiologie oraz zmieniające się trendy w dbaniu o zdrowie. Zdecydowanie rzadziej ukazują się opracowania dotyczące wiedzy o zdrowiu, a przejawianie zachowań zdrowotnych.

Wiedza dotycząca podstawowych zasad w żywieniu takich jak: długość odpoczynku nocnego, prawidłowe szczeble piramidy żywieniowej, podział zachowań zdrowotnych, ilość spożywanych posiłków w ciągu dnia czy też wskazanie najważniejszego posiłku wypadła dobrze na wszystkich kierunkach, lecz najlepszą wiedze posiadali studenci wydziału medycznego. Na większość pytań, które były zawarte w ankiecie i dotyczyły wiedzy o zdrowiu czy zachowań zdrowotnych prawidłowo odpowiadali studenci kierunków medycznych oraz kobiety. Wydział humanistyczny na ogół charakteryzował się niższym

poziomem wiedzy. Najgorzej wypadał wydział matematyczno - przyrodniczy.Rezultaty badań dotyczące całkowitej wiedzy studentów szacuje się na 49.2%. W piśmiennictwie pokazywane są przez rozmaitychautorów wybrane elementyzachowańściśle związanych ze zdrowiem.Warto tu wspomnieć, o badaniach prowadzonych przez Zarzeczną - Baran wśród studentów z Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Gdańsku, badania te pokazały dość wysoki poziom wiedzy nt. prawidłowego stylu życia wśród studentów. 96% z nich uważało, że zna zasady prawidłowego stylu życia, wiedza ta jednak nie zawsze przekładała się na działania praktyczne (Zarzeczna-Baran i in. 2007).

Analiza wiedzy studentów pokazała, że większość zna prawidłową ilość spożywanych posiłków w ciągu dnia. Badania własne pokazały, że 85.8% studentów zarówno kobiet jak i mężczyzn potrafi wskazać prawidłową odpowiedź. Porównując wiedze studentów wskazano, iż podobnie jak w badaniach prowadzonych przez Zduńskowolan 76% respondentów ma prawidłową wiedze i angażuje się w zachowania żywieniowe w kwestii ilości spożywanych posiłków (Stefańska i in. 2007).

W pytaniu na temat palenia papierosów najczęstszą wybieraną odpowiedzią wśród kobiet i mężczyzn była twierdząca (palę), stanowiło to 51,6% ankietowanych. W badaniu realizowanym przez Wójtowicz-Chomicz uzyskano nieco lepszy wynik. Przeprowadzona analizawykazała, że grupę palaczy stanowiło 34.9%. Najwięcej pozytywnych odpowiedzi wykazali studenci z wydziału matematyczno - przyrodniczego, stanowili oni 60% całej grupy ankietowanych (Wójtowicz- Chomicz i in. 2007).

W kolejnym pytaniu dotyczącym deklaracji na temat spożywania alkoholu a wydział, na którym studiują respondenci pojawiała się wysoka istotność statystyczna. Pozytywną odpowiedź (tak) wskazało 71.7% studentów. Nieco gorsze wyniki uzyskano w badaniu zachowań studentów kierunków medycznych opublikowane w 2007 roku przezStefańską, gdzie wykazano, że 90% osób spożywa alkohol (Stefańska i in. 2007).

W skali zachowań profilaktycznych oraz przestrzegania zasad higieny osobistej w badaniach autorów pracy najlepiej wypadlistudenci wydziału medycznego 92,5%. Najmniej w zachowania zdrowotne angażują się studenci kierunków ścisłych. Spowodowane może to być mniejsza liczba godzin poświęcona na edukacje zdrowotna. W badaniach przedstawionych przez Baran oraz Stocką na temat zdrowia i choroby oraz stosowania się do zasad profilaktyki żadna z badanych osób nie pokazuje zachowań profilaktycznych na wysokim poziomie 41.66% (Baran i in. 2008).

Do częstych błędów podejmowanych przez młodzież akademicką należy nieregularne spożywanie posiłków, podjadanie słodyczy czy tez pomijanie najważniejszego posiłku

w ciągu dnia, jakim jest śniadanie. Jak pokazują przeprowadzone badania wśród studentów różnych wydziałów z Uniwersytetu Rzeszowskiego zasady prawidłowego żywienia daleko odbiegają od normy. 50.8% badanych nie przestrzega tych zasad bądź są im obojętne. Jak pokazują badania przeprowadzone przez Instytut Matki i Dziecka wśród młodzieży jedynie 35.4% spożywa prawidłową ilość posiłków w ciągu dnia (Zimna-Walendzik i in. 2009).

Nie tylko płeć, ale także kierunek studiów warunkuje formę wyboru aktywności fizycznej. 47.2% wszystkich badanych przyznało, że uprawia sport codziennie. Najczęstszą formą aktywności wybieraną przez studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego jest bieganie oraz ćwiczenia na siłowni. Znacznie lepszy wynik ukazany jest w badaniach Sochockiej. Zdecydowana większość respondentów przyznała się do uprawiania aktywności fizycznej, stanowią oni 79.5%. Tu najczęstszą podejmowaną formą aktywności fizycznej przez badanych jest: jazda na rowerze oraz zajęcia grupowe np. fitness (Sochacka i in. 2013).

Problemy, które zostały podjęte w niniejszej pracy zazwyczaj mają charakter złożony i zależą od siebie. Poziom wiedzy na temat zdrowia oraz zachowań zdrowotnych w dużej mierze są zależne od płci oraz wydziału, na jakim studiują respondenci. Najwięcej nieprawidłowych odpowiedzi zaobserwowano wśród studentów z wydziału matematyczno – przyrodniczego w porównaniu ze studentami z wydziału medycznego czy humanistycznego. Brak wiedzy czy obojętność respondentów często wpływa na ich dalsze postępowanie wobec zdrowia.

Z analizy badań własnych zostały ukazane pewne różnice programowe wśród młodzieży akademickiej. Studenci powinni zwrócić większą uwagę na zastosowanie zasad zdrowego stylu życia oraz angażowania się w zachowania zdrowotne. Należałoby także zwiększyć zakres edukacji zdrowotnej na kierunkach ścisłych.

Zachowania zdrowotne powinny być kształtowane od najmłodszych lat, aby człowiek w dorosłym życiu mógł dostosowywać się do zasad zdrowego stylu życia. Studenci, którzy posiadają średnią wiedze na temat zdrowia powinni zaczerpnąć więcej informacji z wiarygodnych źródeł oraz próbować zmienić dotychczasowy styl życia.

6.Wnioski

1. Badanie ankietowanej młodzieży akademickiej z Uniwersytetu Rzeszowskiego wykazało, co najwyżej średni poziom wiedzy na temat zdrowia oraz zachowań zdrowotnych.
2. Badania pokazały, że studenci kierunków medycznych są bardziej skłonni do angażowania się w zachowania zdrowotne niż studenci pozostałych wydziałów.
3. Kobiety posiadały nieco większą wiedzę na temat zdrowia oraz zachowań zdrowotnych niż mężczyźni.

4. Młodzież akademicka swoją wiedzę na temat zdrowia głównie czerpała z Internetu.

7. Literatura

Baran A., Stocka A. Kierunek studiów jako wyznacznik zachowań zdrowotnych. Przegląd medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego. Rzeszów 2008, 4, str.329

Juczyński Z., Chodakiewicz J.,Motywy podejmowania zachowań ryzykownych i ocena ich konsekwencji w opinii młodzieży szkolnej łodzi. Folia Psychologica. Łódź 2003; 7, str. 3

Kryk B., Włodarczyk-Śpiewak K., Wybrane aspekty jakości życia na przykładzie województwa zachodniopomorskiego, [w:] Kopycińska D. [red.] Zachowania rynkowe gospodarstw domowych i przedsiębiorstw w okresie transformacji systemowej w Polsce. Uniwersytet Szczeciński; Szczecin 2013,str. 95

Michalak J., Obiektywne i subiektywne mierniki jakości opieki zdrowotnej. Problemy zarządzania. Łódź 2011; 9,str.128 - 129

Muszkieta R., Żukow W., Karaskova V. i wsp., Człowiek w świecie zdrowia, sportu i ekonomii. Ośrodek Rekreacji, Sportu i Edukacji w Poznaniu; Poznań 2012, str. 6 - 14

Seń M., Zacharczuk A., Lintowska A., Zachowania żywieniowe studentów wybranych uczelni wrocławskich a wiedza na temat skutków zdrowotnych nieprawidłowego żywienia. Pielęgniarstwo i zdrowie publiczne. Wrocław 2012; 2,str.114

Smoleń E., Cipora E., Penar - Zadarko B., Gazdowicz L., Wybrane zachowania zdrowotne młodzieży akademickiej a umiejscowienie kontroli zdrowia. Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie. Rzeszów 2012; 4, str. 475

Sochocka L, Wojtyłko A. Aktywność fizyczna studentów studiów stacjonarnych kierunków medycznych i niemedycznych. Medycyna środowiskowa. Opole 2013, str. 57

Stefańska E, Ostrowska L, Czapska D, Karczewski J. Wybrane zachowania zdrowotne studentów uczelni medycznej. Żywienie Człowieka. Lublin 2007,str. 642-646

Wojnarowska B., Edukacja zdrowotna. PWN. Warszawa 2007,str. 23

Wójtowicz-Chomicz K., Kowal M., Wójtowicz M. i in. (2007), Próba oceny zachowań anty-zdrowotnych studentów Akademii Medycznej w Lublinie. Problemy Higieny i Epidemiologii, 88 (1),str. 108 - 111

Zarzeczna – Baran M., Wojdak – Hassa E., Wiedza studentów Akademii Medycznej W Gdańsku o niektórych elementach stylu życia. Problemy Higieny i Epidemiologii. Gdańsk 2007, 88, str. 55 – 59

Zimna - Walendzik E, Kolmaga A, Tafalska E. Styl życia – aktywność fizyczna, preferencje żywieniowe dzieci kończących szkołę podstawową. Żywienie Nauk Technologia Jakość. 2009, 4, str. 195 - 203

Wpływ kofeiny na ruchliwośćplemników Indyczych

Katarzyna Stachańczyk [(1)]

[1] Zakład Zoologii Kręgowców i Biologii Człowieka, Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie
Katarzyna Stachańczyk: stachanczyk.katarzyna@gmail.com

Streszczenie
Indyki *Meleagrisgallopavovar. domesticus* L. 1758 (Phasianidae) są przykładem organizmów modelowych, powszechnie stosowanych w podstawowych badaniach dotyczących ptaków, przede wszystkim w zakresie biologii rozrodu. Nasienie indyków jest z powodzeniem stosowane w przypadku sztucznej inseminacji w procedurach hodowlanych na poziomie przemysłowym. Celem niniejszegoeksperymentu była weryfikacja wpływu kofeiny, na plemniki indycze. Do badania wykorzystano system CASA Sperm Vision™, aby przeanalizować parametr ruchliwości (MOT) rozumiany, jako: procent plemników, poruszających się w sposób odpowiedni do parametrów ją determinujących. Stwierdzono, że parametr ruchliwości plemników jest zrównoważony i nie wykazał istotnych różnic we wszystkich badanych próbkach. Wnioskujemy, że intensywność działania badanej substancji *in vitro* jest umiarkowana i wymaga dalszych, rozszerzonych badań, w tym metod *in vivo* i *in situ*.

Słowa kluczowe: indyki, plemniki, kofeina, ruchliwość, analiza nasienia.

Effect of caffeine on motility of Turkeys' spermatozoa

Summary
Turkeys *Meleagrisgallopavovar. domesticus* L. 1758 (Phasianidae) are an example, used as model organisms, in bird's basic studies, especially in reproductive biology. The semen of Turkeys, is favorably used in the case of artificial insemination in the breeding procedures. The aim of this thesis, was to examine the effect ofcaffeine on Turkey's spermatozoa.The experiment was conducted using the CASA Sperm Vision™ system to analyse motility (MOT) of spermatozoa, understood as a percent of sperm moving in a manner, that fit motility determination parameter. The spermatozoa motility has been found to be balanced and have not indicated significant differences in all tested samples in the case of caffeine addition. We conclude that the intensity of action of investigated substances *in vitro* is moderate and they require further, expanded research, including *in vivo* and *in situ* methods.

Keywords: turkey, spermatozoa, caffeine, motility, semen analysis.

1.Wstęp

Jednym z najważniejszych czynników w hodowli drobiu, jest utrzymanie u samców ich wysokiej zdolności do zapłodnienia.Istnieje wiele czynników, wpływających na ten aspekt. Największą rolę odgrywa czynnik genetyczny, niemniej jednak możemy również wymienić inne czynniki, takie jak: wiek, pora roku, ilość światła, stan zdrowia, odżywianie, liczbę kopulacji lub ejakulacji na dzień (Paluch i in. 2013).Obecnie przechowywanie plemników indyczych w warunkach in vitro oraz ich konserwacja są przedmiotem wielu prowadzonych badań, w celu utrzymaniawysokiej skalirozrodczej tychże zwierząt. Podstawową zasadą przechowywania nasienia, jest jego składowanie w warunkach podobnych do warunków panujących w męskim układzie rozrodczym. Dlatego też pożywki wykorzystywane do badań, muszą być produkowane w oparciu o środowisko jonowe(Hocking 2009).Odpowiednie dobranie pożywek, jest kwestią znaczącą, ponieważ szacuje się, iżpo sześciu godzinach przechowywania ejakulatu, również w warunkach tlenowych, obniżonej temperaturze

a takżestosując odpowiednie substancje rozcieńczające, plemniki tracą zdolność do zapłodnienia(Parkhurst i in. 2000). W ostatnim czasie, przemysł farmaceutyczny zwiększył zainteresowanie substancjami, które sprzyjają i utrzymują ruchliwość plemników w trakcie,oraz po zakończeniu procedury przechowywania. Aby utrzymać zdolność do zapłodnienia nasienia in vitro, ejakulat musi być wstępnie schłodzony do temperatury w granicach od 2 do 8°C i rozcieńczony w odpowiednio dobranym roztworze (Douard i in. 2004). Roztwory wykorzystywane, do przechowywania nasienia w warunkach in vitro, to zbuforowane roztwory soli, które uważane są za najbardziej adekwatne. Rozcieńczanie jest konieczne, ze względu na wysoką lepkość i silne stężenie ejakulatu, szacowane na około 6 miliardów plemników w przypadku kogutów i 12 miliardów plemników w przypadku indyków, na 1 mililitr objętości(Donoghuei in. 2000). Skład roztworów, zawierających pobrany do badań ejakulatopartyjest na składzie biochemicznym nasienia drobiu (Lake 1995). Jednym z głównych składników roztworów używanych do rozcieńczania jest kwas glutaminowy, który stanowi najważniejszy składnik anionowy ptasiej plazmy nasienia (Lake i in. 1959), roztwory te powinnybyć również wzbogacone w substraty energetyczne, takie jak: glukoza, fruktozabądź inne związki organiczne, mogące dostarczać energię, jak na przykład: glutaminian, octan, cytrynian itp.(Graham i in. 1982; Christensen 1995; Thurston 1995).

Dowiedziono, że substancje takie jak kofeina i inne metyloksantyny wykazują znaczący wpływ na zwiększenie mobilności plemników w odniesieniu do niektórych gatunków ssaków, takich jak: owce, psy, koty i ludzie (Parkhurst i in. 2000). Powoduje ona także zwiększenie ruchliwości plemników po ejakulacji(El-Gaafary 1994).Oczywiście wpływ jakiejkolwiek substancji badanej zależy od jej stężenia w próbkach wykorzystywanych podczas trwania eksperymentu, sytuacja ta dotyczy również kofeiny; przykładowokofeina, która została dodana do rozcieńczalnika TRIS w stężeniu 10 - 20 Mm, wykazała pozytywny wpływ na parametr ruchliwości nasienia buhajów i kóz(El-Gaafary i in. 1990; Sinha 1995). Z drugiej strony substancja ta, może również przyczyniać się do występowania zjawiska polispermii, czyli przenikania do komórki jajowej więcej niż jednego plemnika(Mao i in. 2005). Obecnie, spożywanie kofeiny wśród kobiet w wieku rozrodczym jest dość powszechne. Przeprowadzane analizy wykazują, że nadmiar tej substancji może powodować samoistne poronienia, niewydolność porodową oraz przyczyniać się do skrócenia czasu ciąży. Nie wykazuje ona jednak wpływu, na jakość morfologiczną plemników człowieka, powodzenie w przypadku zapłodnienia z wykorzystaniem technik in vitro ani zdrowie noworodków(Seli i in. 2011).

CASA (Computer Assisted Semen Analysis) Sperm Vision™ jest systemem powszechnie stosowanym do przeprowadzania diagnostyki jakości nasienia, zarówno ludzi jak i zwierząt. Pozwala onna analizę następujących parametrów: ruchliwość (MOT) rozumianą jako procent ruchu nasienia, w sposób odpowiadający parametrom determinującym ruchliwość; ruchliwość progresywną (PRO), czyli średniąodległość plemnika, od jego początku na przebytej ścieżce, podczas wszystkich analizowanych klatek.Podzielenie tej zmiennej (PRO) przez prędkość punktową, skonstruowaną w oparciu o średnią z przebytego dystansu (VAP) uzyskujemy opis średniej wydajności w kategoriach części uogólnionego ruchu, który powoduje ruch od źródła. Prędkość krzywoliniowa (VCL) to całkowita przebyta odległość na sekundę, natomiast wartość częstotliwości bitowej (BCF) opisuje aktywność główki plemników. Parametr drgania (WOB) otrzymujemy w wyniku ilorazu VAP / VCL, opisuje on ruchy boczne głowy plemników. Amplituda bocznego przesunięcia głowy (ALH) jest rozumiana jako amplituda bocznych odchyleń głowy plemnika; liniowość (LIN) czyli liniowość ruchu nasienia określona przez iloraz: VSL / VCL; prostoliniowość (STR) czyli prostoliniowość ruchu nasienia określona przez wynik ilorazu: VSL / VAP.(Wilson-Leedy, 2007)

W dziedzinie seminologii eksperymentalnej, istnieje potrzeba poszukiwania nowych modelów zwierzęcych, które będą zdatne do wykorzystania w dalszych badaniach eksperymentalnych. Zaleca się także poszerzenie ich zastosowania w naukach biomedycznych. Suponujemy, że plemniki indycze mogą być traktowane, jako model toksykologiczny, w celu weryfikacji wpływu, różnorodnych substancji powszechnie obecnych w żywności i środowisku.

Przeprowadzone badanie miało na celu zbadanie wpływu kofeiny na ruchliwość nasienia indyków w różnych stężeniach. Analizę wpływu kofeinyprzeprowadzano w ciągu sześciu godzin (0, 1, 2, 3, 4, 5) w temperaturze 5°C, stosując komputerową analizę nasienia, która jest na ogół stosowana do określenia parametrów ruchliwości plemników zwierząt i ludzi.

2. Materiały i metody

- Materiał biologiczny

Próbki nasienia, wykorzystane do analizy, uzyskano przez masowanie indyków (Rasa: Big 6 BUT- British United TurkeysLtd, Chester, UK). Analizę tę przeprowadzono w oparciu o przebadaniedwudziestu próbek świeżego ejakulatu, przechowywanych w 5°C. Parametr ruchliwości został rejestrowany pod mikroskopem w sześciu okresach czasu: 0, 1, 2, 3, 4 i 5 godzin po wytrysku. Eksperyment przeprowadzono w 5 powtórzeniach.

- Metoda analityczna

Analizę próbek przeprowadzono za pomocą programuComputerAssisted Semen Analyzer (CASA) – SpermVision™ (Minitüb, Tiefenbach, Niemcy) przy wykorzystaniu mikroskopu Olympus BX51 (Olympus, Japonia), który wielokrotnie wykorzystywany był w celu opracowania wpływu różnorakichsubstancjina nasienie ptaków i ssaków. Mikroskop został wyposażony w kamerę DP25, która jest 5-megapikselową cyfrową kamerą kolorową, zapewniającą wyświetlanie na żywo z szybkością 8 klatek na sekundę i wyjątkową jakością. Wszystkie próbki kolejno umieszczano w komorze zliczającej MaklerChamber (głębokość 10 μm, Sefi-Medical Instruments, Niemcy) (Slanina i in. 2012).

- Preparatyka próbek

W badaniu został przeanalizowanyparametr ruchliwości (MOT), który jest jednym z najważniejszych parametrów aktywności ruchowej plemników.Próbki rozcieńczano w soli fizjologicznej (chlorek sodu 0,9% Braun, Melsungen, Niemcy) w proporcji: 1 mililitr nasienia i 100 mililitrów roztworu fizjologicznego (próba kontrolna). W tym samym stosunku nasienie rozcieńczono trzema różnymi stężeniami kofeiny ($K_{0,625}$ - 0,625 mg·ml^{-1}; $K_{1.25}$ - 1,25 mg·ml^{-1}; $K_{2,5}$ -2,5 mg·ml^{-1}). Kofeina oraz roztwór fizjologiczny użyte podczas eksperymentu,zostały zakupione w firmie Sigma Aldrich na Słowacji. Dawki kofeiny zastosowane w eksperymencie, skomponowane zostały w oparciu o prowadzone wcześniej badania, w instytucie Fizjologii Zwierząt na Uniwersytecie Rolniczym w Nitrze na Słowacji.

- Analiza statystyczna

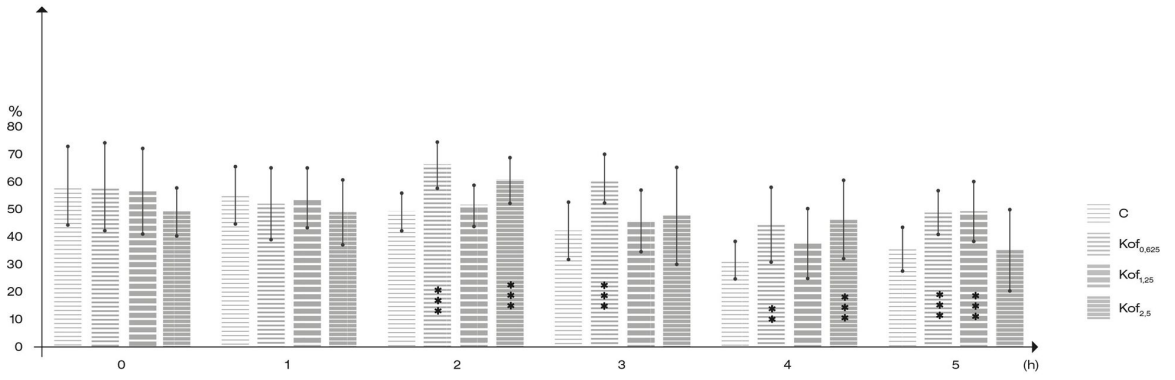
Uzyskane dane zostały poddane analizie statystycznej za pomocą MS Excel i GraphPadPrism 5 (GraphPad, Inc. La Jolla, CA, USA) stosując jednokierunkową ANOVA z posttestemDennetta. Istotność statystyczna była wskazywana przez wartości p mniejsze niż 0,05; 0,01 i 0,001.

3. Wyniki

Przeprowadzone badania pozwoliły zweryfikować wpływ jednego z powszechnie występujących, alkaloidów purynowych – jakim jest kofeina, na plemniki indyków w wybranych stężeniach, warunkach stałej temperatury (5°C) i danym okresie czasu (0,1,2,3,4 i 5 godzin).

Analizując wpływ tejże substancji, największy poziom ruchliwości: 65,89% wykryto w próbce o najniższym stężeniu: $Kof_{0,625}$ po trzeciej godzinie inkubacji w warunkach in vitro. Wartość ta przekroczyła wartość próbki kontrolnej wynoszącej –C: 58,14%. W czasie 0 wykryto kilka próbek o mniejszej wartości niż kontrola, co może być wynikiem stresu osmotycznego, jako że stan ten został unormowany w kolejnych godzinach trwania

eksperymentu. Różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$) nie zostały wykryte w żadnej próbie badawczej. Różnice istotne statystycznie ($p < 0,01$) stwierdzono wyłącznie w próbce $Kof_{0,625}$ w piątej godzinie inkubacji; natomiast ($p < 0,001$) odnotowano w próbkach $Kof_{0.625}$ i $Kof_{2.5}$ po drugiej godzinie inkubacji, $Kof_{0.625}$ po czwartej godzinie, $Kof_{2.5}$ po piątej godzinie, a także w próbkach $Kof_{0.625}$ i $Kof_{1.25}$ po szóstej godzinie inkubacji. W pierwszych dwóch godzinach eksperymentu, parametr ruchliwości plemników był zbalansowany. Nie wykazano znacznych różnic pomiędzy próbami badawczymi a próbą kontrolną. Kolejne godziny eksperymentu wykazały, że ruchliwość badanego nasienia w próbach badawczych była wyższa niż wyniki odnotowane w przypadku próby kontrolnej. Wyniki ruchliwości plemników, zestawionezostały na rycinie poniżej (Rys. 1).



Rys. 1Ruchliwość plemników (%) przy różnych stężeniach kofeiny, w kolejnych godzinach trwania eksperymentu. Poziom istotności: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4. Dyskusja

Dowiedziono, że metyloksantyny, w tym również wykorzystana w tymże eksperymencie kofeina, zwiększają ruchliwość plemników u niektórych gatunków ssaków: owiec, kotów, psów i ludzi (Parkhurst i in. 2000). Kofeina jest opisywana jako nukleotydowy inhibitor fosfodiesterazy, który powoduje wzrost cAMP i indukcję spontanicznej akrosomalnej reakcji (Funahashi i in. 2001). Z drugiej strony istnieją również źródła, donoszące o niepowodzeniach potwierdzających jakiekolwiek działanie pobudzającekofeiny na nasienie; lub zostały one opisane jako tylko procentowe stymulanty ruchliwości plemników,ale nie prędkości. Różnice te mogą wynikać z niedokładności i niewrażliwości oceny mobilności (MohsenMousa 1983).

Pozytywny wpływ kofeiny na nasienie dzików, opisany został w badaniach Yamaguchi z roku 2013. Eksperyment ten wykazał, że inkubacja rozmrożonego ejakulatu przez 90 minut w roztworze Modena dopełnionego 10 mM kofeiny, wpłynęła korzystnie na parametr ruchliwości plemników, w porównaniu do analizowanych próbek bez dodatku alkaloidu. Dodatkowo, nie odnotowano uszkodzeń plazmy czy błon akrosomalnych. (Yamaguchi, 2013)

W trakcie prowadzonych, badań zwiększona została ruchliwość plemników w roztworach z dodatkiem kofeiny we wszystkich próbkach. Zauważono jednak, że w niektórych próbkach wartość ruchliwości nie różniła się znacząco od wartości kontrolnych. Nieznaczny wpływ na ruchliwość plemników opisali również Barkay i in. (1997).

Carvalho i in. (2014) przeprowadzili eksperyment dotyczący wpływu różnych dawek kofeiny na ruchliwość plemników świeżego i rozmrożonego nasienia pacu, Piaractusmesopotamicus (Holmberg, 1887) i curimba, Prochiloduslineatus (Valenciennes, 1837). Badania te doniosły, że dodanie tej substancji do roztworu może korzystnie wpływać na parametry ruchliwości, jednak zależy to od gatunku i stężenia substancji w roztworze. El-Gaafary i in. (1990) oraz Sinha (1995) przeprowadzili badania, w których kofeina została dodana do roztworu TRIS w dawce 10 oraz 20 mMwykazując korzystny wpływ na plemniki byków i kóz.

Slanina i in. (2014) dowiedli, że kofeina w stężeniu 1,25 mg · ml^{-1} i 0,625 mg · ml^{-1} nie wskazuje znaczącego wpływu na parametry ruchliwości plemników indyczych podczas hodowli in vitro w temperaturze 41°C. Różnice zgłaszane w naszych badaniach mogą być spowodowane przechowywaniem próbek w znacznie niższej temperaturze. Po godzinie przechowywania próbek nasienia indyków w temperaturze 4°C i 41°C, ruchliwość zmniejsza się w obu grupach. Niemniej jednak najniższe wartości stwierdzono po 60 minutach w wyższej temperaturze (Paluch i in. 2013)

Prowadzone przez Milani badania, weryfikujące wpływ kofeiny na ruchliwość plemników pochodzących od psa, również nie wykazały znaczącej różnicy, w przypadku analizy ruchliwości. Badanie to zostało przeprowadzone przy wykorzystaniu dwojako rozmrażanego ejakulatu: tzw. rozmrażanie szybkie i rozmrażanie wolne. Podczas eksperymentu próbki inkubowane były przez czas 120 minut, w temperaturze 37°C. Badanie wykazało, że mobilność plemników spadała w przypadku obu grup po upływie 30 minut od rozpoczęcia eksperymentu. Niższy spadek ruchliwości, zaobserwowano w grupie próbek, która poddana było procesowi szybkiego rozmrażania (Milani, 2010).

Eksperyment przeprowadzony przez Kold Jensen i in. (2010) dotyczący wpływu spożycia kofeiny i jakości nasienia w populacji 2 554 młodych duńskich mężczyzn pokazał,

że wpływ może zależeć od źródła, z którego pochodzi substancja czynna. Badania wykazały, że kofeina z Coli ma znaczący wpływ, na jakość nasienia, w porównaniu do kofeiny pochodzącej z kawy, herbaty, napojów czekoladowych, batoników czy napojów bezalkoholowych. Chociaż zawartość kofeiny na litr kawy szacuje się na 600 mg, a tylko 140 mg na litr napojów typu Cola.

5. Wnioski

Parametr ruchliwości plemników (MOT) był zbalansowany lub nie wskazał statystycznie istotnych różnic we wszystkich badanych próbkach w przypadku dodawania kofeiny.

Wskazane jest przeprowadzenie dalszych badań w celu zweryfikowania wpływu tego alkaloidu na ruchliwość plemników w innych, zróżnicowanych dawkach.

6. Literatura

Barkay, J.; Zuckerman, H.; Sklan, D.; Gordon, S. Effect of caffeine on increasing the motility of frozen human sperm. Fertility and Sterility, 1997,175–177

Carvalho, A.F.S.; Ferreira Machado, M.R.; Andrade, E.S.; Murgas, L.D.S.; Zangeronimo, M.G. Effect of caffeine added to the activating solution on sperm motility of fresh and thawed semen of Pacu, Piaractusmesopotamicus, and Curimba, ProchilodusLineatus. Journal of the World Aquaculture Society, 2014, 75-81

Christensen V. Diluent, dilution, and storage of poultry semen for six hours. Proceedings of the first international symposium on artificial insemination of poultry, Illinois: Savoy, 1995, 90-106

Donoghue, A.M.; Wishart, G.J. Storage of poultry semen. Animal Reproductive Science, 2000, 213-232

Douard, V.; Hermier, D.; Magistini, M.; Labbé, C.; Blesbios, E. Impact of changes in composition of storage medium on lipid content and quality of turkey spermatozoa. Theriogenology, 2004, 1-13

El-Gaafary, M.N.; Daader, A.H.; Ziedan, A.E. Effects of caffeine on bull semen quality and sperm penetration into cervical mucus. Animal Reproductive Science, 1990, 13-19

El-Gaafary, M.N.; Quality and fertility of cooled rabbit semen supplemented with cyclic-AMP stimulators. Animal Reproductive Science, 1994,307–313

Funahashi, H.; Nagai, T. Regulation of in vitro penetration of frozen-thawed boar spermatozoa by caffeine and adenosine. Molecular Reproductive and Development, 2001, 424-431

Graham, E.F.; Nelson, D.S.; Schmehl, M.K. Development of extender andtechniques for frozen turkey semen. 1. Development. Poultry Science, 1982, 550-557

Hocking, P.M. Feed restriction. In: Biology of breeding poultry. Poultry science symposium series*:* 29; Hocking, P.M., Ed.; CABI: Abingdon, 2009, 307-330

Kold Jensen, T.; Swan, S.H.; Skakkebaek, N.E.; Rasmussen, S.; Jřrgensen, N. Caffeine intake and semen quality in a population of 2,554 young Danish men. American *Journal of* Epidemiology, 2010, 883–891

Lake, P.E. Historical perspective of artificial insemination technology. Proceedings, First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. Poultry Science Association, Savoy: Illinois, 1995, 1-20

Lake, P.E.; Mc Indoe, W.M. The glutamic acid and creatine content of cock seminal plasma. Biochemical Journal, 1959, 303–306

Mao, J.; Wu, G.M.; Prather, R.S.; Smith, M.F.; Cantley, T.; Rieke, A.; Didion, B.A.; Day, B.N. Effect of methyl- β -cyclodextrin treatment of pig spermatozoa on in vitro fertilization and embryo development in the absence or presence of caffeine. Theriogenology, 2005, 1913-1927

Milani, C.; Fontbonne, A.; Sellem, E.; Stelletta, C.; Gerard, O.; Romagnoli. S. Effect of post-thaw dilution with caffeine, pentoxifylline, 2'-deoxyadenosine and prostatic fluid on motility of frozen-thawed dog semen. Theriogenology, 2010, 153-164.

Mousa, M.M.; Caffeine and sperm motility. Fertility and Sterility,1983,845–848

Paluch, J.; Slanina, T.; Massányi, P.; Stawarz, R.; The effect of in vitro semen storage temperature and age of males on spermatozoa motility parameters of turkeys semen. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2013, 1642-1649

Parkhurst, A.M.; Korn, N.; Thurston, R.J. The effects of methylxanthines on the mobility of stored turkey sperm. Poultry Science Association, 2000, 1803-1809

Seli, E. Infertility; Wiley-Blackwell: New York, 2011, 1-6

Sinha, M.P. Effect of methylxanthines on motility and fertility of frozen-thawed goat semen. Theriogenology, 1995, 907–914

Slanina, T.; Miškeje, M.; Petrovičová, I.; Massányi, P. The effect of fructose on turkey spermatozoa motility in vitro. Mendelnet. Proceedings of international Ph.D. studensts conference, 2012, 995-1001

Slanina, T.; Miškeje, M.; Petrovičová, I.; Massányi, P. The influence of caffeine on turkey spermatozoa motility during in vitro cultivation at 41°C. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2014, 157-159

Thurston, R. Storage of poultry semen above freezing for twenty-four to forty-eight hours. Proceedings of the first international symposium on artificial insemination ofPoultry. Illinois: Savoy, 1995, 107-122

Wilson-Leedy, J.G.; Ingermann, R.L.; Development of a novel casa system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. Theriogenology, 2007, 661–672

Yamaguchi, S.; Suzuki, C.; Noguchi, M.; Kasa, S.; Mori, M.; Isozaki, Y.; Ueda, S.; Funahashi, H.; Kikuchi, K.; Nagai, T.; Yoshioka, K. Effects of caffeine on sperm characteristics after thawing and inflammatory response in the uterus after artificial insemination with frozen-thawed boar semen. Theriogenology, 2013, 87-93.

Mikrobiologiczne zanieczyszczenia świeżych i minimalnie przetworzonych warzyw

Julia Szutowska [(1)]

[1] SKN Inventum, Katedra Przyrodniczych Podstaw Jakości, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu
Julia Szutowska: julia.szutowska@ue.poznan.pl

Streszczenie
Zmieniający się styl życia, konsumpcja gotowych do spożycia produktów oraz rosnąca świadomość zdrowych nawyków żywieniowych przyczyniają się do wzrostu spożycia świeżych i minimalnie przetworzonych warzyw. Pomimo licznych korzyści zdrowotnych wynikających ze spożycia świeżych produktów, istnieje również ryzyko mikrobiologicznego zanieczyszczenia warzyw, które może prowadzić do wielu chorób. Najczęściej występującymi mikroorganizmami patogennymi w warzywach są bakterie: *Escherichia coli, Salmonella* spp., *Campylobacter*spp., *Listeria*spp., i *Yersinia*spp. Mogą być one czynnikiem etiologicznym różnych chorób układu pokarmowego.Celem niniejszego artykułu jest charakterystyka mikroorganizmów patogennych najczęściej występujących w świeżych i minimalnie przetworzonych warzywach.

Słowa kluczowe: mikroorganizmy patogenne, choroby przenoszone przez żywność, świeże warzywa, minimalnie przetworzone warzywa

Microbiological contamination of fresh and minimally processed vegetables

Summary
Changing life style, the consumption of ready-to-eat products and the growing awareness of healthy eating habits contribute to an increase in the consumption of fresh and minimally processed vegetables. Despite the numerous health benefits of fresh food intake, there is also a risk of microbiological contamination of vegetables that can lead to many diseases. The most common pathogenic microorganisms occur in vegetables are bacteria: *Escherichia coli, Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria* spp., i*Yersinia* spp. They could be the etiological agents of different gastrointestinal diseases. The purpose of this article is the characteristicsof pathogenic microorganisms found in fresh and minimally processed vegetables.

Key words: foodborne diseases, human pathogens, fresh vegetables, minimally processed vegetables

1. Wstęp

W ostatnich latach obserwuje się wyraźny wzrost konsumpcji świeżych i minimalnie przetworzonych warzyw. Jednocześnie, dane literaturowe wskazują, że tendencja ta doprowadziła do wzrostu liczby zakażeń mikroorganizmami chorobotwórczymi powiązanymi ze świeżymi produktami (Elizaquivel i Sanchez 2012). Podkreśla się, że zarówno zmieniający się styl życia - poświęcanie mniejszej ilości czasu na przygotowanie posiłków, spożywanie żywności wygodnej, rosnące zainteresowanie zdrowym odżywianiem, jak i nieustanne modyfikowanie technologii produkcji, przetwarzania, dystrybucji sprzyjają zwiększonej liczbie zakażeń ludności. Równocześnie, alarmujące stają się doniesienia o pojawianiu się nowych gatunków mikroorganizmów patogennych(Meng i Doyle 2002).

Na mikrobiologiczne zanieczyszczenie warzyw bezpośredni wpływ mają warunki środowiskowe, czynności podejmowane przed, podczas jak i po zbiorach, transport oraz warunki przechowywania. Do czynników środowiskowych warunkującychbezpieczeństwo warzyw należą mi.in: gleba, insekty i odchody dzikich lub udomowionych zwierząt.Kluczowe

jest również postępowanie ludzi związane z produkcją czy przetwarzaniem owoców i warzywtj: skuteczność procesów mycia i dezynfekcji urządzeń, brak przestrzegania zasad sanitarnych bądź zanieczyszczony materiał opakowaniowy (Mir i in. 2018).

Istnieją również inne czynniki mające wpływ na kolonizację warzyw przez mikroorganizmy chorobotwórcze, takie jak: gatunek, odmiana, stan fizjologiczny rośliny orazpH, aktywność wodna (a_w) czy potencjał redoks (Wadamori i in. 2016). Dowiedziono, że nawet różnice między odmianami tego samego warzywa istotnie wpływają na ich kolonizację przez patogeny. Przykładowo, zaobserwowano różnice w intensywności kolonizacji powierzchni liści różnych odmian szpinaku przez szczep*E. coli* O157:H7czy też w przypadku kolonizacji liści odmian sałaty przez bakterie z rodzaju *Salmonella* (Critzer i Doyle 2010). Aktywność wodna (a_w) świeżych owoców i warzyw, która oscyluje na poziomie od 0,97 do 1,00,stanowi sprzyjające warunki wzrostowe dla wielu mikroorganizmów patogennych, np. optymalna $a_w$dla enterokrwotocznego szczepu *E. coli, Salmonelli* spp., *Campylobacter*spp., wynosi 0,99. Również poziom pH jest istotny dla wzrostu mikroorganizmów. Bakterie*E. coli* O157:H7 i *S. typhimurium*mogą tolerować nawet kwaśne środowisko – do pH 5,0. Dodatkowo, zawartość substancji odżywczych, zależna od gatunku i odmiany warzywa, jest istotna dla wzrostu mikroorganizmów. W tabeli 1 przedstawiono czynniki wpływające na mikroflorę warzyw.

Tabela 3. Czynniki wpływające na mikroflorę warzyw. Źródło: opracowanie własne na podstawie: Beuchat 2002, Lund 1992, Mir i in. 2018, Wadamori i in. 2017

Czynniki wpływające na mikroflorę warzyw	
Warunki środowiskowe:	**Działalność człowieka:**
Gleba	Zanieczyszczona woda irygacyjna
Temperatura	Niewłaściwy obornik i/lub nawóz
Insekty	Niewykwalifikowani pracownicy
Pora roku	Zanieczyszczony sprzęt
Zmiany klimatyczne	Brak przestrzegania zasad sanitarnych
Potencjał redoks	Skuteczność procesów mycia i dezynfekcji urządzeń
pH	Zanieczyszczony materiał opakowaniowy
Aktywność wodna	Niewłaściwe warunki transportowe i przechowalnicze
Składniki odżywcze warzyw (cukry, białka, tłuszcze, witaminy, minerały)	Woda stosowana do nanoszenia fungicydów i insektycydów
	Zanieczyszczone nasiona
Odchody dzikich i udomowionych zwierząt	

2. Charakterystyka mikroorganizmów patogennych występujących w warzywach

Do autochtonicznej mikroflory warzyw zaliczane są drożdże, pleśnie, bakterie kwasu mlekowego, bakterie z rodzajów: *Enterococcus, Micrococcus, Enterobacter, Proteus*lub *Pseudomonas*. Większość z tych mikroorganizmów nie jest patogenna względem człowieka.

Ich liczba jest zróżnicowana w zależności od pór roku czy zmian klimatycznych i może wynosić od 10^4 do 10^8 na gram próbki (Lund 1992). Jednakże, warzywa mogą zawierać mikroorganizmy patogenne pochodzące z różnych źródeł (tabela 1): tj. *Clostridium* spp., *Escherichia coli, Campylobacter* spp., *Listeria* spp., *Bacillus* spp., *Yersinia* spp., *Salmonella* spp., czy *Shigella*spp.(Lund 1992).Poniżej scharakteryzowano mikroorganizmy chorobotwórcze najczęściej występujące w świeżych i minimalnie przetworzonych warzywach.

- *Listeria* spp

Rodzaj *Listeria*togramdodatnie pałeczki należące do rodziny *Corynobacteriaceae.*Dla człowieka gatunkami chorobotwórczymi są*L. monocytogenes*i *L. ivanovii*. Bakterie z rodzaju *Listeria,* a w szczególności *L. monocytogenes,* są odporne na niekorzystne warunki środowiskowe tj. zmiany pH, temperatury czy zasolenia. Dlatego też, są szeroko rozpowszechnionew środowisku naturalnym: w wodzie, glebie, ściekach irozkładających się szczątkach roślin.Mogą również występować w przewodzie pokarmowym dzikich i udomowionych zwierząt.Szacuje się, że mikroorganizmy te występują w przewodzie pokarmowym u 1 -5% zdrowych ludzi (Murray i in. 2011).

*L. monocytogenes*jest określana jako względny pasożyt wewnątrzkomórkowy. Bakterie znajdujące się w zanieczyszczonej żywności, dzięki ochronnemu działaniu genów odpowiedzi stresowej, są niewrażliwe na działanie enzymów proteolitycznych, soli żółciowych oraz soku żołądkowego (Murray i in. 2011). *L. monocytogenes*jest czynnikiem etiologicznym listeriozy, która jest szczególnie niebezpieczna dla grup wysokiego ryzyka tj. kobiety w ciąży, noworodków czy osób starszych. Bakterie z rodzaju *Listeria* występują w wielu produktach żywnościowych, a w szczególności w żywności minimalnie przetworzonej. W przypadku warzyw najbardziej podatnymi na zanieczyszczenie mikrobiologiczne są kalafior, sałata, szpinak, kapusta lub brokuł.

- *Salmonella* spp

Bakterie z rodzaju *Salmonella* to gramujemne, fakultatywnie beztlenowe i oksydazoujemne pałeczki należące do rodziny *Enterobacteriaceae.* Są one zdolne do kolonizacji prawie wszystkich gatunków zwierząt oraz ludzi. Rodzaj *Salmonella* obejmuje dwa gatunki: *Salmonella enterica*i *Salmonella bongori.* Pierwszy z nich jest podzielony na ponad 2000 serovarów, z których *Salmonella* Typhi i *Salmonella* Paratyphi należą do ścisłych patogenów człowieka.W większości przypadków do zakażenia dochodzi po konsumpcji zanieczyszczonej żywności oraz bezpośrednio drogą fekalno-oralną. Mikroorganizmy te odpowiadają za cztery kliniczne postacie infekcji: dur brzuszny, sepsa, zapalenie jelit

i asymptomatyczna kolonizacja. Po spożyciu zakażonej żywności pałeczki *Salmonelli* przedostają się do jelita cienkiego, gdzie wnikają do enterocytów i komórek M znajdujących się w kępkach Peyera, w których się namnażają. Najczęstszym źródłem zakażeń są jajka kurze, mięso drobiowe i mleko. Spotykane są również zanieczyszczenia świeżych i minimalnie przetworzonych warzyw np. w sałacie czy w warzywach mrożonych (Murray i in. 2011, McClelland i in. 2001).

- *Escherichia coli*

Escherichia coli należy do najlepiej poznanych i najpowszechniej występujących mikroorganizmów przewodu pokarmowego. To gramujemna, względnie beztlenowa pałeczka należąca do rodziny *Enterobacteriaceae.* W literaturze naukowej wyróżnia się pięć głównych szczepów *E. coli* prowadzących do zapalenia żołądka i jelit: enterotoksynogenne, enteropatogenne, enteroagregacyjne, enteroinwazyjne i enterokrwotoczne. To właśnieenterokrwotoczne szczepy bakterii są odpowiedzialne za większość infekcji występujących w krajach rozwiniętych. Do czynników zjadliwości *E. coli* należą zdolności adhezyjne do nabłonka przewodu pokarmowego oraz wytwarzanie egzotoksyn np. toksyny shiga przez wirulentny szczep *E. coli* O157:H7. Do zakażeń najczęściej dochodzi po spożyciu niedogotowanych produktów mięsnych, niepasteryzowanego mleka, surowych warzyw (np. kapusta, szpinak) i owoców (Murray i in. 2011).

- *Yersinia*spp

Bakterie z rodzaju *Yersinia*to gramujemne, psychrofilowe pałeczki należące do rodziny *Enterobacteriaceae,* wywołujące zoonozy. Naturalnym rezerwuarem pałeczek są zwierzęta zarówno dzikie jak i hodowlane. Dla człowieka patogenami są gatunki:*Y. pestis* – wywołująca dżumę oraz *Y. enterocolitica*i *Y. pseudotuberculosis* – odpowiedzialne za zakażenia przewodu pokarmowego. Wspólną cechą chorobotwórczych szczepów *Yersinia*jest ich oporność na fagocytozę.Spośród wymienionych gatunków,*Y. enterocolitica* najczęściej występuje w surowym mięsie, rybach, surowych warzywach lub skażonej wodzie i powodują jersiniozę. Swoiste dla infekcji pałeczkami*Yersinia* jest zakażenie pochodzące z żywności przechowywanej w niskich temperaturach. W Europie jersinioza stanowi obecnie trzecią po kampylobakteriozie i salmonellozie chorobę układu pokarmowego (Murray i in. 2001, Kasprzak i in. 2014).

- *Campylobacter*spp

Bakterie z rodzaju *Campylobacter*to cienkie, zakrzywione gramujemne pałeczki. Do obecnej chwili zidentyfikowano 25 gatunków i 11 podgatunków mikroorganizmów. Jednakże, tylko cztery z nich są uznawane za patogenne dla człowieka: *C. jejuni, C. coli, C. upsaliensis*i

C. fetus. Podstawowym rezerwuarem pałeczek *Campylobacter*jest przewód pokarmowy ptaków i ssaków, zarówno dzikich jak i hodowlanych. Zgodnie z danymi EFSA (Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności) od roku 2005 w krajach Unii Europejskiej liczba zakażeń bakteriami z rodzaju *Campylobacter*przewyższa liczbę zachorowań na salmonellozy (EFSA). Infekcje patogennymi szczepami *Campylobacter*to zoonozy, spowodowane głównie przez zanieczyszczone mięso drobiowe, niepasteryzowane mleko. Aczkolwiek, obserwuje się inne źródła wtórnego zakażenia warzyw i owoców.Ponad 90% zakażeń bakteriami z rodziny *Campylobacter*jest powodowane przez szczepy *C. jejuni*i *C.coli.* Zakażenie żołądka i jelit wywoływane przez *C. jejuni*powoduje charakterystyczne zmiany histologiczne m.in. owrzodzeniabłony śluzowej okrężnicy, jelita czczego i krętego (Murray i in. 2011).

3. Mikrobiologiczne zanieczyszczenia świeżych i minimalnie przetworzonych warzyw

Dane pochodzące z europejskiego systemu RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) wskazują, że problem zanieczyszczenia świeżych i minimalnie przetworzonych warzyw mikroorganizmami patogennymi jest wciąż aktualny. W okresie obejmującym lata 2007 – 2017 na terenie UE odnotowano 69 przypadków obecności *Salmonella* spp., 22 przypadki *E. coli,* w tym 12 dotyczyło enterokrwotocznego szczepu bakterii (*E. coli* O157:H7), 16 przypadków *Listeria*spp., 10 przypadków *Campylobacter*spp., 4 przypadki *Bacillus*spp., 2 przypadki *Shigella*spp., oraz 1 przypadek zanieczyszczenia bakteriami z rodzaju *Yersinia*(RASFF). Powyższe doniesienia dotyczyły zarówno produktów pochodzących z UE jak i z poza jej granic.

Wśród patogenów przenoszonych przez warzywa,*L. monocytogenes* wykazuje zdolność przetrwania i namnażania się w temperaturze chłodniczej. Dodatkowo, wykorzystywane związki chloru podczas procesu mycia wpływają na redukcję bakterii tlenowych, przy czym mogą być nieskuteczne w przypadku bakterii z rodzaju *Listeria.* Obecność *L. monocytogenes*na wielu rodzajach surowych i minimalnie przetworzonych warzyw została udowodniona w wielu krajach na świecie. Byrne i in.(2015) przebadali 132 próbki świeżych warzyw i gotowych do spożycia sałatek metodą PCR pod kątem występowania *L. monocytogenes.* Wykazali obecność patogenu w 4 próbkach (sałaty i sałatek gotowych do spożycia).Również badania Amjoud i in. (2017) oraz Moreno i in. (2012) potwierdzają obecność bakterii z gatunku *Listeria*w różnych produktach warzywnych, odpowiednio na poziomie 2,8 i 4,18%. Z drugiej strony autorzy (Kordowska-Wiater i in. 2007) stwierdzili obecność *L. monocytogenes*w 10,3% mrożonych warzyw (kalafior, brukselka, jarmuż, brokuły, por i fasolka). Ponadto, obserwacje Kuan i in. (2017) dowiodły, że poziom zanieczyszczeń *Listeria*spp. warzyw organicznych w porównaniu z konwencjonalnymi był

nieznacznie wyższy. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi bakterie z rodzaju *Listeria*najczęściej występują na sałacie, kapuście iszpinaku.

Pomimo globalnej poprawy ochrony zdrowia publicznego, poważnym problemem w wielu częściach świata pozostaje salmonelloza. Obserwacje Salleh i in. (2003) udowodniły, że 35% badanych warzyw pochodzących z lokalnych rynków w Malezji było zanieczyszczonych pałeczkami z rodzaju *Salmonella.* Wykryto 31 serovarów w czterech odmianach sałaty. Najczęściej izolowanymi szczepami były *S. weltevreden*i *S. agona* (Salleh i in. 2003). Natomiast Sant'Ana i in.(2011) zweryfikowali czystość mikrobiologiczną minimalnie przetworzonych warzyw. Z 512 próbek w 4 wykryto szczepy bakterii*Salmonella*(*S. typhimurium*i *S. enterica*). Kolejni badacze (Melloul i in. 2001) sprawdzili wpływ zanieczyszczonej wody irygacyjnej (pałeczkami *Salmonella*) na skażenie warzyw – 68,75% próbek zawierało bakterie *Salmonella.*Wykazano ponadto istotne różnice w poziomie zanieczyszczenia warzyw rosnących blisko ziemi np. sałata, pietruszka, a roślin wyrastających ponad powierzchnię gleby np. pomidory. W pierwszym przypadku aż 86% warzyw uległo skażeniu, a w drugim 45%.

Zgodnie z danymi literaturowymi w świeżych i minimalnie przetworzonych warzywach stosunkowo często obserwuje się obecność bakterii z rodzaju *E. coli.* Jest to istotne, ponieważ, infekcyjna dawka szczepów*E. coli* jest stosunkowo niska i może wynosić poniżej 10 komórek bakteryjnych. Autorzy (Kordowska-Wiater i in. 2007) wykazali, że w większości próbek (warzywa mrożone) obecne były mikroorganizmy wskazujące na zanieczyszczenia fekalne, tj. 69,2% zawierało szczepy *E. coli.* W świeżych warzywach wykryto 24 przypadki na 91 obecności pałeczek *E. coli.* W niniejszych badaniach aż 53,3% zanieczyszczeń *E. coli* dotyczyło kiełkujących nasion (Skockova i in. 2013). Podobnie Maffei i in. (2013) wykazali obecność bakterii *E. coli* na liściastych warzywach uprawianych organicznie i konwencjonalnie, odpowiednio na poziomie 41,5% i 40%. Należy podkreślić, iż warzywa liście np. sałata, szpinak, jarmuż czy rukola, charakteryzują się dużą, pofałdowaną powierzchnią, która czyni je podatnymi na adhezję i kolonizację przez mikroorganizmy (Skockova i in. 2013).

Wśród patogenów pochodzących z żywności, bakterie z rodzaju *Campylobacter*, a w szczególności *C. jejuni* i *C. coli* są najczęstszą przyczyną zapalenia żołądka i jelit. Autorzy (Chai i in. 2007) udowodnili, że w zależności od miejsca nabycia (tradycyjny rynek lub supermarket) świeżych sałatek warzywnych obecność pałeczek *Campylobacter*wahała się od 29,4% do 67,7%. Najczęściej izolowanym szczepem spośród badanych warzyw był *C. jejuni.* Natomiast, Verhoeff-Bakkens i in. (2010) przebadali 4691 próbek świeżych warzyw

(m.in. warzywa liściaste, mix sałat, kiełki) z których 10 było zanieczyszczonych bakteriami *C. jejuni.* Występowanie *C. jejuni*było znamiennie wyższe w produktach zapakowanych (mix sałat) w porównaniu do warzyw nieopakowanych. Sugeruje to, że do skażenia mogło dojść podczas procesu przetwarzania.

Zanieczyszczenie świeżej żywności szczepami z rodzaju *Yersinia*są zdecydowanie rzadziej spotykane niż zakażenia opisane powyżej, niemniej jednak są ważne dla zdrowia i bezpieczeństwa konsumenta. Należy podkreślić, że jej niebezpieczny charakter jest nasilony ze względu na jej zdolności do przetrwania i namnażania w warunkach chłodniczych. W badaniach dotyczących gotowych do spożycia sałatek zidentyfikowano 6 gatunków rodzaju *Yersinia* (n=57), spośród których 2 próbki zawierały patogenny szczep *Y. enterocolitica* (Xanthopoulos i in., 2010). Tymczasem, badania Nousiainen i in. (2016) świeżo pakowanych warzyw liściastych wskazują na liczne zanieczyszczenia bakteriami z rodzaju *Yersinia*(33% próbek). Najczęściej występującymi szczepami były *Y. enterocolitica*i *Y. frederiksenii.* Jednakże, wszystkie izolaty*Y. enterocolitica* były niezwiązane z ludzkimi chorobami.

4. Wnioski

Świeże i minimalnie przetworzone warzywasą narażone na zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Na bezpieczeństwo świeżych produktów wpływają liczne czynniki, zarówno środowiskowe tj. gleba, pora roku, odmiana warzywa jak i działalność człowieka np. zanieczyszczona woda irygacyjna czy brak przestrzegania zasad sanitarnych. Liczne badania naukowe wykazują, że do najczęściej identyfikowanych patogenów ze świeżej żywności należą bakterie z grupy: *E. coli, Salmonella* spp., *Campylobacter*spp., *Listeria*spp., i *Yersinia*spp., które są odpowiedzialne za choroby układu pokarmowego tj. salmonelloza, kampylobakterioza czy jersinioza. Mikroorganizmy te w większości przypadków były izolowane głównie z warzyw liściastych (sałata, kapusta, szpinak).W celu zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego, jak i zachowania pożądanych właściwości odżywczych i bioaktywnych producenci stosują zoptymalizowane techniki i procedury. W zależności od rodzaju produktu podejmowane są czynności obejmujące mycie, działanie środków dezynfekujących, pakowanie w atmosferze modyfikowanej, chłodzenie, napromienianie, obróbka wysokociśnieniowa oraz wykorzystanie olejków eterycznych (Mir i in. 2018).

5. Literatura

Amajoud, N., i in. 2018.Prevalence of Listeria spp. and characterization of Listeria monocytogenes isolated from food products in Tetouan, Morocco.Food Control 84: 436-441.

Beuchat L. R., 2002.Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables.Microbes and Infections 4: 413-423.

Chai L. Ch., i in., 2007.Thermophilic Campylobacter spp. in salad vegetables in Malaysia.International Journal of Food Microbiology 117: 106-111.

Critzer F. J., Doyle M. P., 2010.Microbial ecology of foodborne pathogens associated with produce.Current Opinion in Biotechnology 21: 125-130.

Elizaquivel P., Sanchez G., 2012. Quantitative detection of viable foodborne *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in fresh-cut vegetables combining propidiummonoazide and real-time PCR. Food Control 25, 2: 704-708.

Kasprzak J., Domańska E., Małkińska-Horodyska M., 2014.Sytuacja epidemiologiczna jersiniozy (zakażenie jelitowe) w województwie kujawsko-pomorskim w latach 2011-2013.Problemy Higieny i Epidemiologii 95,4: 844-853.

Lund B.M. 1992. Ecosystems in vegetable foods. Jornal of Applied Bacteriology73, 21: 115S- 135S.

MaffeiD.F., Silveira N.F.A., Catanozi M.P.L.M., 2013. Microbiological quality of organic and conventional vegetables sold in Brazil. Food Control 29: 226–230.

McClelland M., i in., 2001.Complete genome sequence of Salmonella entericaserovar Typhimurium LT2.Nature 413: 852-856.

Melloul A. A., Hassani L., Rafouk L., 2001.Salmonella contamination of vegetables irrigated with untreated wastewater.World Journal of Microbiology & Biotechnology 17: 207-209.

Meng J., Doyle M. P., 2002.Introduction. Microbiological Food Safety.Microbes and Infections 4: 395-397.

MirS. A., Shah M. A., Mir M. M., Dar B. N., Greiner R., Roohinejad S., 2018.Microbiological contamination of ready-to-eat vegetables salads in developing countries and potential solutions in the supply chain to control microbial pathogens.Food Control 85: 235-244.

Moreno Y., i in., 2012. Detection and enumeration of viable Listeria monocytogenes cells from ready-to-eat and processed vegetables by culture DVC-FISH.Food Control 27: 374-379.

Murray P. R., Rosenthal K. S., PfallerM. A., 2011. Medical Microbiology.Elsevier.

Nousiainen L. L., i in., 2016.Bacterial quality and safety of packaged fresh leafy vegetables at the retail level in Finland.International Journal of Food Microbiology 232: 73-79.

Salleh N, A., Rusul G., Hassan Z., Reezal A., Isa S, H., Nishibuchi M., Radu S., 2003.Incidence of Salmonella spp. in raw vegetables in Selangor, Malaysia.Food Control 14,7: 475-479.

Santa'Ana A. S., Landgraf M., DestroM, T., Franco B. D. G. M., 2011.Prevalence and counts of Salmonella spp. in minimally processed vegetables in Sao Paulo, Brazil.Food Microbiology 28: 1235-1237.

Skockova A., Karpiskova R.,Kolackova I, Cupakova S., 2013.Characteristic of Escherichia coli from raw vegetables at a retail market in the Czech Republik.International Journal of Food Microbiology 167: 196-201.

Verhoeff-Bakkens L., i in., 2011.Consumption of raw vegetables and fruits: A risk factor for Campylobacter infections.International Journal of Food Microbiology 114: 406-412.

WadamoriY., Gooneratne R., Hussain M. A., 2017.Outbreaks and factors influencing microbiological contamination of fresh produceJournal of the Science of Food and Agriculture 97: 1396-1403.

Xanthopoulos V., Tzanetakis N., Litopoulou-Tzanetaki E., 2010.Occurrence and characterization of Aeromonashydrophilia and Yersinia enterocolitica in minimally processed fresh vegetable salads.Food Control 21, 393-398.

Wpływ kompleksu inkluzyjnego metyl-β-cyklodekstryny i kurkuminy na proces apoptozy mezenchymalnych komórek macierzystych koni cierpiących na syndrom metaboliczny

Joanna Szydlarska [(1)], Krzysztof Marycz [(1, 2)]

[1] Katedria Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
[2] Wrocławskie Centrum Badań EIT+
Joanna Szydlarska: joanna.szydlarska@gmail.com

Streszczenie
Kompleks inkluzyjny jest rodzajem kompleksu chemicznego, w którym jedna cząsteczka ("gospodarz", *ang. host*) wiąże drugą ("gość", *ang. guest*) za pośrednictwem wnęki molekularnej. Wiązanie to skutkuje wzrostem rozpuszczalności, przyswajalności i dostępności nierozpuszczalnych w wodzie cząsteczek, takich tak kurkumina. Kurkumina stanowi główny składnik aktywny rośliny o nazwie ostryż długi, której sproszkowana forma (kurkuma) stanowi podstawę kuchni hinduskiej i jest nazywana przez lekarzy ajurwedyjskich „sproszkowanym złotem". Zdaniem wielu badaczy ma ona działanie antyoksydacyjne i przeciwnowotworowe. Celem niniejszych badań było zbadanie wpływu kompleksu inkluzyjnego kurkuminy i cyklicznego oligosacharydu metyl-β-cyklodekstryny na proces apoptozy końskich mezenchymalnych komórek macierzystych wyizolowanych z tkanki tłuszczowej koni cierpiących na syndrom metaboliczny (EMS). Zachwianie procesu programowanej śmierci komórki jest charakterystyczne dla przebiegu wielu zaburzeń metablicznych tj.: EMS, cukrzyca i otyłość. Badania prowadzone w ramach eksperymentu sugerują, że zastosowanie kompleksu inkluzyjnego, jako leku może wiązać się z poprawą stanu komórek na poziomie molekularnym oraz poprawą ich zaburzonej morfologii i aktywności metabolicznej.

Słowa kluczowe: kurkumina, cyklodekstryna, kompleks inkluzyjny, komórki macierzyste

The influence of inclusion complex of methyl-β-cyclodextrin and curcumin on apoptosis process in mesenchymal stem cells of horses suffering from metabolic syndrome

Summary
The inclusion complex is the type of chemical complex in which one chemical compound („host") complexes another chemical compound („guest") using its hydrophobic molecular hole. The complexation results in increased solubility, bioavailability and availability of water-insoluble molecules, such as curcumin. Curcumin is the principal curcuminoid of turmeric (Curcuma longa) and is the basis of Indian cuisine. Ayurvedic physicians call it „solid gold". Many scientists think that curcumin has antioxidative and anti-cancer properties. The aim of this study, was to examine the effect of incusion complex of curcumin and cyclic methyl-β-cyclodextrin on apoptosis process of equine adipose-derived stem cells isolated from individuals with EMS (equine metabolic syndrome). The disturbance of programmed cell death is characteristic for metabolic diseases, such as diabetes, EMS and obesity. The research conducted in this study suggests that the use of inclusion complexes as a drug may be associated with the improvement of the condition of cells at the molecular level and the improvement of their disturbed morphology and metabolic activity.

Keywords: curcumin, cyclodextrin, inclusion complex, stem cells

1. Wstęp

Syndrom metaboliczny koni (EMS) stanowi jedno z najczęściej występujących chorób u koni domowych. Obejmuje on szereg objawów, które prowadzą do rozwoju zapalenia tworzywa kopytowego (ochwatu), szczególnie u koni cierpiących na otyłość. Podłoża problemu upatruje się zarówno w czynnikach genetycznych jak i środowiskowych (Morgan i in., 2015). Wśród czynników środowiskowych szczególne znaczenie ma stosowanie

w żywieniu paszy bogatej w skrobie, która prowadzi do zaburzeń homeostazy organizmu oraz znaczne ograniczanie ruchu u koni hodowlanych (Argo i in., 2012). EMS często powiązany jest z hiperinsulinemią, hiperlipidemią (szczególnie hipercholesterolemią) oraz hipertrójglicerydemią . Komórki wyizolowane z tkanki tłuszczowej osobników cierpiących na EMS charakteryzują się z kolei obniżonym potencjałem proliferacyjnym (Marycz i in., 2016), zmniejszoną aktywnością wydzielniczą, zaburzeniami morfologicznymi, wysokim poziomem lipidów – zarówno wewnątrzkomórkowych, jak i błonowych, a także zaburzeniami w przebiegu procesu apoptozy (Marycz i in., 2016).

Apoptoza jest naturalnie występującym w organizmie procesem programowanej śmierci komórki (Elmore, 2007). Liczne badania *in vitro* wykazały, że komórki wyizolowane od organizmów cierpiących na choroby metaboliczne charakteryzuje pro-apoptotyczny fenotyp. W adipocytach takich osobników można zaobserwować zmiany, takie jak znaczące zwiększenie ekspresji kaspazy 3, połączone ze znacznym spadkiem ekspresji genów anty-apoptotycznych takich jak p21 czy BCL-xL (Alkhouri i in. 2010). Sugeruje to, że zaburzenia w procesie apoptozy mogą leżeć u podłoża rozwoju zaburzeń takich jak insulinooporność i patologiczne gromadzenie tkanki tłuszczowej.

Kurkumina jest powszechnie stosowanym w przemyśle barwnikiem spożywczym o charakterystycznej żółto-pomarańczowej barwie (Gupta i in., 2013). Związek ten powstaje w wyniku ekstrakcji z kłącza ostryżu długiego, rośliny z rodziny imbirowatych, która stosowana jest w wielu krajach jako przyprawa o nazwie kurkuma (Hatcher i in., 2015). Szereg badań *in vitro* i *in vivo* prowadzonych w ciągu ostatniego dziesięciolecia wykazał, że kurkumina jako przeciwutleniacz polifenolowy posiada właściwości przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwzapalne oraz antyoksydacyjne (Zhou i in. 2011). Udowodniono również, że wpływa pozytywnie na tkankę mózgową m.in.: poprzez obniżanie ilości złogów amyloidu (Mishra i in., 2008). Udowodniono ponadto, że kurkumina wpływa bezpośrednio na szlak apoptozy, aktywując go lub hamując w sposób zależny od dawki, czasu ekspozycji i rodzaju komórek poddawanych terapii (Zhou i in., 2011).

Kurkumina jest związkiem chemicznym o bardzo słabej rozpuszczalności w wodzie. Po wprowadzeniu do organizmu cechuje ją wyjątkowo szybki efekt pierwszego przejścia, co skutkuje bardzo słabą biodostępnością związku. Szacuje się, że ok. 80% kurkuminy nie trafia do krwiobiegu (Gupta i in., 2013). Ponadto kurkumina jest związkiem bardzo niestabilnym – w zmiennym pH szybko ulega rozkładowi do pochodnych – waniliny i kwasu ferulowego, które są związkami o znacznie mniejszej aktywności biologicznej. W wyniku jej redukcji

powstają z kolei związki tj.: tetrahydrokurkumina, heksahydrokurkumina i oktahydrokurkumina, które są biologicznie nieaktywne (Deptuła i in. 2014).

Zaproponowano szereg metod mających na celu zwiększenie biodostępności kurkuminy. Do najczęściej stosowanych w badaniach *in vitro* należą: wprowadzanie kurkuminy wraz z nanocząstkami oraz zamykanie jej micelach i liposomach (Deptuła i in. 2014).. Zasugerowano również możliwość kompleksacji kurkuminy z innymi związkami chemicznymi, takimi jak cyklodekstryny (Rachmawati i in., 2013). Są one pochodnymi skrobi, o charakterystycznej cyklicznej budowie. Część hydrofilowa znajduje się na zewnątrz cząsteczki i zapewnia jej bardzo dobrą rozpuszczalność w wodzie, natomiast hydrofobowa ukryta jest wewnątrz w postaci tzw. wnęki molekularnej, w której może dochodzić do związania tzw. cząsteczek „gościa", czyli hydrofobowych związków o odpowiedniej budowie chemicznej (Mangolim i in., 2013). Kompleksy inkluzyjne leków ze związkami z grupy cyklodekstryn zapewniają poprawę właściwości fizykochemicznych cząsteczki „gościa", takich jak zwiększenie ich rozpuszczalności i stabilności chemicznej. W przypadku wielu kompleksów odnotowuje się nawet kilkutysięczną poprawę rozpuszczalności zakompleksowanego związku (Mangolim i in., 2013).

W niniejszej pracy zbadano wpływ kompleksu inkluzyjnego kurkuminy i metyl-β-cyklodekstryny na proces apoptozy komórek mezenchymalnych komórek macierzystych, wyizolowanych od koni z syndromem metabolicznym. Przedmiotem badań było określenie zmian w morfologii komórek oraz określenie poziomu ekspresji genów pro- i anty-apoptotycznych po ekspozycji na związek i tym samym określenie potencjalnego zastosowania kompleksu w terapiach komórkowych.

2. Materiały i metody

Materiały użyte w eksperymencie zostały zakupione w firmie Sigma-Aldrich, poza wyjątkami wyszczególnionymi w tekście.

Kompleks inkluzyjny powstał w wyniku zmieszania kurkuminy i metyl-β-cyklodekstryny w stosunku molekularnym 1:2 w obecności rozpuszczalnika organicznego w postaci acetonu. Po kilkugodzinnej inkubacji, roztwór wodny acetonu został odparowany z wykorzystaniem pompki próżniowej, a otrzymany w ten sposób proszek został poddany dalszym analizom.

Mezenchymalne komórki macierzyste wyizolowane z tkanki tłuszczowej koni cierpiących na syndrom metaboliczny oraz koni zdrowych pochodziły w kolekcji Katedry Biologii Eksperymentalnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Przez czas trwania eksperymentu komórki były hodowane w medium HG (ang. high glucose, z dodatkiem 4 500

mg glukozy w 1 litrze medium) z dodatkiem 10% surowicy bydlęcej (FBS) i 1% mieszaniny antybiotyków (penicyliny, amfoterycyny B i streptomycyny) w inkubatorze o temperaturze i wilgotności zbliżonej do fizjologicznej. Medium eksperymentalne stanowiło medium HG, suplementowane FBS i mieszaniną antybiotyków, z dodatkiem kurkuminy w odpowiednim stężeniu (CUR) lub z kompleksem inkluzyjnym (IC). Stężenia badanych związków wynosiły odpowiednio 0,05% i 0,5% pełnej objętości medium.

W celu przeprowadzenia eksperymentu komórki zostały wysiane w liczbie 15 tysięcy na płytkę 24-dołkową. Roztwór wodny kurkuminy lub kompleksu inkluzyjnego kurkuminy w odpowiednim stężeniu został dodany do medium hodowlanego po 24 godzinach od wysiania komórek na dołek. Medium nie zostało zmienione przez cały czas trwania eksperymentu, czyli przez 48 godzin. Po tym czasie komórki zostały zebrane na odczynnik TriReagent w celu wyizolowania materiału genetycznego. Izolacja RNA przebiegała zgodnie z protokołem opisanym przez Chomczyńskiego i Sacchi (Chomczyński i in. 1984). Po izolacji, poziom RNA został zmierzony z wykorzystaniem nanospektrofotometru. 500 ng RNA zostało poddane reakcji odwrotnej transkrypcji. Otrzymane w ten sposób komplementarne DNA (cDNA) posłużyło jako matryca do reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (qRT-PCR). Reakcja została przeprowadzona w 10 µL mieszaniny – 2,5 µL mieszaniny stanowiło trzymane cDNA, 2.5 µL mieszanina starterów o stężeniu 500 nM, a 5 µL MasterMix z barwnikiem SYBR Green. Reakcja była monitorowana na urządzeniu CFX Connect produkcji Bio-Rad. Wyniki obliczono za pomocą wzoru 2-ddCt. Sekwencje primerów zostały przedstawione w Tab. 1.

Tab. 1. Sekwencje primerów wykorzystanych w reakcji qRT-PCR

NAZWA GENU	SEKWENCJE PRIMERÓW
GAPDH	F: GATGCCCCAATGTTTGTGA R: AAGCAGGGATGATGTTCTGG
p21	F: GAAGAGAAACCCCCAGCTCC R: TGACTGCATCAAACCCCACA
p53	F: TACTCCCCTGCCCTCAACAA R: AGGAATCAGGGCCTTGAGGA
kaspaza 3	F: GGCAGACTTCCTGTATGCGT R: CCATGGCTACCTTGCGGTTA
kaspaza 9	F: CACCTTCCCAGGCTTTGTCT R: GGCTCTGGCCTCAGTAAGTT

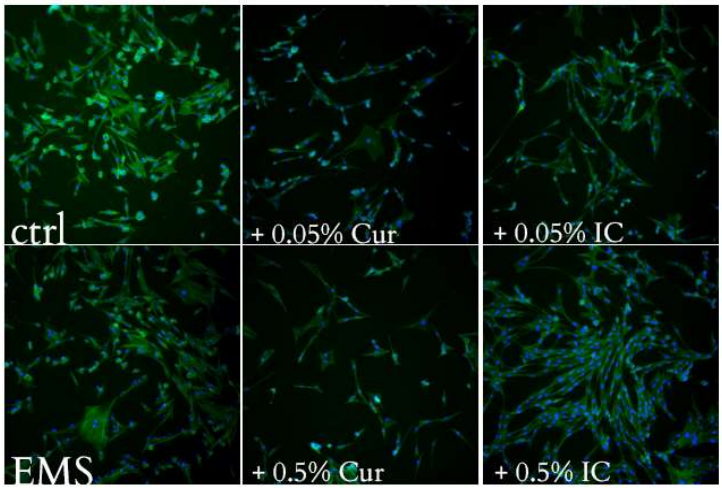
Morfologia komórek została określona przy pomocy barwień fluorescencyjnych. W tym celu komórki zostały utrwalone na dołkach za pomocą paraformaldehydu (PFA). Po godzinnej inkubacji z utrwalaczem komórki zostały przemyte 3-krotnie roztworem soli Hanksa (HBSS), a następnie dokonano perforacji błony komórkowej przy użyciu 0,01%

detergentu Triton X-100, poprzez 20 minutową inkubację w temperaturze pokojowej. Cytoszkielety komórek zostały wybarwione zieloną falloidyną - toksyną pochodzą z muchomora sromotnikowego, która wiąże się silnie z mikrofilamentami aktyny, natomiast jądra komórkowe zostały wybarwione niebieskim barwnikiem 4'6-diamidylo-2-fenyloindololem (DAPI), który wiąże się silnie do DNA na zasadzie interkalacji. Ilość komórek żywych i martwych została przeprowadzona z użyciem barwienia przyżyciowego kalceiną AM i jodkiem propidyny. Mikrofotografie zostały wykonane z użyciem mikroskopu epifluorescencyjnego. Analiza otrzymanych wyników została przeprowadzona w programie CellProfiler z wykorzystaniem ciągu zadaniowego stworzonego na potrzeby analizy.

Różnice statystyczne między grupami zostały ocenione z wykorzystaniem testu statystycznego ANOVA w programie GraphPad Prism (La Jolla, Kalifornia, USA).

3. Wyniki

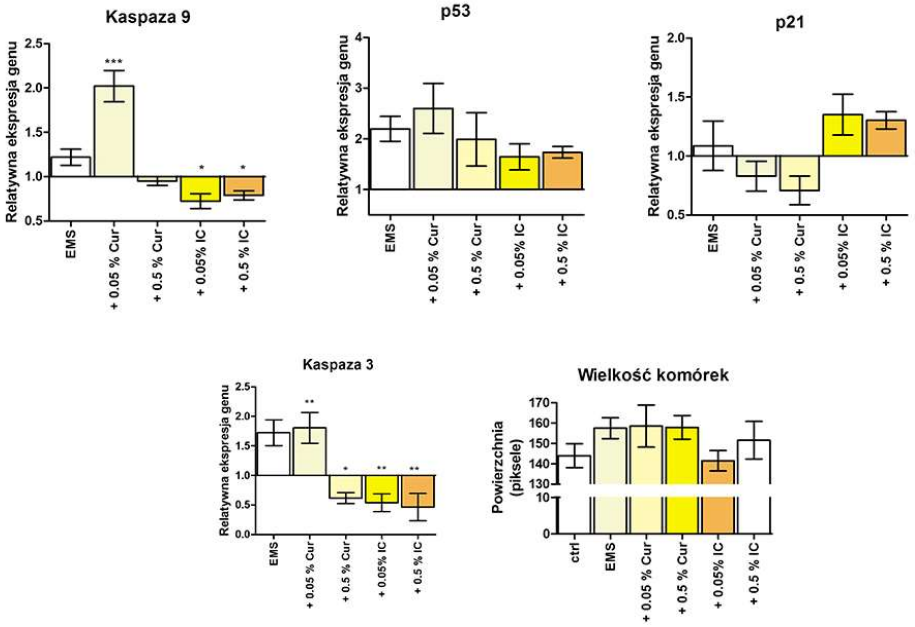
Mikrofotografie przedstawiające morfologię komórek ASC zostały przedstawione na Rys. 1. Można zauważyć znaczące różnice w wielkości ciał komórkowych oraz jąder komórkowych między grupami. Jądra komórkowe na preparatach zastały wybarwione na niebiesko, podczas gdy cytoszkielet został wybarwiony na zielono. Szczególnie zauważalną zmianą jest znaczne powiększenie ciał komórkowych między końmi zdrowymi a końmi z EMS. Różnica ta zostaje znacznie zmniejszona po dodaniu najniższego stężenia kompleksu inkluzyjnego, natomiast nie ulega zmianie w przypadku obu zastosowanych stężeń niezakompleksowanej formy kurkuminy. Podobną tendencję można zauważyć w rozmiarze jąder komórkowych.



Rys. 1. Mikrofotografie przedstawiające zmiany w morfologii końskich komórek macierzystych (opracowanie własne, powiększenie: 100x)

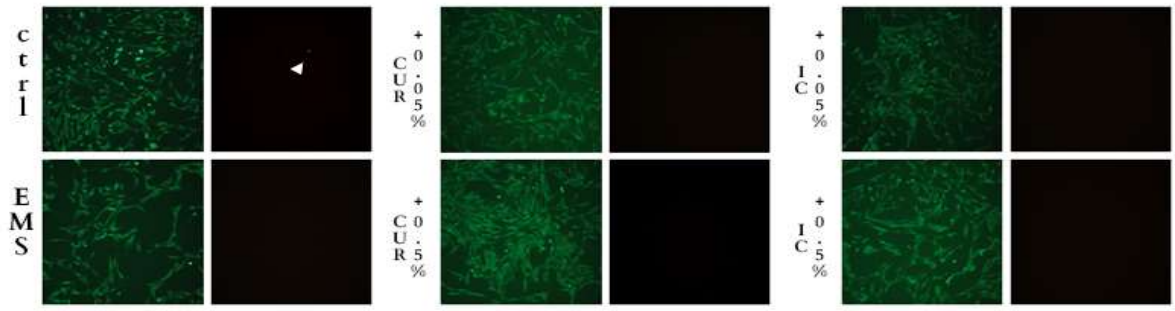
Badanie poziomu ekspresji genów wykazało istotne statystycznie różnice między komórkami z grup kontrolnych a komórkami z grup eksperymentalnych (Rys. 2). Poziom

transkryptu zarówno kaspazy 3 jak i 9 uległ znaczącemu obniżeniu w grupach komórek hodowanych w obecności kompleksu inkluzyjnego, podczas gdy w komórkach hodowanych w obecności niezakompleksowanej kurkuminy poziom pozostawał na poziomie podobnym co w komórkach kontrolnych wyizolowanych od osobników z EMS lub znacząco wzrastał. Zaobserwowano również istotną statystycznie różnice w poziomie ekspresji anty-apoptotycznego genu p21 (Rys. 2).



Rys. 2. Poziom ekspresji genów apoptotycznych w badanych grupach komórek oraz wyniki analiz w programie CellProfiler (opracowanie własne)

Wyniki badań molekularnych znalazły odzwierciedlenie w barwieniu przyżyciowym służącym do określenia cytotoksyczności badanych związków z wykorzystaniem barwników kalceiny i jodku propidyny. Zaobserwowano brak cytoksycznego wpływu badanych związków na komórki ASC przy 48-godzinnym czasie ekspozycji. Jedyne zmiany w ilości komórek martwych zanotowano w obecności kurkuminy w stężeniu 0,5%, jednak w porównaniu do sygnału i intensywności fluorescencji komórek żywych, jest to poziom dopuszczalny.



Rys. 3. Mikrofotografie przedstawiające ocenę cytotoksyczności badanych związków na komórki ASC (opracowanie własne, powiększenie: 100x)

4. Dyskusja

Apoptoza jest naturalnie występującym procesem, który umożliwia komórce prawidłowe funkcjonowanie i gospodarowanie zasobami energetycznymi. W wyniku zaburzeń na poziomie metabolicznym komórki, które są charakterystyczne dla przebiegu chorób i zaburzeń pokarmowych, dochodzi do zwiększenia ekspresji genów pro-apoptotycznych, uczestniczących między innymi w indukcji szlaku kaspaz (McIlwain i in., 2013). Jest to połączone ze znacznym spadkiem ekspresji genów anty-apoptotycznych, do których należą m.in.: p21, BCL-2, BCL-xL (Alkhouri i in. 2010). W niniejszej pracy wykazano, że w wyniku inkubacji komórek z zakompleksowaną w metyl-β-cyklodekstrynie kurkuminą dochodzi do obniżenia poziomu ekspresji kaspazy 3 i 9, w porównaniu z komórkami koni cierpiących na syndrom metaboliczny. Jest to zgodne z doniesieniami Zhao i współautorów (Zhao i in., 2017) o terapeutycznym działaniu kurkuminy podawanej doustne u szczurów. W opisywanym eksperymencie zaobserwowano znaczące obniżenie poziomu białka BAX, połączonego z zwiększeniem poziomu białka BCL-2. Dodatkowo zanotowano pozytywny wpływ kurkuminy na dysmutazę ponadtlenkową (SOD), co sugeruje antyoksydacyjny wpływ kurkuminy po wniknięciu do organizmu. Wyniki tych badań znajdują poparcie w wynikach opisanych w niniejszej pracy, które sugerują anty-apoptotyczne działanie kurkuminy na zmienione patologiczne komórki, wyizolowane od koni cierpiących na syndrom metaboliczny.

Kurkumina jest uznana za substancję bezpieczną dla organizmu, co potwierdzono licznymi badaniami *in vitro* i *in vivo* (Chainani-Wu N., 2003). Przeprowadzone w niniejszej pracy badania potwierdziły, że kurkumina nie działa cytotoksycznie na komórki, nawet po zwiększeniu jej biodostępności, co w przyszłości może pozwolić na bezpieczne stosowanie jej kompleksu w badaniach *in vitro* i w celach terapeutycznych. Nie zauważono również gwałtownych zmian morfologicznych komórek spowodowanych ekspozycją na działanie kompleksu inkluzyjnego. Zmiany morfologiczne zostały zaobserwowane jedynie między grupą komórek wyizolowanych od koni zdrowych, a grupą komórek wyizolowaną od koni cierpiących na syndrom metaboliczny, co jest zgodne ze wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi (Marycz i in, 2016). Ponadto, podanie kompleksu inkluzyjnego w najmniejszym stężeniu (0.05% pełnej objętości medium hodowlanego) spowodowało cofnięcie zmian patologicznych i przywrócenie prawidłowej morfologii, charakterystycznej dla komórek wyizolowanych od osobników zdrowych.

5. Wnioski

Otrzymane wyniki badań wskazują na potencjalną możliwość zastosowania kompleksu inkluzyjnego kurkuminy i metyl-β-cyklodekstryny w terapiach komórkowych w związku z anty-apoptotycznym wpływem, jaki związek wywiera na komórki zmienione patologicznie.

6. Literatura

Alkhouri N., Gornicka A., Berk M., Thapaliya S., Dixon L., Kashyap S., Schauer P., Feldstein A., 2010. Adipocyte apoptosis, a link between obesity, insulin resistance, and hepatic steatosis. Journal of Biological Chemistry 285(5):3428-38.

Argo C. M., Curtis G. C., Grove-White D., Dugdale A. H., Barfoot C. F., Harris P. A., 2012. Weight loss resistance: A further consideration for the nutritional management of obese Equidae. Veterinary Journal 194, 179–188.

Chainani-Wu N., 2003. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (Curcuma longa). The Journal of Alternative and Complementary Medicine 9(1), 161-8.

Chomczyński P., Sacchi N., 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Analytical Biochemistry 162(1), 156-9.

Deptuła T., Gruber B., Krówczyński A., 2014. Kurkumina i jej pochodne – zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej i chemoochronnej. Postępy Fitoterapii 3, 155-165.

Elmore S., 2007. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicologic Pathology 35(4), 495–516.

Gupta S., Patchva S., Aggarwal B., 2013. Therapeutic Roles of Curcumin: Lessons Learned from Clinical Trials. The American Association of Pharmaceutical Scientists 15(1), 195-218.

Hatcher H., Planalp R., Cho J., Torti M., 2015. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. Cellular and Molecular Life Sciences 65(11), 1631–1652.

Mangolim C., Moriwaki C., Nogueira A., Sato F., Baesso M., Neto A., Matioli G., 2013. Curcumin-β-cyclodextrin inclusion complex: stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application. Food Chemistry 153, 361-70.

Marycz K., , Kornicka K., Basinska K., Czyrek A., 2016. Equine Metabolic Syndrome Affects Viability, Senescence, and Stress Factors of Equine Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Stem Cells: New Insight into EqASCs Isolated from EMS Horses in the Context of Their Aging. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2016, 4710326.

Marycz K., Kornicka K., Grzesiak J., Śmieszek A., Szłapka J., 2016. Macroautophagy and Selective Mitophagy Ameliorate Chondrogenic Differentiation Potential in Adipose Stem

Cells of Equine Metabolic Syndrome: New Findings in the Field of Progenitor Cells Differentiation. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016;2016:3718468.

Marycz K., Kornicka K., Marędziak M., Golonka P., Nicpoń J., 2016. Equine metabolic syndrome impairs adipose stem cells osteogenic differentiation by predominance of autophagy over selective mitophagy. Journal of Cellular and Molecular Medicine 20(12): 2384–2404.

McIlwain D., Berger T., Mak T., 2013. Caspase functions in cell death and disease. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 5(4).

Mishra S., Palanivelu K., 2008. The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview. Annals of Indian Academy of Neurology11(1), 13–19.

Morgan R., Keen J., McGowan C., 2015. Equine metabolic syndrome. The Veterinary Record 177(7):173-179.

Rachmawati H., Ariani Edityaningrum C., Mauludin R., 2013. Molecular Inclusion Complex of Curcumin–β-Cyclodextrin Nanoparticle to Enhance Curcumin Skin Permeability from Hydrophilic Matrix Gel. AAPS PharmSciTech 14(4), 1303–1312.

Zhao L., Gu Q., Xiang L., 2017. Curcumin inhibits apoptosis by modulating Bax/Bcl-2 expression and alleviates oxidative stress in testes of streptozotocin-induced diabetic rats. Therapeutics and Clinical Risk Management 13:1099-1105.

Wzbogacanie przecieru z owoców Rokitnika pospolitego (*Hippophaerhamnoides* L.) niekonwencjonalnymi substancjami słodzącymi

Karolina Tkacz [(1)], Igor Turkiewicz [(1)]

[1] Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Nutraceutyków Roślinnych, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Karolina Tkacz: tkacz187@o2.pl

Streszczenie
Rokitnik pospolity (*Hippophaerhamnoides*L.) należy do rodziny oliwnikowatych (*Elaeagnaceae*) i naturalnie występuje na terenach Europy i Azji. Owoce zawierają szereg związków bioaktywnych: flawonoidy, karotenoidy, kwasy tłuszczowe i szereg witamin, głównie z grupy B oraz PP, K, prowitaminy A i D, a także tokoferole i kwas askorbinowy. Jednak jagody rokitnika posiadają charakterystyczny kwaśny i gorzki smak, niechętnie akceptowany przez konsumentów. Stąd też celem pracy było zaproponowanie przecierów z rokitnika pospolitego z dodatkiem naturalnych substancji słodzących oraz oznaczenie zawartych w nich związków biologicznie aktywnych wraz z aktywnością przeciwutleniającą. W badaniu otrzymano przeciery z rokitnika z dodatkiem: sacharozy, ksylitolu, cukru kokosowego i syropu z agawy. Uzyskane wyniki wskazują, że wzbogacenie słodzikami niekonwencjonalnymi może zwiększyć aktywność antyoksydacyjną produktu finalnego i stanowić atrakcyjny produkt na rynku żywności specjalnego przeznaczenia żywieniowego.

Słowa kluczowe: rokitnik pospolity, *Hippophaerhamnoides* L., aktywność przeciwutleniająca, właściwości prozdrowotne, substancje słodzące

Enrichment of fruit puree from sea buckthorn (*Hippophaerhamnoides* L.) with unconventional sweeteners

Summary
Sea buckthorn (Hippophaerhamnoides L.) belongs to the family Oenolphus (Elaeagnaceae) and naturally occurs in Europe and Asia. The fruits contain a number of bioactive compounds: flavonoids, carotenoids, fatty acids and a number of vitamins, mainly from group B and PP, K, provitamins A and D, as well as tocopherols and ascorbic acid. However, sea-buckthorn berries have a characteristic sour and bitter taste, reluctantly accepted by consumers. Therefore, the aim of the work was to propose purée from sea buckthorn with the addition of natural sweeteners and to mark the biologically active compounds contained therein along with antioxidant activity. The study obtained puree of sea buckthorn with the addition of: sucrose, xylitol, coconut sugar and agave syrup. The obtained results indicate that enrichment with unconventional sweeteners may increase the antioxidant activity of the final product and constitute an attractive product on the food market for special nutritional purposes.

Keywords: sea buckthorn, *Hippophaerhamnoides* L., antioxidant activity, health-promoting properties, sweeteners

1. Wstęp

- Charakterystyka ogólna rośliny

Rokitnik pospolity (*Hippophaerhamnoides*L.) należy do rodziny oliwnikowatych (*Elaeagnaceae*) i jest dwupiennym, liściastym krzewem. Starożytni Grecy wykorzystali pozytywny wpływ substancji czynnych rośliny na poprawę stanu sierści i masy ciała koni. Stąd też pierwszy człon łacińskiej nazwy *hippophae*składa się z wyrazów*: hippis*, czyli „koń", zaś *phao*– „blask" (Suryakumari wsp. 2011).

Pochodzi z terenów euroazjatyckich, takich jak: Syberia, Azja Środkowa, Chiny, Mongolia oraz Kaukaz. W Europie rośnie głównie na Wybrzeżu Morza Bałtyckiego, w Danii, Szwecji, Niemczech i Norwegii (Stobdan i wsp. 2013).

- Skład chemiczny owoców

Do głównych substancji biologicznie aktywnych rokitnika pospolitego zalicza się: flawonoidy, karotenoidy, tokoferole, stanole, kwas askorbinowy, witaminy z grupy B oraz K, PP i prowitaminy A i D. Owoce niedojrzałe charakteryzuje mniejsza zawartość suchej masy niż te zbierane w stadium pełnej dojrzałości konsumpcyjnej. Wartość ta mieści w przedziale od 13 do 16%. Zawartość ekstraktu oscyluje w granicach od 8,5 do 11%, co wynika z obecności cukrów ogółem do 6% (Tiitineniwsp. 2005, Zadernowski i wsp. 2005, Szałkiewicz i wsp. 2006, Lipowski i wsp. 2012).

Jagody rokitnika charakteryzują się swoistym zapachem, co wynika z zawartości blisko 75 związków lotnych, głównie estrów: 2-metylobutanonu etylu i 3-metylobutanonu etylu. Mają również silnie kwaśny i gorzki smak, co wynika z wyjątkowo niskiego stosunku cukrów do kwasów wynoszącego 1:1. Średnio 97% cukrów stanowią glukoza występująca w dwóch formach izomerycznych (D- i R-piranoza) i fruktoza w trzech formach (R-piranoza, R i D-furanoza). Ilość kwasów organicznych wynosi do 4%, z czego ponad 90% stanowią kwas L-jabłkowy i chinowy, a w mniejszych ilościach kwasy: bursztynowy, winowy i cytrynowy. Wraz ze wzrostem dojrzałości owoców wzrasta zawartości cukrów, zaś kwasowość maleje (Kallio i wsp. 2002, Golis 2010, Zhengiwsp. 2012, Bośko i wsp. 2017)

Rokitnik jest jedną z nielicznych roślin zawierających olej w miąższu i pestkach. Całkowita zawartość tłuszczu w jagodzie wynosi średnio 15%. Do głównych kwasów tłuszczowych zalicza się kwasy: palmitynowy, stearynowy, oleinowy, linolenowy, linolowy oraz palmitooleinowy (Bośko i wsp. 2017).

Owoce rokitnika pospolitego są bogatym źródłem witaminy C, której zawartość wynosi nawet do 1,5 g / 100 g w tureckich mieszańcach odmianowych. Po długim okresie przechowywania, zawartość tej witaminy spada tylko nieznacznie, ponieważ owoce nie zawierają askorbinazy - specyficznego enzymu rozkładającego kwas askorbinowy.Ponadto jagody są dobrym źródłem witamin z grupy B, głównie B_1, B_2 i B_6 oraz witaminy K. Ze składników mineralnych w owocach rokitnika w największej ilości występują potas, sód, wapń i fosfor (Beveridge i wsp. 2002, Świtko 2003, Bal i wsp. 2011).

Rokitnik jest też źródłem innych związków przeciwutleniających, takich jak: karotenoidy, tokoferole i związki polifenolowe z głównym udziałem flawonoidów. Karotenoidy, oprócz cennych właściwości, odpowiadają za pomarańczową barwę i ich

zawartość w świeżych owocach wynosi do 28 mg/100g, z czego średnio połowę stanowi β-karoten. W mniejszych ilościach występują też: γ- i α-karoten, zeaksantyna, likopen, luteina i β-kryptoksantyna. Średnia zawartość tokoferoli w owocach rokitnika wynosi 150 mg/100g, z czego blisko 98% stanowi α-tokoferol, a pozostały udział przypada na β-, γ-, δ-tokoferol. Głównymi kwasami fenolowymi owoców rokitnika są: galusowy, p- i m-kumarowy, salicylowy oraz 4-hydroksyfenylomlekowy. Łączna zawartość związków polifenolowych mieści się w granicach 100-600 mg/100g, z czego w największej ilości występują: kwercetyna, izokwercytyna, mirycytyna, katechiny, kempferoli rutyna (Zadernowski i wsp. 2005, Anderssoni wsp. 2009, Teleszko i wsp. 2015).

- Właściwości prozdrowotne rokitnika pospolitego

Ze względu na dużą ilość związków biologicznie aktywnych zawartych w miąższu, pestkach, kolcach, korze, korzeniach i liściach, od czasów starożytnych, stosowano syropy, soki i oleje jako środki lecznicze. Grecy leczyli rokitnikiem zaćmę, osteoporozę, łuszczycę i łysienie. W medycynie tybetańskiej znalazł zastosowanie, jako środek przeciwkrwotoczny i przeciwbiegunkowy, natomiast w Mongolii przypisywano mu właściwości kojące i gojące rany (Bośko i wsp. 2017).

Olej z rokitnika pospolitego zapobiega degradacji lipidów błony żołądka, opóźnia jego opróżnianie, przyspiesza regenerację tkanek, zwiększa hydrofobowość śluzówki i hamuje aktywność proteolityczną soku żołądkowego. Stąd też, polecany jest w profilaktyce i leczeniu zapalenia jelita grubego i okrężnicy. Ponadto, przyspiesza metabolizm i ułatwia trawienie u osób cierpiących na chorobę wrzodową dwunastnicy i żołądka. Ekstrakt z liści i olej z nasion rokitnika wykazują działanie hepatoochronne. Właściwość ta jest szczególnie istotna, ponieważ wątroba jest jednym z najbardziej narażonych organów na działanie wielu czynników zewnętrznych, głównie ksenobiotyków ze środowiska (Andersson i wsp. 2009, Wani iwsp. 2016).

Flawonoidy zawarte we wszystkich częściach rokitnika obniżają lepkość krwi, zapobiegając odkładaniu blaszki miażdżycowej na ścianach naczyń krwionośnych. Wpływają korzystnie na siłę skurczu i prawidłowy rytm mięśnia sercowego oraz zapobiegają apoptozie kardiomiocytów. Olej z nasion rokitnika powoduje istotny spadek poziomu frakcji cholesterolu o niskiej gęstości (LDL) i wzrost poziomu frakcji o wysokiej gęstości (HDL) oraz hamuje proces utleniania lipoprotein o małej gęstości (VLDL). Ponadto u szczurów skarmianych flawonoidami wyekstrahowanymi z nasion rokitnika wykazano zanik hiperinsulinemii i dyslipidemii (Beveridge i wsp. 2002, Andersson i wsp. 2009, Wani i wsp. 2012, Wani i wsp. 2016).

W badaniach *in vitro* i *in vivo* ekstrakt z nasion rokitnika pospolitego wykazał działanie przeciwutleniające poprzez zapobieganie powstawaniu wolnych rodników oraz zwiększenie aktywności enzymów: reduktazy i peroksydazy glutationowej, katalazy i dysmutazy nadtlenkowej. Zarówno wyciąg z liści jak i olej z nasion niwelują efekty stresu oksydacyjnego w organizmie (Beveridgeiwsp. 2002, Wani i wsp. 2012).

2. Cel

Celem pracy było otrzymanie przecierów z rokitnika pospolitego z dodatkiem substancji słodzących, a następnie oznaczenie wybranych związków biologicznie aktywnych i aktywności przeciwutleniającej w uzyskanych produktach. Założono, że przeprowadzone badania pozwolą na wybranie słodzików przydatnych do produkcji przecierów o największym potencjale prozdrowotnym.

3. Materiał badawczy

Przedmiotem badań były przeciery uzyskane z owoców rokitnika pospolitego odmiany 'Luczistaja'. Owoce rozmrożono, przesortowano, rozdrobniono i poddano obróbce termicznej w urządzeniu THERMOMIX TM 21 (Vorwerk, Niemcy). Z uzyskanego przecieru sporządzono następujące warianty produktów: przecier 100% oraz przeciery z 20% dodatkiem: sacharozy, ksylitolu, cukru kokosowego i syropu z agawy. Rozlano do słoików o pojemności 80ml i poddano pasteryzacji w temperaturze 90°C przez 10 minut. Tak sporządzone produkty przebadano po tygodniowym okresie przechowywania w temperaturze 4°C.

4. Metodyka

Oznaczenie zawartości ekstraktu ogólnego przeprowadzno przy pomocy refraktometru cyfrowego Atago typu Pocket PAL 1 według PN-90/A-75101/02. Zasada metody polega na pomiarze współczynnika załamania światła w badanym materiale i bezpośrednim odczytaniu zawartości ekstraktu w skali cukrowej. Analizę wykonano w trzech powtórzeniach, a otrzymane wyniki podano, jako średnią w °Brix.

Oznaczenie polifenoli ogółem wykonano zmodyfikowaną metodą Folina-Cocialteu z wykorzystaniem spektrofotometru UV – 2401 PC firmy Schimadzu (Kyoto, Japonia) według metody Olssona i wsp. (2006). Zasada metody polega na reakcji związków polifenolowych zawartych w badanej próbce ze składnikami odczynnika Folina-Cocialteu. Powstały niebieskoszary kompleks jest oznaczany spektrofotometrycznie przy długości fali 765 nm. Analizę wykonano w trzech powtórzeniach, a otrzymane wyniki wyrażono w mg kwasu galusowego/100 g przecieru.

Oznaczenie witaminy C wykonano według PN-90/A-75101/11. Zasada metody polega na utlenianiu w środowisku kwaśnym kwasu L-askorbinowego do kwasu D-hydroaskorbinowego wobec niebieskiego barwnika 2,6-dichloroindofenolu. Barwnik redukuje się do bezbarwnej formy *leuko* i przy pH 4,2 barwi się na czerwono. Reakcja przebiega ilościowo. Analizę wykonano w dwóch powtórzeniach, a otrzymane wynikiwyrażono w mg witaminy C/100g przecieru.

Aktywność przeciwutleniającą przecierów zmierzono przy pomocy metod spektrometrycznych ABTS oraz FRAP. Posłużono się spektrofotometrem UV – 2401 PC firmy Schimadzu (Kyoto, Japonia). Oznaczanie siły zmiatania wolnych rodników 2,2' – azino-bis-(3-etylkobenzotiazolino-6-kwasu sulfonowego) (ABTS) przeprowadzono według metody Re i wsp. (1999). Zasada metody polega na pomiarze właściwości przeciwutleniających badanych produktów przy użyciu kationorodnika ABTS o barwie niebieskozielonej. Dodatek przeciwutleniaczy do roztworu powoduję redukcję kationorodnika i zanik barwy roztworu, a spadek intensywności jest proporcjonalny do zawartości przeciwutleniaczy.Analizę wykonano w trzech powtórzeniach, a otrzymane wyniki wyrażono w mmol Trolox /100g przecieru.

Oznaczanie zdolności redukowania jonów żelaza FRAP wykonano według metody opisanej przez Benzie i wsp. (1996). Zasada metody polega na kolorymetrycznym oznaczaniu siły redukowania jonów żelaza Fe^{3+} do niebieskiego kompleksu Fe^{2+}przez przeciwutleniacze występujące w badanym produkcie. Analizę wykonano w trzech powtórzeniach, a otrzymane wyniki wyrażono w mmol Trolox /100 g przecieru.

5. Wyniki i dyskusja

W tabeli 1 przedstawiono wyniki ekstraktu ogólnego, polifenoli ogółem i witaminy C dla przecieru 100% i przecierów z 20% dodatkiem sacharozy, ksylitolu, cukru kokosowego i syropu z agawy. Dodatek substancji słodzących spowodował wzrost ekstraktu ogółem w porównaniu do niesłodzonego przecieru, ponieważ wartość ta jest ściśle związana z zawartością cukrów.Ekstrakt przecieru 100% wyniósł 11,7°Bx, natomiastPierzynowska i wsp. (2005)oznaczyli wartość na poziomie 9,5°Bx. Różnica może być spowodowana wieloma czynnikami, m.in.: warunkami uprawy, pogodą oraz okresem zbioru i przechowywania. Ekstrakty wzbogaconych przecierów charakteryzowały się zbliżonymi wartościami, od 28,10°Bx (przecier z dodatkiem cukru kokosowego) do 33,10°Bx (przecier z dodatkiem syropu z agawy).

Według Zadernowskiego i wsp. (2005) przeciętna zawartość polifenoli ogółem w pulpie z owoców rokitnika wynosi od 120 do 555 mg kwasu galusowego/100g. Największą

zawartość polifenoli ogółem oznaczono w przecierze 100% (77,67 mg kwasu galusowego/100g), a obniżenie zawartości wynika z przeprowadzonej obróbki technologicznej. Dodatek substancji słodzących spowodował obniżenie wartości wyjściowych, szczególnie w przypadku wzbogacenia cukrem kokosowym (spadek o 18,57 mg kwasu galusowego/100gprzecieru). W metodzie Folina-Cocialteu, cukry i kwasy organiczne, w tym kwas askorbinowy, w największym stopniu wpływają na zafałszowania wyników, stąd też wyniki powinny zostać poddane dalszej analizie, np. z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) (Tiitinen i wsp. 2005).

Kallio i wsp. (2002) stwierdzili, że w europejskich odmianach rokitnika pospolitego zawartość witaminy C mieściła się w granicach od 40 do 180 mg/100 g owoców, z kolei Tiitinen (2005) podaje, że chińskie odmiany zawierają nawet do 250 mg/ 100 g owoców. Po dodaniu środków słodzących do przecieru, zawartość witaminy C obniżyła się średnio dwukrotnie w stosunku do zawartości witaminy C w produkcie wyjściowym (176,90 mg/ 100 g przecieru). Kwas L-askorbinowy jest wrażliwy na działanie wysokiej temperatury i światła, stąd też mógł ulec utlenieniu do nieaktywnego kwasu L-dehydroaskorbinoweg. Pozostawia się do dalszych badań potencjalny wpływ związków zawartych w substancjach słodzących na zawartość witaminy C (Lipowski i wsp. 2012).

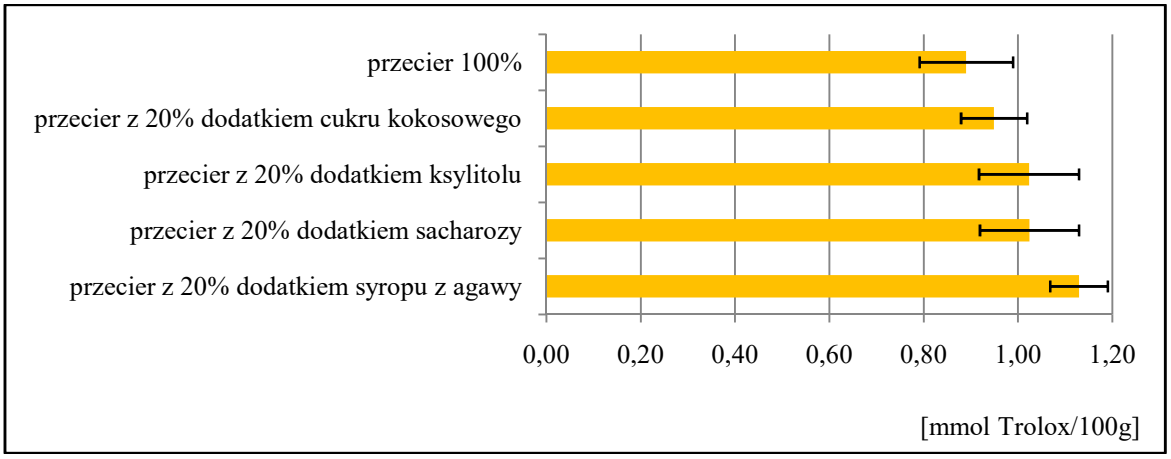
Tabela. 1. Średnia zawartość ekstraktu, polifenoli ogółem i witaminy C w przecierach rokitnikowych z dodatkiem substancji słodzących (wartość średnia ± SD) (opracowanie własne)

Rodzaj przecieru rokitnikowego	Ekstrakt [^{o}Brix]	Polifenole ogółem [mg kwasu galusowego/100g]	Witamina C [mg/100g]
przecier 100%	12,70±0,00	77,67±8,12	176,90±0,53
przecier z 20% dodatkiem sacharozy	28,80±0,10	60,86±7,80	71,8±0,43
przecier z 20% dodatkiem ksylitolu	29,10±0,00	76,87±6,08	94,7±2,78
przecier z 20% dodatkiem cukru kokosowego	28,10±0,00	59,10±3,63	89,4±1,03
przecier z 20% dodatkiem syropu z agawy	33,10±0,10	64,65±3,54	40,4±1,83

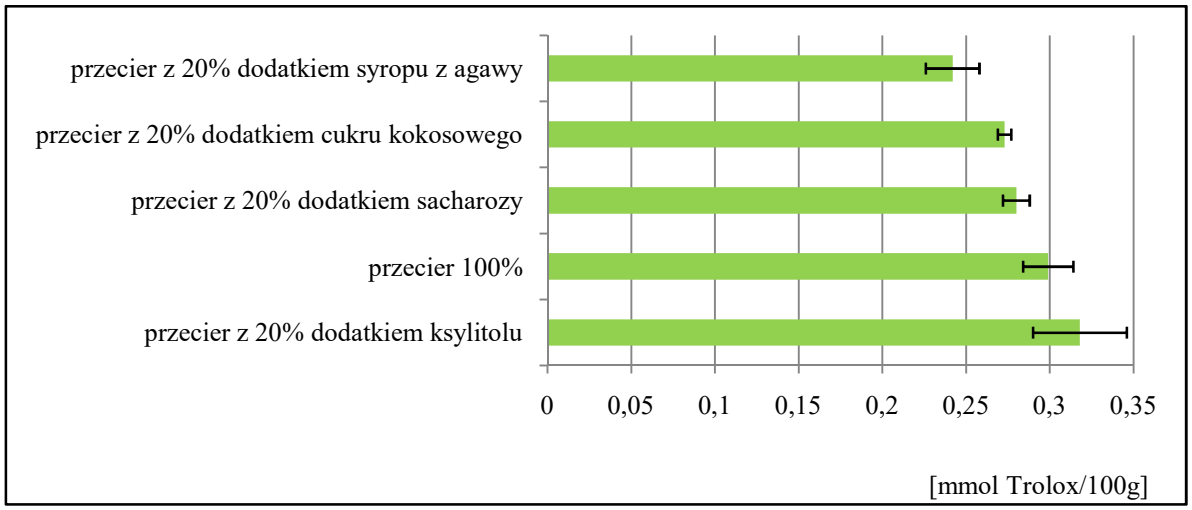
Wyniki aktywności przeciwutleniającej zmierzone metodą ABTS w przecierach z rokitnika przedstawiono na rysunku 1. Największą aktywnością charakteryzował się przecier wzbogacony syropem z agawy (1,13 mmol Trolox/100 g), a najmniejszą przecier niesłodzony (0,89 mmol Trolox/100 g). Cybul i wsp. (2008) podają, że podczas reakcji ABTS ze związkami polifenolowymi mogą tworzyć się produkty o zwiększonej aktywności

antyoksydacyjnej i szybciej reagujące z rodnikiem niż związki macierzyste. Wartość aktywności przeciwutleniającej jest, więc sumą aktywności badanej substancji i produktów jej reakcji z rodnikiem. To może być powodem zawyżenia wyników analizy, na co wskazuje obliczony współczynnik korelacji pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą ABTS, a ilością polifenoli ogółem równy r = -0,30.

Na rysunku 2. przedstawiono wyniki z analizy redukcji jonów żelaza metodą FRAP w przecierach z rokitnika. Największą aktywnością charakteryzował się przecier wzbogacony ksylitolem (0,32mmolTrolox/100g), a najmniejszą przecier z syropem z agawy (0,24 mmol Trolox/100g). W przeciwieństwie do aktywności zmierzonej metodą ABTS, aktywność metodą FRAP była najsilniej skorelowana z zawartością polifenoli ogółem (r = 0,71) oraz zawartością witaminy C (r= 0,63). Podobną zależność uzyskali Marszałek i wsp. (2014), porównując skład chemiczny i aktywność przeciwutleniającą dżemów z rokitnia z dodatkiem różnych wsadów owocowych.



Rys.1. Aktywność przeciwutleniająca oznaczona metodą ABTS w przecierach z rokitnika pospolitego z dodatkiem substancji słodzących (opracowanie własne)



Rys. 2. Siła zmiatania jonów żelaza oznaczona metodą FRAP w przecierach z rokitnika pospolitego z dodatkiem substancji słodzących (opracowanie własne)

6. Wnioski

1. Dodatek substancji słodzących do przecieru z rokitnika ma pozytywny wpływ na aktywność przeciwutleniającą gotowych produktów.

2. Największą zawartością składników biologicznie aktywnych charakteryzował się przecier niesłodzony, który zawierał 176,90 mg witaminy C i 77,67 mg kwasu galusowego w 100 g przecieru. Największą aktywność mierzoną metodą ABTS wykazał przecier z dodatkiem syropu z agawy (1,13 mmol Trolox/100 g), a metodą FRAP przecier z ksylitolem (0,32 mmolTrolox /100 g).

3. Dodatek substancji słodzących do produktów z rokitnika jest niezbędny ze względu na brak akceptacji kwaśnego smaku przez konsumentów. Wykazano, że wzbogacenie słodzikami niekonwencjonalnymi, takimi jak ksylitol, syrop z agawy czy cukier kokosowy,może zwiększyć aktywność antyoksydacyjną produktu finalnego i stanowić atrakcyjny produkt na rynku żywności specjalnego przeznaczenia żywieniowego.

7. Literatura

Andersson S.C., Olsson M.E., Johansson E., Rumpunen K. 2009. Carotenoids in sea buckthorn (Hippophaerhamnoides L.) berries during ripening and use of pheophytin a as a maturity marker. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57: 250-258.

Bal L.M., Meda V., Naik S.N. 2011. Sea buckthorn berries: A potential source of valuable nutrients for nutraceuticals and cosmeceuticals. Food Research International, 44: 1718-1727.

Benzie I.F.F, Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plazma (FRAP) as a measure of antioxidant Power, Analytical Biochemistry, 239: 70-76.

Beveridge T., Harrison J.E., Drover J. 2002. Processing effects on the composition of sea buckthorn juice from Hippophaerhamnoides L. Cv. Indian Summer. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 113-116.

Bośko P., Biel W. 2017. Właściwości lecznicze rokitnika zwyczajnego (Hippophaerhamnoides L.). Postępy Fitoterapii, 18(1): 36-41.

Cybul M., Nowak R. 2008. Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych, Herba Polonica, 51(1): 68-77.

Gao X., Ohlander M., Jeppsson N., Bjork L, Trajkovski V. 2000. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (Hippophaerhamnoides L.) during maturation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 1485-1490.

Kallio H., Yang B., Peippo P. 2002. Effects of different origins and harvesting time on vitamine C, tocopherols and tocotrienols in sea buckthorn (Hippophaerhamnoides L.) berries, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 6136-6142.

Lipowski J., Marszałek K., Skąpska S., Jasińska U. 2012. Charakterystyka owoców wybranych odmian rokitnika zwyczajnego (Hippophaerhamnoides L.) uprawianych w Polsce. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 7-8: 18-22.

Marszałek K., Lipowski J., Skąpska S. 2014. Wykorzystanie rokitnika pospolitego (Hippophaerhamnoides L.) do produkcji dżemów, Przemysł Frementacyjny i Owocowo-Warzywny, 3: 12-14.

Pierzynowska-Korniak G., Żywica R., Wójcik J. 2005. Przewodnictwo elektryczne wybranych przetworów owocowych, Inżynieria Rolnicza, 9: 263-269.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assai, Free Radical Biology&Medicine, 26(9): 1231-1237.

Stobdan T., Korekar G., Srivastava R.B. 2013. Nutritional attributes and health application of seabuckthorn (HippophaerhamnoidesL.) – a review. Current Research in Nutrition and Food Science Journal, 9: 151-65.

Surmiński J. 2008. Występowanie i właściwości rokitnika zwyczajnego (Hippophaerhamnoides L.). Sylwan, 4: 68-74.

Suryakumar G., Gupta A. 2011. Medicinal and therapeutic potential of sea buckthorn (HippophaërhamnoidesL.). Journal of Ethnopharmacology, 138: 268-78.

Szałkiewicz M., Zadernowski R. 2006. Rokitnik: możliwości produkcji i wykorzystania owoców, Hasło Ogrodnicze, 2: 60-63.

Teleszko M., Wojdyło A., Rudzińska M., Oszmiański J., Golis T. 2015. Analysis of lipophhilic and hydrophilic bioactive compounds content in sea buckthorn (Hipopohaerhamnoides L.) berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63: 4120-4129.

Tiitinen K.M., Hakala M., Kallio H.P. 2005. Quality components of sea buckthorn (Hippophaerhamnoides L.) varieties. Journal of the Agricultural and Food Chemistry, 53: 1692-1699.

Wani T.A., Wani S.M., Ahmad M., Ahmad M., Gani A., Masood F.A. 2016. Bioactive profile, health benefits and safety evaluation of sea bucthorn (Hippophaerhamnoides L.): A review. Cogent Food &Agriculture, 2: 1-9.

Zadernowski R., Szałkiewicz M., Czaplicki S. 2005. Skład chemiczny i wartość odżywcza owoców rokitnika zwyczajnego (Hippophaerhamnoides L.). Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 8-9: 56-58.

Zheng J., Yang B., Trepanier M., Kallio H. 2012. Effects of genotype, latitude and weather conditions on the composition of sugars, sugar alcohols, fruit acids and ascorbic acids in sea buckthorn (Hippophaerhamnoides ssp. Mongolia) berry juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60: 3180-3189.

Foodsharing jako narzędzie minimalizowania marnotrawstwa w branży spożywczej

Aleksandra Zachariasz [(1)]

[1] Wydział Ekonomii, Zarządzania i Turystyki w Jeleniej Górze, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu
Aleksandra Zachariasz: aleksandra.zachariasz@ue.wroc.pl

Streszczenie
Łańcuch żywnościowy obejmuje wszystkie procesy powstawania towaru od produkcji pierwotnej do konsumpcji towaru gotowego. Podczas wieloetapowych operacjiłatwo o błędy, które uniemożliwiają ostateczne przekazanie produktów do sprzedaży. Mimo to, największe marnotrawstwo żywności widać na etapie konsumpcji. W ostatnich latachwidoczny jest problem nad konsumpcjonizmu, który implikuje wyrzucanie dużych ilości jedzenia. To negatywne zjawisko pokazuje jak ważne, są kampanie uświadamiające społeczeństwo o istnieniu problemu i jego negatywnych skutkach. Celem rozważań niniejszego artykułu jest analiza oraz ocena wpływu idei foodsharing opracowanej przez niemieckiego podróżnika RaphaelaFellmerana marnotrawstwo żywności będące rezultatem błędów popełnianych w łańcuchu żywnościowym. Inicjatywa ta polega na dzieleniu się pełnowartościową żywnością przeznaczona do utylizacji z innymi. Jak można zaobserwować idea została przyjęta z wielkim entuzjazmem na całym świecie. Jej forma ciągle ulega zmianie, lecz cel pozostaje ten sam, a mianowicie dzielenie się żywnością, która w innym przypadku zostałaby wyrzucona na śmietnik.

Słowa kluczowe: łańcuch żywnościowy, marnotrawienie żywności, foodsharing, inicjatywa społeczna

Foodsharing as a tool to minimize waste in the food industry

Summary
The food chaincovers all the processes of commodity creation from primary production to consumption of finished goods. During multi stage operations it is easy to make mistakes that prevent the finaldelivery of products for sale. Evenso, the greatest food waste can be seenat the consumptionstage. In recentyears, thereis a problem over consumerism, which implies the ejection of large amounts of food. This negative phenomenon shows how important there are public awarenesscampaignsabout the existence of the problem and itsnegativeeffects. The aim of this article is to analyze and evaluate the impact of the foodsharing idea developed by the German travelerRaphaelFellmer on the food waste resulting from error scommitted in the food chain. This in it iative consists in shar ingwhole some food for recycling with others. As youcansee, the idea was receivedwith great enthusiasmaround the world. Its form is constantly changing, but the goalremains the same, namelysharing food thatwouldotherwise be throwninto the trash.

Keywords: food chain, food waste, foodsharing, socialinitiative

1. Wstęp

Temat marnotrawienia żywności od dłuższego czasu nie traci na popularności. Na świecie obecniemarnuje się prawie⅓ produkowanej żywności. Większość zostaje przeznaczone do zniszczenia podczas realizacji procesów w ramach łańcucha żywnościowego. Obejmuje on swoim zakresem wszystkie etapy powstawania wyrobu ostatecznego wraz z jego konsumpcją. Podczas których marnowane jest blisko 9 mln ton jedzenia w tym 2 mln w gospodarstwach domowych. Przeciętny Europejczyk utylizuje 179 ton jedzenia rocznie. Obywatele Afryki oraz południowo-wschodniej Azji wyrzucają6 - 11 kg żywności, mimo panującego tam głodu i ubóstwa. Polska znajduje się na piątym, miejscu wśród państw europejskich utylizujących żywność. Statystyczny Polak w ciągu roku wyrzuca 235 kg pożywienia (Gustavsson i in. 2011).

Należy pamiętać, że pojęcie marnowanej żywności nie określa tylko produktów spożywczych. Wymagane jest również rozpatrzenie tego zagadnienia w innych aspektach. Trudno zaprzeczyć, że straty odnotowywane są również w obrębie zasobów naturalnych np. poprzez dostarczanie do powietrza 4,2 ton dwutlenku węgla przy produkcji 1 tony żywności.

Obecnie tematem zajmują się zarówno instytucje państwowe jak i zwykli obywatele. Każdy z podmiotów posiada swoją wizję działań, lecz wszystkie sprowadzają się do zmniejszeniautylizacji produktów spożywczych. Różnorodność rozwiązań w przypadku tego zjawiska jest bardzo pożądana. Niemożliwe jestw oparciu o jedną metodę, rozwiązanie tego problemu, co wynika ze zbyt dużego zróżnicowania poziomu życia. W krajach rozwiniętych przeważa model nadkonsumpcji, zaś w tzw. krajach III świata niedożywienia i głodu. Ciężko jest osiągnąć zrównoważony rozwój we wszystkich zakątkach naszego globu. Mimo tego można, a wręcz należy minimalizować skutki tego zjawiska. W tym celu w 2015 r. UE podpisała zobowiązanie wobec ONZ do realizacji Nowej Agendy. Jednym z jej 17 Celów Zrównoważonego Rozwoju jest odpowiedzialna konsumpcja i produkcja, który zakłada m.in. zmniejszenie do 2030 r. o połowę ilości marnowanej żywności na osobę.

W obecnych czasach powstaje wiele inicjatyw społecznych walczących z tym negatywnym zjawiskiem. Działają one zarówno na rynku lokalnym jak i krajowym. Działania te podejmowane w ramach licznych projektów obejmują bardzo szeroki wachlarz produktów. Zaczynając od domowych przetworów, kończąc na paletach załadowanych np. jogurtami, które uległy uszkodzeniu podczas procesu magazynowania czy transportu. W Polsce coraz bardziej popularna staje się idea foodsharing powstała 2012 r.Zainteresowanie projektem dzielenia się nadwyżkami posiadanej żywności przerosło oczekiwania jego twórcy RaphaelaFellmera i obecnie odbywa się zarówno w miejscach użytku publicznego, jak i przy użyciu portali społecznościowych w wielu miejscach na świecie.Pierwszy punkt Jadłodzielni w Polsce został uruchomiony w maju 2016 r. na Uniwersytecie Warszawskim. Od tego czasu w stolicy i w innych Polskich miastach powstało już kilkanaście nowych.

Zasadniczym celem artykułu jest zaprezentowanie łańcucha żywnościowego przez pryzmat jego istoty, problemów i sposobów ich rozwiązywania. Autorka niniejszego opracowania ukazuje błędy popełniane w ramach łańcucha żywnościowego.Koncentruje swoją uwagę przede wszystkim na ostatnich ogniwach łańcucha żywnościowego, które bezpośrednio wpływają na wzrost poziomu marnotrawienia żywności oraz innych aspektów np. w zakresie ekologii. W publikacji autorka zwraca także uwagę na skuteczność funkcjonowania idei foodsharing, polegającej na dzieleniu się nadwyżkami żywności

zarówno przez konsumentów, jak i przedsiębiorców i wskazuje na istotność tego narzędzia w walce z negatywnym zjawiskiem, jakim jest marnotrawienie żywności.

2. Łańcuch żywnościowy – istota, problemy i sposoby ich rozwiązywania

Zgodnie z definicją wynikającej z normy ISO 22000 łańcuch żywnościowy można zdefiniować, jako układ etapów w czasie realizacji procesów produkcji, przetwórstwa, dystrybucji, magazynowania oraz postępowania zarówno z produktem gotowym, jak i jego składowymi. Dodatkowo W. Szymanowski twierdzi, że powyższe działania, muszą być wsparte sprawnym przepływem informacji (Szymanowski 2008). Zdaniem autorki niniejszej publikacji, biorąc pod uwagę słuszność obu wyjaśnień najbardziej trafną definicją łańcucha żywności jest stworzona przez J. van der Vors„sekwencja procesów (decyzji i realizacji) oraz przepływów (materiałów, pieniędzy, produktów, informacji) ukierunkowanych na zaspokojenie potrzeb finalnego konsumenta, mające miejsce w ramach i pomiędzy poszczególnymi elementami łańcucha”(Vorst 2000). Zasady przepływów od produkcji pierwotnej aż do konsumpcji kształtują łańcuch żywnościowy (Gołębiewski 2010). Określają go składowe ogniwa agrobiznesu, którymi, są środki produkcji i usługi, rolnictwo, przemysł spożywczy (przetwórstwo), obrót towarowy, konsumpcja (Chechelski 2015). Cytując Czyżewskiego, powyższe składowe „mają istotny wpływ na poziom dobrobytu gospodarczego, sytuację społeczną oraz ekologiczną obywateli” (Czyżewski 2001).

W literaturze przedmiotu dostępne są różne klasyfikacje produktów żywnościowych przemieszczanych w obrębie łańcucha żywnościowego. Z punktu widzenia tematyki rozważań niniejszego artykułu autorka za istotny uważa podział produktów żywnościowych z uwagi na kryterium, jakim jest świeżość i stopień przetworzenia(Grębowiec 2011). Bez względu na klasyfikacje, produkty spożywcze są w takim samym stopniu narażone na oddziaływanie czynników zewnętrznych. Odpowiadających za 80% przeprowadzanych utylizacji na pełnowartościowych produktach. Mimo, że zjawisko marnotrawienia oddziałuje na wszystkie elementy łańcucha żywnościowego, najbardziej problematyczne okazują się ostatnie jego etapy. Procesy magazynowania, dystrybucji oraz konsumpcji, gdzie odnotowywane jest marnowanie na poziomie 52%, są tego najlepszym przykładem(Grochowska 2015). Na wykresie 1 zaprezentowano procentowy udział sektorów gospodarczych biorących udział w końcowych operacjach łańcucha żywnościowego.

Wykres 1. Procentowy udział sektorów gospodarczych w marnowaniu żywności. źródło: http://www.green-projects.pl/2016/10/marno wanie-jedzenia-jak-rozwiazac-problem/

Największy odsetek żywności marnowany jest w gospodarstwach domowych. Prawdopodobnie wynika to z niewiedzy społeczeństwa na temat skali oraz konsekwencji istniejącego problemu.W środowisku konsumenckim zjawisko to ma silne tendencje rozwojowe. Impulsywne zakupy, często dokonywanewzbyt dużych ilościach to jedna z głównych tego przyczyn. Silny wpływ na decyzjekonsumentów mają działania placówek handlowych. Przez coraz większą konkurencję na rynku handlowym wprowadzają one coraz bardziej zaawansowane narzędzia merchandisingu. Polegają one m.in. na odpowiednim zaplanowaniu sali sprzedażowej, czy ekspozycji oraz promocjach typu kup dwa zapłać mniej. Mają one na celu wzrost osiąganych zysków poprzez zachęcanie konsumentów do niekontrolowanych zakupów. Wpływa to bezpośrednio na tak wysoki wskaźnik (51%) marnowania żywności w tym sektorze z powodu przekroczenie terminu przydatności do spożycia. Innymi przyczynami, są również:

- nieumiejętne przechowywaniu żywności;
- zakup produktów niskiej jakości;
- przygotowywanie zbyt dużej ilości jedzenia (resztki talerzowe);
- brak pomysłów na powtórne wykorzystanie produktów do innych dań;

Kolejną grupą, w jakiej odnotowywany jest wysoki poziom marnowania żywności są jej producenci. W przypadku tej grupy problem wynika głównie ze złego planowania procesu produkcyjnego m.in. wielkości produkcji, czy stanów magazynowych oraz ubytków powstających w czasie trwania procesów przetwórstwa wstępnego (np. przesiewanie, mielenie) jak i wtórnego (gotowanie, smażenie).

Przedsiębiorstwa świadczące usługi żywieniowe są odpowiedzialne za 14% ogólnej ilości marnowanej żywności. Na utylizacjew tym punkcie łańcucha żywnościowego duży wpływ ma niewiedza. Stąd wnioski, że rozwiązań w tym sektorze można szukać zarówno w szkoleniach personelu, jak i w uwrażliwieniu klientów na problem tego zjawiska. Wyszkolenie personelu, zdaniem autorki niniejszej publikacji, na pewno pomogłoby w uniknięciu kilku czynników, które przyczyniają się do zakwalifikowania produktów do utylizacji (są nimi m.in.: złe rozplanowanie i przechowywanie zapasów, niedopasowanie oferty do preferencji klientów, nieprawidłowa obróbka surowców, wyrzucanie nadwyżek żywności oraz częściowo zużytych produktów).Rozwiązanie problemów w tym sektorze często przychodzi samo po ponownym rozplanowaniu procesu zamówień, magazynowania, czy przygotowania i serwowania posiłków.

Ostatnim ogniwem, są przedsiębiorstwa dystrybujące towary klientom końcowym. Według Moniera osiągnięcie tak niskiego poziomu (5%) jest możliwe poprzez wsparcie sprzedaży produktów przez różnorodne działania marketingowe (Monieri in. 2010). Największy odsetek marnowania żywności jest spowodowany przez:

- nieumiejętne zarządzanie zapasami;
- brak strategii marketingowej
- nieodpowiednie przechowywanie, np. niezachowanie ciągłości w „łańcuchu chłodniczym”;
- brak działań merchandisingu;

Proces transportu jest obecny we wszystkich etapach łańcucha żywnościowego. Zapewnia on ciągły obrót między ogniwami. Podczas przewozu żywność narażona jest na wiele czynników, które mogą spowodować obniżenie jej jakości. Z tego powodu dostawcy są zobligowani do przestrzegania określonych, bardzo restrykcyjnych przepisów. Podczas transportu najwięcej zagrożeń pojawia się przy załadunku oraz rozładunku towaru. Rodzaj towaru narzuca na przedsiębiorców sposób oraz warunki przewozu. W planowaniu jest on zobowiązany uwzględnić:

- wymagania temperaturowe;
- metody składowania na jednostkach ładunkowych;
- czas procesu;
- zabezpieczenie produktów przed uszkodzeniem.

Prawidłowe zaplanowanie powyższych pozycji umożliwia zmniejszenie strat żywności o ponad połowę. Zagrożenie również stanowi niedostosowanie dynamiki jazdy do warunków panujących na drodze. Na skutek wypadków drogowych, często mimo zastosowania

odpowiednich zabezpieczeń dochodzi do obniżenia jakości przewożonych produktów. W większości przypadków produkty nadal są zdatne do spożycia, ponieważ w żaden sposób nie tracą one cech pełnowartościowego towaru.Niestety produkty z uszkodzeniami mechanicznymi (np. wgniecenie opakowania jednostkowego) najczęściej nie trafiają do obiegu. Taki towar nie jest również dobrze widziany na półkach przez nabywców. Odpowiedni dobór materiałów użytych do produkcji opakowań oraz jego kształt mogłoby ograniczyć szkody powstałe podczas kolizji drogowej.

Walka z marnotrawieniem produktów jest procesem dość skomplikowanym. Wpływają na to różne czynniki oddziaływujące na łańcuch żywności oraz konflikty interesów politycznych, ekonomicznych i społecznych. Zwolnienia z podatku VAT darowizn czy zrównoważenie produkcji nie wpłynie na decyzje podejmowane w gospodarstwach domowych. A to właśnie konsumenci utylizują najwięcej pełnowartościowej żywności. Prawie ⅔strat w tym sektorze udałoby się uniknąć, poszerzając świadomość społeczeństwa o tym zjawisku. Z tego powodu tak ważne, są programy oraz kampanie społecznościowe skierowane do klientów ostatecznych, które coraz chętniej wspierają. Ich pomoc często widać w postaci pracy wolontaryjnej. Odpowiednim przykładem idei społecznościowej jest już we wstępie wspomniany *foodsharing*, który cieszy się z dnia na dzień coraz większą popularnością.

3. Foodsharing jako istotne narzędzie rozwiązywania problemów w łańcuchu żywnościowym w Polsce i na świecie

Pojęcie *Foodsharing* (z ang. *food* – jedzenie, *share* – dzielić) nie posiadaoficjalnie przyjętej definicji. Tłumaczyć je można jako proces bezpłatnego dzielenia się nadwyżką żywności lub wymianą produktów w przeznaczonych do tego lokalizacjach w przestrzeni publicznej.W obecnych czasach częstszym zjawiskiem jest nad konsumpcjonizm, czyli nabywanie zbyt dużej ilości żywności przez konsumentów. Jedną z głównych wad takiego zachowania jest wyrzucanie produktów zdatnych do spożycia. W takich sytuacjach idealnym rozwiązaniem stają się punkty foodsharing w Polsce nazywane potocznie jadłodzielnią. Z obserwacji właścicielki jednej z warszawskich punktów wynika, że w ciągu roku można uratować żywności na poziomie 1 tony, co daje wynik rocznego wyżywienia dorosłej osoby. Pokazuje również, że nie jedyną zaletą tego przedsięwzięcia jest pomoc potrzebującym, czy osobom, które z różnych pobudek ograniczają wydatki na żywność. Oprócz produktów takich jak pieczywo, kasze czy owoce do punktów trafiają również domowe przetwory. Przyjmowane jest wszystko z wyjątkiem mięsa, alkoholu i produktów zawierających surowe jaja. Każdy właściciel punktu bierze w pewnym stopniu odpowiedzialność za to, co przyjmuje

oraz oferuje.Mimo zachowania wszelkich norm bezpieczeństwa nabywcy korzystają z punktów na własną odpowiedzialność. Wciąż rosnące nimi zainteresowanie pokazuje, że nie stanowi to żadnego problemu. Do dzielenia się żywnością, są chętne nie tylko osoby prywatne, ale również przedsiębiorstwa. Systemjest bardzo prosty, nieodpłatny oraz dostępny dla każdegoz dawców jak i biorców produktów. Wszystkie punkty działają tylko dzięki wolontariuszom, których pomoc jest nieoceniona przy takim rodzaju przedsięwzięcia. Do ich zadań należy:

- odbiór żywności przeznaczonej do punktów zbiórki;
- rozpowszechnianie wiedzy o punktach jadłodzielni;
- rozwijanie inicjatywy np. zakup lodówek, półek;
- kontrola przydatności do spożycia produktów;
- pilnowanie czystości.

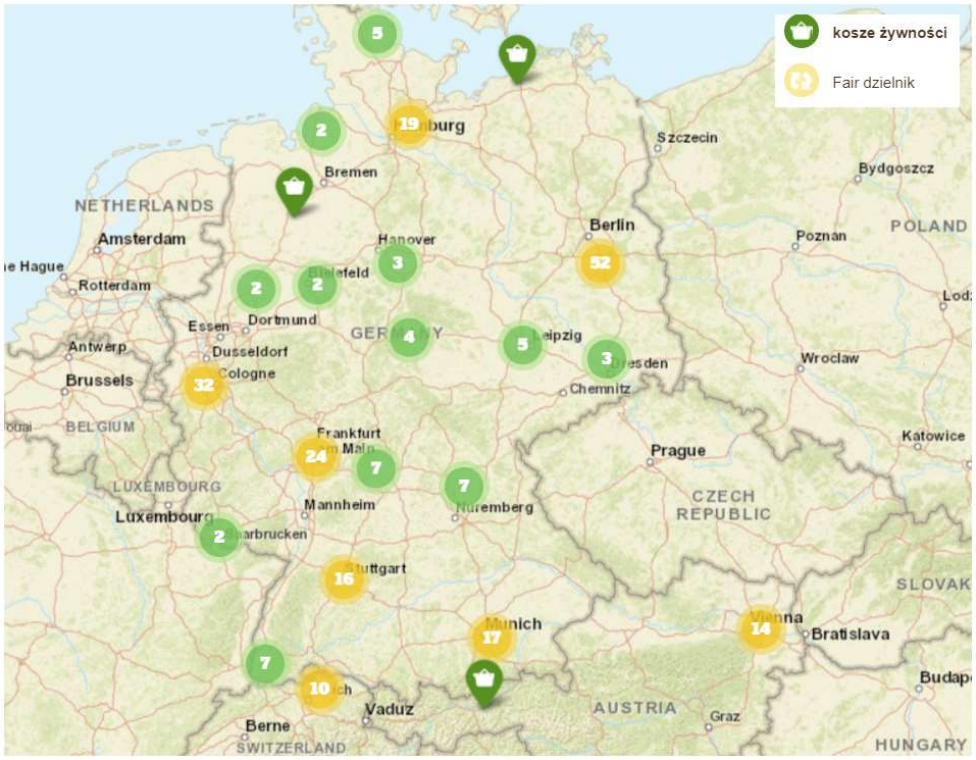
W Polsce istnieje 27 punktów dzielenia się żywnością. Założenie jadłodzielni wcale nie jest trudnym zadaniem. W tym celu należy:

1. Zebraćwolontariuszy.
2. Znaleźć lokalizacje ogólnodostępną z dostępem do prądu.
3. Uzyskać zgodę od sanepidu.
4. Zorganizować lodówki oraz skrzynki na żywność.
5. Stworzyć kanał komunikacyjny.

W Polsce do tej pory nie powstała jedna aplikacja mobilna wspierająca działania wszystkich funkcjonujących punktów*foodsharing*. Powstało kilkamających na celu integrację bliskiego środowiska, lecz nie działają one zgodnie z oczekiwaniami. Obecnie najbardziej skutecznym kanałem informacyjnym, są media społecznościowe, czy plakaty. Inaczej to wygląda za granicą.

W Niemczech, gdzie powstała inicjatywa *foodsharing* obecnie działakilkaset takich punktów wspieranych przez tysiące aktywistów. Opiera się ona na komunikacji między dawcami a nabywcami poprzez aplikacje mobilne o zasięgu lokalnym oraz na utworzonej bezpłatnej platformie internetowej, która obejmuje swoim zasięgiem cały kraj (zob. rys. 1).

Akcja również znana jest np. w Libanie, gdzie ludzie oprócz jedzenia dzielą się odzieżą i sprzętem. Co ciekawe oprócz standardowych punktów stacjonarnych np. w Kolonii wolontariusze poszli o krok do przodu i powstały punkty mobilne. Plastikowe pojemniki termiczne, są umiejscowione na rowerach stacjonujących przy dwóch głównych stacjach metra.



Rys. 1. Mapa punktów foodsharing na terenie Niemiec. źródło: https://foodsharing.at/karte

4. Wnioski

Na każdym etapie operacji dokonywanych w ramach łańcucha żywnościowego istnieje kilkadziesiąt czynników, które mogą spowodować niedopuszczenie towaru do dystrybucji. Najwięcej takich produktów powstaje podczas ich produkcji. Najczęstsze błędy wynikają z niewłaściwego rozplanowania tego procesu. Najlepszym tego przykładem jest wadliwe planowanie wielkości produkcji, czy stanów magazynowych. Jak wynika z rozważań powyższego artykułu prawie połowa utylizowanej żywności powstaje po procesie dystrybucji. Jednostką odpowiedzialną za tak wysoki odsetek marnowanej żywności jest sam konsument. Spowodowane jest to zjawiskiem nad konsumpcjonizmu, na który silny wpływ mają działania merchandisingowe wprowadzane przez handlowców na ich przestrzeni handlowej.

Klienci, często korzystają z promocji oferowanej przez placówki handlowe nie zastanawiając się, czy produkty, które kupują np. w większej ilości niż planowali z powodu niższej ceny, są im potrzebne. Skala problemu wynika z niewiedzy społeczeństwa o zasięgu istniejącego problemu oraz o konsekwencjach, które za sobą niesie. Ewidentnie widać jak ważne jest zaangażowanie osób fizycznych w kampanie walczące z marnotrawieniem żywności. W ostatnich latach pojawiło się bardzo dużo kampanii społecznych podejmujących walkę z tym negatywnym zjawiskiem. Jednym z nich jest idea foodsharing, która swoim działaniem łączy dwa najważniejsza elementy. Projekt ten zarówno uświadamia ludzi oraz przyczynia się

do minimalizacji ilości utylizowanej żywności poprzez dzielenie się nim w określonych lokalizacjach użytku publicznego. Przy okazji również wpływa korzystanie na zasoby naturalne (energia, woda) orazaspekty społeczne (poszanowanie ludzkiej pracy). Kampania działa w kilkunastu państwach i wciąż zyskuje na popularności rozszerzając swoje działanie na odzież, czy sprzęty elektroniczne.

5. Literatura

Norma:EN ISO 22000:2005 pkt 3.2

Cederberg Ch., Gustavsson J. , Sonesson U, Van Otterdijk R, Meybeck A., 2011. Global Food Losses and Food Waste: Extent, Causes and Prevention. FAO, Rome, Italy

Chechelski P., 2015. Ewolucja łańcucha żywnościowego, [w:] Szczepaniak I., Firlej K. (red.), Przemysł spożywczy – makrootoczenie, inwestycje, ekspansja zagraniczna, Fundacja Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie,

Dąbrowska A., Janoś-Kresło M., 2013. Handel Wewnętrzny, [w:] Marnowanie żywności jako problem społeczny. Nr 4.

Gołębiewski J., 2010. Efektywność systemów marketingowych w gospodarce żywnościowej, Wyd. SGGW

Grębowiec M., 2011. Powiązania logistyczne i ich znaczenie na rynku dóbr żywnościowych Łańcuch żywnościowy i jego elementy [w:] Logistyka, nr 6

Grochowska R. (red.), 2015. Ocena strat ponoszonych na poszczególnych etapach łańcucha mleczarskiego w Polsce. Studia i Monografie 162, 5–17.

Kryża K., Szczepanik G., Błaszkiewicz P. 2011: Technologiczny aspekt zarządzania jakością i bezpieczeństwem zdrowotnym. Problemy Jakości. 37-42

Monier, V.; Mudgal, S.; Escalon, V.; O'Connor, C.; Gibon, T.; Anderson, G.; Montoux, H.; Reisinger, H.; Dolley, P.; Ogilvie, S.; Morton, G., 2010. Sprawozdanie końcowe - Analiza przygotowawcza na temat marnotrawienia żywności w UE-27. Komisja Europejska

Szerzej W.,2014. Systemy logistyczne w funkcjonowaniu przedsiębiorstw przetwórstwa rolno-spożywczego. Wydawnictwo SGGW

Szymanowski W., 2008. Zarządzanie łańcuchami dostaw żywności w Polsce. Kierunki zmian. Wydawnictwo Difin

Van der Vorst J..2000. Effective food supplychains. Generating, modelling and evaluatingsupplychainscenarios. Uniwersytet Wegeningen

Zawadzki R., 2013. Transport: Błędy w łańcuchu. Forum Mleczarskie Handel 2

https://www.forbes.pl/wiadomosci/banki-zywnosci-13-mld-ton-zywnosci-rocznie-marnuje-sie-na-swiecie/rkjf89j

https://www.forummleczarskie.pl/RAPORTY/323/transport-bledy-w-lancuchu/#
http://www.newsweek.pl/polska/foodsharing,artykuly,406657,1.html
http://www.niemarnuje.pl/files/sdz_2012_10_16_raport_marnowanie_fpbz.pdf
http://niezalezna.pl/208090-jadlodzielnia-miejsce-w-ktorym-mozna-dzielic-i-wymieniac-sie-jedzeniem
https://www.teraz-srodowisko.pl/?AK2661
http://ungc.org.pl/sdg/sustainable-develompent-goals/
https://wethecrowd.pl/przewodnik-sharing-economy-4-foodsharing/
http://www.wzieu.pl/files/mat_dyd/ladun/Ladunkoznawstwo_konspekt.pdf
http://www.zppnr.sggw.pl/584-07.pdf

Nauka, Badania
i Doniesienia Naukowe
2018