

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Przegląd badań

Część II



www.mlodzinaukowcy.com

Poznań 2023

Redakcja naukowa

dr Jędrzej Nyckowiak

dr hab. Jacek Leśny, prof. UPWR

Wydawca

Młodzi Naukowcy

www.mlodzinaukowcy.com

wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com

ISBN (całość 978-83-66743-97-7)

ISBN (wydanie online 978-83-67991-01-8)

ISBN (wydanie drukowane 978-83-67991-02-5)

Data wydania: wrzesień 2023

Niniejsza pozycja jest monografią naukową. Jej rozdziały zostały wydrukowane zgodnie z przesłanymi tekstami po ich zaakceptowaniu przez recenzentów. Odpowiedzialność za zgodne z prawem wykorzystanie użytych materiałów ponoszą autorzy poszczególnych rozdziałów.

Spis treści

1. Pylenie kilku gatunków z rodzaju <i>Paeonia</i>	7
<i>Ewelina Chrzanowska, Bożena Denisow</i>	
2. Wyznaczanie parametrów wytrzymałościowych wybranej struktury auksetycznej	13
<i>Mikołaj Imielski, Jerzy Kopeć, Mateusz Śliwka</i>	
3. Wpływ obróbki termicznej na zawartość azotanów w parówkach	23
<i>Milena Janusz, Małgorzata Kowczyk-Sadowy, Paweł Cwalina, Katarzyna Dobkowska</i>	
4. Wykorzystanie narzędzi symulacyjnych w procesie projektowania automatycznych układów sterowania	32
<i>Jasinowicz Szymon, Czopek Karol, Dylong Artur</i>	
5. Potrzeba identyfikacji i potwierdzenia autentyczności herbat Pu-erh	39
<i>Kaja Karwowska, Łukasz Długoński</i>	
6. Bogactwo gatunkowe wysp drzewostanów dębowych w monokulturach sosnowych zachodniej części Borów Stobrawskich	45
<i>Mazurek Natalia</i>	
7. Zdolność rozkładu substratu pozyskanego z drewna Sosny zwyczajnej przez wybrane gatunki grzybów zgniliznowych	55
<i>Małgorzata Osmenda, Czesław Bartnik, Katarzyna Nawrot-Chorabik</i>	
8. Zastosowanie otoczkowanej miedzi w żywieniu zwierząt gospodarskich	62
<i>Płatek Arkadiusz Marek, Wilk Martyna</i>	
9. Widma w podczerwieni i analiza obliczeniowa galanginy i kaempferolu	68
<i>Sokal Arkadiusz, Stoczerz Klaudia, Kadela-Tomanek Monika, Kubina Robert</i>	
10. Wykorzystanie technik spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego do analizy struktury flawonoli	74
<i>Arkadiusz Sokal, Klaudia Stoczerz, Monika Kadela-Tomanek, Robert Kubina</i>	
11. Wybrane certyfikowane systemy utrzymania drobiu w Polsce i Europie	83
<i>Paulina Wac, Zuzanna Bąk, Maria Sysik, Dawid Ziobro, Justyna Batkowska, Kamil Drabik</i>	

Przedmowa

Szanowni Państwo, wydawnictwo „Młodzi Naukowcy” oddaje do rąk czytelnika kolekcję monografii naukowych dotyczących szerokiego spektrum nauk. Znajdują się tutaj pozycje dotyczące nauk medycznych i nauk o zdrowiu, nauk przyrodniczych, technicznych i inżynierskich oraz szeroko pojętych nauk humanistycznych i społecznych.

W prezentowanych monografiach poruszany jest bardzo szeroki przekrój zagadnień, jednak każda z osobna składa się z wielu rozdziałów, dających jednocześnie bardzo dobry przegląd tematyki naukowej jaką zajmują się studenci studiów doktoranckich lub ich najmłodszy absolwenci, którzy uzyskali już stopień doktora.

Czytelnikom życzymy wielu przemyśleń związanych z tematyką zaprezentowanych prac. Uważamy, że doktoranci i młodzi badacze z pasją i bardzo profesjonalnie podchodzą do swojej pracy, a doświadczenie jakie nabierają publikując prace w monografiach wydawnictwa „Młodzi Naukowcy”, pozwoli im udoskonalać swój warsztat pracy. Dzięki temu, z pewnością wielu autorów niniejszych prac, z czasem zacznie publikować prace naukowe w prestiżowych czasopiśmie. Przyczyni się to zarówno do rozwoju nauki, jak i każdego autora, budując jego potencjał naukowy i osobisty.

Redakcja

1. Pylenie kilku gatunków z rodzaju *Paeonia*

Pollen release in several species of the genus *Paeonia*

Ewelina Chrzanowska⁽¹⁾, Bożena Denisow⁽²⁾

⁽¹⁾SKN Biologów Sekcja Biokosmetologii, Katedra Botaniki i Fizjologii Roślin, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ewelina.chrzanowska@onet.pl

⁽²⁾Katedra Botaniki i Fizjologii Roślin, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Opiekun naukowy: prof. dr hab. Bożena Denisow

Denisow Bożena: bozena.denisow@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: piwonia, pyłek kwiatowy, surowiec naturalny, wydajność pyłkowa, pylnik

Streszczenie

Pyłek pszczeli ze względu na dużą zawartość składników bioaktywnych, np. kwasów tłuszczowych, białek, witamin, enzymów czy polifenoli budzi zainteresowanie w kontekście możliwości jego zastosowania w różnych dziedzinach. Pyłek wykazuje m.in. właściwości przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe. Dzięki temu szczególnie skupia uwagę w medycynie, dietetyce i kosmetologii. Istnieje wiele możliwości zastosowania pyłku pszczelego, np. może być on wykorzystywany w terapii chorób, jako suplement diety lub jako składnik aktywny preparatów kosmetycznych.

Celem niniejszej pracy było określenie potencjału pyłkowego trzech gatunków z rodzaju *Paeonia* (*P. suffruticosa* Andrews, *P. Wittmanniana* Hartwiss ex Lindl. oraz *P. officinalis* ssp. *microcarpa* Nyman).

Badane gatunki różniły się liczbą pręcików wytwarzanych w kwitach. Wykazano brak różnice masy pyłku produkowanego w kwiatach pomiędzy gatunkami oraz fazami kwitnienia piwonii. Ziarna pyłku charakteryzuje wysoka żywotność wynosząca 100% dla trzech badanych gatunków piwonii. Wykazano obecność skrobi oraz tłuszczu (67,9%-75,6%) w ziarnach pyłku piwonii.

1. Wstęp

Pyłek kwiatowy występuje w roślinach i jest determinantem roślinnego rozmnażania płciowego. Z pyłku kwiatowego roślin owadopylnych pszczoły miodne wytwarzają obnóża, które na ryku noszą nazwę pyłku pszczelego lub obnóży pszczelich (Denisow i Denisow-Pietrzyk 2016).

Pyłek pszczeli jest surowcem produkowanym przez pszczoły miodne poprzez obróbkę pyłku kwiatowego (Kurek-Górecka i in. 2018). W procesie tworzenia obnóży pyłek kwiatowy mieszany jest z nektarem i substancjami będącymi wytworem gruczołów ślinowych. Dla pszczoł miodnych pyłek stanowi niezwykle istotny aspekt żywieniowy. Jest pokarmem zarówno osobników dorosłych, jak i larw (Llie i in. 2022). Pyłek charakteryzuje się bogatym składem chemicznym, jednak dokładna zawartość związków bioaktywnych w jego składzie uzależniona jest od rodzaju rośliny, z której pochodzi. Zawiera on od 20 do 40% białek (w tym aminokwasy egzogenne, np.: leucyna, treonina), od 15 do 48% węglowodanów oraz od 2 do 14% tłuszczu (w tym kwasy zaliczane do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, np.: kwas linolowy). Ponadto w pyłku obecne są związki fenolowe, witaminy (np.: A, E, D), kwasy (np.: foliowy, pantotenowy), makroelementy i mikroelementy (np.: wapń, potas, żelazo, cynk) (Komosinska-Vashev i in. 2015). Na skład chemiczny pyłku ma także wpływ rodzaj rozpuszczalnika jaki został użyty do jego ekstrakcji lub warunki przechowywania (Llie i in. 2022).

Pyłek pszczeli stosowany był przez ludzi od starożytności. Medycyna ludowa czerpała korzyści płynące ze stosowania obnóży pszczelich w wielu dolegliwościach (Denisow i Denisow-Pietrzyk 2016). W czasach starożytnego Egiptu nazywany był życiodajnym pyłem. Wykorzystywano

go przy leczeniu schorzeń, a także w diecie, ponieważ charakteryzuje się on wysoką zawartością białka. Uznawany był jako substancja antybiotyczna w terapii wątroby i nerek (Mārgāoan i in. 2019).

Obecnie pyłek pszczeleli wzbudza coraz większe zainteresowanie w użytkowaniu. Możliwości jego zastosowania w medycynie alternatywnej i apiterapii sprawiają, iż konsumenci są nim zainteresowani (Denisow i Denisow-Pietrzyk 2016). Panujące trendy, które obejmują zastosowanie naturalnych produktów w wielu dziedzinach życia oraz rosnące oczekiwania konsumentów wobec składników pochodzenia naturalnego sprawiają, iż coraz więcej naturalnych składników zyskuje popularność. Pyłek pszczeleli, który wykazuje działanie odżywcze, lecznicze, pielęgnacyjne oraz terapeutyczne jest surowcem o szerokim spektrum możliwości zastosowania go w przemyśle dietetycznym, medycznym, kosmetycznym, a jako substancja naturalna niezwykle korzystnie wpisuje się w panujące trendy (Algethami i in. 2022). Ponadto dynamiczny rozwój rynku kosmetycznego powoduje zapotrzebowanie na coraz to nowsze receptury kosmetyczne. Ze względu na poprawiającą się świadomość konsumentką związaną z pielęgnacją ciała korzystne jest opracowywanie produktów kosmetycznych w oparciu o naturalne surowce, ponieważ przeprowadzone badania dotyczące preferencji konsumentów związanych z kosmetykami naturalnymi wykazały, że jednym z najistotniejszych czynników wyboru kosmetyku jest jego skład i pozytywne oddziaływanie na zdrowie (Firek i Dziadkowiec 2020). Pyłek pszczeleli zaliczyć można do apiterapeutyków, czyli naturalnych substancji, które posiadają zatwierdzone działanie terapeutyczne (Komosinska-Vassev i in. 2015).

Obecność w pyłku wielu związków (ponad 200) wykazujących działanie biologicznie czynne determinuje liczne właściwości pyłku. W aspekcie dietetycznym pyłek pszczeleli uważany jest za żywność funkcjonalną. Żywność funkcjonalna oprócz właściwości odżywczych wykazuje także wartości dodane, prozdrotowne, które mogą poprawiać jakość życia oraz dobrze wpływać na samopoczucie (Mārgāoan i in. 2019). Spożywanie pyłku pszczelego w codziennej diecie w postaci suplementu diety wpływa korzystnie m.in. na odporność, zwiększenie aktywności umysłowej i fizycznej oraz pobudzenie krążenia krwi (Llie i in. 2022). Ponadto suplementacja obnóży pszczelich umożliwia przyspieszenie regeneracji organizmu w wyniku niedożywienia (Denisow i Denisow-Pietrzyk 2016). Pyłek pszczeleli doceniany jest także w kosmetologii. Wykorzystanie potencjału pyłku w składzie preparatów kosmetycznych jest możliwe dzięki zastosowaniu ekstraktów (np. etanolowych, wodnych) spoządzonych na bazie pyłku. Pyłek zastosować można w maseczkach, kremach, lotionach, tonikach, odżywkach i szamponach do włosów. (Kędzia i Hołderna-Kędzia 2016). Produkty kosmetyczne zawierające pyłek w swoim składzie wpływają korzystnie na choroby skórne, na przykład związane z nadmierną produkcją łoju (trądzik, łojotokowe zapalenie skóry), a także wspomagają walkę z przebarwieniami. Ponadto pyłek wykazuje skuteczne działanie nawilżające skórę, poprawia jej napięcie i gładkość, działa przeciwutleniająco i przeciwstarzeniowo, wspomaga utrzymanie młodego i promiennego wyglądu skóry (Algethami i in. 2022). Przeciwutleniające właściwości pyłku pszczelego determinowane są obecnością związków fenolowych (flawonoidów) (Mārgāoan i in. 2019), aktywnością enzymów antyoksydacyjnych oraz zawartością witamin C i E (Denisow i Denisow-Pietrzyk 2016). Silne działanie antyoksydacyjne sprawia, że pyłek efektywnie wpływa na neutralizowanie reaktywnych form tlenu, które pojawiają się w organizmie w wyniku stresu oksydacyjnego, a dzięki temu obniża poziom wolnych rodników i wspomaga zahamowanie procesów starzenia organizmu (Kurek-Górecka i in. 2018). Pyłek pszczeleli można poddać procesowi nanonizacji, dzięki czemu zwiększona zostaje jego biodostępność dla organizmu. Nanoizacja pyłku ułatwia jego aplikowanie na skórę, a tym samym zwiększona jest jego aktywność i działanie. Ponadto odnotowano poprawę stanu skóry (szorstkość, wilgotność, spłykanie zmarszczek) w badaniach aplikacyjnych związanych z pyłkiem pszczelim po procesie nanonizacji (Pyeon i in. 2017). Medyczne właściwości pyłku pszczelego skupiają się m.in. na działaniu przeciwmiażdżycowym, przeciwwirusowym, przeciwalergicznym, terapeutycznym w stanach zapalnych związanych z gruczołem krokowym czy działaniu antybiotycznym wobec bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych. Istotne jest jednak, że wpływ pyłku pszczelego na drobnostrój zależy od stężenia zastosowanego ekstraktu z pyłkiem pszczelim (Denisow i Denisow-Pietrzyk 2016). Zastosowanie pyłku pszczelego efektywnie wpływa na proces ziarninowania skóry, a tym samym na sprawne gojenie się ran spowodowanych oparzeniami (Komosinska-Vassev i in. 2015). W leczeniu chorób

skórnych oprócz wdrożonego leczenia medycznego można zastosować kosmeceutyki zawierające m.in. obnóża pszczele. Kosmeceutyki stosowane jako kosmetyki lecznicze wspierać mogą terapię trądziku pospolitego czy wpływać hamująco na rozwój grzybów *Malassezia furfur*, które odpowiedzialne są za powstawanie łupieżu (Kędzia i Hołderna-Kędzia 2016). Dzięki wysokiej aktywności przeciwzapalnej działanie pyłku porównać można do niesteroidowych środków przeciwzapalnych. Stosowanie miejscowe pyłku pszczelego wspomaga eliminację dolegliwości bólowych oraz wpływa hamująco na agregację płytek krwi (Denisow i Denisow-Pietrzyk 2016). Obnóża pszczele wykazują korzystne działanie w przebiegu alergii oraz odczulania w jamie ustnej. Ponadto pyłek pszczeli może wspomagać terapię przeciwnowotworową. W badaniach polisacharydów pochodzących z pyłku pszelego wykazano, że związki te cechują się aktywnością przeciwnowotworową, a także łagodzą cierpienie związane z przyjmowaniem przez pacjentów chemioterapii (Mārgāoan i in. 2019). Pyłek wspomaga także terapię zaburzeń na tle psychicznym. Spożywanie pyłku pszczelego może skutecznie wpłynąć na wzrost witalności, polepszyć samopoczucie, zmniejszyć uczucie apatii i przygnębienia oraz wzmocnić system nerwowy (Kurek-Górecka i in. 2018). Dla uzyskania leczniczego efektu pyłku pszczelego można go spożywać w ilości 20-40 g/dzień (ilość dotyczy osób dorosłych) (Kędzia i Hołderna-Kędzia, 2016).

Celem niniejszej pracy było określenie produktywności pyłkowej trzech gatunkach piwonii (*Paeonia*) jako potencjalnego surowca do wykorzystania w preparatach kosmetycznych. Badano również niektóre cechy jakościowe pyłku.

2. Materiał i metody

W badaniu, które wykonano w 2022 roku, skorzystano z roślin uprawianych w kolekcji Ogrodu Botanicznego Uniwersytetu Marii Skłodowskiej-Curie w Lublinie.

Badanie obejmowało trzy gatunki piwonii należące do rodziny piwoniovatych (Paeoniaceae), tj.: *Paeonia suffruticosa* Andrews (piwonia drzewiasta), *P. Wittmanniana* Hartwiss ex Lindl. (piwonia Wittmanna) oraz *P. officinalis* ssp. *microcarpa* Nyman. (piwonia drobnoowocowa).

Określono termin kwitnienia oraz długość trwania poszczególnych faz kwitnienia (początek kwitnienia, pełnia i koniec). Początkową fazą kwitnienia nazwano okres, kiedy 10% wszystkich kwiatów rozpoczęło kwitnienie, za pełnię kwitnienia uznano okres kwitnienia 80% z wszystkich kwiatów, zaś za końcową fazę kwitnienia uznano, kiedy 80% badanych kwiatów uległo przekwitnięciu.

Dla określenia ilości wytwarzanego pyłku przez kwiaty piwonii materiał pobrano w każdej fazie kwitnienia (początek, pełnia, koniec) trzykrotnie. W celu ekstrakcji pyłku z pylników wykorzystano metodę eterowo-alkoholową (Dmitruk i in. 2021). W badaniu sprawdzono także cechy jakościowe pyłku (żywność w preparatach barwionych fuksyną, obecność tłuszczu w preparatach barwionych Sudanem III oraz skrobię w preparatach barwionych JKJ).

Uzyskane wyniki przeanalizowano statystycznie przy zastosowaniu statystyk opisowych oraz za pomocą analizy wariancji (ANOVA). Analizę *post-hoc* wykonano przy użyciu testu Tukey'a, przyjmując dopuszczalne ryzyko błędu (istotność różnic) wynoszące $\alpha=0.05$. Obliczeń dokonano w programie Statistica ver. 13.1 (StatSoft Polska).

3. Wyniki i dyskusja

3.1 Termin kwitnienia badanych gatunków piwonii

Według Kamenetsky i Dole (Kamenetsky i Dole 2012) okres kwitnienia gatunku *Paeonia* w Europie przypada wczesną wiosną. Kwitnienia wszystkich badanych gatunków piwonii przypadało w maju. Jako pierwsza rozpoczynała kwitnienie *P. officinalis* ssp. *microcarpa*, następnie kolejno zakwitły *P. Wittmanniana* oraz *P. suffruticosa*. W okresie wiosennym obserwuje się dużą aktywność pszczół miodnych, które zbierają pyłek i wykazują preferencje w stosunku do roślin dostarczających dużych ilości pyłku (Filipiak i in. 2022). Badane gatunki piwonii były bardzo chętnie odwiedzane przez robotnice pszczoły miodnej, co wskazuje że pyłek ten może występować w obnóżach pszczelich i być potencjalnym surowcem do zastosowań w preparatach kosmetycznych. Wymagane są jednak dalsze badania w kierunku określenia cech jakościowych pyłku.

3.2 Liczba pręcików wytwarzanych w kwiatach

Kwiaty badanych gatunków piwonii charakteryzują się wielopęcikowym androecium. Liczba pręcików w kwiatach piwonii wahała się od 171 do 281 pręcików. Najwięcej pręcików zaobserwowano w kwiatach *P. Wittmanniana* (średnio 235,91). *P. officinalis* ssp. *microcarpa* oraz *P. suffruticosa* wykształciły średnio 200,08 oraz 200,50 pręcików w przeliczeniu na jeden kwiat. Analiza statystyczna nie udokumentowała istotnych różnic w liczbie pręcików pomiędzy badanymi gatunkami *Paeonia*. Również inni badacze wskazują, że kwiaty piwonii wytwarzają wiele pręcików, np. w badaniu przeprowadzonym przez Andrieu i in. (2007) wykazano że w kwiatach *P. officinalis* występowało do 300 pręcików. Występowanie wielu pręcików jest cechą gatunków należących do niektórych rodzin botanicznych o dużym potencjale produktywności pyłkowej (Denisow i in. 2016 a, b).

Liczba pręcików wykształczanych w kwiatach zależała od fazy kwitnienia. Największą liczbę pręcików odnotowano w początkowej fazie kwitnienia, średnio 281,25 (Tab.1). W trakcie pełni kwitnienia liczba pręcików w kwiatach była o ok. 30% niższa w porównaniu do kwiatów rozkwitających w fazie początkowej. Najmniej pręcików występowało w kwiatach rozkwitających w fazie końcowej, średnio 171,83 pręciki. Wyznaczenie średniej liczby pręcików w kwiatach jest niezbędne do zbadania potencjału pyłkowego roślin (Kostryco i Chwil 2021).

Tab. 1. Liczba pręcików występujących w kwiatach w zależności od fazy kwitnienia (średnio z gatunków).

Faza	Liczba pręcików/kwiat	N	±SD
Początek	281,25 a	12	91,97
Pełnia	198 b	12	41,74
Koniec	171,83 b	12	31,82

3.3 Produkcja pyłku

Analiza statystyczna wykazała, że masa pyłku produkowanego w pylnikach i kwiatach nie różni się istotnie pomiędzy gatunkami (Tab.2). Średnia masa pyłku w jednym pylniku wynosiła 1,72 mg, a masa pyłku w jednym kwiecie wyniosła 0,377 g. Wartość ta znacznie przewyższa masę pyłku produkowanego w kwiatach gatunków uznawanych za gatunki o dobrej produktywności pyłkowej, np. kwiaty *Ranunculus lanuginosus* (Ranunculaceae) produkują od 2,07 do 3,78 mg pyłku, a *Anemone ranunculoides* (Ranunculaceae) od 1,45 do 2,17 mg pyłku (Dmitruk i in. 2021).

Tab. 2. Produktywność pyłkowa pylników oraz kwiatów trzech gatunków z rodzaju *Paeonia*.

Gatunek	Masa pyłku na jeden pylnik [mg]	N	±SD	Masa pyłku na jeden kwiat [g]	N	±SD
<i>P. officinalis</i> ssp. <i>microcarpa</i>	1,46 a	12	1,00	0,291 a	12	0,186
<i>P. Wittmanniana</i>	1,75 a	12	0,76	0,469 a	12	0,315
<i>P. suffruticosa</i>	1,96 a	12	1,30	0,371 b	12	0,229
średnio	1,72			0,377		

3.4 Cechy jakościowe ziaren pyłku

Pyłek badanych gatunków piwonii charakteryzował się wysoką żywotnością wynoszącą 100% niezależnie od gatunku i fazy kwitnienia (Tab.3). W badaniach przeprowadzonych przez Du i współautorów (2019) żywotność ziaren pyłku wahała się od 49 do 80%. Żywotność pyłku jest cechą, która wykazuje dużą zmienność w zależności od czynników biotycznych (np. gatunku) oraz abiotycznych (warunków atmosferycznych w trakcie kwitnienia) (Dmitruk i in. 2021; Kostryco

i Chwil 2021). Brak różnic w badaniach własnych może wskazywać na małą podatność pyłku piwonii na czynniki zewnętrzne lub nie wystąpił czynnik, który może powodować spadek żywotności ziaren pyłku. W testach cytochemicznych wykazano obecność skrobi oraz tłuszczu w pyłku badanych gatunków piwonii (*P. officinalis* ssp. *microcarpa*, *P. Wittmanniana*, *P. suffruticosa*). W analizie obecności skrobi w ziarnach pyłku wyróżniono ziarna pyłku wybarwione całkowicie i częściowo. Dane dotyczące ziaren pyłku wybarwionych całkowicie nie różniły się istotnie w badanych gatunkach piwonii i wahały się od 17,9 do 19,7%. W przypadku ziaren wybarwionych częściowo odnotowano największą wartość w gatunku *P. officinalis* ssp. *microcarpa* (63,4%). W pozostałych gatunkach zgromadzone dane wykazywały podobną wartość, nieróżniącą się statystycznie (dla *P. Suffruticosa* 32,6%, dla *P. Wittmanniana* 40,4%) Skrobia obecna w ziarnach pyłku roślin spełnia rolę węglowodanu magazynującego (Lee i in. 2022). Zawartość tłuszczu w ziarnach pyłku nie była cechą zależną od gatunku. We wszystkich badanych gatunkach piwonii odnotowano zbliżoną wartość ziaren wypełnionych tłuszczem. Dane te nie wykazały istotnych różnic i wahały się od 67,9 do 75,6%.

Tab. 3. Żywotność oraz udział ziaren pyłku zawierających skrobię i tłuszcz w pyłku trzech gatunków z rodzaju *Paeonia*.

Gatunek	Faza kwitnienia	Żywotność pyłku	% ziaren pyłku wypełnionych skrobią						% ziaren pyłku wypełnionych tłuszczem		
			Całkowicie			Częściowo			średnio	±SD	V%
			średnio	±SD	V%	średnio	±SD	V%			
<i>P. officinalis</i> ssp. <i>microcarpa</i>	początek	100%	13,0	6,0	46,2	81,0	4,0	4,9	64,0	7,9	12,4
	pełnia		20,3	7,6	37,6	58,0	5,6	9,6	77,3	6,5	8,4
	koniec		20,3	4,9	24,3	51,3	13,7	26,6	65,0	6,0	9,2
	średnio		17,9 a			63,4 a			68,8 a		
<i>P. Wittmanniana</i>	początek	100%	21,7	7,0	32,4	45,7	10,7	23,4	76,3	5,0	6,6
	pełnia		28,7	4,9	17,2	54,0	4,6	8,5	80,3	6,0	7,5
	koniec		8,7	5,5	63,5	21,7	6,0	27,8	70,0	8,5	12,2
	średnio		19,7 a			40,4 b			75,6 a		
<i>P. suffruticosa</i>	początek	100%	32,3	7,6	23,6	42,3	6,7	15,7	64,0	7,5	11,8
	pełnia		7,7	3,5	45,8	36,0	15,7	43,7	70,3	4,0	5,7
	koniec		16,7	4,2	25,0	19,3	4,2	21,5	69,3	2,5	3,6
	średnio		18,9 a			32,6 b			67,9 a		

4. Wnioski

Wykazano, że gatunki *Paeonia* (*P. officinalis* ssp. *microcarpa*, *P. Wittmanniana*, *P. suffruticosa*) charakteryzuje wielopęcikowe androecium. Największa liczba pęcików występuje w kwiatach rozwijających się w początkowej fazie kwitnienia poszczególnych gatunków. Masa pyłku produkowanego w pylnikach i kwiatach nie różni się istotnie pomiędzy badanymi gatunkami piwonii, co wskazuje na ich podobny potencjał pyłkowy. Pyłek piwonii zawiera tłuszcz i skrobię. Gatunki piwonii są chętnie odwiedzane przez robotnice pszczoły miodnej, która formuje z pyłku obnóża. W dalszych badaniach należy koncentrować się na określeniu cech jakościowych pyłku, w celu oceny możliwości ewentualnego wykorzystania tego pyłku w preparatach kosmetycznych.

5. Literatura

Algethami JS, El-Wahed AAA, Elashal MH i in. (2022) Bee Pollen: Clinical Trials and Patent Applications. *Nutrients* 14: 2858.

- Andrieu E, Debussche M, Thompson JD (2007) Size-dependent reproduction and gender modification in the hermaphroditic perennial plant *Paeonia officinalis*. *International Journal of Plant Sciences* 168 (4): 435–441.
- Denisow B, Denisow-Pietrzyk M (2016) Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(13): 4303-4309.
- Denisow B, Strzałkowska-Abramek M, Jeżak A (2016a) Floral reward in Ranunculaceae species. *Modern Phytomorphology* 9: 87-88.
- Denisow B, Wrzesień M, Jachuła J (2016b) Chosen aspects of flowering of Ranunculaceae representatives in Poland. *Modern Phytomorphology* 9: 85.
- Dmitruk M, Wrzesień M, Strzałkowska-Abramek M i in. (2021) Pollen food resources to help pollinators. A study of five Ranunculaceae species in urban forest. *Urban Forestry & Urban Greening* 60: 127051.
- Du G, Xu J, Gao C i in. (2019) Effect of low storage temperature on pollen viability of fifteen herbaceous peonies. *Biotechnologu Reports* 21: e00309.
- Filipiak MZ, Denisow B, Stawiarz E i in. (2022) Unravelling the dependence of a wild bee on floral diversity and composition using a feeding experiment. *Science of The Total Environment* 820: 153326.
- Firek A, Dziadkowiec JM (2020) Preferencje i zachowania konsumentów na rynku kosmetyków naturalnych. *Nauki Inżynierskie i Technologie* 36: 57-69.
- Kamenetsky R, Dole J (2012) Herbaceous Peony (*Paeonia*): Genetics, Physiology and Cut Flower Production. *Floriculture and Ornamental Biotechnology* 6: 62-77.
- Kędzia B, Hołderna-Kędzia E (2016) Skład i właściwości biologiczne pyłku kwiatowego zbieranego przez pszczoły ze szczególnym uwzględnieniem możliwości zastosowania go w kosmetyce. *Postępy Fitoterapii* 17: 130-138.
- Komosinska-Vassev K, Olczyk P, Kaźmierczak J i in. (2015) Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2015: 25861358.
- Kostryco M, Chwil M. (2021) Structure of Anther Epidermis and Endothecium, Production of Pollen, and Content of Selected Nutrients in Pollen Grains from Six *Rubus idaeus* L. Cultivars. *Agronomy* 11: 1723.
- Kurek-Górecka A, Balwierz R, Marciniak D i in. (2018) Zastosowanie pyłku pszczelego w profilaktyce i leczeniu wielu chorób. *Farmacja Polska* 74(3): 158-163.
- Lee SK, Lee J, Jo M, Jeon JS (2022) Exploration of Sugar and Starch Metabolic Pathway Crucial for Pollen Fertility in Rice. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 14092.
- Llie CI, Oprea E, Grana EI i in. (2022) Bee Pollen Extracts: Chemical Composition, Antioxidant Properties, and Effect on the Growth of Selected Probiotic and Pathogenic Bacteria. *Antioxidants* 11(5): 959.
- Märgäoan R, Strant M, Varadi A i in. (2019) Bee Collected Pollen and Bee Bread: Bioactive Constituents and Health Benefits. *Antioxidants* 8(12): 568.
- Pyeon HI, Bak J, Seok JI i in. (2017) Effects of Nano-sized Bee Pollen as a New Cosmetic Ingredient. *Asian Journal of Beauty & Cosmetology* 15(1): 1-9.

2. Wyznaczanie parametrów wytrzymałościowych wybranej struktury auksetycznej

Determination of the strength parameters of the selected auxetic structure

Mikołaj Imielski⁽¹⁾, Jerzy Kopeć⁽²⁾, Mateusz Śliwka⁽²⁾

⁽¹⁾ Kierunek Mechanika i Budowa Maszyn, Wydział Budowy Maszyn i Informatyki, Akademia Techniczno-Humanistyczna w Bielsku-Białej

⁽²⁾ Katedra Podstaw Budowy Maszyn, Wydział Budowy Maszyn i Informatyki, Akademia Techniczno-Humanistyczna w Bielsku-Białej

Mikołaj Imielski: s58746@student.ath.edu.pl

Słowa kluczowe: struktury auksetyczne, drukowanie 3D, wytrzymałość mechaniczna, rozciąganie jednoosiowe

Streszczenie

W niniejszym artykule została przedstawiona charakterystyka oraz mechanizm odkształceń dla typowych struktur auksetycznych takich jak struktury reentrantowe oraz chiralne. Przedstawiono również sposób wytwarzania tych struktur oraz ich wpływ na parametry wytrzymałościowe. Badania zostały przeprowadzone dla struktury reentrantowej wykonanej techniką przyrostową w technologii FDM z wykorzystaniem materiału PETG. Głównym celem badania było wyznaczenie współczynnika Poissona, który dla tych struktur przyjmuje wartość ujemną. W celu porównania wyników został opracowany model numeryczny struktury, który następnie został poddany analizie MES. Analiza numeryczna oprócz weryfikacji wartości współczynnika Poissona pozwoliła sprawdzić zachowanie się struktury podczas obciążenia oraz wyznaczyć miejsca koncentracji naprężeń.

1. Wstęp

Próbki powszechnie stosowanych materiałów konstrukcyjnych podczas rozciągania wzdłużnego zmniejszają swój przekrój poprzeczny. Wielkością opisującą zależność między wydłużeniem i przewężeniem próbki w miejscu pomiaru jest współczynnik Poissona, który jest definiowany jako stosunek odkształcenia poprzecznego do podłużnego (Idczak i Stręk 2016):

$$\varepsilon = -\frac{\varepsilon_n}{\varepsilon_m}$$

Gdzie:

ε_n - odkształcenie prostopadłe do kierunku obciążenia (Idczak i Stręk 2016)

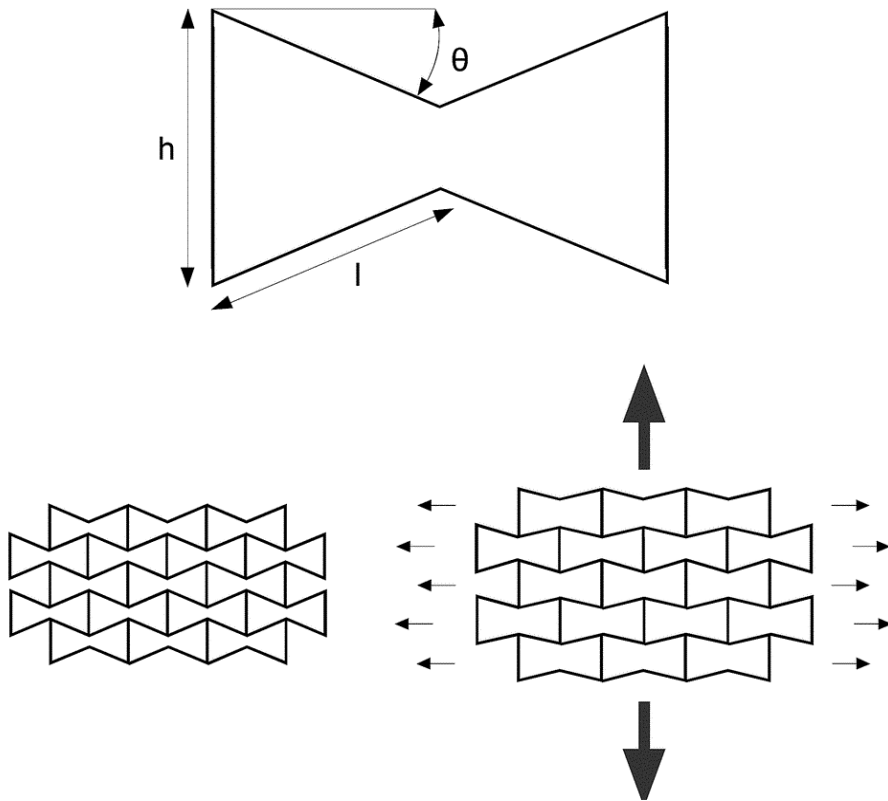
ε_m - odkształcenie w kierunku obciążenia

Struktury auksetyczne definiowane są jako obiekty z ujemnym współczynnikiem Poissona. Oznacza to, że przy jednoosiowym rozciąganiu takich struktur ich wymiary poprzeczne, zamiast się zmniejszać, zwiększają się. W przypadku ściskania sytuacja jest odwrotna i wymiary poprzeczne zamiast się zwiększać, zmniejszają się (Teik-Cheng 2015). Jest to nietypowa deformacja, która ulepsza właściwości mechaniczne poprzez:

- - zwiększenie modułu Kirchhoffa G,
- - lepszą absorpcję energii,
- - większą wytrzymałość na pękanie (Meena i Singamneni 2019).

Struktury auksetyczne swoją budowę opierają głównie na formatach reentrantowych oraz chiralnych (Meena i Singamneni 2019). Najbardziej rozpowszechnionym formatem jest struktura reentrantowa, co oznacza figurę „skierowaną do wewnątrz” lub mającą kąt wklęsły (Kolken i Zadpoor 2017). Rozpowszechniona jest przez jej wysoką adaptacyjność, prostotę oraz wysoką możliwość do

generowania ujemnej wartości współczynnika Poissona ($\nu=-4$) (Alomarah i in. 2018). Jej konstrukcja przypomina kratownicę połączoną poziomymi prętami. Struktura kratownicy składa się z heksagonalnych figur, gdzie centralne wierzchołki są połączone z poziomymi prętami (Rys. 1). W ten sposób struktura reentrantowa może przenosić obciążenie w kierunku określonym przez siłę rozciągającą (Cho i in. 2019).

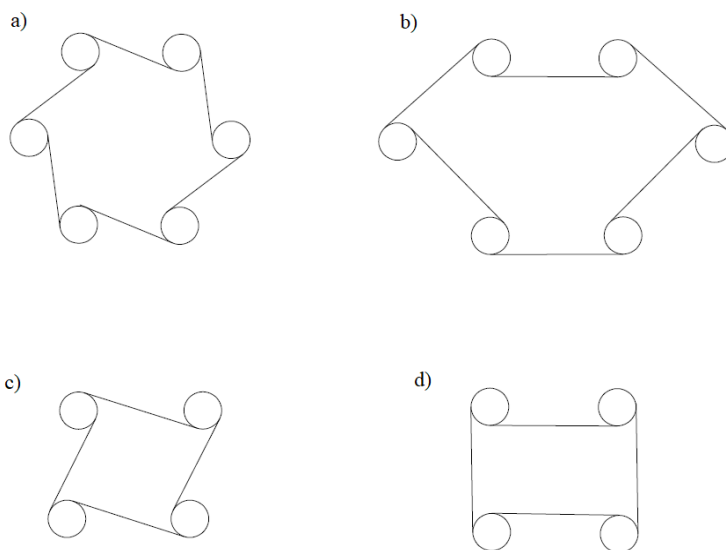


Rys. 1. Struktura reentrantowa (Kolken i Zadpoor 2017).

Kolejną strukturą, którą wyróżniają właściwości auksetyczne są chiralne sześciiany. Składają się z prostych belek, które łączą się stycznie z cylindrami (węzły). Struktury chiralne klasyfikuje się na bazie ich liczby belek połączonych stycznie z cylindrami. Wyróżnia się struktury trichiralne (3 złączeniowe), tetrachiralne (4 złączeniowe) oraz heksachiralne (6 złączeniowe) (Alomarah i in. 2018). Każda z wyżej wymienionych struktur ma swój przeciwny odpowiednik, w którym to łączenie stycznych cylindrów przebiega po przeciwnych stronach, wtedy struktura przyjmuje nazwę antychiralnej (Alderson i in. 2010). Mechanizm odkształcenia dla chiralnych sześciaków przy rozciąganiu lub ścisaniu polega na owijaniu i rozplątaniu belek wokół obróconych węzłów (Rys. 2).

Jedną z najczęściej stosowanych technologii wytwarzania materiałów auksetycznych są techniki addytywne (przyrostowe) np. drukownie 3D - głównie FDM. Dzięki tej technice w bardzo prosty i łatwy sposób można z pomocą programów CAD zaprojektować i wydrukować strukturę auksetyczną. Ogromną zaletą druku 3D jest możliwość szybkiego i taniego prototypowania (rapid prototyping) co w przypadku badań jest bardzo istotne. Jednak drukowanie 3D obarczone jest istotną wadą, mianowicie możliwością pojawienia się zasadniczych defektów powierzchniowych, dla których mogą powstawać spiętrzenia naprężeń. Inną formą drukowania 3D jest proces SLM, czyli selektywne topienie proszków metalicznych za pomocą wiązki laserowej. Jest ona obarczona

praktycznie takimi samymi wadami co tradycyjne drukowanie 3D z wyjątkiem tego, że istnieje możliwość stworzenia struktury auksetycznej wykonanej z metalu, dla którego można sprawdzić właściwości przy zachowaniu struktury auksetycznej (Meena i Singamneni 2019). Oprócz technologii addytywnych istnieje możliwość zastosowania procesów odlewniczych. W takim przypadku zaprojektowanie odpowiedniej formy oraz dobranie prawidłowych parametrów samego procesu są kluczowe. Odlewane struktury auksetyczne przy prawidłowo zaprojektowanym procesie będą wykazywać się lepszą strukturą powierzchniową oraz polepszeniem właściwości mechanicznych co jest niewątpliwie zaletą (Wang i in. 2019).



Rys. 2. Struktury: a) heksachiralne, b) antyheksachiralne, c) tetrachiralne, d) antytetrachiralne.

2. Materiały i metody

W ramach niniejszego artykułu, struktura auksetyczna została wykonana z PETG firmy Prusa. PETG jest często wykorzystywanym materiałem do drukowania 3D. W porównaniu do PLA jest on bardziej odporny na podwyższone temperatury oraz jest bardziej elastyczny (Menderes i in. 2017).

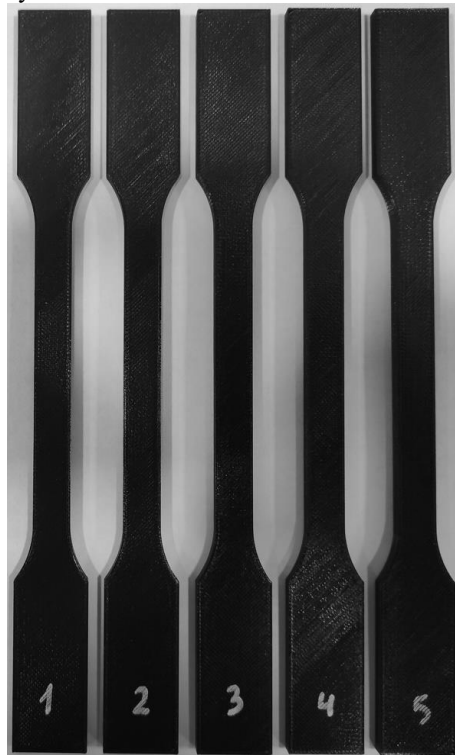
Badania doświadczalne rozpoczęto od próby statycznego rozciągania próbek wiosełkowych wg normy ISO 527-1. Przygotowany został model przestrzenny na podstawie próbki typu 1A. Program sterujący (G code) wygenerowano na podstawie modelu CAD dla następujących parametrów:

- Wypełnienie 100 %
- Wysokość warstwy 0,15 mm
- Temperatura dyszy: 235 °C
- Temperatura stołu: 80 °C.

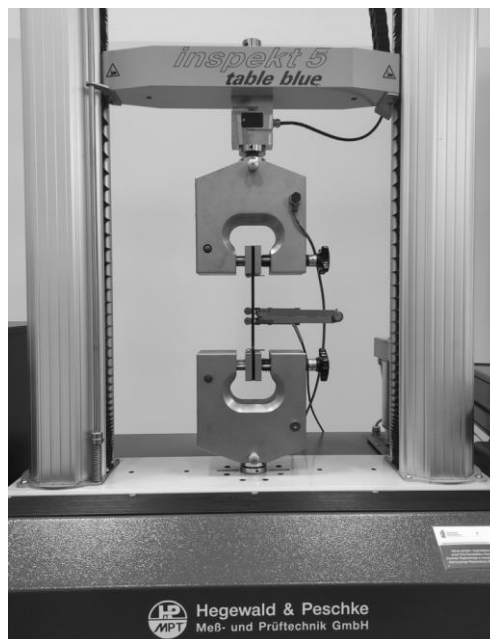
Wartości pozostałych parametrów ustawiono jako domyśle. Wydrukowanych zostało 5 próbek wiosełkowych, które są widoczne na Rys. 3.

Przygotowane płaskie próbki wiosełkowe wykorzystano do wyznaczenia wybranych właściwości wytrzymałościowych materiału. Próba rozciągania została przeprowadzona na uniwersalnej maszynie wytrzymałościowej Hegewald und Peschke inspect table blue 5kN. Na Rys. 4

jest przedstawiona zamocowana próbka w uchwytach pneumatycznych maszyny wytrzymałościowej. Rozstaw między szczękami wynosił 115 mm.



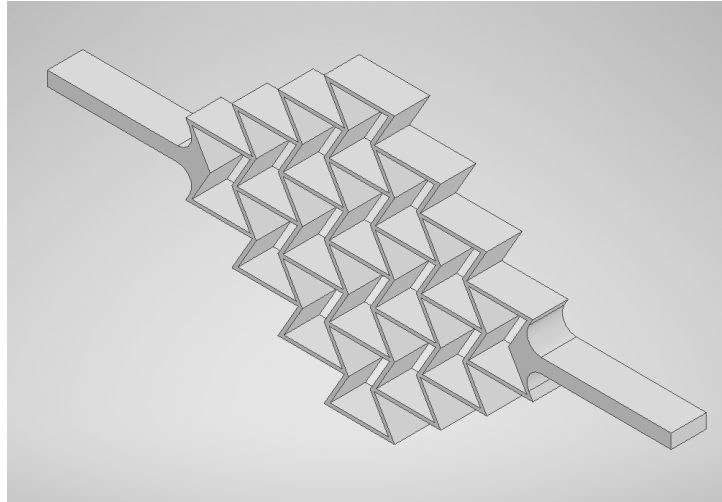
Rys. 3. Zestaw próbek wiosłkowych.



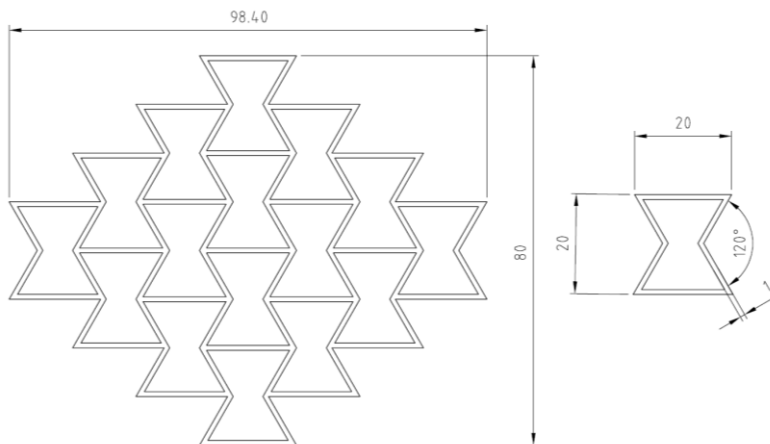
Rys. 4. Próbkowa wiosłkowa z zamocowanym ekstensometrem w trakcie testu jednoosiowego rozciągania.

Dla wyznaczenia odkształceń podłużnych na próbkę zamocowano ekstensometr o bazie 25 mm. Prędkość testu rozciągania, zgodnie z normą, ustawiono na poziomie 1 mm/min.

Kolejne doświadczenie dotyczyło rozciągania struktury auksetycznej i wyznaczenia współczynnika Poissona tej struktury. W tym celu przygotowano model przestrzenny CAD struktury auksetycznej (rys. 5), na podstawie którego wydrukowano 5 próbek. Kształt i wymiary geometryczne struktury są widoczne na rys. 6.



Rys. 5. Model CAD struktury reentrantowej.



Rys. 6. Wymiary struktury reentrantowej.

Struktury po wydrukowaniu zostały poddane rozciąganiu, na podstawie którego wyznaczony został współczynnik Poissona. Na rys. 7 jest przedstawione stanowisko do mierzenia przemieszczeń podłużnych i poprzecznych podczas obciążania struktury.

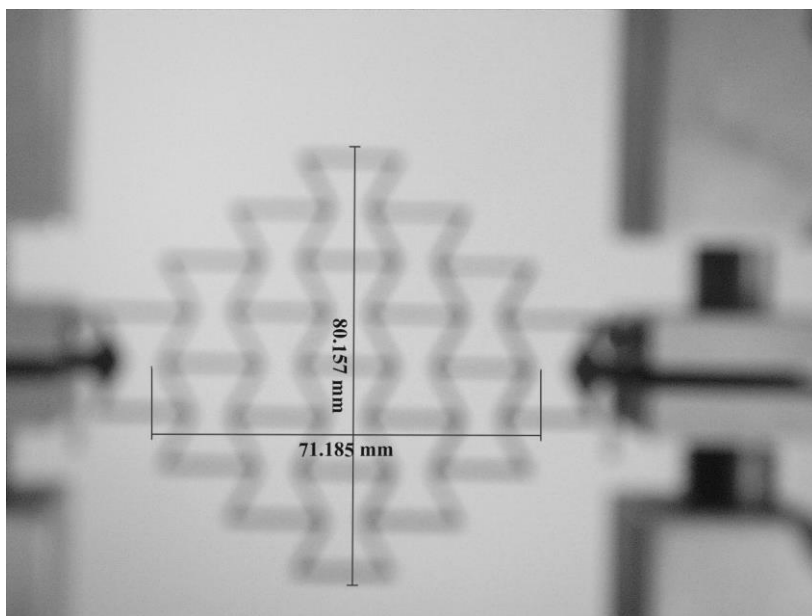
Przed rozpoczęciem każdego testu, za pomocą kamery umieszczonej na statywie zostało wykonane zdjęcie struktury, które posłużyło do kalibracji wymiarów w systemie pomiarowym Delta Smart Analysis Pro. Kalibrację wykonano przez pomiar rzeczywistego wymiaru i wprowadzeniu go do systemu pomiarowego (oprogramowanie mikroskopu). Dzięki temu kolejne wymiary zarejestrowane w systemie pomiarowym odpowiadały rzeczywistym wartościom. Na Rys. 8 jest przedstawione zdjęcie struktury (przed obciążeniem) z naniesionymi wymiarami, które odpowiadają rzeczywistym wymiarom wydrukowanej struktury.

Przegląd badań – Część II

Po wykonaniu zdjęcia kalibracyjnego strukturę obciążono siłą o wartości 20 N i wykonano kolejne zdjęcie. Różnica wymiarów przed i podczas obciążenia w odniesieniu do wartości bazowych (przed obciążeniem) w dwóch kierunkach są odkształceniami podłużnymi i poprzecznymi.

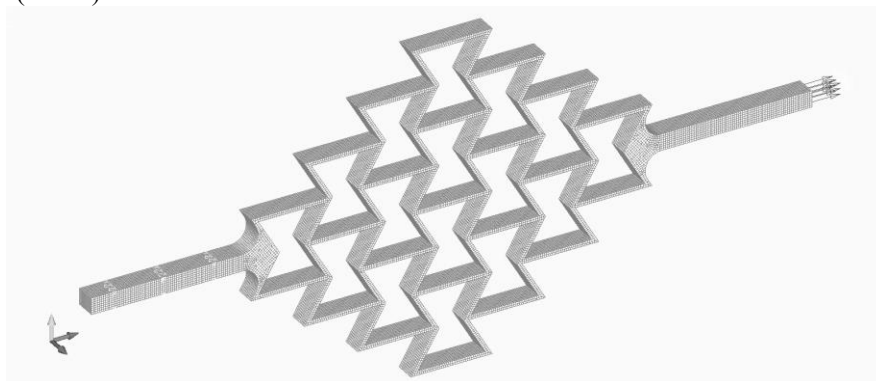


Rys. 7. Stanowisko do badań struktur auksetycznych



Rys. 8. Widok próbki przed obciążeniem – zdjęcie z kamery z naniesionymi wymiarami.

Dla porównania wyników eksperymentalnych przygotowany został model numeryczny z wykorzystaniem pakietu MES. Model dyskretny jest widoczny na rys. 9. Do modelu numerycznego wprowadzono wartość modułu sprężystości podłużnej wyznaczoną w próbie rozciągania próbek wiosełkowych, a wartość współczynnika Poissona określono na podstawie katalogu producenta materiału (PETG).



Rys. 9. Model dyskretny badanej struktury.

Model dyskretny składa się z 75779 węzłów i 51020 elementów. Z lewej strony chwytowej przyłożono utwierdzenie, a z drugiej siłę rozciągającą o wartości 20 N.

3. Wyniki i dyskusja

Na podstawie przeprowadzonych badań wytrzymałościowych próbek wiosełkowych wyznaczono: wytrzymałość na rozciąganie R_m , umowną granicę plastyczności $R_{0,2}$ oraz moduł Younga E . Badania zrealizowano dla pięciu próbek. W tab. 1 są zestawione wyniki dla każdej próby oraz wartości średnie z obliczonym przedziałem ufności Δx_α dla poziomu ufności $\alpha=0,95$ i pięciu powtórzeń (Śliwka 2018; Gardoń 2011). Przedział ufności wyznaczono z rozkładu t-Studenta.

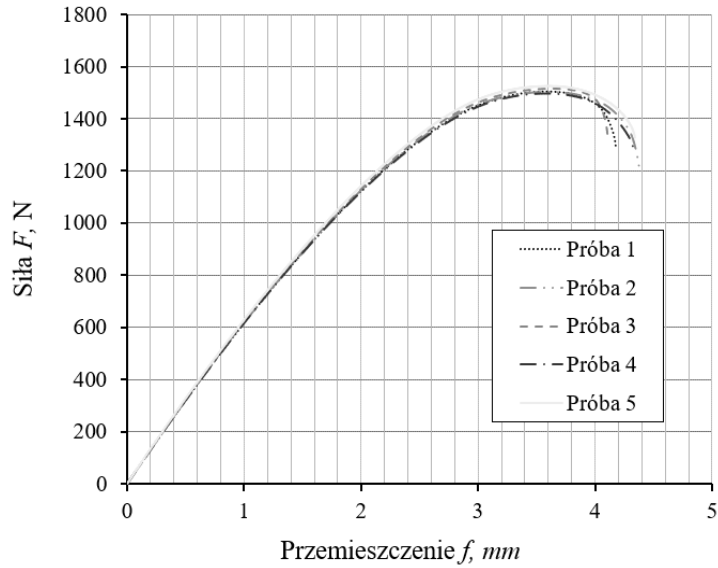
Tab. 3. Wyniki próby rozciągania próbek wiosełkowych.

Nr	$R_{0,2\%}$, MPa	R_m , MPa	E , GPa
Próba 1	29,55	36,92	1831,22
Próba 2	28,36	36,89	1823,24
Próba 3	29,50	37,01	1842,06
Próba 4	29,29	36,66	1850,24
Próba 5	29,88	38,51	1926,49
Średnia	29,32	37,20	1854,65
Δx_α	1,60	2,07	115,08

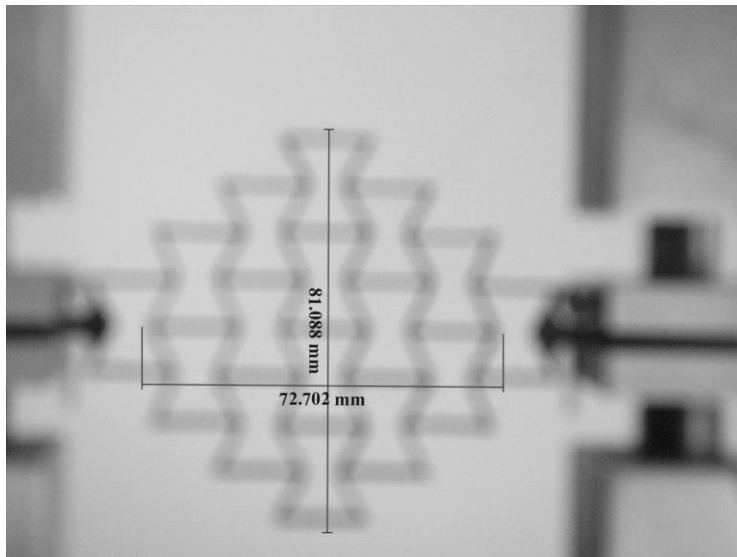
Wykres rozciągania w układzie siła F – przemieszczenie f dla pięciu próbek wiosełkowych jest przedstawiony na Rys. 10.

Powtarzalność wyników rozciągania jest zadowalająca, o czym świadczą prawie nakładające się na siebie charakterystyki rozciągania oraz stosunek przedziału ufności do wartości średniej jest na poziomie nieprzekraczającym 5 %.

Na rys. 11 przedstawiona jest ta sama struktura co na rys. 8 tylko, że pod działaniem siły rozciągającej o wartości 20 N. Wartości zmierzone w systemie pomiarowym Delta Smart Analysis Pro wykorzystano do wyznaczenia maksymalnych przemieszczeń Δl w kierunku podłużnym i poprzecznym badanej struktury.



Rys. 10. Wykres rozciągania $F(f)$ dla próbek płaskich.



Rys. 11. Widok struktury po obciążeniu z naniesionymi wymiarami.

Wartości maksymalnych przemieszczeń w dwóch kierunkach wraz z przedziałem ufności zostały zestawione w Tab. 2.

Tab. 2. Wartości średnie maksymalnych przemieszczeń struktury pod działaniem siły.

Przemieszczenie	Δl Max, mm
Podłużne	1,453±0,192
Poprzeczne	0,957±0,080

Wyniki przemieszczeń analizy MES są zbliżone do wyników eksperymentalnych i wynoszą odpowiednio w kierunku podłużnym i poprzecznym 1,54 i 0,92 mm. Zgromadzone dane wykorzystano do wyznaczenia współczynnika Poissona struktury auksetycznej według wzoru podanego w rozdziale 1. Wartości maksymalnych przemieszczeń oraz współczynnik Poissona zestawiono w tab. 3. Wartość współczynnika Poissona wyznaczonego dwoma metodami jest porównywalna co świadczy o poprawnie zbudowanym modelu numerycznym.

Tab. 3. Zestawienie wyników eksperymentalnych oraz obliczeniowych.

	Δl podł Max, mm	ε_m , -	Δl poprz Max, mm	ε_n , -	ν
Experyment	1,453	0,0204	0,957	0,0119	-0,59
MES	1,540	0,0215	0,920	0,0115	-0,53

4. Wnioski i kierunek dalszych badań

Większość typowych struktur auksetycznych przejawia bardzo poważny problem dotyczący koncentracji naprężeń. Zjawiska tego nie da się w pełni wyeliminować, ponieważ należałoby bardzo mocno ingerować w strukturę poprzez tworzenie zaokrągleń w narożach. Dlatego już na wczesnym etapie projektowania struktur należy bardzo dokładnie uwzględnić wpływ punktów koncentracji naprężeń na zachowanie się układu pod obciążeniem.

Przemieszczenia zaobserwowane w węzłach pionowych i poziomych podczas obciążania struktury równomiernie się rozkładają. Ukazuje to bardzo dobry mechanizm absorpcji energii auksetyków. Jest to ogromna zaleta struktur auksetycznych, którą można wykorzystać do tworzenia mechanicznych elementów podatnych.

Zaprezentowana struktura wydrukowana z PETG wykazuje wartość współczynnika Poissona na poziomie powyżej -0,5. Rozbieżność wartości współczynnika Poissona pomiędzy wynikami analizy numerycznej a badaniami eksperymentalnymi jest niewielka co pozytywnie weryfikuje model numeryczny.

Kontynuacja prac będzie uwzględniała badania różnych struktur auksetycznych drukowanych przy różnych parametrach druku. Zostanie opracowany plan eksperymentu, w którym zostanie wyznaczony model matematyczny opisujący zachowanie współczynnika Poissona w zależności od parametrów druku.

5. Literatura

- Alderson A, Alderson K.L, Attard D, et al. (2010) Elastic constants of 3-,4- and 6-connected chiral and anti-chiral honeycombs subject to uniaxial in plane loading. *Composites Science and Technology* 70: 1042-1048.
- Alomarah A, Ruan D, Masood S (2018) Tensile properties of an auxetic structure with re-entrant and chiral features – a finite element study. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology* 99: 2425–2440.
- Cho H, Sero D, Kim D.M (2019) Mechanics of Auxetic Materials. *Handbook of mechanics of materials*. 733-755.
- Gardoń A (2011) Rozkład statystyki t-Studenta przy danej wariancji z próby o rozkładzie normalnym. *Didactics of Mathematics* 8(12): 17-30.
- Idczak E and Stręć T (2016) Badania dynamiczne struktur kompozytowych z rdzeniem o właściwościach auksetycznych. *Techniki komputerowe w inżynierii*.
- Kam M, Ipekci A, Saruhan H (2017) Investigation of 3D Printing Filling Structures Effect on Mechanical Properties and Surface Roughness of PET-G Material Products. *Gaziosmanpasa Journal of Scientific Research* 6: 114-121.
- Kolken H, Zadpoor A (2017) Auxetic mechanical metamaterials. *Royal society of Chemistry* 7: 5111-5129.

- Meena K, Singamneni S (2019) A new auxetic structure with significantly reduced stress. *Materials and Design* 173: 1-11.
- Śliwka M (2018) Badanie wytrzymałości żywicy epoksydowej wzmocnionej włóknami lnianymi. *Badania I Rozwój Młodych Naukowców w Polsce – Nauki techniczne i inżynierskie. Część 8:* 152-159.
- Teik-Cheng L (2015) *Auxetic Materials and Structures*.
- Wang H, Fu Y, Su M, et al. (2019) Effect of structure design on compressive properties and energy absorption behavior of ordered porous aluminum prepared by rapid casting. *Materials and Design* 169: 1-12.

3. Wpływ obróbki termicznej na zawartość azotanów w parówkach

Influence of heat treatment on nitrate content in sausages

Milena Janusz, Małgorzata Kowczyk-Sadowy, Paweł Cwalina, Katarzyna Dobkowska

Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Politechnika Białostocka, 15-351 Białystok, Polska
Opiekun naukowy: dr Małgorzata Kowczyk-Sadowy

Milena Janusz: milena.j.24050@gmail.com

Małgorzata Kowczyk-Sadowy: m.kowczyk@pb.edu.pl

Paweł Cwalina: p.cwalina@pb.edu.pl

Słowa kluczowe: konserwanty, dodatki do żywności, obróbka termiczna, przetwory mięsne, azotany

Streszczenie

Mięso oraz jego przetwory odgrywają ogromną rolę w żywieniu człowieka. Człowiek już od początku swojego istnienia traktował mięso jako podstawę swojego żywienia. Sposób pozyskiwania, obróbka oraz wielkość spożycia bez przerwy się zmieniają pod wpływem czynników społecznych, technologicznych oraz ekonomicznych. Mięso dla człowieka jest podstawowym źródłem pokarmu ze względu na jego wartości odżywcze, zawiera jednak także substancje negatywnie wpływające na jego zdrowie, takie jak azotany (III) i (V), które naturalnie w mięsie występują w znikomych ilościach. Zwiększona obecność azotanów może pochodzić z dodania ich do produktu w procesie technologicznym. Azotany nadają wyrobom mięsny czerwono-różową barwę, działają jako przeciwutleniacze, hamując rozwój bakterii i utlenianie się tłuszczów. Zapobiegają one również rozwojowi nieprzyjemnego zapachu i utrzymaniu świeżości mięsa. Głównym celem pracy było oznaczenie wpływu obróbki termicznej (gotowanie i pieczenie) na zawartość azotanów (III) i azotanów (V) w parówkach wieprzowych.

1. Wstęp

Mięso w diecie człowieka odgrywa fundamentalną rolę, gdyż dostarcza do organizmu ludzkiego pełnowartościowe składniki takie jak białko, czy tłuszcz (składnik o najwyższej wartości energetycznej) (Gawęcki i Mossor-Pietraszewska 2004; Kapusta 2009). Z biegiem lat zmieniają się technologie przetwórstwa mięsa, jak i chowu i uboju zwierząt. Zmieniają się także nawyki konsumowania produktów mięsnych, gdzie ogromny wpływ miała i ma religia (Kapusta 2013). Świadomość konsumentów nieustannie wzrasta, co sprawia, że wolą oni kupować mięso bezpośrednio od rolników niż ze sklepów. Wiąże się to z jakością produktów, ich cechami smakowymi i dietetycznymi (Karpiesiuk i in. 2013).

Z perspektywy kupującego, który podejmuje decyzje zakupowe przed półką supermarketu, znaczącą rolę odgrywają informacje znajdujące się na opakowaniach żywności - skład produktu, użyte metody przetwarzania, utrwalania żywności oraz certyfikaty jakości (Migdał i Gryczka 2013; Kędzior 2014). Przeciwno psuciu się żywności zapobiegawczo stosuje się nie tylko metody utrwalania, ale także dodatki do żywności. Mięso jest źródłem wielu substancji odżywczych, jednak tak jak warzywa i woda pitna mogą być źródłem azotanów (III) i azotanów (V). Wpływają one na trwałość produktu, zapewniają bezpieczeństwo żywności, nadają smak i poprawiają wygląd. W przetwórstwie mięsnym stosowane azotany służą polepszeniu barwy produktu, ale także do redukcji beztlenowców powodujących psucie mięsa. Toksyczność obydwu związków jest spowodowana ich właściwościami utleniającymi. Dotyczy to bardziej azotanów (III), ponieważ azotany (V) szybko są wydalane z moczem. w produktach spożywczych, w środowisku wodnym w przewodzie pokarmowym może zajść redukcja azotanów (V) do bardziej toksycznych azotanów (III) (Dżugan i in. 2007).

Azotany (V) nie stanowią bezpośredniego zagrożenia dla zdrowia człowieka, ze względu na małą toksyczność. Dlatego też, ich dopuszczalna ilość dziennego spożycia jest określona normami.

Ilość azotanów (III) i (V) zawartych w produktach, które przekraczają normy dyskwalifikują żywność z obrotu, a także stanowią duże zagrożenie dla zdrowia i życia człowieka. Konieczne jest więc zastosowanie odpowiednio dobranej przez analityka metody do oznaczania ilości azotanów (III) i (V).

Azotany głównie dodawane są one do mięsa w procesie technologicznym w postaci azotanów (III) potasu (E249), azotanów (III) sodu (E250), azotanów (V) potasu (E252) oraz sodu (E251). Zapewniają one produktom mięsnym ciepłoodporną i czerwono-różową barwę, ulepszają smak i zapach, wydłużają trwałość przez działanie przeciwbakteryjne. Niestety tak jak większość dodatków do żywności mogą one powodować działania niepożądane. Azotany (III) posiadają zdolność do wiązania się z hemoglobina krwi, przez co mogą blokować przenoszenie tlenu, wywołując niedotlenienie tkanek i organów. Objawy zatrucia mogą wystąpić już po 30 minutach od spożycia objawiając się bólem brzucha, dusznościami, zamroczeniem, spadkiem ciśnienia krwi, zawrotami głowy, a nawet mogą prowadzić do zapaści (Pośpiech i in. 2009). Ustalono, że maksymalne dopuszczalne dzienne pobranie azotanów (V) przez człowieka nie powinno przekraczać 5 mg/kg masy ciała (co odpowiada 1,13 mg N-NO₃). Wartość ta w odniesieniu do azotanów (III) wynosi 0,1 mg/kg masy ciała (co odpowiada 0,06 mg N-NO₂) (Pośpiech i in. 2009).

Mięso należy do grupy produktów, które szybko tracą swoje wartości, w tym trwałość. W związku z tym konieczne jest szybkie zastosowanie utrwalenia surowca lub produktu, w celu zapobiegania strat, powodowanych psuciem się żywności (np.: jęłczenie, gnicie, kwaśnienie). Najbardziej trwałe są artykuły spożywcze, które w wyniku różnych zabiegów technologicznych zmieniają swoją strukturę i właściwości, są to przetwory i koncentraty np. parówki. Głównym celem stosowania metod utrwalania żywności jest przedłużenie ich trwałości.

Gotowanie to proces polegający na obróbce produktu w wysokich temperaturach w środowisku wody lub pary wodnej. Gotowanie jest bardzo popularną metodą przeprowadzaną się w temperaturze 100°C, wykorzystywaną przy obróbce mięsa, warzyw, owoców, jaj i ryb. Starty podczas gotowania są dość duże i wynoszą 30-50% (ubytek witamin i mikroelementów). Proces ten powoduje nagłą i całkowitą denaturację białek, wskutek tego otrzymuje się smacowite, aromatyczne i soczyste mięso.

Ogrzewanie żywności w temperaturze od 170 do 250°C, z użyciem suchego, bądź nawilżonego powietrza nosi nazwę pieczenia. Podczas tego procesu wytwarzają się bardzo korzystne cechy sensoryczne, natomiast produkty odznaczają się ciężką strawnością niż w przypadku gotowania. Mięso pieczone jest z dodatkiem przypraw, warzyw, a także nastrzykiwane tłuszczem. Pieczenie powoduje ubytek masy, a także wartości odżywczych np. witaminy.

2. Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły parówki wieprzowe pochodzące od 6 różnych polskich producentów, zakupione w supermarkecie i sklepie firmowym na terenie województwa podlaskiego i lubelskiego. Próby zostały odpowiednio oznaczone, jako: P1, P2, P3, P4, P5, P6 (od P1 do P5 były pakowane hermetycznie w opakowania zbiorcze (po 5-6 sztuk), natomiast próbkę P6 zakupiono „luzem”, na pojedyncze sztuki). W Tab. 1 przedstawiono skład badanych parówek odczytany z etykiet umieszczonych na opakowaniach produktów.

Metoda kolorymetryczna w przypadku azotanów (III) przebieg oznaczenia opiera się na reakcji azotanu (III) z odczynnikiem Griessa I (sulfanilamid), a następnie połączenie z odczynnikiem Griessa II (N-1-naftylo-diaminą). Wynikiem reakcji jest związek dwuazowy o czerwono-fioletowej barwie, której natężenie oznaczane jest spektrofotometrycznie. Oznaczanie azotanów (V) tą metodą wygląda podobnie, po przeprowadzeniu redukcji metalicznym kadmem jonów NO₃⁻ do NO₂⁻. Metoda ta polecana jest w przypadku wody, warzyw, a także produktów garmażeryjnych.

2.1 Obróbka termiczna próbek

Badane próbki poddano dwóm procesom termicznym tj.: gotowaniu i pieczeniu. Parówki gotowano na kuchence elektrycznej dwoma sposobami. Pierwszy polegał na doprowadzeniu wody do stanu wrzenia i wrzuceniu próbek na 10 minut do wrzątku (tzw. metoda Makłowicza). Drugi sposób polegał na wrzuceniu parówek do zimnej wody i gotowaniu ich przez 10 min. Pieczenie, odbyło się w piecu elektrycznym w temperaturze 180 °C przez 10 min.

Tab. 1. Skład surowcowy parówek użytych do badań (skład podany na opakowaniu przez producenta).

Badany produkt (Oznaczenie)	Składniki	Cena (zł/kg)
P1	Mięso wieprzowe (93%), woda, sól, przyprawy, ekstrakty przypraw, glukoza, substancja konserwująca: azotyn sodu.	17,25
P2	Mięso z szynki wieprzowej, sól, przyprawy, susz z aceroli, aromaty naturalne, ze 100 g mięsa z szynki wieprzowej wyprodukowano 100 g produktu.	33,95
P3	Mięso wieprzowe z szynki (90%), sól, glukoza, skrobia modyfikowana, stabilizatory (octan sodu, cytrynian sodu), białko wieprzowe kolagenowe, aromaty, przeciwutleniacze (kwas askorbinowy, askorbinian sodu, izoaskorbinian sodu), syrop glukozowy niskoscukrzony, ekstrakty przypraw, substancja konserwująca (azotyn sodu).	29,95
P4	Mięso wieprzowe (71%), woda, sól, białko wieprzowe kolagenowe, skrobia modyfikowana, glukoza, stabilizatory (trifosforany, difosforany), wzmacniacz smaku (glutaminian monosodowy), przyprawy, ekstrakty przypraw, przeciwutleniacz (askorbinian sodu), substancja konserwująca (azotyn sodu).	17,00
P5	Mięso wieprzowe z szynki (93%), bulion wołowy (woda, białko wołowe, sól), sól, białko wieprzowe kolagenowe, aromaty, przyprawy i ich ekstrakty, regulatory kwasowości (cytrynian sodu, octan sodu); przeciwutleniacz (izoaskorbinian sodu); aromat dymu wędzarniczego, substancja konserwująca (azotyn sodu).	35,56
P6	Mięso wieprzowe z szynki, sól, białko wieprzowe (kolagenowe), przyprawy, ekstrakty z przypraw, aromaty, substancje konserwujące (azotyn sodu). Na 100 g gotowego produktu zużyto 100 g mięsa wieprzowego z szynki.	26,5

2.2 Oznaczanie azotanów (III) i (V)

Pomiar azotanów (III) i (V) wykonano za pomocą metody kolorymetrycznej, w której wykorzystuje się odczynniki visicolor ECO i fotometr Macherey-Nagel PF-12.

Oznaczanie azotanów (III)

Kolorymetryczne oznaczanie azotanów (III) polega na, reakcji jonów azotanowych (III) z kwasem sulfanilowym i naftyloaminą w kwaśnym środowisku tworząc czerwono fioletowy barwnik azowy.

Przygotowane wcześniej roztwory z próbek umieszczano w probówkach, które wcześniej podzielono na sekcje A i sekcje B. Wszystkie naczynia wypełniono po 5 ml badanej próbki za pomocą pipety automatycznej. Sekcja A stanowiła próbę zerową. Do wszystkich probówek z sekcji B dodano po 4 krople odczynnika NO₂ -1, zamknięto i wymieszano. Następnie dodano po 1 płaskiej miarce odczynnika NO₂ -2, zamknięto i natychmiast energicznie wstrząsano, aż do rozpuszczenia proszku. Odczekano 10 min. i następnie kolejno każdą z prób wstawiano do urządzenia, najpierw z sekcji A, a później z sekcji B. Wynik odczytywano na wyświetlaczu urządzenia.

Oznaczanie azotanów (V)

Kolorymetryczne oznaczanie azotanów (V) polega na tym, że jony azotanowe po redukcji do jonów azotynowych reagują z odpowiednio dobraną aminą aromatyczną tworząc pomarańczowo-żółty barwnik.

Roztwory z próbek umieszczano w probówkach, które wcześniej podzielono na sekcje A i B. Wszystkie naczynia wypełniono po 5 ml badanej próbki. Sekcja A stanowiła próbę zerową. Do wszystkich probówek z sekcji B dodano po 5 kropel odczynnika NO_3^- -1, zamknięto i wymieszano. Następnie dodano po 1 płaskiej miarce odczynnika NO_3^- -2, zamknięto i natychmiast energicznie wstrząsano przez minutę. Następnie kolejno każdą z prób wstawiano do urządzenia, najpierw z sekcji A, a później z sekcji B. Wynik odczytywano na wyświetlaczu urządzenia.

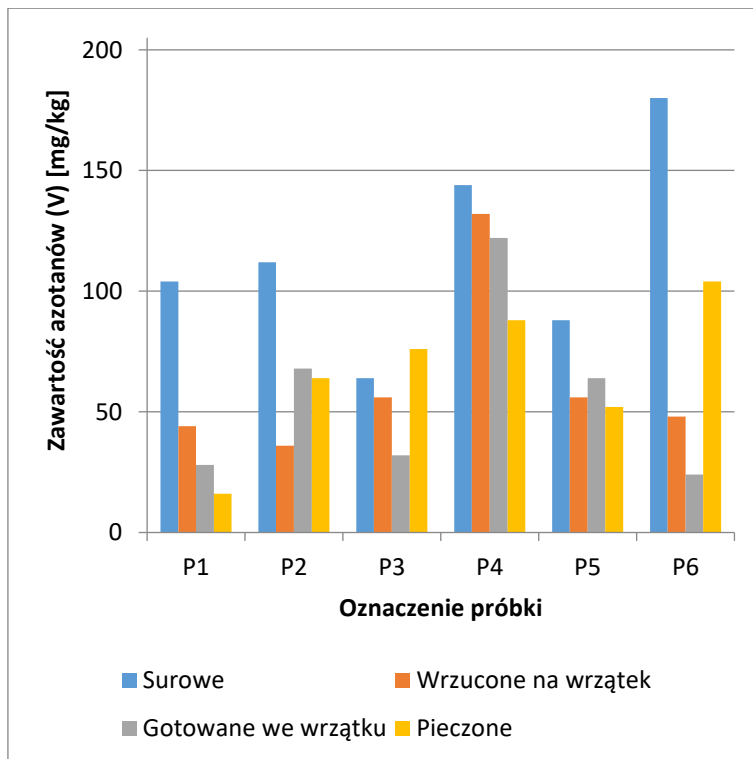
3. Wyniki

3.1 Zawartość azotanów (V) oznaczona metodą kolorymetryczną

W Tab. 2 i na Rys. 1 przedstawiono wyniki badań zawartości azotanów (V) próbek parówek które zostały poddane obróbce termicznej (gotowaniu i pieczeniu).

Tab. 2. Zawartość azotanów (V) oznaczanych kolorymetrycznie w badanych parówkach.

PRÓBA (Oznaczenie)	Surowe [mg/kg]	Wrzucone na wrzątek [mg/kg]	Gotowane do wrzenia [mg/kg]	Pieczone [mg/kg]
P1	104	44	28	16
P2	112	36	68	64
P3	64	56	32	76
P4	144	132	122	88
P5	88	56	64	52
P6	180	48	24	104



Rys. 1. Zawartość azotanów (V) w badanych parówkach.

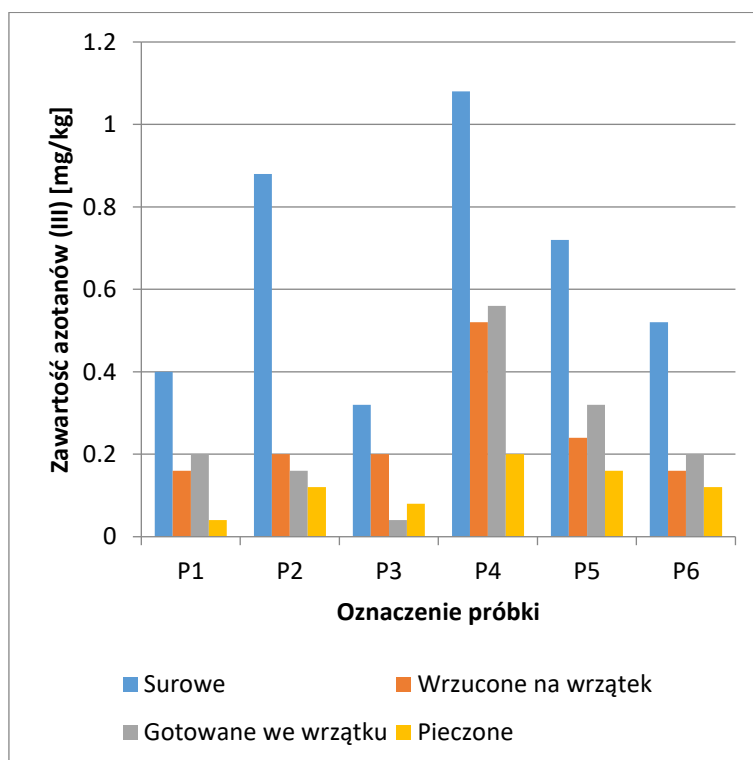
W przypadku próbek, które były włożone do gotującej się wody najwyższą zawartość azotanów (V) odnotowano w próbce P4 - 132 mg/kg , a najniższa w P2 - 36 mg/kg . Najwyższa zawartość azotanów (V) w przypadku gotowania do wrzenia wynosiła 122 mg/kg (P4), natomiast najniższa zawartość 28 mg/kg (P1). W przypadku pieczenia najwyższą zawartość azotanów (V) miała próbka P6 (104 mg/kg), a najniższą P1 (16 mg/kg). Można zaobserwować spadek azotanów (V) wśród wszystkich badanych próbek poddanych obróbkom termicznym. Norma zawartości azotanów (V) nie została przekroczona w żadnej z próbek.

3.2 Zawartość azotanów (III) oznaczona metodą kolorymetryczną

Tab. 3 i Rys. 2 przedstawiają wyniki badań zawartości azotanów (III) w parówkach poddanych obróbkom termicznym.

Tab. 3. Zawartość azotanów (III) oznaczanych kolorymetrycznie w badanych parówkach.

PRÓBA (Oznaczenie)	Surowe [mg/kg]	Wrzucone na wrzątek [mg/kg]	Gotowane do wrzenia [mg/kg]	Pieczone [mg/kg]
P1	0,40	0,16	0,20	0,04
P2	0,88	0,20	0,16	0,12
P3	0,32	0,20	0,04	0,08
P4	1,08	0,52	0,56	0,20
P5	0,72	0,24	0,32	0,16
P6	0,52	0,16	0,20	0,12



Rys. 2. Zawartość azotanów (III) oznaczanych kolorymetrycznie.

Najwyższą zawartość azotanów (III) podobnie jak w przypadku azotanów (V) odnotowano w parówkach surowych i ich zawartość mieściła się w przedziale 0,32 – 1,08 mg/kg. W przypadku próbek wrzuconych na wrzątek największą ilość azotanów (III) zawierała próbka P5 (0,520 mg/kg),

a najmniejszą próby P1 i P6 - 0,160 mg/kg . W przypadku gotowania prób do wrzenia najniższa wartość azotanów (III) wyniosła 0,04 mg/kg (P3), w pozostałych próbach wahała się w przedziale 0,160-0,560 mg/kg. Próbką z największą wartością mieści się w normach dziennego spożycia dla mężczyzn jak i dla kobiet.

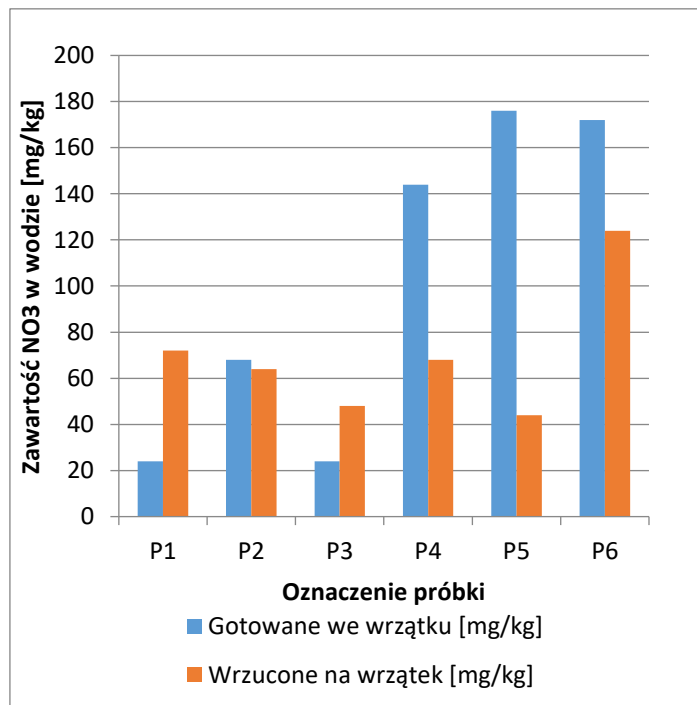
Wszystkie próbki mieszczą się w dziennej dozwolonej normie do spożycia azotanów (III). W porównaniu wyników parówek surowych do parówek poddanych obróbkom, można stwierdzić, że obróbka termiczna zmniejsza zawartość azotanów (III). Z badań Markowskiej i Furmanek (Markowska i Furmanek 2000) wynika, że w gotowanych produktach jest o wiele mniej azotanów (III) niż w trakcie pieczenia. Badanie prowadzone na parówkach opisanych w tab. 3. ukazują, że w tym przypadku pieczenie okazało się bardziej skuteczne.

3.3 Zawartość azotanów (V) i (III) w wodzie

Dodatkowo badaniom na zawartość azotanów (III) i (V) poddano wodę w której gotowano parówki. W Tab. 4 i 5 oraz Rys. 3 i 4 przedstawiono wyniki badania wody po obróbkach parówek.

Tab. 4. Woda po obróbce parówek (NO₃).

PRÓBKA (Oznaczenie)	Gotowane do wrzenia [mg/kg]	Wrzucone na wrzątek [mg/kg]
P1	24	72
P2	68	64
P3	24	48
P4	144	68
P5	176	44
P6	172	124



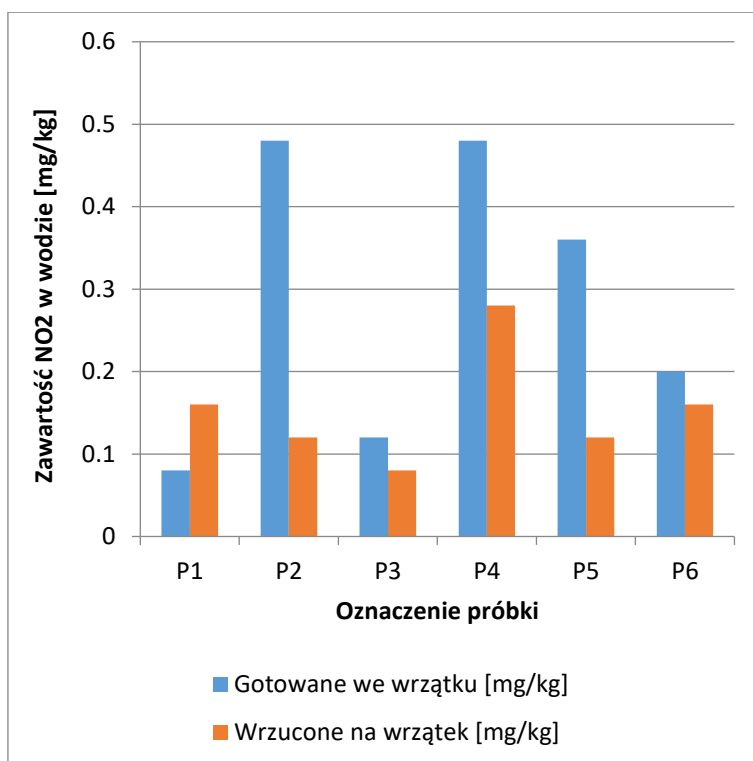
Rys. 3. Woda po parówkach NO₃.

Azotany to związki bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie, podczas gotowania mogą przenikać do wody w której były gotowane. Zawartość azotanów w produkcie zmniejsza się,

a zawartość wywaru roślin (Markowska i Furmanek 2000). Najniższą zawartość azotanów (III) w wodzie pozostałej po gotowaniu do wrzenia odnotowano w dwóch próbkach (P1, P3) - 24 mg/kg, a najwięcej w próbkach P5 (176 mg/kg) i P6 (172 mg/kg). Woda z parówek wrzucanych na wrzątek posiadała w czterech próbkach (P2, P4, P5, P6) mniejszą zawartość niż w gotowanej do wrzenia. Największą zawartość miała próbka z wodą po parówkach wrzuconych na wrzątek z oznaczeniem P6 (124 mg/kg), a najmniejsza P5 (44 mg/kg).

Tab. 5. Woda po obróbce parówek (NO₂).

PRÓBKA (Oznaczenie)	Gotowane do wrzenia [mg/kg]	Wrzucone na wrzątek [mg/kg]
P1	0,08	0,16
P2	0,48	0,12
P3	0,12	0,08
P4	0,48	0,28
P5	0,36	0,12
P6	0,2	0,16



Rys. 4. Woda po parówkach NO₂.

W przypadku gotowania próbki do wrzenia przenikania o wiele więcej azotanów (III) niż podczas wrzucania na wrzątek. Wartość maksymalna próbki gotowanej do wrzenia wynosi 0,48 mg/kg (P2 i P4). Minimalna wartość dla tej obróbki wynosi 0,08 mg/kg (P1). W przypadku wrzucania próbek na wrzątek największą wartość miała próbka P4 (0,28 mg/kg), a najmniejszą P3 (0,08 mg/kg).

4. Dyskusja i wnioski

Na przestrzeni ostatnich lat można zauważyć tendencję wzrostową świadomości konsumenckiej. Co raz częściej Polacy w kwestii zakupów edukują się, czytają etykiety i dokonują nieprzypadkowych wyborów. Zmiany w mentalności konsumenckiej odzwierciedlają świadome zakupy, których dokonują. Wyprodukowanie mięsa stanowi bardzo kosztowny proces, w porównaniu do produktów pochodzenia roślinnego, które także zawierają białko (Litwińczuk i Szulc 2005). W związku z wymienionymi czynnikami tak istotny jest wybór produktu jak najlepszej jakości i odpowiednie przygotowanie go.

Przeprowadzone badania pokazują, że gotowanie i pieczenie powodują spadek zawartości azotanów (III) i (V). Maksymalne dopuszczalne dzienne pobranie azotanów (V) przez człowieka wynosi do 5 mg/kg masy ciała (co odpowiada 1,13 mg N-NO₃) (Pośpiech i in. 2009). Powszechna norma zawartości azotanów (V) nie została przekroczona w żadnej z próbek. Zaś azotanów(III) do 0,1 mg/kg masy ciała (co odpowiada 0,06 mg N-NO₂) (Pośpiech i in. 2009). Również wszystkie badane próbki mieszczą się w dziennej dozwolonej normie do spożycia azotanów (III). W porównaniu wyników parówek surowych do parówek poddanych obróbkom termicznym, można stwierdzić, że zmniejsza zawartość azotanów (III). Najkorzystniejszym sposobem obróbki parówek spośród zastosowanych metod okazało się pieczenie, ponieważ próbki poddane temu procesowi zawierały najmniejszą zawartość azotanów.

W przypadku badania azotanów (III) i (V) metodą kolorymetryczną normy dziennej dawki do spożycia nie zostały przekroczone dla żadnej z badanych próbek. W przypadku oznaczania azotanów (III) metodą kolorymetryczną można zauważyć spadek azotanów w próbkach po termicznych obróbkach w porównaniu do próbek niepodgrzanych. Duży spadek zawartości azotanów wykazano po zastosowaniu pieczenia.

Azotany to związki bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie, podczas gotowania mogą przenikać do wody, w której były gotowane. Zawartość azotanów w produkcie zmniejsza się, a w wywarze rośnie.

W przypadku gotowania parówek we wrzątku odnotowano o wiele więcej azotanów (III) niż podczas wrzucania na wrzątek.

Na zawartość azotanów (III) i azotanów (V) w produkcie ma wpływ przede wszystkim rodzaj i technologia produkcji mięsa.

Podsumowując warto wiedzieć, że w organizmie ludzkim azotan (V) jest redukowany do bardziej szkodliwego azotanu (III). Od wielu lat prowadzone są badania mające na celu obniżenie poziomu azotanów (III) i azotanów (V) dodawanych do produktów mięsnych w celu ochrony zdrowia konsumentów przed nadmierną konsumpcją. Wciąż jednak trwa debata czy poziom dodawanych związków są zbyt wysokie i czy nie należy całkowicie zakazać stosowania tych substancji w żywności.

5. Literatura

- Gawęcki J, Mossor-Pietraszewska T (red) (2004) Przetwarzanie i utrwalanie żywności, Kompendium wiedzy o żywności, żywieniu i zdrowiu, Wydawnictwo Naukowe PW, s. 66-85.
- Górna J, Łuczka-Bakuła (red) (2007) Systemy zarządzania bezpieczeństwem żywności. Zarządzanie jakością, środowiskiem i bezpieczeństwem wyrobów, Poznań, 51-90.
- Kapusta F (2009) Przemysł mięsny w Polsce-wybrane problemy. Nauki Inżynierskie i Technologie 57: 21-33.
- Kędzior W (2014) Substancje dodatkowe w przetwórstwie mięsa i warunki ich stosowania. Zeszyty Naukowe UEK. 3(927), s. 9-20.
- Litwińczuk Z, Szulc T (2005) Hodowla i użytkowanie bydła. Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- Markowska A, Furmanek W (2000) Ocena zawartości azotanów (V) i azotanów (III) w dietach dzieci przedszkolnych. Żywność. Nauka, Technologia, Jakość 3(24): 105-112.
- Migdał W, Gryczka U, (2013) Radiacyjna metoda higienizacji utrwalania żywności. Postępy Techniki Jądrowej 59 2.1, s. 8-11.

Mróz B (2013) Konsument w globalnej gospodarce. Trzy perspektywy. Oficyna wydawnicza SGH, Warszawa 2013.

Pośpiech E, Frankowska A (2009) Azotany III i V- ich zastosowanie w przyszłości w przetwarzaniu mięsa. Medycyna Weterynaryjna 65(12): 803-806.

4. Wykorzystanie narzędzi symulacyjnych w procesie projektowania automatycznych układów sterowania

Applying simulation tools in the process of designing automatic control systems

Jasinowicz Szymon, Czopek Karol, Dylong Artur

Katedra Elektrotechniki i Automatyki Przemysłowej, Wydział Górnictwa, Inżynierii Bezpieczeństwa i Automatyki Przemysłowej, Politechnika Śląska.

Opiekun naukowy: dr. inż. Artur Dylong

Szymon Jasinowicz: szymjas035@student.polsl.pl

Karol Czopek: karocz0854@student.polsl.pl

Artur Dylong: artur.dylong@polsl.pl

Słowa kluczowe: MODBUS RTU, sterownik przemysłowy, programowanie PLC.

Streszczenie

W trakcie projektowania układów automatyki mogą wystąpić sytuacje w których dostęp do fizycznego obiektu jest utrudniony lub nie możliwy – często nie pozwalają na to okoliczności towarzyszące procesowi projektowania. W takich sytuacjach pomocne okazują się nowoczesne narzędzia pozwalające na symulowanie obiektu automatyki, a co za tym idzie sprawne zaprojektowanie i wstępne przetestowanie systemu. W artykule zostanie opisany proces projektowania układu sterowania wykorzystujący metody symulacji, którego zadaniem jest sterowanie kilkoma obiektami biorącymi udział w pewnym procesie przemysłowym. Wszystkie urządzenia posługują się protokołem komunikacyjnym MODBUS RTU, a w ich dokumentacjach znajdują się szczegółowe informacje odnośnie funkcji poszczególnych rejestrów, dzięki czemu możliwe jest zasymulowanie obiektu (przy użyciu programu na komputerze PC lub mikrokontrolera) i zaimplementowanie przesyłania danych pomiędzy sterownikiem a urządzeniem. Wykorzystanie symulacji w procesie tworzenia oprogramowania sterownika PLC, zdecydowanie przyspiesza proces wdrożenia ze względu na możliwość przetestowania funkcji komunikacyjnych i sterowania w warunkach laboratoryjnych. W efekcie opracowane i przetestowane oprogramowanie może zostać zainstalowane na obiekcie bez dodatkowych modyfikacji, przez co skraca się czas testów obiektowych.

1. Wstęp

W trakcie procesu projektowania układów automatyki często występują sytuacje, w których należy sprawdzić dane rozwiązanie, podczas braku dostępu do fizycznego obiektu lub chęci uniknięcia ryzyka uszkodzenia urządzenia. Aby uniknąć problemów i przyspieszyć proces projektowania można skorzystać z nowoczesnych narzędzi symulacyjnych. Różnice w oprogramowaniu względem symulowanego i rzeczywistego obiektu zwykle są niewielkie, w niektórych sytuacjach oprogramowanie nie wymaga żadnych zmian. Zdecydowaną zaletą tego rozwiązania jest wyeliminowanie błędów po stronie oprogramowania w momencie, gdy wykonywane są testy obiektowe, co skraca ich czas i zwiększa bezpieczeństwo.

2. Wykorzystane rozwiązania symulacyjne

W celu przedstawienia przykładowego procesu projektowania wraz z wykorzystaniem elementów symulacyjnych użyto następujących konfiguracji sprzętowych:

- Komputer ↔ mikrokontroler
- Komputer ↔ sterownik PLC
- Sterownik PLC ↔ mikrokontroler

Wszystkie urządzenia posługują się protokołem komunikacyjnym MODBUS RTU. Symulowany jest pewien proces przemysłowy, wykorzystujący kilka urządzeń przesyłających informacje pomiędzy sobą. Każde z urządzeń ma swoje rejestry, w które mogą wpisywane i odczytywane pewne wartości (w rzeczywistym urządzeniu byłoby to np. napięcie, częstotliwość czy wartość prądu).

Najprostszym rozwiązaniem jest rozwiązanie pierwsze, pozwala ono niskim kosztem zasymulować komunikację urządzeń za pomocą protokołu MODBUS. Rozwiązanie to jest świetną alternatywą dla osób, które chciałyby nauczyć się jak działa ten protokół oraz tworzyć programy, które w przyszłości będą mogły zostać wykorzystane w większych projektach.

Połączenie sterownika PLC wraz z komputerem pozwala wykorzystać narzędzia, które dają największe możliwości zmian parametrów oraz są najbardziej zbliżone do rzeczywistego obiektu. Pozwalają one modyfikować praktycznie każdy parametr transmisji, na przykład prędkość czy występowanie kontroli parzystości. Warunki, jakie można stworzyć za pomocą środowiska symulacyjnego są najbardziej zbliżone do rzeczywistych urządzeń wykorzystujących protokół MODBUS, dzięki temu, że tablice rejestrów można odtworzyć według specyfikacji urządzenia (np. przemiennika częstotliwości). Dodawanie kolejnych wirtualnych urządzeń jest bardzo proste, konfiguracje tablic rejestrów można zapisywać na komputerze, dzięki czemu za każdym razem nie trzeba ich mozolnie uzupełniać. Stworzone tablice rejestrów bez problemu są interpretowane przez data blocki w programach wiodących producentów rozwiązań automatyki.

Ostatnie z rozwiązań również posiada wiele możliwości oraz jest bliskie końcowej funkcjonalności systemu – nie wykorzystuje komputera PC. Dzięki wykorzystaniu wszechstronności mikrokontrolera można dość niskim kosztem odtworzyć dowolny obiekt, który będzie przesyłał pomiary czy sterował pewnym urządzeniem. Pozwala to zbliżyć stanowisko laboratoryjne do rzeczywistego obiektu, zamiast prezentowania suchych danych jak w przypadku rozwiązania drugiego. Efekty komunikacji są namacalne, można zaobserwować zmiany w zachowaniu obiektu zależnie od wartości poszczególnych zmiennych.

2.1 Połączenie komputera z mikrokontrolerem

Komunikacja pomiędzy mikrokontrolerem Arduino (Uno i Leonardo) a komputerem PC została zrealizowana przy użyciu czterech zasadniczych bloków funkcjonalnych:

- komputera PC z odpowiednim oprogramowaniem, realizującym rolę urządzenia nadrzędnego (master),
- konwertera interfejsów RS-232 na USB,
- odpowiednio połączonego z mikrokontrolerem konwertera interfejsów RS-485 na RS-232,
- mikrokontrolera z odpowiednim oprogramowaniem, który realizował rolę urządzenia podrzędnego (slave).

Na komputerze PC wykorzystano oprogramowanie MODBUS Poll, które jest idealnym narzędziem do testowania komunikacji w standardzie RS-485. Umożliwia nawiązanie połączenia o wybranych parametrach (szybkość transmisji, kontrola parzystości, liczba bitów danych itp.) z wieloma urządzeniami slave poprzez wybrany port, zadeklarowanie rozmiarów rejestrów używanych przez urządzenie, ręczną modyfikację ich wartości, z możliwością autoinkrementacji oraz monitorowanie portu w czasie rzeczywistym. Dzięki temu środowisko symulacyjne można dostosować dokładnie do badanego urządzenia. Na potrzeby testów zainicjowano połączenie z dwoma urządzeniami podrzędnymi o numerach 1 i 2 (slave ID 1 oraz 2). Zadeklarowano, że operacje będą przeprowadzane na rejestrach typu Holding (prefiks 4) i że każde urządzenie będzie operowało na 20 rejestrach z tego zakresu (numery od 0 do 19), z czego rejestry o numerach 0-9 służyć będą do odczytu informacji przez urządzenie nadrzędne z podrzędnego (modyfikacja danych przez urządzenie podrzędne), a rejestry o numerach 10-19 będą do dyspozycji urządzenia nadrzędnego. Jako port docelowy komunikacji ustawiono port COM, w którym znajdował się konwerter USB na RS-232, bez którego komunikacja nie byłaby możliwa.

Wyjście konwertera USB na RS-232 posiada dwa piny (A i B), które podłączono do wejścia konwertera MAX485, zasilanego napięciem stałym 5V. Wyjście konwertera w konfiguracji, w której mikrokontroler jest urządzeniem podrzędnym podłączono w następujący sposób: DI-TX0 (pin 1),

RO-RX0 (pin 0), DE zwarte z RE i podłączone do pin 4 Arduino – wykorzystano więc w celach komunikacji 3 piny mikrokontrolera. Zwarcie pinów DE i RE mikrokontrolera jest charakterystyczne dla pracy jako urządzenie podrzędne – nie są rozróżniane sygnały Driver Enable i Receiver Enable.

W mikrokontrolerze zastosowano program opierający się na udostępnionej na portalu GitHub bibliotece MODBUSRtu.h (należy ją dołączyć do środowiska Arduino IDE w pliku zip)(docs.arduino.cc). Wykorzystanie tej biblioteki w celu umożliwienia mikrokontrolerowi komunikacji z wykorzystaniem protokołu MODBUS z innymi urządzeniami jest proste i opiera się na kilku krokach. W pierwszej kolejności stworzyć należy obiekt klasy MODBUS, która jest częścią biblioteki. Dzięki temu wykorzystywać można funkcje tejże, w celu ustawienia parametrów urządzenia i realizacji komunikacji. Następnie deklarowane są trzy parametry całkowitoliczbowe tego obiektu, za pomocą funkcji MODBUS(a, b, c) – parametr a oznacza numer urządzenia podrzędnego – slave ID (na potrzeby testów ustawiono 1 w pierwszym urządzeniu oraz 2 w drugim urządzeniu). Parametr b oznacza protokół komunikacyjny – cyfra 1 odpowiada protokołowi RS-485. Ostatni parametr c oznacza numer piny, do którego podłączone są wyjścia DE i RE konwertera – na potrzeby testów wspomniany wcześniej pin 4. Należy również zadeklarować tablicę liczb bez znaku typu short (uint16_t), której rozmiar odpowiada liczbie rejestrów, których urządzenie będzie używać. Otwarcie kanału komunikacyjnego z zadaną szybkością transmisji – która powinna się zgadzać z szybkością transmisji ustawioną w urządzeniu nadrzędnym – odbywa się standardowym w języku programowania Arduino poleceniem begin (baud). Zapis i odczyt danych jest możliwy po zastosowaniu funkcji poll (a, b), gdzie a oznacza wcześniej utworzoną tablicę rejestrów, a b – rozmiar tablicy rejestrów (wygodne jest użycie funkcji sizeof). Po umieszczeniu jej w pętli głównej kodu można prowadzić operacje na rejestrach w sposób analogiczny do operacji na zwykłych tablicach w języku c.

Przykładowy program używany do symulacji komunikacji pomiędzy komputerem PC, a mikrokontrolerem realizował następujące zadania: jeżeli w rejestrze Holding Register 10 urządzenie nadrzędne umieściło wartość większą od 10, mikrokontroler zapalał wbudowaną diodę LED – w przeciwnym wypadku dioda pozostawała zgaszona. Jednocześnie co sekundę mikrokontroler zmieniał wartość rejestru 0 z 1 na 10.

Te proste operacje miały na celu przetestowanie poprawności komunikacji między urządzeniami – stwierdzono ich poprawne działanie. W analogiczny sposób możliwe jest prowadzenie znacznie bardziej skomplikowanych symulacji – jeżeli projektant dysponuje pełną dokumentacją obiektu (na przykład falownika), który posiada możliwość komunikacji poprzez protokół MODBUS.

2.2 Połączenie komputera z sterownikiem PLC

W celu zestawienia połączenia komunikacyjnego w dla tej konfiguracji, niezbędne są poniższe elementy:

- Sterownik PLC
- Płytkę sygnałową pozwalającą na transmisję za pomocą interfejsu RS-485
- Konwerter USB/RS-485
- Komputer PC

Sterownikiem PLC użytym w tym eksperymencie był sterownik Siemens SIMATIC s7-1200 CPU 1214C. Do sterownika została dobrana płytka sygnałowa CB 1241, która pozwala na komunikację za pomocą interfejsu RS-485(suport.siemens.com). Do komputera PC został podłączony konwerter USB/RS-485. Połączenie pomiędzy PC a sterownikiem zostało wykonane za pomocą pary miedzianych przewodów telekomunikacyjnych. Punkt A konwertera został połączony z punktem TA płytki, adekwatnie zostały połączone punkty B. Zaletą takiej konfiguracji sprzętowej jest zamienność połączeń, w ten sam sposób łączyć się będzie sterownik z urządzeniami, które komunikują się za pomocą RS-485.

Korzystając z programu MODBUS Slave stworzono trzy tabele rejestrów, które odpowiadają przykładowym urządzeniom wykorzystywanym w przemyśle. Program MODBUS Slave umożliwia dobór różnych konfiguracji transmisji, pozwala on również na monitorowanie kanału komunikacyjnego w czasie rzeczywistym, a ponadto zdolny jest do wyświetlania

komunikatów o błędach występujących podczas transmisji. Oprogramowanie zezwala na utworzenie maksymalnie 32 wirtualnych urządzeń, każde z nich może mieć inną liczbę rejestrów, każde z wirtualnych urządzeń może przechowywać inne dane. Istnieje możliwość modyfikacji wartości liczbowych rejestrów oraz aktywowania ich autoinkrementacji, co jest przydatne podczas testów. Takie tabele rejestrów projektant jest w stanie z łatwością interpretować za pomocą data blocków w programie sterownika PLC, w których każda z komórek rejestrów zostaje zależnie od konfiguracji programu modyfikowana lub odczytywana.

Program sterownika został napisany w dedykowanym dla niego środowisku TIA PORTAL, które oprócz kodowania pozwala na obserwację zachowania poszczególnych wejść, wyjść oraz danych w sterowniku. W celu stworzenia kodu korzystającego z protokołu MODBUS wykorzystano gotowe funkcje. Konfigurację wykonano za pomocą gotowych funkcji dostępnych w bibliotece programu, centralne dla komunikacji role pełnią bloki MB_COMM_LOAD oraz MB_MASTER. Dodatkowo niezbędne jest stworzenie bloków danych, przechowujących rejestry oraz odpowiedniej logiki sterującej komunikacją.

W programie znajduje się jeden blok MB_COMM_LOAD, służący do ustawienia parametrów komunikacji. Posiada on wejścia i wyjścia, których przeznaczenie można w bardzo łatwy sposób sprawdzić korzystając z wbudowanej w programie TIA Portal pomocy, dostępnej pod klawiszem F1. (Stenerson i Deeg 2015) Najważniejsze wejścia z punktu widzenia komunikacji to PORT, BAUD oraz PARITY – służą do ustawienia jej parametrów oraz docelowego portu. Wyjścia bloku zwracają komunikaty o zakończeniu operacji (DONE), wystąpieniu błędu (ERROR) oraz kod stanu (STATUS). Do wejścia REQ podłączony jest bit FirstScan sterownika, co oznacza, że przez pierwszy cykl po zakończeniu wykonywania bloku rozruchowego znajduje się na tym wejściu stan wysoki, a więc sterownik nawiązuje połączenie z urządzeniami podrzędnymi.

Nawiązanie komunikacji przez block MB_COMM_LOAD nie jest wystarczające do wymiany danych pomiędzy urządzeniami – konieczne jest zastosowanie bloków sterujących MB_MASTER. W programie wykorzystano dwa takie bloki – jeden służący do odczytu danych z urządzenia podrzędnego (MODE 0), a drugi do ich zapisu (MODE 1). Podobnie jak blok nawiązujący komunikację, blok sterujący posiada wejścia oraz wyjścia – jego wyjścia również informują o stanie bloku: DONE o zakończeniu operacji, BUSY o trwaniu operacji, ERROR o wystąpieniu błędu, a STATUS – wskazuje kod błędu (można go rozszyfrować ponownie korzystając z pomocy zawartej w środowisku TIA Portal).

Cykl komunikacji rozpoczyna się od odczytu danych z urządzenia. Wejście REQ (request – żądanie) bloku w trybie 0 musi być stymulowane cyklicznie – wykorzystano więc zegar o częstotliwości 1Hz, szeregowo połączony (w języku LAD) z bitem DONE bloku odpowiadającego za komunikację – oznacza to, że kiedy kanał komunikacyjny jest wolny, sterownik będzie wysyłał do urządzenia podrzędnego żądania co sekundę. Do wejścia DATA_PTR należy doprowadzić blok danych, do których odczytane zostaną rejestry (lub z których dane zostaną przesłane do urządzenia podrzędnego, w trybie MODE 1). Pozostałe wejścia ustawiają parametry urządzenia i komunikacji – MB_ADDR oznacza adres urządzenia podrzędnego, z którym sterownik ma się skomunikować, wspomniany wcześniej MODE oznacza tryb pracy urządzenia (odczyt, zapis), DATA_ADDR oznacza adres pierwszy rejestru, a DATA_LEN – ilość rejestrów.

Blok służący do zapisu danych skonfigurowany jest analogicznie, jednak do jego wejścia REQ podłączono bit, który przyjmuje stan wysoki po zakończeniu odczytu danych – sterownik więc wysłał żądanie zapisu po ukończeniu odczytywania danych z urządzenia. Warto nadmienić, iż kolejność tych operacji jest dowolna – wystarczy zamienić ze sobą bity podłączone do wejść REQ w obydwu blokach. (support.siemens.com)

Istotnym elementem komunikacji jest logika sterująca zmianami adresu urządzenia podrzędnego oraz zapisu w odpowiednich blokach danych. Program składa się z kodu podzielonego na tzw. networki. Pierwszy z nich składa się z przerzutników SR oraz bloków inkrementujących. Przerzutniki przechowują informację o tym, czy wystąpił już zapis oraz odczyt i ustawiane są odpowiednimi bitami stanu bloku MB_MASTER. Kiedy obydwa z nich znajdują się w stanie wysokim, inkrementowany jest o 1 adres urządzenia podrzędnego, a przerzutniki są resetowane. Sens

tej operacji polega na zapewnieniu, że sterownik wyśle żądanie do kolejnego urządzenia, dopiero po wystąpieniu pełnego cyklu komunikacyjnego z poprzednim.

Kolejne dwie sieci monitorują wartość adresu urządzenia podrzędnego – jeżeli przekroczy ona pewną wartość, odpowiadającą liczbie urządzeń podłączonych do jednego urządzenia nadrzędnego, to wraca do wartości początkowej. Wymusza to cykliczną komunikację ze wszystkimi podłączonymi urządzeniami.

Ostatnie sieci mają ścisły związek z prawidłowym odczytem i zapisem danych. Należy przedstawić jak zorganizowane są dane w sterowniku, w ramach przygotowanego programu. Każde z urządzeń podrzędnych posiada dwa odpowiadające mu bloki danych – jeden służący do odczytu danych przez sterownik oraz drugi, którego zadaniem jest przechowywanie danych otrzymanych od sterownika – SLAVEn_WRITE oraz SLAVEn_READ (gdzie n oznacza numer urządzenia podrzędnego). Do wejść DATA_PTR bloków MB_MASTER doprowadzono natomiast po jednym bloku danych, nazwany buforem (BUFF_DATA_WRITE oraz BUFF_DATA_READ). Kluczem do poprawnej transmisji danych w układzie zawierającym wiele urządzeń podrzędnych jest odpowiednie przenoszenie danych między buforami, a właściwymi rejestrami. W przygotowanym programie funkcjonalność tą zapewniają dwa krótkie programy napisane w języku STL, które zawierają jedynie funkcję CASE ... OF oraz instrukcje MOVE_BLK. Znana wszystkim programistom funkcja CASE sprawdza aktualny numer urządzenia podrzędnego i zgodnie z nim przenosi dane z bufora do rejestrów odpowiadających aktualnemu urządzeniu podrzdnemu w przypadku odczytu danych, lub na odwrót w przypadku zapisu. Instrukcja jest wykonywana po zakończeniu operacji na poprzednim urządzeniu.

Taka konstrukcja programu pozwala na niezawodną, dwustronną komunikację sterownika PLC z wieloma urządzeniami podrzdnymi – dodanie kolejnego urządzenia sprowadza się do niewielkiej modyfikacji kodu – dodania kolejnego bloku danych, podniesienie o 1 liczby, po której adres urządzenia podrzędnego sprowadzany jest do 1 oraz dodanie warunku odpowiadającemu numerowi urządzenia w opisanych powyżej instrukcjach CASE. (support.siemens.com)

Dzięki temu rozwiązaniu możliwe jest testowanie faktycznego oprogramowania sterownika, które w przyszłości zostanie użyte do sterowania rzeczywistymi obiektami, a nie tylko przebiegu samej komunikacji i położenia danych w rejestrach, tak jak ma to miejsce w rozwiązaniu pierwszym. Jednocześnie wykorzystanie komputera PC, jako urządzenia podrzędnego pozwala na elastyczną manipulację wartościami rejestrów, w celu zapewnienia niezawodności oprogramowania sterownika.

2.3 Połączenie sterownika PLC z mikrokontrolerem

Sednem problemu rozwiązywanego przez omawiane metody symulacyjne jest przyspieszenie procesu projektowania układów wykorzystujących sterownik PLC oraz fizyczne urządzenia przemysłowe. Ta metoda polega na łączeniu ze sobą urządzeń bez użycia komputera PC, a więc jest najbliższa rzeczywistemu zastosowaniu przemysłowemu. Tor komunikacji w tej konfiguracji składa się z czterech bloków funkcjonalnych:

- sterownika S7-1200 z odpowiednim oprogramowaniem, realizującym rolę urządzenia nadrzędnego,
- karty rozszerzeń CB1241 RS-485 podłączonej do sterownika,
- połączonego z mikrokontrolerem konwertera interfejsów,
- odpowiednio oprogramowanego mikrokontrolera realizującego funkcję urządzenia podrzędnego.

Sterownik zaprogramowano w analogiczny sposób jak podczas realizacji komunikacji z komputerem PC – zmniejszono jedynie liczbę obsługiwanych urządzeń do dwóch w sposób opisany w poprzedniej części artykułu, ponieważ symulację przeprowadzono dla dwóch mikrokontrolerów Arduino. Program umożliwia monitorowanie wartości rejestrów zapisanych w mikrokontrolerach oraz zapisywanie danych w odpowiednich rejestrach.

Oprogramowanie mikrokontrolera również jest analogiczne jak w przypadku realizacji komunikacji z komputerem PC, co obrazuje uniwersalność zastosowanego rozwiązania – należało jedynie przepiąć przewody łączące urządzenia ze sobą. Mikrokontroler realizował te same zadania – warunkowe włączenie wbudowanej diody oraz cykliczną zmianę wartości rejestrów.



Rys. 1. Schemat połączenia między mikrokontrolerem a sterownikiem.

Opracowanie programów sterownika oraz mikrokontrolera w używanych w poprzednich częściach artykułu za pomocą metod symulacyjnych pozwoliło na połączenie dwóch, gotowych i przetestowanych bloków – sterownika i mikrokontrolera – ze sobą. Przeprowadzenie testów komunikacji między nimi wymagało jedynie niewielkich zmian. Świadczy to o skuteczności omawianych metod projektowania układów automatyki.

Prostota struktury danych znajdujących się w sterowniku pozwala na łatwe sterowanie dowolnymi urządzeniami za pomocą protokołu MODBUS – sprowadza się do zapisania odpowiednich wartości w rejestrach o odpowiednich adresach, po spełnieniu pewnych warunków (przykładowo wysłanie kodu odpowiadającego zatrzymaniu urządzenia, na jego odpowiedni rejestr, po wciśnięciu przycisku STOP). Przy projektowaniu systemów automatyki należy jednak pamiętać, że nadrzędnym zadaniem automatyka jest zapewnienie bezpieczeństwa obsługi, a więc awaryjne instrukcje, takie jak zatrzymanie urządzenia powinny być przesyłane niezależnie, na przykład do styczników zapewniających jego zasilanie. Pomimo stabilności i niezawodności protokołu MODBUS i komunikacji w standardzie RS-485 komunikacja cyfrowa jest bardziej podatna na zakłócenia i błędy, a przede wszystkim bardziej czasochłonna niż przerwanie prostego sygnału napięciowego do cewki przekaźnika odpowiadającego za zasilanie urządzenia. Z tego powodu komunikacja w protokole MODBUS powinna być zarezerwowana do przesyłania informacji, które nie charakteryzują się krytycznym dla bezpieczeństwa znaczeniem – na przykład parametry konfiguracyjne po włączeniu urządzenia, lub parametry pracy. (modbus.org)

3. Podsumowanie

Przedstawione możliwości wykorzystania narzędzi symulacyjnych w procesie projektowania pokazują, że brak dostępu do obiektu fizycznego, lub inne czynniki utrudniające proces projektowania nie hamują rozwoju projektu czy oprogramowania. Dostosowanie środowiska symulacyjnego pod własne potrzeby skraca czas wymagany do wdrożenia rozwiązania oraz nie spowalnia testów obiektowych, co jest sytuacją jak najbardziej pożądaną. Dodatkowo, oprócz zastosowań komercyjnych, symulowanie urządzeń pozwala na rozwój mało doświadczonego projektanta, który dopiero zaczyna swoją naukę programowania sterowników PLC. Dużą zaletą tych rozwiązań jest mnogość dostępnych materiałów w sieci, na przykład na forach związanych z branżą, lub w postaci filmów na popularnych platformach społecznościowych. Po zaznajomieniu się z dostępnymi materiałami każda osoba, która ma chęć rozwinięcia swojej wiedzy o programowaniu sterowników przemysłowych może spróbować stworzyć program podobny do opisywanych w artykule. Oprócz programów opisanych w artykule występuje wiele innych środowisk, które pozwalają na bezproblemowe programowanie w językach wykorzystywanych w sterownikach – w ostatnich latach pojawia się ich coraz więcej i cieszą się coraz większą popularnością, ponieważ umożliwiają pogłębianie swojej wiedzy bez konieczności posiadania kosztownego sprzętu.

4. Literatura

<https://docs.arduino.cc/>

<https://support.industry.siemens.com/cs/document/65601780/tia-portal-an-overview-of-the-most-important-documents-and-links-controller>

https://modbus.org/docs/Modbus_Application_Protocol_V1_1b.pdf

Stenerson J, Deeg D (2015) Siemens Step 7 (TIA PORTAL) Programming, a Practical Approach.
Createspace Independent Publishing Platform.

5. Potrzeba identyfikacji i potwierdzenia autentyczności herbat Pu-erh

The need to identify and confirm the authenticity of Pu-erh teas

Kaja Karwowska^(1, 2), Łukasz Długoński⁽¹⁾

⁽¹⁾ Zakład Towaroznawstwa Żywności, Katedra Żywienia Klinicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁽²⁾ Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Oddział Gdańsk

Kaja Karwowska: kajakarwowska@gumed.edu.pl

Słowa kluczowe: Vintage Pu-erh, aukcje, fałszowanie, bańka spekulacyjna.

Streszczenie

Za produkt autentyczny uznaje się produkt wolny od zafałszowań, które mogą polegać na modyfikacjach składu lub właściwości, o czym konsument nie został poinformowany. Fałszowaniem są również wszelkie działania, które mają na celu ukrycie rzeczywistego składu produktu i nadania mu wyglądu, świadczącego o odpowiedniej jakości. Brakiem autentyczności jest także zamieszczenie na opakowaniu nieprawdziwych danych oraz nieprawidłowe oznakowanie produktu. Szczególnym rodzajem fałszowania są produkty podrobione, które swoim wyglądem mają przypominać produkty oryginalne.

Celem pracy jest zwrócenie uwagi na czynniki kształtujące cenę herbaty Pu-erh na rynku. Takie czynniki jak pochodzenie surowca, sposób jego przetworzenia oraz wiek herbaty wymagają identyfikacji, ponieważ stanowią świadectwo autentyczności produktu. Obok podaży i popytu, wpływają one na cenę produktu. W pracy dokonano również przeglądu sytuacji na rynku rodzimym herbaty Pu-erh, wskazano przyczyny załamania się rynku oraz najczęściej spotykane sposoby fałszowania tej herbaty.

1. Wstęp

Za produkt autentyczny uznaje się produkt wolny od zafałszowań, które mogą polegać na modyfikacjach składu lub właściwości, o czym konsument nie został poinformowany. Fałszowaniem są również wszelkie działania, które mają na celu ukrycie rzeczywistego składu produktu i nadania mu wyglądu, świadczącego o odpowiedniej jakości. Brakiem autentyczności jest także zamieszczenie na opakowaniu nieprawdziwych danych (o składzie czy pochodzeniu produktu) oraz nieprawidłowe oznakowanie produktu. Szczególnym rodzajem fałszowania są produkty podrobione. Mają one przypominać swoim wyglądem produkty oryginalne, ale pod względem składu, właściwości lub użyteczności się od nich różnią. Rynek produktów podrabianych stale się rozwija. Przeciętny konsument może uważać, iż problem ten nie dotyczy żywności, która jest łatwo dostępna. Niestety jest to powszechne zjawisko, dotyczące głównie produktów droższych. Przyczyną jest chęć zwiększenia zysków poprzez obniżenie kosztów produkcji i zwiększenie atrakcyjności cenowej produktu. Rzadziej fałszowanie ma na celu ukrycie niskiej jakości produktu lub błędów w procesie produkcyjnym (Małecka i Samotyja 2022). Z kolei autentyczność w znaczeniu „tradycyjność”, to zgodność z oryginałem zakodowanym w umyśle, zapamiętanym z dzieciństwa. Za produkt autentyczny można uznać taki, który jest zgodny z oryginałem i odpowiada pierwowzorowi określoneemu w standardzie (Śmiechowska 2014).

Istnieją dwa zasadnicze rodzaje Pu-erh: surowe (Sheng) i dojrzałe (Shu). Surowy Pu-erh przetwarzany jest jak typowa zielona herbata i poddawany naturalnemu procesowi starzenia podczas przechowywania. Dojrzałe Pu-erh różnią się od surowych Pu-erh dodatkowym etapem – sztucznym dojrzewaniem, zwanym „Wo Dui”. Głównym założeniem twórców tej metody było uzyskanie produktu identycznego jak surowy Pu-erh poddany wieloletniemu procesowi dojrzewania (zwany jest wówczas Vintage Pu-erh) w zaledwie kilka miesięcy. Ostatecznie różnice w technologicznym przetwarzaniu surowców powodują powstanie produktów o odmiennych właściwościach chemicznych i sensorycznych (Jia, Rajani, Lv i in. 2022; Ye, Zhao, Chen i in. 2021). Oba rodzaje

herbata są zazwyczaj sprzedawane w formie prasowanej (ciastka). Najczęściej spotykane kształty to: dysk, gniazdo, cegielka oraz grzybek.

Tradycyjna Pu-erh to herbata surowa poddawana długotrwałemu dojrzewaniu. Najlepsze tego typu produkty herbaciane nie są dostępne w sprzedaży detalicznej, ale sprzedawane są na aukcjach po ogromnych cenach (kilka tysięcy dolarów). Pojawia się zatem ogromna szansa na nielegalne wykorzystanie zarobków poprzez sprzedaż podrobionych produktów (Zhang 2014).

Pojęcie autentycznej Pu-erh miało początkowo odniesienie do tradycyjnej wersji, znanej obecnie jako Raw Pu-erh. Po wprowadzeniu metody *wo-duit* przez niemal 30 lat wersja Ripe nie była uznawana przez Chińczyków za herbatę Pu-erh. Wtedy na rynku zapanował chaos. Poza krajami azjatyckimi to właśnie sztucznie postarzana wersja była dostępna, przez co konsumenci na całym świecie znali tylko tę herbatę i ją chcieli nabywać. Potrzeby rynku miały znaczący wpływ na zmiany w regulacjach rządowych, przez co kolejne definicje i wymagania były tak konstruowane aby również surowiec przetworzony za pomocą metody *wo-duit*, mógł być nazywany herbatą Pu-erh. Po uznaniu nowej wersji, gdy ceny herbaty Pu-erh gwałtownie wzrosły do nieoczekiwanych poziomów, liczne gospodarstwa nastawiły się na produkcję dużych ilości tej herbaty. Większość surowca była wykorzystywana do produkcji herbaty Pu-erh, powodując gwałtowny spadek produkcji herbaty czarnej oraz niektórych rodzajów zielonej. Mimo iż liście herbaty z Fujian, Sichuan lub z sąsiedniego Wietnamu i Birmy, nie nadają się do wytwarzania Pu-erh, zostały wykorzystane do produkcji „herbaty Pu-erh”. Tak rozpoczął się konflikt między prowincjami o prawo do produkcji „oryginalnej” Pu-erh. W 2005 r. *Yunnan Tea Business Association* publicznie oskarżyło Guangdong o sprzedaż dużej ilości sfałszowanej herbaty Pu-erh (China Daily).

2. Rynek herbaty Pu-erh

Ze względu na różne odmiany herbaty Pu-erh jej rynek również jest podzielony. Jeden dotyczy Ripe Pu-erh i jest zlokalizowany poza Chinami, drugi dotyczy samych Chin. W Polsce oraz pozostałej części Europy najczęściej spożywa się herbatę czarną. Jednak od kilku lat jej udział w rynku maleje na rzecz innych rodzajów herbat. Największe znaczenie ma herbata zielona, która stanowi drugi najczęściej spożywany jej rodzaj. Herbata Pu-erh (wersja Ripe) zyskała uznanie na naszym kontynencie, jednak nadal ilość jej zwolenników jest dużo mniejsza niż w przypadku herbaty czarnej i zielonej. Bardzo często statystyki, dotyczące spożycia herbaty obejmuje podział na trzy grupy: herbata czarna, herbata zielona i inne. W ostatniej kategorii znajdują się pozostałe 4 rodzaje herbat, w tym Pu-erh oraz niestety bardzo często również herbatki. Udział w rynku ostatniej grupy jest niewielki – w porównaniu z dwoma pierwszymi (CBI 2016; Portal Spożywczy). Przeglądając jakiegokolwiek dane należy najpierw sprawdzić na jakim podziale herbat bazują autorzy opracowania. W raportach przygotowywanych przez FAO, herbata Pu-erh uznawana jest za herbatę czarną. Mimo iż liczne prognozy sugerują, że w najbliższych latach spożycie herbaty czarnej będzie maleć na rzecz innych rodzajów herbaty, to jej produkcja w Chinach będzie stale rosła – prognoza ta wynika ze wzrostu produkcji herbat z grupy „dark”, w której największy udział ma herbata Pu-erh (FAO 2018).

Pu-erh dostępna na naszym rynku jest zróżnicowana cenowo, ponieważ w dyskontach lub sklepach wielkopowierzchniowym można ją kupić za cenę od kilku do kilkunastu złotych – w zależności od postaci liści i producenta, a także za 20 czy ponad 30 zł w herbaciarni. W tym ostatnim miejscu najczęściej dostępne są dwie wersje Pu-erh: krócej i dłużej leżakująca (maksymalnie 6 lat). Jeśli konsument nie posiada wiedzy na temat możliwych odmian tej herbaty, to raczej nie uzyska jej od sprzedawców. Dopiero gdy sam wyjdzie z inicjatywą pozyskania dalszych informacji o oferowanym produkcie, to może się dowiedzieć (to zależy od wiedzy sprzedającego) iż jest to wersja Ripe/Shou cha (choć taka nazwa raczej nie padnie w trakcie rozmowy).

Rynek azjatycki zdominowany jest przez Raw i Vintage Raw Pu-erh, ponieważ tradycyjnie spożywa się tam herbaty zielone oraz naturalnie dojrzewające. Nie ma zwyczaju spożywania wersji Ripe, która została stworzona na potrzeby krajów europejskich i amerykańskich. Dlatego niemal cała produkcja tej Pu-erh przeznaczona jest na eksport.

Kiedy Pu-erh nie była jeszcze popularna w całych Chinach, handlowcy (spekulanci) z Hongkongu i Tajwanu stworzyli system sztucznie zwiększający ceny produktów. Ceny naturalnie dojrzewającej Pu-erh, dostępnej w niewielkich fabrykach, były bardzo niskie. Przez pierwsze kilka

lat cena zakupu wynosiła nie więcej niż 10 juanów za kilogram. Handlowcy starannie opracowali plan zakupu i dystrybucji herbat. Niektórzy twierdzą, że wykupili oni nawet ponad 70% całej produkcji niektórych fabryk. Potem nastąpił kolejny krok, kiedy biznesmeni z Hongkongu, Tajwanu i Guandong zaczęli angażować się w przejęcie i reorganizację fabryk herbaty w prowincji Yunnan. Słynne wzgórza herbaciane zostały przydzielone różnym grupom handlowców do pozyskiwania surowca – jak wcześniej wspomniano, surowiec z tych rejonów jest bardzo ceniony i pożądany. Następnie przeprowadzono skuteczną promocję herbaty Pu-erh, która została zapoczątkowana około roku 2005. Podkreślano przede wszystkim jej korzyści zdrowotne oraz znaczenie kulturowe. W celu podniesienia cen Pu-erh, zastosowano również inne metody – nieetyczne. Handlowcy płacili fabrykom za sprzedaż swoich produktów dystrybutorom po wyższych cenach, a dystrybutorom za dalszą ich sprzedaż po kolejnej podwyżce cen. W ten sposób herbaty warte na przykład 5000 juanów, trafiały na rynek z ceną 19 000 juanów. Przemysł związany z herbatą Pu-erh miał coraz większy udział w gospodarce południowo-zachodnich Chin. Stał się tak ważny, że w 2007 roku nazwa miasta Simao została oficjalnie zmieniona na Pu' er. W przypadku herbat z wyższej półki preferowaną metodą sprzedaży były aukcje (Teasenz):

- W listopadzie 2002 r. na Międzynarodowych Targach w Guangzhou sprzedano na aukcji 100 gramów trzyletniej herbaty Pu-erh za 168 000 juanów (94 000 zł, CNY=0,56 zł). W ten sposób został pobity rekord aukcji dla Tieguanyn (oolong) z 2001 roku, którego sprzedano za 120 000 juanów (67 200 zł, CNY=0,56 zł);
- Podczas chińskiego Nowego Roku w 2004 r trzy gramy rzadkiego Pu-erh z dynastii Qing zostały sprzedane na aukcji za 12 000 juanów (6 720 zł, CNY=0,56 zł). To 4 000 juanów za gram, czyli trzydzieści dwa razy więcej niż cena złota w tym czasie;
- W październiku 2005 r siedem sztuk herbaty Pu-erh (357 gramów na sztukę) sprzedano na aukcji za 1,6 mln juanów (896 000 zł, CNY=0,56 zł);
- We wrześniu 2006 roku na pierwszych Międzynarodowych Targach Herbaty w Yunnan sto gramów luźnej herbaty Pu-erh wystawiono na aukcji za 220 000 juanów (123 200 zł, CNY=0,56 zł);
- W maju 2007 r na wystawie Shenzhen Tea wysokiej klasy ciastko świeżej Pu-erh „Jingxiu Chazu” (499 gramów) zostało sprzedane na aukcji za 400 000 juanów (224 000 zł, CNY=0,56 zł), co było jak dotąd najwyższym wynikiem aukcyjnym świeżej herbaty Pu-erh (Teasenz; Zhang 2014).

Tu również spekulanci prowadzili działania, polegające na wprowadzaniu osób uczestniczących w licytacjach tylko w celu podnoszenia cen sprzedawanych egzemplarzy. Szybko ich działania przyniosły oczekiwany skutek, ponieważ ceny herbaty rosły w niesamowitym tempie. Nawet 3 razy dziennie były zmieniane. Niespotykana sytuacja rynkowa przyniosła wysokie zyski handlowcom, a wielu z nich zostało milionerami. Wiele osób (również spoza Chin) postanowiło zainwestować w herbatę Pu-erh i wykorzystać ją jako instrument finansowy, służący do przechowywania i pomnażania swojego majątku. Niektórzy sprzedawali nawet swoje domy, aby zainwestować. W 2006 i na początku 2007 roku wielu indywidualnych inwestorów zalało rynek herbaty. Nie chcieli przegapić swojej szansy i zaopatrywali się w duże ilości Pu-erh. Dystrybutorzy upozorowali niedobór produktu, ponieważ wprowadzili do sprzedaży tylko niewielką część swoich zasobów. Dopiero gdy ceny gwałtownie wzrosły, uwolnili większą część swoich zapasów. Wraz z nagłym wzrostem popytu pojawił się problem podaży. Podczas gdy w normalnym roku zapotrzebowanie na produkt wynosiło około 20 000 do 30 000 kilogramów, nagle popyt wzrósł do 100 000 kg w 2006 roku. Widząc rosnące zapotrzebowanie na Pu-erh, sukcesywnie przybywało osób, zajmujących się jej produkcją. Efekty najbardziej zauważalne były w 2007 roku, gdy na rynku zaczęły pojawiać się coraz większe ilości tej herbaty – nie zawsze dobrej jakości. Przez to ceny zaczęły powoli spadać, co wywołało panikę wśród inwestorów, zakładających stały wzrost jej wartości. Pojawiły się obawy, że sytuacja rynkowa może się zacząć zmieniać i aby uniknąć dużych strat, wielu inwestorów zaczęło pozbywać się swoich zasobów herbaty. Spekulanci zdążyli sprzedaż swoje zapasy, co dodatkowo spotęgowało spadek wartości Pu-erh. Gdy bańka spekulacyjna pękła, rynek się załamał a wiele osób zbankrutowało. W kwietniu w dosłownie 3 dni ceny gwałtownie spadały. Herbata warta

jednego dnia na 22 000 juanów za sztukę, drugiego dnia rano warta była 15 000, a po południu już tylko 12 000. Z kolei trzeciego dnia rano już zaledwie 9500 juanów (Hojo; Teasenz; Zhang 2014).

Załamaniem się rynku w 2007 roku nie było pierwszym. Wcześniej odnotowano dwie fale rosnącej popularności Pu-erh. Jeden miał miejsce w Hongkongu po 1950 r, a drugi na Tajwanie po 1995 r. W 1999 r. rynek Pu-erh na Tajwanie upadł. Speculanci z Hongkongu i Tajwanu skupili się na sytuacji panującej w Chinach kontynentalnych (Teasenz).

Sytuacja ustabilizowała się w roku 2010 i herbata Pu-erh nadal pozostaje popularną inwestycją, choć nie osiąga już takich cen jak przed załamaniem rynku. W Azji nadal funkcjonują aukcje herbat, na których zawsze największe zainteresowanie wzbudzają herbaty Pu-erh (Teaedgemarkets). Zwłaszcza gdy na sprzedaż oferowane są bardzo wiekowe egzemplarze. Najwięcej aukcji odbywa się oczywiście w Chinach, najczęściej mają one charakter cykliczny. Drugim dużym rynkiem tej herbaty jest Hong Kong, który miał duży udział w promowaniu tradycyjnego Pu-erh, wyprodukowanego z surowca z gór herbacianych. 26 listopada 2018 r na aukcji w Hongkongu ciastko Pu-erh (Sheng Pu'erh # 8582) z późnych lat 80. otrzymało ofertę, wynoszącą pięć milionów siedemset pięćdziesiąt tysięcy dolarów HK (2 875 000 zł, HKD=0,50 zł). Licytacja Pu-erh z Yang Pin Hao zakończyła się 2 milionami osiemdziesięcioma ośmioma tysiącami dolarów HK (1 044 000 zł, HKD=0,50 zł) (Teasommelier). Z kolei stuletnią Nan Piao Shong Ping Pu-erh sprzedano ostatecznie za 13 328 000 HK (6 664 000 zł, HKD=0,50 zł). Nowy rekord został usatnowiony 29 maja 2019 roku, gdy na aukcji Tokyo Chuo Hong Kong sprzedano najdroższą herbatę Pu-erh w historii – 1920 Zi Piao Fu Yuan Chang Hao – za cenę 26 320 000 HK (13 160 000 zł, HKD=0,50 zł) (Flavourful).

3. Fałszowanie herbaty Pu-erh

Jeśli pojawia się sposobność osiągnięcia znaczących zysków w krótkim czasie, to można się spodziewać, że będą miały tam miejsce próby nielegalnych działań. W przypadku sprzedaży herbaty, będzie to sprzedaż produktów zafałszowanych.

Herbata Pu-erh najczęściej jest fałszowana w następujący sposób:

- poprzez mieszanie tańszego surowca z droższym i informowanie jedynie o surowcu lepszej jakości,
- przez podawanie nieprawdziwych informacji o pochodzeniu produktu,
- przez zawyżanie wieku herbaty,
- poprzez podawanie nieprawdziwych informacji o rodzaju herbaty (w skrajnych przypadkach – zwłaszcza na początku popularności) (Pong 2006; Teachat).

Herbaty powszechnie dostępne nie są obiektem poważnych zafałszowań. Jednak nie są od nich wolne. Producenci i dystrybutorzy, prowadzący nieetyczne działania oferują produkt niskiej jakości lub nawet taki, który nie powinien być wprowadzony na rynek – ze względu na wady w nim występujące. Mimo to taki produkt trafia do sklepu, ponieważ konsumenci oraz sprzedawcy nie posiadają odpowiedniej wiedzy o produkcie odpowiedniej jakości. Liczne krajowe opracowania naukowe, zawierające informacje o smaku czy zapachu herbaty Pu-erh, podają takie określenia jak: ziemisty, pleśniowy czy wędzony. To jednak dla znawców tego rodzaju herbaty są oczywiste wady powstałe na skutek źle przeprowadzonego procesu fermentacji, suszenia lub powstałe w trakcie transportu. Ponieważ na opakowaniach produktu nie zamieszcza się informacji o jego rodzaju, wieku, pochodzeniu surowca czy czasie leżakowania, to nie można też mówić o wprowadzaniu konsumenta w błąd poprzez zamieszczanie nieprawdziwych informacji. Ich po prostu tam nie ma. Z kolei w herbaciarniach nieprawidłowości mogą dotyczyć przede wszystkim czasu leżakowania, ponieważ jest to jedyna informacja która będzie różnicować herbaty Pu-erh dostępne w tym miejscu. Będzie to też jedyny czynnik decydujący o cenie. Czyli herbata świeżo po zakończeniu procesu produkcyjnego lub leżakująca jeden rok, może być sprzedawana jako herbata leżakująca trzy lub więcej lat. Zdaniem autorów tej publikacji inne rodzaje fałszowania są tam niemożliwe, ponieważ z założenia w takich miejscach dostępna jest jedynie wersja sztucznie postarzana, uzyskana z najtańszego surowca. Przy takich założeniach nie ma miejsca na obniżenie kosztów produkcji herbaty i uzyskanie tym samym większych zysków ze sprzedaży .

Najwięcej emocji wzbudzają aukcje herbaty Pu-erh na których do licytacji wystawione są niezwykle rzadkie egzemplarze lub te najbardziej pożądane przez koneserów. Nie zawsze najstarsze próby będą najdroższe. Na cenę wywoławczą oraz ilość osób zainteresowanych kupnem, wpływać będzie wiele czynników. Przede wszystkim pochodzenie surowca (typ upraw oraz ich lokalizacja) oraz fabryka, w której została wyprodukowana. Niektórzy mistrzowie herbaty cieszą się większym uznaniem od innych, a ich produkty będą bardziej pożądane. Rok produkcji również będzie jednym z istotniejszych czynników, ale nie chodzi tutaj o wiek herbaty a o warunki klimatyczne, jakie panowały w czasie okresu wegetacyjnego rośliny. Dopiero gdy mistrzowie herbaty dokonają jej degustacji, przygotowują swoją ocenę, a licytujący się z nią zapoznają, to wiek będzie mieć tu znaczenie. Tylko surowiec najlepszej jakości umożliwia otrzymanie produktu końcowego wysokiej jakości. Dlatego największe fabryki do swoich najlepszych produktów wybierają surowiec z upraw leśnych i wiekowych drzew. Do mieszania surowca może dochodzić w produktach niskiej i średniej jakości, spożywanych na co dzień. Pozostałe trzy wymienione metody fałszowania herbaty Pu-erh stosowane były bardzo często przed załamaniem się rynku. Wtedy częściej dostępne były egzemplarze wiekowe i bardzo dobrej jakości, na których właściciele w krótkim czasie potrafili zarobić miliony. Obecnie rynek jest już bardziej stabilny niż przed 2007 rokiem. Przed aukcją każda herbata jest sprawdzana przez mistrza herbaty. Potwierdzenie informacji przekazywanych przez właściciela herbaty odbywa się na podstawie oceny opakowania, wyglądu samego ciastka, a następnie oceny organoleptycznej przygotowanego naparu. Świeża, surową Pu-erh bardzo łatwo jest odróżnić wizualnie od wersji sztucznie postarzonej. Ta pierwsza ma zieloną barwę, a druga – ciemnobrązową. Różnice te stopniowo się zmniejszają, jeśli porównać Aged Raw Pu-erh i Ripe Pu-erh. Wersja surowa z wiekiem się zmienia i ciemnieje. Jednak doświadczeni mistrzowie herbaty nadal bez pomocy testów czy laboratoriów potrafią odróżnić te dwa rodzaje między sobą – nawet bardzo wiekowe. Znane są im proste testy, różnicujące omawiane dwa rodzaje. Wersja sztucznie postarzana będzie mieć niższe pH niż wersja naturalnie dojrzewające, której pH powinno wynosić od 5,5 do 6,0. Obraz pod mikroskopem również pokazuje różnice. Wersja Ripe, ze względu na gwałtowną fermentację mikrobiologiczną, będzie miała zniszczoną strukturę komórek (poszarpane krawędzie). Na dodatek będzie zawierać więcej kwasu galusowego niż wersja naturalnie dojrzewająca.

Mentalność Chińczyków powoduje, że starają się oni unikać nieetycznych i ryzykownych działań. Dlatego kontrole herbat przeznaczonych na aukcje nie podlegają szczegółowym badaniom laboratoryjnym. W ich kraju bardzo cenieni są mistrzowie herbaty – zwłaszcza Ci z wielkim doświadczeniem. To oni sprawdzają produkty przeznaczone na sprzedaż i ich opinia jest bardzo szanowana. Dlatego wielu producentów, handlowców i kupców herbaty Pu-erh nie widzi potrzeby przeprowadzania czasochłonnych i bardzo często drogich analiz. Ich zdaniem analiza organoleptyczna wykonywana przez profesjonalistę jest w zupełności wystarczająca. Formalnie więc nie ma potrzeby poszukiwania nowych metod identyfikacji poszczególnych rodzajów. Problem może się pojawić w przypadku pojawienia się herbaty bardzo wiekowej, gdzie dokładna data produkcji będzie istotna. Lub gdy kwestią sporną będzie pochodzenie surowca. Mistrzowie herbaty nie określają precyzyjnie wieku lub regionu upraw herbaty. Na podstawie wieloletniego doświadczenia potrafią w sposób przybliżony określić te dwa czynniki lub na zasadzie porównań z podobnym produktem. Określenie pochodzenia surowca i wieku herbaty stanowi wyzwanie dla naukowców, ponieważ – tak jak wspomniano we wcześniejszej części pracy – na końcową jakość herbaty Pu-erh składa się wiele czynników. Nie ma więc jednego wzorca, do którego można by się odnieść (korespondencja z Linda Louie z Bana Tea Company; korespondencja z Akira Hojo z Hojo Tea).

Mimo, iż trudno jest znaleźć informacje o znanych przypadkach fałszowania herbaty Pu-erh, nie oznacza to, że nie mają one miejsca. Dane na ten temat pojawiają się co najwyżej w lokalnych mediach. Traktowane są jako brak honoru, za który wszyscy częściowo odpowiadają, dlatego nie są one rozpowszechniane w mediach globalnych. Jedno z większych oszustw na rynku herbaty Pu-erh, które miało miejsce po załamaniu się rynku, dotyczyło większej ilości herbaty rzekomo pochodzącej z dynastii Qing (XVII-XX wiek). Nie udało się ustalić kiedy incydent miał miejsce i na czym dokładnie polegał. Wiadomo, że oszustów udało się po jakimś czasie zidentyfikować i osądzić, a poszkodowanymi byli mieszkańcy Chin oraz Stanów Zjednoczonych (korespondencja z Linda Louie z Bana Tea Company).

4. Podsumowanie

Rozróżnienie Raw i Ripe Pu-erh nie jest trudne, jeśli wersja Raw jest stosunkowo młoda. Jednak w przypadku Vintage Raw oraz wysokiej jakości Ripe Pu-erh różnice nie są już tak oczywiste. Potwierdzenie pochodzenia danej herbaty, jej rocznika i typu należy do mistrzów herbaty. Możliwe jest, że gdy na rynku pojawi się wyjątkowy egzemplarz herbaty Pu-erh, to wiedza, a przede wszystkim doświadczenie nowych specjalistów okaże się niewystarczające do potwierdzenia autentyczności prezentowanego produktu. Mimo iż osoby związane z aukcjami herbaty nie widzą takiej potrzeby, to naukowcy nadal poszukują niezawodnej metody służącej do identyfikacji różnych rodzajów herbat, określania pochodzenia surowca czy szacowania wieku herbaty.

Literatura

- China Daily, Tempest over Tea: What is the true Puer?,
http://www.chinadaily.com.cn/bizchina/2009-06/15/content_8286028.htm, dostęp: 18.05.2023.
- CBI (2016): CBI Product Factsheet: Tea in Poland,
https://www.cbi.eu/sites/default/files/market_information/researches/cbi_2016_-_tea_-_pfs_pl_-_final_draft.pdf, pobrane: 10.05.2023.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2018), Report of Intergovernmental Group of Tea, Current Market Situation and Medium Term Outlook,
<http://fao.org/economic/est/est-commodities/tea/tea-meetings/tea23/en>, pobrane: 16.05.2023.
- Flavourful, The Most Expensive Pu-erh Tea in History, <https://flavourful.co/blog/the-most-expensive-pu-erh-tea-in-history/>, dostęp: 9.02.2020.
- Hojo, <https://hojotea.com/indexe.html>, dostęp: 18.05.2023.
- Jia W, Rajani C, Lv A, Fan TP, Zheng X. (2022) Pu-erh tea: A review of a healthful brew. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences* 9(2): 95-99.
- Korespondencja z Akira Hojo z Hojo Tea, 2018.
- Korespondencja z Linda Louie z Bana Tea Company, 2018.
- Lv HP, Zhang YJ, Lin Z, Liang YR (2013) Processing and chemical constituents of Pu-erh tea: A review. *Food Research International* 53: 608-618.
- Małecka M, Samotyja U (2022) Kształtowanie jakości żywności. Wybrane zagadnienia, Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu, Poznań.
- Pong ChK (2006) First step to Chinese Puerh Tea, Wushing Books Publication, Tajpej.
- Portal Spożywczy, Spożycie herbaty na świecie,
<https://wiadomoscispozywcze.pl/artykuly/10733/spozycie-herbaty-na-swiecie/>, dostęp: 20.05.2023.
- Śmiechowska M (2014) Zapewnienie autentyczności i wiarygodności produktom regionalnym i tradycyjnym. *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu* 16(3): 282-287.
- Teachat, Distinguishing between fake and real 2009 Menghai 7572 901,
<https://www.teachat.com/viewtopic.php?f=20&t=12141>, dostęp: 20.05.2023.
- Teaedgemarkets, Tea as an alternative investment (Part 1),
<https://www.theedgemarkets.com/article/tea-alternative-investment-part-1>, dostęp: 20.05.2023.
- Teasenz, The 2007 Pu erh Tea Market Crash: The Boom and Bust Revisited,
<https://www.teasenz.com/chinese-tea/2007-pu-erh-tea-market-crash-boom-bust-crisis-recession.html>, dostęp: 20.05.2023.
- Teasommelier, Aged Pu' erh reached a record high price in Hong Kong Autumn auction,
<http://www.teasommelier.be/aged-puerh-reached-a-record-high-price-in-hong-kong-autumn-auction/>, dostęp: 20.05.2023.
- Ye J, Zhao Y, Chen X, Zhou H, Yang Y, Zhang X, Huang Y, Zhang N, Lui EMK, Xiao M (2021) Pu-erh tea ameliorates obesity and modulates gut microbiota in high fat diet fed mice. *Food Research International* 144: 110360.
- Zhang J (2014), Puer Tea. Ancient Caravans and Urban Chic, University of Washington Press, Seattle & Londyn.

6. Bogactwo gatunkowe wysp drzewostanów dębowych w monokulturach sosnowych zachodniej części Borów Stobrawskich

Species richness of oak forest stand patches within pine monocultures of the western part of the Bory Stobrawskie forest

Mazurek Natalia

Ogród Botaniczny, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

Opiekun naukowy: dr hab. Zygmunt Kącki, prof. Uwr

Opiekun naukowy pomocniczy: dr Ewa Stefańska-Krzaczek

Mazurek Natalia: natalia.mazurek2@uwr.edu.pl

Słowa kluczowe: różnorodność gatunkowa, flora, lasy liściaste, *Quercus robur*, *Quercus petraea*

Streszczenie

Występujące w Europie rozległe bory sosnowe, ze względu na ubogie siedliska i intensywne użytkowanie, są ubogie w gatunki. Rozproszone wśród nich wyspy drzewostanów liściastych mogą więc być ważnym elementem wpływającym na różnorodność kompleksu leśnego.

Celem badań było określenie bogactwa gatunkowego oraz zróżnicowania flory wysp drzewostanów dębowych, występujących w monokulturach sosnowych.

Dane zebrano z kołowych powierzchni badawczych (200 m²) zakładanych na czterech typach siedlisk leśnych: lesie mieszanym świeżym, lesie mieszanym wilgotnym, lesie świeżym oraz lesie wilgotnym.

W badanych drzewostanach stwierdzono 165 gatunków roślin naczyniowych. Bogactwo gatunkowe było pozytywnie skorelowane z pokryciem warstwy zielnej i niższej warstwy krzewów oraz ze wzrostem wskaźnika odczynu gleby. Ujemnie skorelowane było z wiekiem drzewostanu i pokryciem niższej warstwy drzew. Średnia liczba gatunków lasu mieszanego świeżego była istotnie wyższa niż lasu wilgotnego.

Największy udział we florze miały gatunki występujące zarówno w lasach, jak i na terenach nieleśnych (42%) oraz gatunki zwartych lasów (29%). Połowę flory stanowiły hemikryptofity. Liczne były także megafanerofity (19%) i geofity (18%). Zanotowano 2 gatunki objęte ochroną częściową oraz 9 gatunków obcych.

Flora badanych wysp drzewostanów dębowych jest uboga w porównaniu z lasami liściastymi innych terenów. Jednak występowanie nawet niewielkich płatów drzewostanów dębowych jest korzystne dla różnorodności biologicznej kompleksu leśnego zdominowanego przez sosnę zwyczajną.

1. Wstęp

W umiarkowanej strefie klimatycznej Europy naturalną roślinność zonalną stanowią przede wszystkim lasy liściaste zrzucające liście na zimę (Leuschner i Ellenberg 2017). Działalność człowieka spowodowała jednak, że w powierzchni zajmowanej przez lasy dominują gatunki iglaste, sosna na niżu oraz świerk na terenach górzystych (Leuschner i Ellenberg 2017). Jest to spowodowane pozyskiwaniem żyznych terenów pod uprawę roli oraz prowadzonymi w lasach działaniami gospodarczymi (Dzwonko 2015). Lasy liściaste tworzą, rozproszone wyspy siedliskowe (Sabatini i in. 2018), uważane są jednak za centra bioróżnorodności (Schmidt i in. 2014) i nawet małe ich fragmenty mogą mieć znaczenie dla zachowania różnorodności gatunkowej (Honnay i in. 1999).

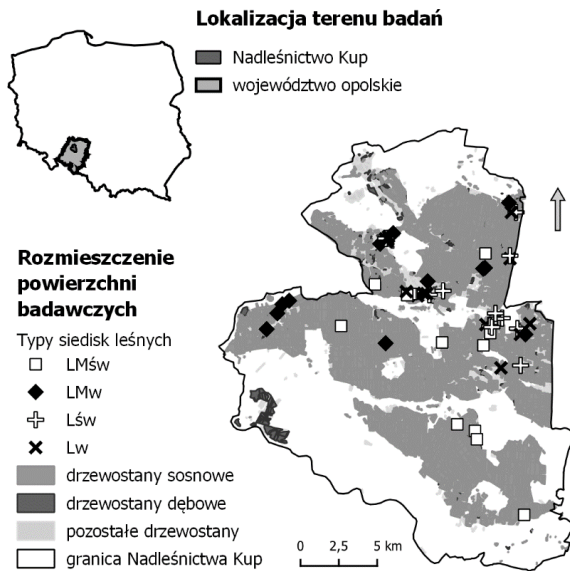
Najważniejszymi liściastymi gatunkami gospodarczymi są w Polsce dęby: szypułkowy i bezszypułkowy (Lasy Państwowe w liczbach 2018). Jednocześnie są to gatunki ważne w kształtowaniu struktury zbiorowisk leśnych i utrzymywaniu bioróżnorodności (Mölder i in. 2019). Wszystkie naturalne zbiorowiska leśne ze znaczącym udziałem rodzimych dębów są ostojami rodzimej flory specyficznej dla lasów strefy umiarkowanej (Kącki i in. 2016). Bory sosnowe, ze względu na ubogie siedliska oraz intensywne użytkowanie, są ubogie w rośliny naczyniowe

(Stefańska-Krzaczek i in. 2019). Z tego względu nawet niewielkie płyty zbiorowisk leśnych z rodzimymi dębami, mogą zwiększać różnorodność kompleksu leśnego z dominacją drzewostanów sosnowych. Równocześnie, fragmentacja i izolacja lasów liściastych oraz sąsiedztwo drzewostanów iglastych w otoczeniu, mogą przyczynić się do ubożenia składu gatunkowego (Skov 1997; Orczewska 2015). Można zatem przypuszczać, że rozproszone w borach płyty zbiorowisk leśnych z drzewostanem dębowym będą uboższe niż lasy dębowe zajmujące większe powierzchnie. Mimo to, ich bogactwo i skład gatunkowy powinny mieć ważny wkład dla różnorodności kompleksu leśnego.

Celem badań było określenie bogactwa gatunkowego oraz zróżnicowania flory wysp drzewostanów dębowych (dębu szypułkowego i bezszypułkowego) występujących w monokulturach sosnowych rozległego kompleksu leśnego.

2. Materiał i Metody

Badania prowadzono w zachodniej części Borów Stobrawskich, na terenie Nadleśnictwa Kup, znajdującego się w północnej części województwa opolskiego (50°43'-50°57'N, 17°41'-18°00'E) (Rys. 1). Średnia roczna temperatura powietrza w Nadleśnictwie wynosi 8,5°C, roczna suma opadów to 650 mm. Podłoże tworzą tutaj głównie piaski i żwiry, co tłumaczy duży (80%) udział sosny zwyczajnej. Dęby, łącznie szypułkowy i bezszypułkowy, zajmują zaledwie 5% badanego terenu, tworząc niewielkie wyspy drzewostanów liściastych rozrzucone w rozległej monokulturze sosnowej.



Rys. 1. Lokalizacja terenu badań oraz rozmieszczenie zakładanych powierzchni badawczych.

Badaniom podlegały drzewostany dębowe, spełniające następujące kryteria: wiek drzewostanu – powyżej 60 lat, udział dębu w drzewostanie powyżej 50%. Uwzględniono drzewostany na czterech najczęstszych siedliskach leśnych: LMśw – lasu mieszanego świeżego, LMw – lasu mieszanego wilgotnego, Lśw – lasu świeżego oraz Lw – lasu wilgotnego.

W wybranych wydzieleniach leśnych spełniających założone kryteria zakładano kołowe powierzchnie badawcze, o powierzchni 200m². Za pomocą odbiornika GPS namierzano oraz zapisywano współrzędne środka powierzchni. Dla każdej powierzchni notowano wiek drzewostanu na podstawie opisu taksacyjnego. Szacowano pokrycie następujących warstw lasu: A1 – wyższa warstwa drzew, A2 – niższa warstwa drzew (>8m), B1 – wyższa warstwa krzewów (3-8m), B2 – niższa warstwa krzewów (0,6-3m) oraz C – warstwa runa (roślin zielnych). We wszystkich wyznaczonych warstwach spisywano gatunki roślin naczyniowych.

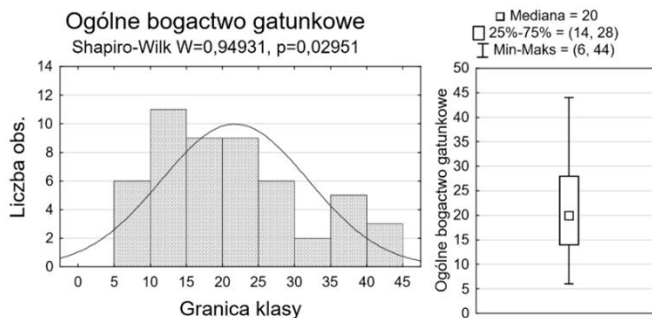
Dane zebrano z 51 powierzchni badawczych, 13 na siedliskach LMśw, 12 – LMw, 12 – Lśw i 14 – Lw.

Na podstawie wykonanych spisów dla każdej powierzchni obliczono liczbę gatunków wszystkich warstw lasu (=ogólne bogactwo gatunkowe, S) i liczbę gatunków runa (=bogactwo gatunkowe runa, Sc). Na podstawie danych z wszystkich powierzchni obliczono także całkowitą liczbę gatunków. Aby zbadać wpływ czynników środowiskowych na liczbę gatunków, obliczono współczynnik korelacji rang Spearmana między S i Sc a pokryciem warstw: A1, A2, B1, B2 i C, a także wiekiem drzewostanu i wskaźnikami ekologicznymi. Wskaźniki ekologiczne obliczono wykorzystując liczby wskaźnikowe Ellenberga określające preferencje gatunków wobec czynników siedliskowych. Dla każdej powierzchni obliczono średnie proste wartości liczb wskaźnikowych występujących gatunków wobec: natężenia światła (L) oraz wilgotności (F), odczynu (R) i trofizmu (N) gleby. Wpływ typu siedliska leśnego na S i Sc oceniono na podstawie średniej liczby gatunków na tych siedliskach. Różnice między średnimi zbadano przy pomocy testu Kruskala-Wallisa.

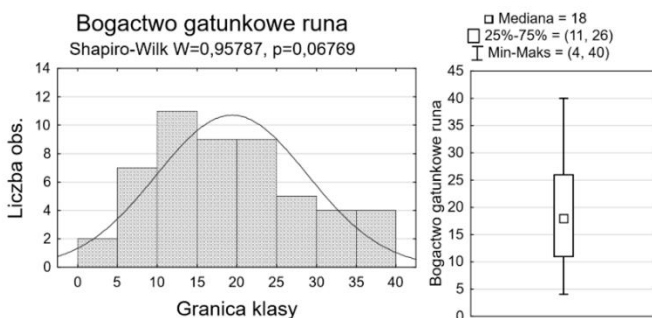
Aby scharakteryzować florę badanych wysp leśnych dla każdego gatunku podano formę życiową na podstawie opracowania Rutkowskiego (2004), kategorię gatunku leśnego według listy Schmidta i in. (2011) oraz gatunku wskaźnikowego starych lasów według listy Hermego i in. (1999). Wskazano także gatunki chronione (Rozporządzenie 2014) i obce (Tokarska-Guzik i in. 2012) oraz obliczono frekwencję gatunków na badanych powierzchniach. Nazwy gatunków zostały podane zgodnie z nomenklaturą zawartą w bazie Euro+Med PlantBase (2006-2020).

3. Wyniki

Na badanych powierzchniach stwierdzono występowanie 165 gatunków roślin naczyniowych (Tab. 1 – załącznik). Ogólne bogactwo gatunkowe (S) pojedynczej powierzchni wynosiło od 6 do 44 gatunków, średnio 22, a bogactwo gatunkowe runa (Sc) od 4 do 40 gatunków (średnio 19). Najwięcej powierzchni (22%) charakteryzowało się wartościami S i Sc z przedziału 10-15 gatunków, a dla większości powierzchni (57%) zawierały się one w przedziale 10-25 gatunków (Rys. 2 i 3).



Rys. 2. Rozkład wartości ogólnego bogactwa gatunkowego (S) w przedziałach liczbowych.



Rys. 3. Rozkład wartości bogactwa gatunkowego runa (Sc) w przedziałach liczbowych.

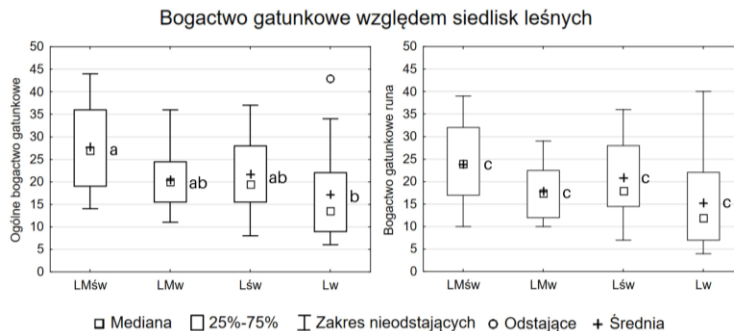
Wartości S i Sc były pozytywnie skorelowane z pokryciem warstw C i B2 oraz wskaźnikiem R (Tab. 2), natomiast wartości Sc były dodatkowo pozytywnie skorelowane ze wskaźnikiem N. Ujemną korelację z S i Sc wykazywały: wiek drzewostanu i pokrycie warstwy A2.

Tab. 2. Wpływ czynników środowiskowych na bogactwo gatunkowe.

Zmienna	Współczynnik korelacji rang Spearmana									
	Pokrycie w warstwach lasu					Wiek	Wskaźniki ekologiczne			
	A1	A2	B1	B2	C		L	F	R	N
S	-0,251	-0,327*	-0,156	0,382*	0,752*	-0,343*	0,205	0,208	0,390*	0,219
Sc	-0,249	-0,282*	-0,158	0,309*	0,717*	-0,351*	0,119	0,191	0,479*	0,299*

Objaśnienia: S – ogólne bogactwo gatunkowe; Sc – bogactwo gatunkowe runa; A1, A2, B1, B2, C, L, F, R, N – patrz rozdział 2; Wiek – wiek drzewostanu; * – istotne statystycznie przy $p > 0,05$.

Największą średnią wartość S stwierdzono na siedlisku LMśw (44 gatunki), natomiast najmniejszą na siedlisku Lw (6 gatunków). Różnice były istotne statystycznie (Rys. 4). Średnie wartości Sc nie różniły się istotnie między siedliskami leśnymi.



Rys. 4. Porównanie średnich wartości bogactwa gatunkowego dla typów siedlisk leśnych.

Objaśnienia: typy siedlisk leśnych: LMśw, LMw, Lśw, Lw – patrz rozdział 2; wartości średnie z tą samą literą oznaczają brak różnic istotnych statystycznie zgodnie z testem Kruskala-Wallis.

Największy udział we florze miały gatunki, które występują zarówno w lasach, jak i na terenach nieleśnych (42% flory), na drugim miejscu były gatunki występujące głównie w zwartych lasach (29%). W badanych drzewostanach stwierdzono występowanie 45 gatunków wskaźnikowych starych lasów, co stanowiło 27% flory.

Połowę flory stanowiły hemikryptofity. Liczne były też megafanerofity (19% flory) oraz geofity (18%).

Zanotowano 2 gatunki objęte ochroną częściową: *Epipactis helleborine* i *Platanthera bifolia* oraz 9 gatunków obcych (4% flory): w tym 2 archeofity: *Fallopia convolvulus*, *Lactuca serriola* i 7 kenofitów: *Bidens frondosus*, *Erechtites hieraciifolius*, *Euthamia graminifolia*, *Impatiens parviflora*, *Prunus serotina*, *Quercus rubra* i *Solidago gigantea*.

Najczęściej na badanych powierzchniach notowano *Quercus robur* (frekwencja 94%), *Carpinus betulus* (84%) i *Maianthemum bifolium* (71%). W warstwie A1 najczęściej występował *Quercus robur* (92%), a w warstwie A2, B1 i B2 *Carpinus betulus* (odpowiednio 47%, 59% i 73%). Najczęstsze w warstwie C były: *Quercus robur* (76%) i *Maianthemum bifolium* (71%).

4. Dyskusja

Na badanym terenie stwierdzono występowanie 165 gatunków roślin naczyniowych, co stanowi niewielką część puli gatunkowej lasów Polski oraz Europy. W Polsce na obszarach leśnych występuje około 600 gatunków roślin naczyniowych (Czerepko 2008), natomiast w Europie ponad 2000, w tym 300 gatunków typowo leśnych i liczne gatunki związane ze skrajami lasów oraz gatunki czasowo występujące w lesie i zanikające wraz z zmieniającymi się warunkami świetlnymi

(Leuschner i Ellenberg 2017). Niezbyt wysoka liczba gatunków nie jest zaskakująca, ponieważ badane drzewostany nie były liczne i nie zajmowały dużej powierzchni.

Na badanych powierzchniach stwierdzono średnio 22 gatunki roślin naczyniowych. Nie jest to wysoka liczba zważywszy, że drzewostany dębowe badanych siedlisk leśnych mogą reprezentować kwaśne dąbrowy, lasy grądowe oraz łągi (Matuszkiewicz 2001; Kącki i in. 2016). Na żyzniejszych siedliskach, grądów i łągów, występuje w Polsce średnio od 32 do 35 gatunków, a w uboższych kwaśnych dąbrowach od 21 do 28 (Czerepko 2008; Kącki in. 2016). Badane drzewostany dębowe występowały w otoczeniu monokultur sosnowych, co może być przyczyną niewielkiej średniej liczby gatunków. Stwierdzono bowiem, że im więcej drzewostanów iglastych w sąsiedztwie, tym mniejsze bogactwo gatunkowe płatów (Skov 1997). Mimo zubożenia, badane wyspy drzewostanów dębowych są istotne dla różnorodności kompleksu leśnego, ponieważ w borach sosnowych badanego regionu notowano średnio tylko 9 gatunków roślin naczyniowych (Stefańska-Krzaczek i in. 2019). Dużą rozbieżność w bogactwie gatunkowym poszczególnych powierzchni (od 6 do 44 gatunków) tłumaczyć można wspomnianym zróżnicowaniem fitocenozy na siedliskach badanych drzewostanów dębowych.

W lasach liściastych strefy umiarkowanej największy wpływ na bogactwo gatunkowe mają rośliny zielne (Vockenhuber i in. 2011), dlatego obserwujemy silną dodatnią korelację bogactwa gatunkowego z pokryciem warstwy C. Ujemną korelację liczby gatunków z pokryciem warstwy A2 można tłumaczyć ograniczaniem dopływu światła do dna lasu, co hamuje rozwój niższych warstw (Vockenhuber i in. 2011). Wyższe bogactwo gatunkowe młodszych drzewostanów może wynikać z kolei z większego zaburzenia struktury ich fitocenozy, które ustępuje w miarę dojrzewania drzewostanów (Lelli i in. 2019). Stwierdzone większe bogactwo gatunkowe na mniej zakwaszonych glebach, jest typowe dla Europy, w której występują nieliczne gatunki kwasolubne (Slezák i Axmanová 2016). Typowa jest też pozytywna zależność bogactwa runa i trofizmu gleby (Kliczkowska i in. 2003). Zaskakujące jest jednak większe bogactwo gatunkowe siedlisk lasu mieszanego świeżego (LMśw) niż lasu wilgotnego (Lw), ponieważ Lw jest siedliskiem żyzniejszym oraz wilgotniejszym (Kliczkowska i in. 2003). Na badanym terenie zaburzone są prawdopodobnie warunki hydrologiczne, które mają kluczowe znaczenie w kształtowaniu fitocenozy siedlisk wilgotnych (Stefańska-Krzaczek 2013).

Flora badanych drzewostanów dębowych jest typowa dla lasów, o czym świadczy obecność gatunków zwartych lasów (Dzwonko 2015). Większość stwierdzonych roślin to hemikryptofity, megafanerofity lub geofity, czyli formy życiowe charakterystyczne dla lasów liściastych i borów mieszanych (Roo-Zielińska 2014). Obecność gatunków wskaźnikowych starych lasów świadczy o zachowaniu ciągłości siedliska leśnego (Dzwonko i Loster 2001, Dzwonko 2015), ponieważ gatunki starych lasów słabo kolonizują nowe powierzchnie i rozprzestrzeniają się na niewielkie odległości (Dzwonko 2001). Znikoma liczba gatunków chronionych nie jest zaskakująca, ponieważ jest to cecha wielu lasów z udziałem dębów (Kącki i in. 2016). O dobrym stanie zachowania flory badanych zbiorowisk leśnych świadczy mała liczba i frekwencja gatunków obcych (Czerepko 2008).

5. Wnioski

Bogactwo gatunkowe badanych powierzchni nie jest wysokie, jednak flora jest charakterystyczna dla zbiorowisk leśnych i słabo zsynantropizowana. Obecność nawet ubogich postaci zbiorowisk z dominacją dębu w drzewostanie wpływa pozytywnie na bioróżnorodność całego kompleksu leśnego, ponieważ drzewostany dębowe to ostoje flory innej niż flora monokultur sosnowych.

6. Literatura

- Czerepko J (2008) Stan różnorodności biologicznej lasów w Polsce na podstawie powierzchni obserwacyjnych monitoringu. Synteza wyników uzyskanych w ramach realizacji projektu BioSoil Forest Biodiversity. Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Stary: 1-135.
- Dzwonko Z (2001) Migration of vascular plant species to a recent wood adjoining ancient woodland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 70(1): 71-77.

- Dzwonko Z (2015) Rośliny runa wskaźnikami pochodzenia i przemian lasów. *Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo-Leśnej* 17(1): 27-37.
- Dzwonko Z, Loster S (2001) Wskaźnikowe gatunki roślin starych lasów i ich znaczenie dla ochrony przyrody i kartografii roślinności. *Prace Geograficzne* 178: 119-132.
- Euro+Med (2006-2020) Euro+Med PlantBase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. Published on the Internet: (<https://www.emplantbase.org/home.html>).
- Hermý M, Honnay O, Firbank L et al. (1999) An ecological comparison between ancient and other forest plant species of Europe, and the implications for forest conservation. *Biological Conservation* 91(1): 9-22.
- Honnay O, Hermý M, Coppin P (1999) Effects of area, age and diversity of forest patches in Belgium on plant species richness, and implications for conservation and reforestation. *Biological Conservation* 87(1): 73-84.
- Kącki Z, Stefańska-Krzaczek E, Czarniecka M i in. (2016) Leśne siedliska przyrodnicze Natura 2000 w Polsce – ze szczególnym uwzględnieniem Dolnego Śląska i Opolszczyzny. Uniwersytet Wrocławski, Wrocław: 1-204.
- Kliczkowska A, Zielony R, Czepińska-Kamińska D i in. (2003) Siedliskowe podstawy hodowli lasu. Załącznik nr 1 do Zasad hodowli i użytkowania lasu wielofunkcyjnego. Warszawa: 1-253.
- Lasy Państwowe w liczbach. 2018. Centrum Informacyjne Lasów Państwowych. Warszawa: 1-64.
- Lelli C, Bruun HH, Chiarucci A et al. (2019) Biodiversity response to forest structure and management: Comparing species richness, conservation relevant species and functional diversity as metrics in forest conservation. *Forest Ecology and Management* 432: 707–717.
- Leuschner C, Ellenberg H (2017) Ecology of Central European forests: vegetation ecology of Central Europe, vol 1. Berlin, Springer: 1-972.
- Matuszkiewicz JM (2001) Zespoły leśne Polski. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa: 1-376.
- Mölder A, Meyer P, Nagel RV (2019) Integrative management to sustain biodiversity and ecological continuity in Central European temperate oak (*Quercus robur*, *Q. petraea*) forests: An overview. *Forest Ecology and Management* 437: 324-339.
- Orczewska A (2015) Czynniki i procesy determinujące długoterminowe zmiany rozmieszczenia gatunków leśnych w krajobrazie. *Problemy Ekologii Krajobrazu* 39: 59-70.
- Roo-Zielińska E (2014) Wskaźniki ekologiczne zespołów roślinnych Polski. Instytut geografii i przestrzennego zagospodarowania PAN, Wydawnictwo Akademickie SEDNO, Warszawa: 1-387.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej roślin. Dz.U. 2014, poz. 1409.
- Rutkowski L (2004) Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa: 1-814.
- Sabatini FM, Burrascano S, Keeton WS et al. (2018) Where are Europe's last primary forests? *Diversity and Distributions* 24(10): 1426-1439.
- Schmidt M, Kriebitzsch WU, Ewald J (2011) Waldartenlisten der Farn-und Blütenpflanzen, Moose und Flechten Deutschlands. *BfN-Skripten* 299: 1-111.
- Schmidt M, Mölder A, Schönfelder E et al. (2014) Determining ancient woodland indicator plants for practical use: A new approach developed in northwest Germany. *Forest Ecology and Management* 330: 228-239.
- Skov F (1997) Stand and neighbourhood parameters as determinants of plant species richness in a managed forest. *Journal of Vegetation Science* 8(4): 573–578.
- Slezák M, Axmanová I (2016) Patterns of plant species richness and composition in deciduous oak forests in relation to environmental drivers. *Community Ecology* 17(1): 61-70.
- Stefańska-Krzaczek E (2013) Bogactwo gatunkowe osuszonych lasów łęgowych w środowisku miejskim Wrocławia. *Sylvan* 157(5): 366-375.
- Stefańska-Krzaczek E, Staniaszek-Kik M, Szczepańska K et al. (2019) Species diversity patterns in managed Scots pine stands in ancient forest sites. *PLoS ONE* 14(7): e0219620.

Tokarska-Guzik B, Dajdok Z, Zając M i in. (2012) Rośliny obcego pochodzenia w Polsce ze szczególnym uwzględnieniem gatunków inwazyjnych. Generalna Dyrekcja Ochrony Środowiska, Warszawa: 1-107.

Vockenhuber EA, Scherber C, Langenbruch C et al. (2011) Tree diversity and environmental context predict herb species richness and cover in Germany's largest connected deciduous forest. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 13(2): 111-119.

ZALĄCZNIK

Tab. 1. Lista gatunków stwierdzonych na badanych powierzchniach

Gatunek	Forma życiowa	Gatunki leśne	Frekwencja %
<i>Abies alba</i> Mill.	M	D 1.1	8
<i>Acer campestre</i> ^S L.	M	D 2.1	2
<i>Acer platanoides</i> L.	M	D 2.1	14
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	M	D 2.1	35
<i>Achillea millefolium</i> L.	H	Z 2.2	2
<i>Aegopodium podagraria</i> L.	G, H	Z 2.1	4
<i>Agrostis canina</i> L.	H	Z 2.1	2
<i>Agrostis capillaris</i> L.	H	Z 2.1	14
<i>Agrostis stolonifera</i> L.	H	Z 2.2	6
<i>Agrostis</i> sp.	H	-	2
<i>Ajuga reptans</i> L.	H	Z 2.1	12
<i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.) Cavara & Grande	H	Z 2.1	4
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	M	D 2.1	12
<i>Anemone nemorosa</i> ^S L.	G	Z 1.1	16
<i>Asarum europaeum</i> ^S L.	H	Z 1.1	4
<i>Athyrium filix-femina</i> ^S (L.) Roth	H	Z 1.1	18
<i>Avenella flexuosa</i> (L.) Drejer	H	Z 2.1	14
<i>Betula pendula</i> Roth	M	D 2.1	18
<i>Betula pubescens</i> Ehrh.	M	D 2.1	16
<i>Bidens frondosus</i> ^K L.	T	-	2
<i>Bidens</i> L. sp.	T	-	2
<i>Brachypodium sylvaticum</i> ^S (Huds.) P. Beauv.	H	Z 1.1	14
<i>Calamagrostis epigejos</i> (L.) Roth	G	Z 2.1	43
<i>Calamagrostis villosa</i> (Chaix) J. F. Gmel.	H	Z 1.2	8
<i>Calamagrostis</i> Adans. sp.	H	-	10
<i>Cardamine bulbifera</i> ^S (L.) Crantz	G	Z 1.1	4
<i>Carex acuta</i> L.	Hy, G	Z 2.2	2
<i>Carex acutiformis</i> Ehrh.	G, Hy	Z 2.1	2
<i>Carex brizoides</i> L.	H	Z 1.2	2
<i>Carex canescens</i> L.	H	Z 2.1	2
<i>Carex hirta</i> L.	G	Z 2.2	6
<i>Carex leporina</i> L.	H	Z 2.2	14
<i>Carex pallescens</i> ^S L.	H	Z 2.1	20
<i>Carex pilulifera</i> L.	H	Z 2.1	59
<i>Carex remota</i> ^S L.	H	Z 1.1	29
<i>Carex sylvatica</i> ^S Huds.	H	Z 1.1	18
<i>Carex</i> L. sp.	H	-	2
<i>Carpinus betulus</i> L.	M	D 1.1	84
<i>Circaea lutetiana</i> ^S L.	G	Z 1.1	6
<i>Convallaria majalis</i> ^S L.	G	Z 1.1	2
<i>Cornus</i> L. sp.	N	-	2
<i>Corylus avellana</i> ^S L.	N, M	K 2.1	4
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	N/M	K 2.1	2
<i>Cytisus scoparius</i> (L.) Link	N	K 2.2	4
<i>Dactylis glomerata</i> subsp. <i>lobata</i> ^S (Drejer) H. Lindb.	H	Z 1.1	4
<i>Deschampsia caespitosa</i> (L.) P. Beauv.	H	Z 2.1	29
<i>Dryopteris carthusiana</i> ^S (Vill.) H. P. Fuchs	H	Z 2.1	63

Przegląd badań – Część II

<i>Dryopteris dilatata</i> (Hoffm.) A. Gray	H	Z 1.1	2
<i>Dryopteris filix-mas</i> ^S (L.) Schott	H	Z 1.1	12
<i>Epilobium montanum</i> ^S L.	H	Z 2.1	4
<i>Epipactis helleborine</i> ^{OC} (L.) Crantz.	G	Z 1.1	14
<i>Equisetum arvense</i> L.	G	Z 2.1	6
<i>Equisetum sylvaticum</i> ^S L.	G	Z 1.1	6
<i>Erechtites hieracifolius</i> ^K (L.) DC.	H	-	2
<i>Euonymus europaea</i> ^S L.	N	K 2.1	12
<i>Euphorbia cyparissias</i> L.	H	Z 2.1	4
<i>Euthamia graminifolia</i> ^K (L.) Nutt.	H, G	Z 2.2	4
<i>Fagus sylvatica</i> L.	M	D 1.1	69
<i>Fallopia convolvulus</i> ^A (L.) Á. Löve	T	-	4
<i>Festuca ovina</i> L.	H	Z 2.1	6
<i>Fragaria vesca</i> L.	H	Z 2.1	6
<i>Frangula alnus</i> Mill.	N	K 2.1	43
<i>Fraxinus excelsior</i> L.	M	D 2.1	27
<i>Galeopsis bifida</i> Boenn.	T	Z 2.1	4
<i>Galeopsis pubescens</i> Besser	T	O/Z 2.2	12
<i>Galeopsis speciosa</i> Mill.	T	Z 2.1	2
<i>Galeopsis tetrahit</i> L.	T	Z 2.1	4
<i>Galeopsis</i> L. sp.	T	-	24
<i>Galium odoratum</i> (L.) Scop.	G, H	Z 1.1	10
<i>Galium</i> L. sp.	-	-	2
<i>Geum urbanum</i> L.	H	-	2
<i>Glechoma hederacea</i> L.	G, H	Z 2.1	2
<i>Gymnocarpium dryopteris</i> ^S (L.) Newman	G	Z 1.1	4
<i>Hedera helix</i> L.	Ch, L	K 1.1	18
<i>Hepatica nobilis</i> ^S Schreb.	H	Z 1.1	2
<i>Hieracium lachenalii</i> Suter	H	Z 2.1	4
<i>Hieracium laevigatum</i> Willd.	H	Z 2.1	2
<i>Hieracium murorum</i> L.	H	Z 2.1	2
<i>Hieracium sabaudum</i> ^S L.	H	Z 2.1	2
<i>Hieracium</i> L. sp.	H	-	2
<i>Holcus mollis</i> L.	H (G)	Z 2.1	14
<i>Hypericum perforatum</i> L.	H	Z 2.2	6
<i>Impatiens noli-tangere</i> L.	T	Z 1.1	2
<i>Impatiens parviflora</i> ^K DC.	T	Z 1.1	35
<i>Iris pseudacorus</i> L.	Hy, G	Z 2.1	2
<i>Juncus effusus</i> L.	H	Z 2.1	20
<i>Lactuca muralis</i> (L.) Gaertn.	H	Z 2.1	37
<i>Lactuca serriola</i> ^A L.	H	-	4
<i>Lamium galeobdolon</i> ^S (L.) Crantz	C	Z 1.1	24
<i>Lathyrus vernus</i> ^S (L.) Bernh.	G	Z 1.1	2
<i>Ligustrum vulgare</i> L.	N	K 2.1	2
<i>Lotus pedunculatus</i> Cav.	H	O/Z 2.2	4
<i>Luzula multiflora</i> (Ehrh.) Lej.	H	Z 2.1	6
<i>Luzula pilosa</i> ^S (L.) Willd.	H	Z 1.1	37
<i>Lycopus europaeus</i> L.	H, Hy	Z 2.1	4
<i>Lysimachia nummularia</i> L.	C	Z 2.1	6
<i>Lysimachia vulgaris</i> L.	H	Z 2.1	41
<i>Maianthemum bifolium</i> ^S (L.) F. W. Schmidt	G	Z 1.1	71
<i>Malus sylvestris</i> ^S (L.) Mill.	M	D 1.1	2
<i>Melampyrum pratense</i> L.	pP, T	Z 1.1	8
<i>Melica uniflora</i> ^S Retz.	G, H	Z 1.1	8
<i>Milium effusum</i> ^S L.	H	Z 1.1	27
<i>Moehringia trinervia</i> (L.) Clairv.	T, H	Z 1.1	43
<i>Molinia caerulea</i> (L.) Moench	H	Z 2.1	37
<i>Orthilia secunda</i> (L.) House	Ch	Z 1.1	2
<i>Oxalis acetosella</i> ^S L.	G, H	Z 1.1	39

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

<i>Oxalis stricta</i> L.	G	-	4
<i>Peucedanum oreoselinum</i> (L.) Moench	H	Z 2.1	2
<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst.	M	D 2.1	39
<i>Pilosella officinarum</i> Vaill.	H	Z 2.2	2
<i>Pinus sylvestris</i> L.	M	D 2.1	43
<i>Plantago major</i> L.	H	Z 2.2/ O	2
<i>Platanthera bifolia</i> ^{OC} (L.) Rich.	G	Z 2.1	2
<i>Poa nemoralis</i> ^S L.	H	Z 1.1	2
<i>Poa pratensis</i> L.	H	Z 2.2	6
<i>Poa</i> L. sp.	H	-	4
<i>Polygonatum multiflorum</i> ^S (L.) All.	G	Z 1.1	25
<i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	G	Z 2.1	2
<i>Populus tremula</i> L.	M	D 2.1	6
<i>Potentilla reptans</i> L.	H	Z 2.2	4
<i>Prunella vulgaris</i> L.	H	Z 2.2	4
<i>Prunus avium</i> (L.) L.	M	D 2.1	2
<i>Prunus padus</i> L. subsp. <i>Padus</i>	M/N	D 2.1	4
<i>Prunus serotina</i> ^K Ehrh.	M (N)	D 2.1	49
<i>Prunus</i> L. sp.	M	-	6
<i>Pteridium aquilinum</i> ^S (L.) Kuh	G	Z 1.1	22
<i>Pyrus communis</i> ^S L.	M	-	8
<i>Quercus petraea</i> (Matt.) Liebl.	M	D 2.1	10
<i>Quercus robur</i> L.	M	D 2.1	94
<i>Quercus rubra</i> ^K L.	M	D 2.1/ D 1.1	22
<i>Ranunculus auricomus</i> ^S coll.	H	Z 2.1	2
<i>Ranunculus flammula</i> L.	H	Z 2.2	2
<i>Rhamnus cathartica</i> ^S L.	N (M)	K 2.1	2
<i>Ribes</i> L. sp.	N	-	2
<i>Rosa</i> L. sp.	N	-	2
<i>Rubus idaeus</i> L.	N	K 1.2	10
<i>Rubus</i> L. sp.	N	-	67
<i>Rumex sanguineus</i> L.	H	Z 1.1	4
<i>Sambucus nigra</i> L.	N, M	K 2.1	4
<i>Sanicula europaea</i> ^S L.	H	Z 1.1	6
<i>Schedonorus giganteus</i> ^S (L.) Holub	H	Z 1.1	16
<i>Scrophularia nodosa</i> ^S L.	H	Z 2.1	6
<i>Scutellaria galericulata</i> L.	H	Z 2.1	10
<i>Securigera varia</i> (L.) Lassen	H	Z 2.2	2
<i>Senecio nemorensis</i> L.	H	-	6
<i>Solidago gigantea</i> ^K Aiton.	H, G	Z 2.2	18
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	M	D 2.1	65
<i>Spiraea</i> L. sp.	N	-	2
<i>Stachys sylvatica</i> ^S L.	H	Z 1.1	10
<i>Stellaria holostea</i> ^S L.	Ch	Z 1.1	2
<i>Taraxacum</i> F. H. Wigg. sp.	H	-	2
<i>Tilia cordata</i> ^S Mill.	M	D 1.1	14
<i>Torilis japonica</i> (Houtt.) DC.	T, H	Z 1.2	2
<i>Trientalis europaea</i> L.	G	Z 1.1	12
<i>Ulmus glabra</i> Huds.	M	D 1.1	2
<i>Ulmus laevis</i> ^S Pall.	M	D 1.1	4
<i>Ulmus minor</i> ^S Mill.	M	D 2.1	4
<i>Urtica dioica</i> L.	H	Z 2.1	8
<i>Vaccinium myrtillus</i> ^S L.	Ch	Z 2.1	47
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	Ch	Z 2.1	2
<i>Veronica chamaedrys</i> L.	C	Z 2.1	4
<i>Veronica officinalis</i> L.	C	Z 2.1	8
<i>Viola canina</i> L.	H	Z 2.2	2
<i>Viola reichenbachiana</i> ^S Boreau.	H	Z 1.1	22
<i>Viola riviniana</i> Rchb.	H	Z 1.1	8

Przegląd badań – Część II

Objaśnienia: Nazwy gatunkowe podano zgodnie z nomenklaturą Euro+Med PlantBase (<https://www.emplantbase.org/home.html>); forma życiowa: C – chameofit niezdrewniały, Ch – chameofit zdrewniały, G – geofit, H – hemikryptofit, Hy – hydrofit/helofit, L – liana/pnącze, M – megafanerofit, N – nanofanerofit, pP – półpasożyt, T – terofit; gatunki leśne: D – drzewo, K – krzew, Z – roślina zielna, 1.1 – gatunki występujące głównie w zwartych lasach, 1.2 – gatunki występujące głównie na zrębach i obrzeżach lasów, 2.1 – gatunki występujące zarówno w lasach jak i w zbiorowiskach nieleśnych, 2.2 – gatunki występujące w lasach, ale preferujące zbiorowiska nieleśne, O – gatunki zbiorowisk nieleśnych; oznaczenia w indeksie górnym: S – gatunki starych lasów, OC – ochrona częściowa; gatunki obce: A – archeofit, K – kenofit.

7. Zdolność rozkładu substratu pozyskanego z drewna Sosny zwyczajnej przez wybrane gatunki grzybów zgniliznowych

Ability to decompose the substrate obtained from Scots pine wood by selected species of rot fungi

Małgorzata Osmenda⁽¹⁾, Czesław Bartnik⁽²⁾, Katarzyna Nawrot-Chorabik⁽²⁾

⁽¹⁾Państwowe Gospodarstwo Leśne Lasy Państwowe Nadleśnictwo Olkusz, Olkusz

⁽²⁾Katedra Ochrony Ekosystemów Leśnych, Wydział Leśny, Uniwersytet Rolniczy, Kraków
Opiekun naukowy dr hab. inż. Prof. UR Katarzyna Nawrot –Chorabik

Słowa kluczowe: dekompozycja, trociny bielaste, trociny twarde

Streszczenie

Drewno jest materiałem, który posiada zastosowanie w wielu gałęziach gospodarki m. in. w przemyśle meblowy oraz tartaczniwie. Drzewa po ścięciu zostają wyrabiane na odpowiednie sortymenty oraz przetransportowane na składnice leśne. Niestety substrat drzewny przechowywany na składnicach leśnych stanowi doskonałą bazę pokarmową dla kolonizujących jego komórki grzybów zgniliznowych. Dekompozycja drewna spowodowana przez grzyby prowadzi do obniżenia jakości i wartości surowca. Dlatego przeprowadzono badania z wykorzystaniem kultur wybranych grzybów występujących na drewnie sosny zwyczajnej. W tym celu zbadano wpływ grzybów na intensywność dekompozycji substratu drzewnego w postaci trocin bielastych i twardej wykonanych z drewna sosny przez wybrane 3 gatunki grzybów. Doświadczenie dotyczące możliwości dekompozycji substratu drzewnego przez grzyby pokazało że możliwości rozkładu drewna zależą od rodzaju drewna (drewno bielaste i twarde) oraz preferencji pokarmowych grzybów.

1. Wstęp

Gospodarka leśna odgrywa bardzo istotną rolę zarówno w życiu społeczeństwa oraz polskiej gospodarce. Pod ogólnym pojęciem gospodarki leśnej funkcjonuje szeroki zakres specjalistycznych zadań mających na celu utrzymanie i powiększanie zasobów leśnych oraz ich ochrona (Korcył i Czajka 2011). Do głównych zadań opartych na zasadach prowadzenia racjonalnej gospodarki leśnej należy produkcja drewna oraz wyrabianie z niego odpowiednich sortymentów takich, jak drewno wielkowymiarowe, do których zaliczamy m. in. dłużyce i kłody oraz drewno średniowymiarowe, m. in. drewno stosowe przemysłowe (Ustawa z dnia 28 września 1991r. o lasach, Dz.U. z 2022 r. poz. 672). Sortymenty drzewne stanowią podstawowy surowiec produkcyjny wykorzystywany w wielu gałęziach przemysłu takich, jak m. in. przemysł tartaczny, meblarski, celulozowo-papierniczy oraz grzewczy. Dlatego w celu umożliwienia przedsiębiorcom sektora leśno-drzewnego sprawnego odbioru drewna jest ono transportowane i przechowywane na składnicach. Składnice leśne są to miejsca przystosowane do przechowywania drewna, które są rozlokowane na obszarze należącym do nadleśnictwa (Domagała i Sztabińska 2021). Surowiec drzewny może być przechowywany na składnicach od kilku do kilkudziesięciu dni. Niestety jakość surowca drzewnego przechowywanego na składnicach przez dłuższy okres czasu w zmiennych warunkach środowiskowych jakimi są opady atmosferyczne i zmiany temperatury może ulec pogorszeniu za sprawą grzybów zgniliznowych. Możliwymi drogami infekcji oraz kolonizacja komórek drewna przez grzyby zgniliznowe są występujące nekrozy pojawiające się w obrębie drewna bielastego, obecność ran w drewnie twardej, martwe gałęzie żywych drzew oraz pęknięcia pojawiające się na czołach lub pobocznicach pozyskanego drewna (Kwaśna i in. 2016). Gatunki grzybów wywołujących białą zgniliznę drewna posiadają zdolność do enzymatycznego rozkładu składników drewna jakimi są lignina, celuloza oraz hemiceluloza doprowadzając do całkowitej dekompozycji struktury drewna (Abdul El-Nasser i in. 1997; Goodell i in. 2008). Natomiast grzyby wywołujące brunatną zgniliznę posiadają możliwość rozkładu tylko celulozy, przez co drewno przybiera ciemnobrunatne

zabarwienie oraz staje się bardzo kruche. Pośród grzybów powodujących intensywną zgniliznę drewna występują zarówno gatunki będące groźnymi patogenami (pasożytami), atakujące wyłącznie zdrowe drzewa, jak i również saprotrofy, które kolonizują i rozkładają głównie martwe drewno (Sołtys i Zawadzki 2018). Posiadane przez grzyby umiejętności do spowodowania intensywnej dekompozycji surowca drzewnego są przyczyną obniżenia zarówno wartości i jakości surowca drzewnego. Zjawisko to jest w szczególności niekorzystne dla surowca cennego gospodarczo gatunku drzewa jakim jest sosna zwyczajna (*Pinus sylvestris* L.). Efektem końcowym bezpośredniego oddziaływania grzybów jest ograniczenie możliwości wykorzystania surowca w przemyśle np. meblarskim lub tartaczniactwie. W przedstawionej pracy zbadano intensywność rozkładu substratu pokarmowego jakim był substrat drzewny w postaci trociny bielastej i twardej uzyskanej z drewna sosnowego przez wybrane grzyby. Gatunkami grzybów, które stanowią przedmiot badań w poniższej pracy były Żylica olbrzymia (*Phlebiopsis gigantea*, (Fr.) Jülich), Murszak rdzawy (*Phaeolus schweinitzii*, (Fr.) Patouillard) oraz Siedzuń sosnowy (*Sparassis crispa*, (Wulf.) Fries) (Menkis i in. 2012; Tuffen i Grogan 2019; Chang i Choi 2004). Charakterystykę poszczególnych gatunków grzybów przedstawiono w Tab. 1.

Tab. 1. Charakterystyka wybranych grzybów występujących na drewnie sosnowym. *-gatunek może posiadać charakter patogena przez zasiedlanie żywych drzew lub saprotrofa poprzez zasiedlanie wyłącznie drzew martwych tj. pniaków.

Nazwa gatunku grzyba	Sposób odżywiania grzyba	Rodzaj wywoływanej zgnilizny
Żylica olbrzymia (<i>Phlebiopsis gigantea</i>)	Saprotrof	Biała zgnilizna drewna
Murszak rdzawy (<i>Phaeolus schweinitzii</i>)	Patogen	Brunatna zgnilizna drewna
Siedzuń sosnowy (<i>Sparassis crispa</i>)	Patogen/Saprotrof*	Brunatna zgnilizna drewna

Rezultaty przeprowadzonych badań mogą przyczynić się do opracowania innowacyjnych metod zabezpieczania sortymentów wykonanych z drewna sosnowego przechowywanego na składnicach leśnych przed negatywnym i ekspansywnym oddziaływaniem grzybów posiadających zdolności do intensywnego rozkładu i niszczenia wartościowego surowca.

Fakt ten stanowi istotny problem ponieważ grzyby wpływają na pogorszenie jakości i wytrzymałości surowca drzewnego poprzez zniszczenie uporządkowanej struktury drewna przez co staje się łamliwe i nietrwałe. Fakt ten stanowi bardzo poważny problem dla branży drzewnej ponieważ bardzo ogranicza wykorzystanie drewna wysokiej jakości technicznej w przemyśle budowlanym, tartacznym i meblarskim. Otrzymane rezultaty badań posłużą również do efektywnego zabezpieczania przed intensywnym rozkładem surowca drzewnego, którego struktura została celowo przekształcona technologicznie tj. rozdrobniona, jak w przypadku drewna zrąbkowanego oraz trocin, które są wykorzystywane w przemyśle grzewczym m. in do produkcji peletu.

2. Materiały i metody

2.1 Izolacja materiału badawczego

Kultury grzybów zostały pobrane z fragmentów drewna sosnowego, na którym zaobserwowano wystąpienie objawów chorobowych spowodowanych oddziaływaniem grzybów takich, jak widoczna zgnilizna i przebarwienia. Próbkę drewna zawierającą kultury grzybów pochodziły ze składnic zlokalizowanych na terenie Nadleśnictwa Spała i Garwolin. Analizy przeprowadzono w Katedrze Ochrony Ekosystemów Leśnych Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Izolację grzybów rozpoczęto od dezynfekcji fragmentów drewna 96% etanolem oraz jego osuszeniem przy pomocy bibuły filtracyjnej. Następnie pobrano ze środkowej części fragmentów drewna próbki zawierające kulturę grzyba. Każda z pobranych próbek została umieszczona w szalce Petriego z zestaloną pożywką glukozowo-ziemniaczaną z dodaną tetracykliną (1 L pożywki zawierał 200

mg/L tetracykliny) przygotowanej według zaleceń TZF Polfa, Polska. Próbki inkubowano w inkubatorze firmy Heraeus (model BK600, Burladingen, Niemcy) przez okres 7 dni w warunkach całkowitej ciemności. Następnie pobrano wyrośnięte z próbek inokulaty grzybów, które poddano analizie genetycznej metodą PCR celem prawidłowej identyfikacji gatunku grzyba.

2.2 Przygotowanie substratów badawczych

Do przeprowadzenia badania przygotowano pożywkę glukozowo-ziemniaczaną z dodatkiem tetracykliny. Po przygotowaniu pożywki została ona rozlana do sterylnych szalek Petriego, gdzie uległa zestaleni. Pożywka przygotowana w ten sposób została zabezpieczona przy pomocy parafilmu i odłożona do kolejnej części badania. Przygotowano również substrat badawczy w postaci trocin bielastych i twardełowych sporządzonych z drewna sosnowego. W warunkach laboratoryjnych badania przeprowadzono na przetworzonym substracie badawczym w postaci trocin, a nie litym drewnie, w celu lepszej penetracji substratu przez grzyby, uniknięcia wyschnięcia zestalonej pożywki glukozowo-ziemniaczanej wewnątrz szalek Petriego oraz zminimalizowania ryzyka zainfekowania próbek badawczych przez spontaniczne zakażenia.

Do sporządzenia substratu w postaci trociny pozyskano fragmenty zdrowego drewna sosnowego, które zostały rozdrobnione przy pomocy pilarki tarczowej Dedra 2000 (Dedra Exim, Pruszków, Polska) wyposażoną w piłę tarczową Verto (Unimet, Rzeszów, Polska). Otrzymane trociny zostały podzielone na 2 partie. Pierwszą partię stanowiły trociny bielaste, natomiast drugą partię stanowiły trociny twardełowe. Następnie każda partia trocin został przesiana przez sito o wymiarach oczka 0.8 mm. Przesiane trociny zostały odważone i poporcjowane po 0.4 g a następnie zostały wysterylizowane w suszarce laboratoryjnej Bidner Model E 28 w temperaturze 90°C przez 8 godzin. W czasie sterylizacji trocin przygotowano szalki Petriego z przygotowaną wcześniej pożywką glukozowo-ziemniaczaną. W zestalonej pożywce wycięto przy pomocy specjalnej sztancy laboratoryjnej okrągły otwór o wielkości 30 mm, w którym umieszczono wysterylizowane trociny bielaste i twardełowe pozyskane z drewna sosny. Trociny zostały następnie zwilżone 500 µl wody destylowanej. Przygotowane szalki Petriego wypełnione trocinami zostały przeniesione do laboratorium w celu przeprowadzenia dalszej części badania.

2.3 Określenie ubytku suchej masy trocin bielastych i twardełowych na skutek oddziaływania wybranych grzybów

Z wcześniej namnożonych kultur grzybów pobrano fragmenty ich grzybni w postaci krążka z każdego gatunku badanego grzyba (inokulum). Wielkość inokulum wynosiła 10 mm. Każde inokulum zostało wyłożone pojedynczo na trociny bielaste i twardełowe, które zostały umieszczone wcześniej w przygotowanych szalkach Petriego. Następnie szalki Petriego, w których umieszczono kultury grzybów na substracie w postaci trocin bielastych i twardełowych zamknięto, zabezpieczono parafilmem i umieszczono w inkubatorze firmy Heraeus (model BK600, Burladingen, Niemcy), gdzie panowała temperatura 22/23°C. Po zakończeniu doświadczenia każda z poszczególnych prób grzybów, rozwijających się na trocinach bielastych i twardełowych, została przeniesiona z szalek do pojedynczych aluminiowych torebek, które posiadają właściwości przewodzenia ciepła, nie uszkadzając przy tym materiału badawczego tj. trocin. Zamknięte torebki zawierające trociny umieszczono w suszarce laboratoryjnej Bidner Model E 28 w temperaturze 90°C, przez 8 godzin w celu usunięcia pozostałości fragmentów grzybów rozwijających się na trocinach. Następnie wysuszone próby trocin zostały zważone za pomocą cyfrowej wagi analitycznej Explorer Analytical (OHAUS Europe, Nanikon, Szwajcaria). Oceny ubytku suchej masy trocin bielastych i twardełowych sosnowych dokonano na podstawie różnicy masy trocin przed przeprowadzeniem doświadczenia (tj. masy 0.4 g) i masy uzyskanej po zakończeniu doświadczenia, czyli po upływie 45 dni.

2.4 Analizy statystyczne

Otrzymane w rezultacie badań dane zostały przeanalizowane statystycznie za pomocą programu Dell Statistica wersja 13.1 (Dell Inc. 2016). W doświadczeniach wykonano analizę statystyczną za pomocą testu t-Student porównując średnią w celu określenia wielkości dekompozycji substratu drzewnego, w postaci trocin bielastych i twardełowych, spowodowanego przez

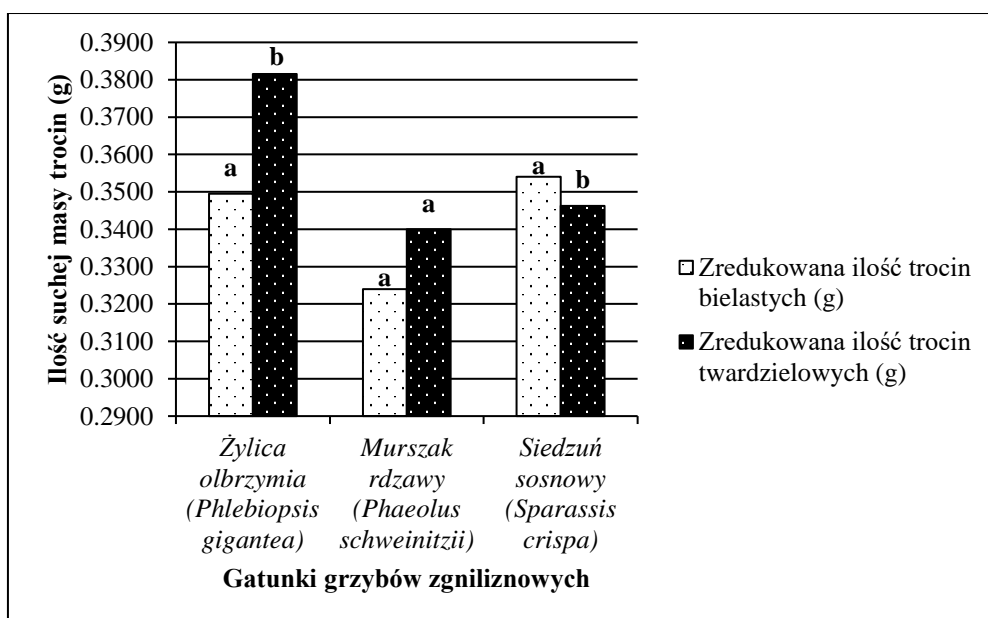
oddziaływanie kultur różnych grzybów. Przeprowadzono również analizę testem post-hoc Tukeya w celu określenia, który gatunek grzyba spowodował największą dekompozycję średniej ilości trocin sosnowych. W przeprowadzonych analizach statystycznych przyjęto poziom istotności równy $p < 0.05$.

3. Wyniki i dyskusja

Na podstawie rezultatów badania możliwości dekompozycji pojedynczych kultur grzybów rozkładających drewno sosnowe stwierdzono, że największa dekompozycja masy trocin bielastych została spowodowana przez Murszaka rdzawego. Jego oddziaływanie doprowadziło do redukcji masy trocin bielastych, z których pozostało jedynie 0.3240 g. Natomiast w przypadku Żylicy olbrzymiej pozostało jedynie 0.3495 g nierozłożonego substratu badawczego. W przypadku grzyba jakim był Siedzuń sosnowy zaobserwowano najmniejszy stopień rozkładu trocin bielastych (Rys. 1). Intensywny rozkład substratu drzewnego wywołany przez Murszaka rdzawego jest spowodowany faktem, że gatunek ten posiada bardzo ekspansywny rozwój swojej grzybni zdolny do intensywnej kolonizacji drewna. Dlatego Murszak rdzawy został zaliczony do patogenów grzybowych posiadających duży potencjał do powodowania dużych strat w drzewostanach sosnowych (Sierota i Szczepkowski 2014). Natomiast intensywny rozkład drewna bielastego spowodowany oddziaływaniem Żylicy olbrzymiej jest rezultatem posiadanych przez gatunek umiejętności bardzo szybkiej kolonizacji komórek roślinnych substratu pokarmowego w celu zdobycia jak największej ilości substancji odżywczych w krótkim okresie czasu. Rezultaty badań innych autorów pokazały, że możliwość intensywnej kolonizacji i rozkładu substancji pokarmowych przez ten gatunek został wykorzystany do walki z groźnym patogenem drzew iglastych jakim jest Korzeniowiec wieloletni (*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref.). Stwierdzono, że grzybnia żylicy powoduje powstawanie zmian w strukturach strzępek innych gatunków grzybów będących dla niego konkurencją w pobieraniu składników pokarmowych. Doskonałym przykładem gatunku grzyba stwarzającego konkurencję dla żylicy jest właśnie Korzeniowiec wieloletni. Żylica olbrzymia rozwijając swoją grzybnię doprowadza do powstania zjawiska konkurencji pokarmowej, która charakteryzuje się rywalizacją organizmów o pobranie jak największej ilości substancji pokarmowych umożliwiających przetrwanie organizmu (Pope i in. 2003). Posiadane przez Żylicę olbrzymią umiejętności zostały wykorzystane w produkcji biopreparatów takich, jak PgIBL stworzonych do zabezpieczania pniaków drzew iglastych w celu zwalczania grzybni Korzeniowca wieloletniego (Piętka 2016). Otrzymane rezultaty badań przedstawione w pracy mogą posłużyć do dalszego rozwoju idei opracowania innowacyjnych biopreparatów, które posłużyłyby do ograniczenia i zwalczania rozwoju grzybów zgniliznowych wpływających negatywnie na jakość sortymentów drzewnych składowanych na składnicach leśnych. W przypadku dekompozycji trocin twardzielowych przez wybrane grzyby stwierdzono, że najintensywniejszy rozkład substratu drzewnego został spowodowany także przez Murszaka rdzawego oraz Siedzunia sosnowego. Kultura Murszaka rdzawego doprowadziła do redukcji trocin twardzielowych do poziomu 0.3400 g, natomiast Siedzuń sosnowy zredukował ilość trocin twardzielowych do 0.3463 g (Rys. 1). Zaobserwowano również mniejszy stopień możliwości dekompozycji substratu z drewna twardzielowego przez grzyby. Niższy poziom dekompozycji substratu z drewna twardzielowego jest prawdopodobnie spowodowany faktem, że kultury grzybów rozwijały się na przetworzonym substracie pokarmowym a nie litym drewnie twardzielowym, którego duży udział w masie drewna występuje u sosen w starszych klasach wieku (Tomusiak i Zarzyński 2019). W odniesieniu do Siedzunia sosnowego możliwość intensywnej dekompozycji substratu drzewnego potwierdzają badania przeprowadzone przez (Lee i in. 2004), w których zbadano rozwój Siedzunia sosnowego na substracie pokarmowym w postaci trocin modrzewiowych. Wykazano, że kultury tego gatunku grzyba intensywnie wzrastają i rozkładają przygotowane trociny modrzewiowe wykonane z drewna twardzielowego. Na podstawie przeprowadzonych analiz statystycznych stwierdzono, że istnieją istotne statystycznie różnice pomiędzy dekompozycją trocin bielastych i twardzielowych w przypadku Żylicy olbrzymiej i Siedzunia sosnowego (Rys. 1, Tab. 2).

W przeprowadzonym badaniu zaobserwowano również, że w kultura Murszaka rdzawego spowodowała największą redukcję wartości średniej trocin bielastych i twardzielowych sosnowych do poziomu 0.3320 g (Rys. 2). Wyniki doświadczenia pokazały, że grzybnia Murszaka rdzawego

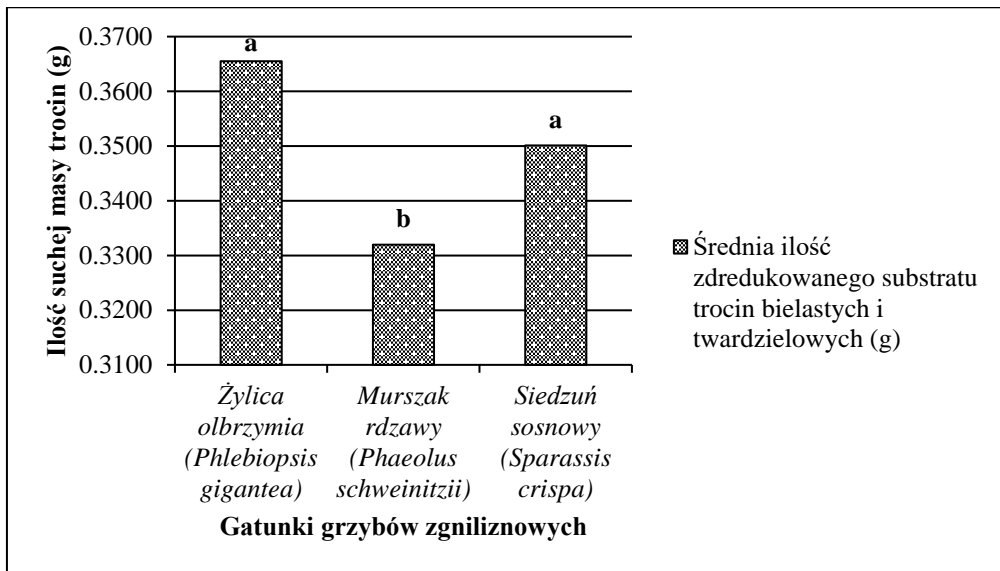
posiada możliwości rozkładu największej ilości sosnowego substratu sosnowego. Grzyb ten przyczynia się do dużych strat w dojrzałych drzewostanach drzew iglastych ze względu na ekspansywną kolonizację drewna w środkowej części pnia oraz szyi korzeniowej, co w rezultacie końcowym powoduje duże straty w jakości oraz wartości pozyskanego surowca drzewnego (Hagle i Filip 2010). W przypadku Żylicy olbrzymiej stwierdzono, że uśredniona wartość zredukowanej masy trocin jest najmniejsza, w stosunku do pozostałych dwóch gatunków grzybów. Średnia ilość rozłożonego substratu badawczego w przypadku Żylicy olbrzymiej wynosi 0.3655 g. Na podstawie wcześniejszego badania oraz uśrednionych wartości można wywnioskować, że Żylica olbrzymia w mniejszym stopniu kolonizuje trociny uzyskane z drewna twardego niż w przypadku trocin bielastych. Natomiast otrzymana średnia wartość w przypadku Siedzunia sosnowego wyniosła 0.3501 g i występuje na średnim poziomie (Rys. 2). Otrzymany finalny rezultat badania pokazał, że spowodowany przez Siedzunia sosnowego mniejszy ubytek suchej masy trocin w stosunku do Murszaka rdzawego jest spowodowany przez wolniejsze tempo rozwoju kultury tego gatunku. Potwierdzają to badania innych autorów, które pokazały, że kultura siedzunia charakteryzuje się powolnym rozwojem (Aleksandrowicz-Trzczińska i in. 2018). Na tej podstawie można stwierdzić, że tempo dekompozycji substratu pokarmowego jakim jest substrat drzewny w dużej mierze zależy od tempa wzrostu i zawoju poszczególnych gatunków grzybów. Również interpretacja rezultatów badań, dla której przeprowadzono test post-hoc Tukeya pokazała, że wystąpiły istotne statystycznie różnice pomiędzy dwiema otrzymanymi statystycznymi grupami grzybów świadczące o wpływie konkretnego gatunku grzyba na możliwości rozkładu substratu pokarmowego jakim były trociny bielaste i twarde (Rys. 2, Tab. 3).



Rys. 1. Wartości zredukowanej ilości masy trocin bielastych i twardego sosnowych spowodowane oddziaływaniem różnych gatunków grzybów. Wyjaśnienie: a, a – uzyskane rezultaty badania nie są istotne statystycznie, a, b – uzyskane rezultaty badania są istotne statystycznie.

Tab. 2. Wyniki analizy statystycznej przeprowadzone testem t-studenta pokazujące otrzymane poziomy istotności p występujący pomiędzy uzyskaną wartością redukcji trocin bielastych i twardego. Przyjęto poziom istotności równy $p < 0.05$. *- wartości statystyczne są istotne

Gatunek grzyba	Otrzymany poziom istotności
Żylica olbrzymia (<i>Phlebiopsis gigantea</i>)	0.0005*
Murszak rdzawy (<i>Phaeolus schweinitzii</i>)	0.2830
Siedzuń sosnowy (<i>Sparassis crispa</i>)	0.0263*



Rys. 2. Średnie wartości zredukowanej masy trocin bielastych i twardzielowych spowodowane oddziaływaniem wybranych gatunków grzybów. Wyjaśnienie – rezultaty badania oznaczone tymi samymi literami nie są istotne statystycznie

Tab. 3. Analiza statystyczna wykonana testem post-hoc Tukeya pokazująca statystyczne różnice pomiędzy średnimi wartościami zredukowanej ilości substratu badawczego. Wyjaśnienie - **** - gatunki grzybów występujące w tej samej grupie nie różnią się istotnie statystycznie

Gatunek grzyba	Grupa 1	Grupa 2
Żylica olbrzymia (<i>Phlebiopsis gigantea</i>)	****	
Murszak rdzawy (<i>Phaeolus schweinitzii</i>)		****
Siedzuń sosnowy (<i>Sparassis crispa</i>)	****	

4. Wnioski

Grzybem, który spowodował najintensywniejszą dekompozycję trocin bielastych był Murszak rdzawy. Należy również podkreślić, że grzyb ten spowodował największy ubytek trocin twardzielowych. Doświadczenia pokazały, że grzyby posiadające charakter patogena, mające możliwości szybszej kolonizacji substratu drzewnego stanowią największe wyzwanie w ochronie i zabezpieczeniu surowca drzewnego przed jego dekompozycją. Należy również podkreślić, że grzyby zgniliznowe występujące na litym drewnie sosnowym doprowadzają do szybkiej dekompozycji surowca poddanego obróbce, m. in. trocin. Uzyskane rezultaty pokazały, że rozkład substratu drzewnego stanowi poważny problem dla przemysłu grzewczego, w którym wykorzystuje się przetworzoną biomasa drzewną w postaci zrębek i trocin do produkcji peletu oraz brykietu. Natomiast rezultaty badań dotyczące redukcji uśrednionej masy trocin pokazały, że największą dekompozycję substratu spowodował Murszak rdzawy i Siedzuń sosnowy. Otrzymane wyniki końcowe oraz badania innych autorów pokazały, że wzięte pod uwagę w niniejszej pracy grzyby stanowią obecnie bardzo poważne zagrożenie dla pozyskania surowca drzewnego dobrej jakości, którego właściwości techniczne mogą zostać zachwiane poprzez bezpośrednie oddziaływanie grzybów.

5. Literatura

Abdul El-Nasser NH, Helmy S, M., El-Gammal AA (1997) Formation of enzymes by biodegradation of agricultural wastes with white rot fungi. *Polymer Degradation and Stability* 62: 249-255.

- Aleksandrowicz-Trzcńska M, Szaniawski A, Olchowik J et al. (2018) Effects of copper and silver nanoparticles on growth of selected species of pathogenic and wood-decay fungi in vitro. *The Forestry Chronicle* 94: 109-115.
- Chang HY, Choi SO (2004) Characteristics of mycelial culture of *Sparassis crispa*. *Journal of Mushroom* 2:163-167.
- Dell Inc. (2016). Dell Statistica (data analysis software system), version 13. software.dell.com.
- Domagała J, Sztabińska W. (2021) Łańcuch dostaw i klasyfikacja zapasów surowca drzewnego na przykładzie Nadleśnictwa Głęboki Bród. *Economics and Organization of Logistics* 6: 29-38.
- Goodell B, Qian Y, Jellison J (2008) Fungal Decay of Wood: Soft Rot—Brown Rot—White Rot. *Development of Commercial Wood Preservatives* 2: 9-31.
- Hagle SK, Filip GM, (2010) Schweinitzii Root and Butt Rot of Western Conifers. U. S. Department of Agriculture Forest Service Forest Insect & Disease Leaflet 177: 1-8.
- Korcył A, Czajka K (2011) Optymalizacja procesów logistycznych w gospodarce leśnej *Logistyka* 2: 319–326.
- Kwaśna H, Łakomy P, Gornowicz R (2016) Grzyby saproksyliczne w resztkach pozrębowych sosny zwyczajnej. *Sylvan* 160: 355–364.
- Lee JM, Kim JY, Choi KD et al (2004) Sawdust Media Affecting the Mycelial Growth and the Fruiting Body Formation of *Sparassis crispa*. *Mycobiology* 32: 190-193.
- Menkis A, Burokiene D, Gaitnieks T et al. (2012) Occurrence and impact of the root-rot biocontrol agent *Phlebiopsis gigantea* on soil fungal communities in *Picea abies* forests of northern Europe, *FEMS Microbiology Ecology* 81:438–445.
- Piętka J. (2016) Interakcję międzygatunkowe w świecie grzybów nadrzewnych. *Studia i materiały CEPL w Rogowie*. 46: 53-62.
- Poppe L, Vanhoutte S, Hofte M (2003) Modes of action of *Pantoea agglomerans* CPA-2, an antagonist of postharvest pathogens on fruits. *European Journal of Plant Pathology* 109: 963–973.
- Sierota Z, Szczepkowski A (2014) Rozpoznawanie chorób infekcyjnych drzew leśnych. Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa. 23–30, 47–52, 109–111.
- Sołtys A, Zawadzki G. (2018) Choroby grzybowe jako czynnik zagrażający stabilności lasów. *Studia i Materiały CEPL w Rogowie* 20: 83-92.
- Tomusiak R, Zarzyński P (2019) Wpływ czyrenia sosnowego *Phellinus pini* Brot. Pilát na przyrosty radialne sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris* L. *Sylvan* 163: 576–583.
- Tuffen G, Grogan HM (2019) Current, emerging and potential pest threats to Sitka spruce plantations and the role of pest risk analysis in preventing new pest introductions to Ireland Melanie. *Forestry: An International Journal of Forest Research* 92: 26–41.
- Ustawa z dnia 28 września 1991r. o lasach. Dz.U. z 2022 r. poz. 672.

8. Zastosowanie otoczkowanej miedzi w żywieniu zwierząt gospodarskich

Use of encapsulated copper in livestock nutrition

Płatek Arkadiusz Marek, Wilk Martyna

Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Płatek Arkadiusz Marek: 121483@student.upwr.edu.pl

Wilk Martyna: martyna.wilk@upwr.edu.pl

Słowa kluczowe: Mikroelementy, suplementacja, dodatki paszowe, zwierzęta monogastryczne, zwierzęta przeżuwające

Streszczenie

W żywieniu zwierząt gospodarskich coraz szerzej stosowane są różnego rodzaju dodatki paszowe, stymulatory wzrostu, które mają na celu poprawę wskaźników produkcyjnych. Ich włączenie do dawki pokarmowej przyczynia się do zwiększenia uaktywniania działalności całego organizmu bądź poszczególnych układów, dzięki czemu pośrednio lub bezpośrednio wpływają na uzyskanie wyższych efektów produkcyjnych. Brak lub niedobór poszczególnych mikroelementów pociąga za sobą szereg zaburzeń metabolicznych, które doprowadzają do licznych dysfunkcji. Jednym z przykładów jest unieczynnienie enzymów i związane z tym następstwa, takie jak zatrzymanie określonej reakcji, która blokuje syntezę docelowego związku, niezbędnego do prawidłowego funkcjonowania organizmu zwierzęcia, oraz nagromadzenia się produktów niepełnej przemiany. Miedź bierze udział w tworzeniu się hemoglobiny, występuje jako składnik lub aktywator licznych enzymów m.in. aktywizuje produkcję kolagenu, kości czy tkanek łącznych oraz ułatwia wchłanianie minerałów takich jak wapń i żelazo. Ponadto miedź jest silnym antyoksydantem, który wymiata wolne rodniki z organizmu zwierząt. Dodatkowo, miedź bierze udział w produkcji czerwonych krwinek, które transportują tlen do wszystkich narządów organizmu. Objawy niedoboru miedzi są różne, szczególnie obserwuje się niedokrwistość, zahamowanie wzrostu, nieprawidłowy rozwój, zmiany w kościach, biegunki i inne. Dodatek źródła miedzi do pasz dla zwierząt gospodarskich wspiera pobranie paszy i przyczynia się do wzrostu przyrostów masy ciała u świń. Co więcej, suplementacja trihydroksychlorku dimiedzi (TBCC) znacząco zmniejsza występowanie biegunki u świń odsadzonych. Dodatkowo, suplementacja miedzi zwiększa aktywność transaminazy asparaginianowej, ceruloplazminy i dysmutazy ponadtlenkowej. Miedź suplementowana w postaci substancji otoczkowanej sprawia, że otoczka tłuszczowa blokuje dysocjację siarczanu miedzi i TBCC w żołądku pozwalając na ich uwolnienie dopiero w dalszych odcinkach jelita cienkiego co skutecznie eliminują patogenną mikroflorę jelitową u świń.

1. Wstęp

Wylimitowanie stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu w hodowli trzody chlewnej było i nadal jest jednym z wyzwań stojących przed sektorem produkcji zwierzęcej. Wprowadzenie substancji stymulujących wzrost organizmu do pasz dla zwierząt gospodarskich miało na celu poprawę wydajności, efektywności produkcji i wskaźników ekonomicznych (Przeniosło-Siwczyńska i Kwiatek 2013). Jednakże pojawiające się obawy dotyczące rozwoju oporności na antybiotyki i związane z tym skutki dla zdrowia publicznego, zgodnie z koncepcją One-Health, doprowadziły do podjęcia środków mających na celu ograniczenie stosowania tych substancji.

Badania naukowe pokazują, że stosowanie miedzi w żywieniu zwierząt gospodarskich może mieć wiele zalet. Miedź jest niezbędnym mikroelementem, który odgrywa kluczową rolę w wielu procesach metabolicznych, w tym we wzroście organizmu i rozwoju układu odpornościowego. Miedź ma również właściwości antybakteryjne i przeciw pasożytnicze (Espinoso i Stein 2021).

Miedź chroniona, znana również jako miedź o kontrolowanym uwalnianiu, to obiecujące rozwiązanie, które może zastąpić antybiotykowe stymulatory wzrostu. Otoczkowanie miedzi to technika polegająca na powlekanii siarczynu miedzi (lub innego związku, mieszaniny związków) warstwą lipidową, która umożliwia stopniowe uwalnianie jonów miedzi w przewodzie pokarmowym zwierzęcia. Zastosowanie otoczkowanej miedzi korzystnie wpływa na mikrobiom przewodu pokarmowego zwierząt, miedź zahamowuje wzrost patogenów i pasożytów w przewodzie pokarmowym zwierząt, co bezpośrednio wpływa na zdrowie zwierząt i zmniejsza potrzebę antybiotykoterapii (Espinosa i Stein 2021).

Niniejsza praca przedstawia analizę dotychczasowych badań nad zastosowaniem otoczkowanej miedzi u zwierząt gospodarskich, ze szczególnym uwzględnieniem produkcji trzody chlewnej. Wprowadzenie otoczkowanej miedzi do hodowli zwierząt gospodarskich może być ważnym krokiem w kierunku zrównoważonej i wydajnej produkcji zwierzęcej, eliminując negatywne skutki nadużywania antybiotyków.

2. Opis zagadnienia

Wysoki potencjał genetyczny zwierząt gospodarskich wymusza na hodowcach dążenie do optymalizacji potrzeb pokarmowych nie tylko na podstawowe składniki odżywcze, ale także na witaminy i składniki mineralne. Biorąc pod uwagę ograniczenia ilości składników mineralnych, zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 1334/2005 z dnia 25 lipca 2003 (Dz.U. UE L 187/11 z dnia 25 lipca 2003), wysoka wydajność zwierząt wymaga dostarczenia w paszach łatwo przyswajalnych form mikroelementów.

Miedź bierze udział w reakcjach metabolicznych, w tym oddychaniu komórkowym, pigmentacji tkanek, uruchamianiu rezerw żelaza, tworzeniu hemoglobiny i rozwoju tkanki łącznej. Dodatkowo miedź wchodzi również w skład wielu enzymów tkankowych oraz bierze udział w procesach przemiany materii (Gaetke i Chow 2003; Studziński i in. 2006). Wiele białek tkankowych posiada zdolność formowania kompleksów z miedzią, w których jest ona częścią struktury molekularnej o charakterystycznej proporcji pomiędzy cząsteczkami białek, a atomami miedzi. Białka te określane są mianem metaloprotein i pełnią funkcje enzymatyczne (Manto 2014). Zalicza się do nich: ceruloplazminę, dysmutazę nadtlenkową, oksydazę cytochromową i monoaminową, tyrozinazę, hydroksylazę n-dopaminową i inne (Raetz i Withfield 2002; (Manto 2014). Kolejnym ważnym powodem suplementacji miedzi jest jej rola w tworzeniu i utrzymaniu prawidłowej struktury tkanek. Miedź jest niezbędna do syntezy kolagenu, który jest podstawowym składnikiem tkanki łącznej. Zapewnia to prawidłowe funkcjonowanie kości, skóry, naczyń krwionośnych i innych tkanek. Brak miedzi może prowadzić do osłabienia struktury tkanek, zwiększonej podatności na urazy i dłuższego procesu gojenia. Dodatkowo, miedź ma właściwości przeciwutleniające, co oznacza, że chroni organizm przed działaniem wolnych rodników i stresem oksydacyjnym. Wolne rodniki powodują uszkodzenia komórek i mogą prowadzić do różnych chorób. Suplementacja miedzi może zwiększyć zdolność organizmu do neutralizowania tych szkodliwych cząsteczek i zapobiegać uszkodzeniom oksydacyjnym. Warto również wspomnieć o roli miedzi w procesach rozrodczych zwierząt gospodarskich. Miedź jest niezbędna do prawidłowej syntezy hormonów płciowych i wpływa na funkcjonowanie układu rozrodczego. Brak miedzi może prowadzić do zaburzeń cyklu płciowego, trudności w zapłodnieniu i obniżonej płodności (Kubiński 1996).

U trzody chlewnej duże dawki miedzi (100-250 mg/kg) mogą być stymulatorem wzrostu. U trzody chlewnej miedź jest szybko wydalana z żółcią i nie kumuluje się w wątrobie (Anke et al. 1994; Kośla 1999). Trzoda chlewna jest mniej wrażliwa na toksyczność miedzi niż przeżuwacze. Owce i jagnięta mogą tolerować jedynie poziom miedzi wynoszący odpowiednio 20 mg/kg i 100 mg/kg (w przeliczeniu na suchą masę). Świnie wchłaniają miedź skuteczniej w porównaniu z przeżuwaczami. Jeśli poziom miedzi w diecie przekracza zapotrzebowanie, Cu gromadzi się w wątrobie i innych ważnych narządach (Goff 2015; Espinosa i Stein 2021). Już w 1945 stwierdzono stymulujące działanie siarczynu miedzi u tuczników, która zwiększyła przyrosty masy ciała o 8,1% i poprawiła wykorzystanie paszy o 5,4% przy dawce 0,5-1,0 g na 1 kg suchej masy paszy (Chachułowa 1972).

Zapotrzebowanie drobiu na miedź jest niewielkie i wynosi 4–10 mg/kg masy ciała (Larrier i Leclercq 1995). Przyczyny niedoboru miedzi u drobiu są zróżnicowane np. jednym z czynników blokujących wykorzystanie miedzi są znajdujące się w paszy (zawierającej duże ilości zboża) fityniany i kwasy fitynowe, które tworzą z miedzią trwałe kompleksy. Niedobór miedzi powoduje mniejszą przyswajalność innych pierwiastków np. magnezu, żelaza i cynku (Marchetti et al. 1995; Makarski 2002). Ograniczona przyswajalność miedzi z treści pokarmowej może wynikać także z obecności rozpuszczalnych frakcji włókna pokarmowego, które powodują wzrost lepkości treści pokarmowej (Koreleski 1993; Jamroz i Wertelecki 1999). Niedobór miedzi może także powodować pęknięcie aorty u indyków ras mięsnych, obniżenie produktywności jaj u kur niosek oraz wady ich skorupy (Gehrke 1997; Kolasa 2005).

Jednym z większych problemów w hodowli trzody chlewnej są biegunki pojawiające się po odsadzeniu prosiąt. Najczęstszą przyczyną tych dysfunkcji są endotoksyny produkowane przez bakterie *Escherichia coli* i wchłaniane przez ścianę jelit do układu krwionośnego. Endotoksyny, a w szczególności lipopolisacharydy (LPS), stymulują komórki zapalne, w tym płytki krwi do produkcji mediatorów zapalnych co w konsekwencji prowadzi do zaburzenia homeostazy organizmu (Luppi 2016). Do zakażenia szczepami patogennymi dochodzi *per os*, na skutek kontaktu z kałem biegunkowym chorych prosiąt. Czynnikiem zwiększającym podatność na zakażenie są złe warunki higieniczne w chlewni lub złe warunki środowiskowe np. zbyt niska temperatura. Patogenne szczepy szybko zasiedlają jelita cienkie (posiadają fimbrie, umożliwiające im przyleganie do powierzchni enterocytów), namnażając się intensywnie zwiększają koncentrację enterotoksyn powodując zaburzenia w funkcjonowaniu jelit m.in. powodują biegunkę sekrecyjną, prowadzącą do odwodnienia, zaburzeń elektrolitowych (hipokaliemii). Straty wśród odsadzonych prosiąt z powodu biegunek związane są przede wszystkim z wydłużeniem czasu tuczu zwierząt oraz różnicowaniem wagowym równowiekowych grup świń. Przyjmuje się, że 3 dni biegunki w okresie około odsadzeniowym prowadzą do wydłużenia czasu tuczu świń o około 10-30 dni. Takie pogorszenie wskaźników produkcyjnych spowodowane jest to dysfunkcją przewodu pokarmowego, która bezpośrednio wpływa na spadek spożycia paszy, zaburzenie odżywiania jelit, złe odżywienie błony śluzowej, a to w konsekwencji prowadzi do wchłaniania endotoksyn, powstania stanów zapalnych, słabego wchłaniania składników pokarmowych oraz biegunki (Ma et al. 2007).

W ciągu 10 lat antybiotykooporność patogenów bakteryjnych wywołujących kolibakteriozę (*Escherichiosis*) prosiąt stopniowo narastała na: enrofloksacynę - od 14,5 do 89,3% badanych szczepów; na flumechinę - od 49,1 do 92,9%; na florfenikol - od 9,8 do 64,3%; na tiamfenikol - od 50 do 92%; na cefquinom - od 3,8 do 44%. Wzrastająca antybiotykooporność była również obserwowana w przypadku gentamycyny - od 63,6 do 85,7%; apramycyny - od 61,8 do 82,1%; trimetoprimu, sulfometoksazolu - od 75 do 89,3%; tetracykliny - od 97 do 100%; erytromycyny - od 92,4 do 100%. Wylimitowanie antybiotyków poprzez wprowadzenie prewencji, zgodnie z koncepcją One-Health, jest niezwykle ważne dla zdrowia zwierząt i ludzi (Anke et al. 1994).

W związku z powyższym niezwykle ważne było znalezienie rozwiązania nie wymagającego użycia antybiotyków. Wraz z wprowadzeniem zakazu stosowania leczniczych dawek tlenku cynku w paszach (dyrektywa Komisji UE 2001/81/WE) zaczęto poszukiwania alternatywy, którą okazała się być miedź w jej różnych formach. Otoczkowanie miedzi pozwala na ochronę miedzi na etapie żołądka i rozkład w środowisku jelit, co wzmacnia działanie bakteriobójcze miedzi. Zastosowanie dwóch form takich jak siarczan miedzi oraz trihydroksychlorek dimiedzi (TBCC) zwiększa biodostępność miedzi oraz zabezpiecza dłuższy odcinek przewodu pokarmowego. Otoczka tłuszczowa rozpada się dopiero pod wpływem enzymu lipazy w jelicie cienkim, gdzie bytują bakterie patogenne odpowiadające m.in. za występowanie biegunek. Miedź działa bakteriobójczo poprzez wpływ na różne procesy metaboliczne w komórkach bakterii. Wysokie stężenia miedzi w środowisku jelit prowadzą do uszkodzeń błon komórkowych bakterii patogennych oraz zaburzeń w procesie oddychania komórkowego. Miedź może także wpływać na procesy enzymatyczne i zaburzać ich aktywność, co prowadzi do zahamowania wzrostu i rozmnażania bakterii. Kultury bakterii są zwykle niszczone przez miedź poprzez reakcje chemiczne, w których miedź tworzy związki z białkami, enzymami i innymi cząsteczkami obecnymi w komórkach bakteryjnych. Te związki miedziowe są często toksyczne i prowadzą do zniszczenia błony komórkowej oraz innych struktur komórkowych.

W ten sposób miedź hamuje rozwój i namnażanie się bakterii, co jest korzystne w przypadku zwalczania zakażeń bakteryjnych. Warto jednak zaznaczyć, że procesy bakteriobójcze zachodzące pod wpływem miedzi są złożone i zależą od wielu czynników, takich jak rodzaj bakterii, stężenie miedzi, pH, temperatura i inne warunki środowiskowe (Espinosa i Stein 2021).

Polska firma BioDose Sp. z o.o., Sp. k. (Poznań) opracowała produkt o nazwie CoProTex, zawierający dwie formy miedzi: siarczan miedzi i trihydroksychlorek dimiedzi (TBCC) zamknięte w otoczce lipidowej, które łączą w sobie wysoko przyswajalne źródła miedzi oraz dodatkowo zabezpieczają jony miedzi przed utratą działania bakteriostatycznego w przewodzie pokarmowym. W tradycyjnych paszach jako źródło miedzi stosuje się zwykły siarczan miedzi. Jego stosowanie ma swoje wady i zalety. Do zalet stosowania siarczanu miedzi należy z pewnością jego stosunkowo niska cena. Siarczan miedzi szybko dysocjuje w żołądku, jony miedzi łączą się ze składnikami pokarmowymi treści pokarmowej i tracą swoje właściwości bakteriostatyczne. Na rynku dostępne jest wiele produktów, w których stosuje się metodę otoczkowania, przy użyciu różnych substancji chemicznych. CoProTex łączy w sobie dwie otoczki - pierwsza z nich stanowi główną matrycę, w której rozprowadzone są składniki produktu. Odpowiedzialna jest ona za stopniowe uwalnianie cząsteczek w przewodzie pokarmowym. Druga warstwa znajduje się na zewnątrz cząsteczki i zbudowana jest z polisacharydów. Odpowiada ona za dodatkową ochronę składników produktu przed niekorzystnymi warunkami w procesie granulacji oraz procesie transmisji przez żołądek. Obie warstwy otoczki są ze sobą kompatybilne i wzajemnie wzmacniają działanie produktu.

Implementacja produktu CoProTex (BioDose) na fermie produkcyjnej tuczników rasy Landrace x York x Duroc wykazała istotne obniżenie wskaźnika wykorzystania paszy (indeksu FCR, ang. feed conversion rate, Tab. 1) oraz zwiększenie dziennych przyrostów masy ciała (Tab. 2).

Tab. 1. Obniżenie wskaźnika wykorzystania paszy po zastosowaniu CoProTex (BioDose sp. z o. o. sp. k., badania własne).

Feed conversion ratio	Grupa kontrolna	Grupa CoProTex
	2,85	2,67

Tab.. 2. Zwiększenie przyrostów masy ciała prosiąt po zastosowaniu CoProTex (BioDose sp. z o. o. Sp. K. badania własne).

Przyrosty masy ciała (g)	Grupa kontrolna	Grupa CoProTex
	953	1062

3. Podsumowanie

Miedź jest niezbędna dla zachowania zdrowia zwierząt gospodarskich. Jest to mikroelement, który pełni wiele ważnych funkcji metabolicznych i wpływa na różne procesy fizjologiczne. Miedź jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania układu odpornościowego u zwierząt. Pomaga w syntezie przeciwciał i bierze udział w obronie organizmu przed infekcjami. Suplementacja miedzi może zwiększyć odporność zwierząt, co prowadzi do mniejszej podatności na choroby i mniejszej częstotliwości występowania infekcji. Następnie miedź jest niezbędna do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania układu nerwowego. Jest ważna dla syntezy mielin, która chroni włókna nerwowe i zapewnia prawidłową transmisję impulsów nerwowych. Brak wystarczającej ilości miedzi może prowadzić do zaburzeń nerwowych, takich jak drgawki czy problemy ze zdolnością koordynacji ruchowej. Miedź odgrywa również istotną rolę w procesie przemiany materii. Jest niezbędna do metabolizmu żelaza, a także do prawidłowego funkcjonowania enzymów odpowiedzialnych za przemianę białek, tłuszczów i węglowodanów.

Suplementowanie miedzi w dawce pokarmowej może mieć korzystny wpływ na zdrowie i wskaźniki produkcyjne zwierząt. Niedobór miedzi może prowadzić do zaburzeń metabolicznych, co z kolei może wpływać na wzrost i wydajność zwierząt.

Podsumowując, suplementacja miedzi dla zwierząt gospodarskich ma wiele korzyści. Poprawia odporność, wspomaga rozwój i funkcjonowanie układu nerwowego, wpływa na przemianę materii, utrzymanie prawidłowej struktury tkanek, działa przeciwutleniająco oraz wspiera procesy rozrodcze. Ważne jest, aby dobrać odpowiednią dawkę miedzi i monitorować jej poziom we krwi zwierząt, aby uniknąć niedoborów lub nadmiernego stężenia, które mogą być szkodliwe dla zdrowia.

4. Literatura

- Anke M, Gleis M, Angelow L, Groppe B, Illing H (1994) Übers. Tiernährg. 22, 37, 2, 323-352.
- Commission Regulation (EC) No 1334/2003 of 25 July 2003 Amending the conditions for authorisation of a number of additives in feeding stuffs belonging to the group of trace elements. Off. J. Eur. Union, L 187, 11-12.
- Chachułowa, J (1972) Siarczan miedzi w tuczu trzody chlewnej. Postępy nauk rolniczych. 3/72, s. 89-99.
- Dyrektywa Komisji 2001/81/WE z dnia 26 czerwca 2001 r. art. 35 dotycząca pozwoleń na dopuszczenie do obrotu weterynaryjnych produktów leczniczych zawierających „tlenek cynku” do podawania doustnego gatunkom zwierząt służącym do produkcji żywności.
- Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej L 187/11 Rozporządzenie Komisji (We) Nr 1334/2003 z dnia 25 lipca 2003 r. zmieniające warunki zezwolenia na kilka dodatków paszowych, należących do grupy pierwiastków śladowych.
- Espinosa, CD, Stein, HH (2021) Digestibility and metabolism of copper in diets for pigs and influence of dietary copper on growth performance, intestinal health, and overall immune status: a review. J Animal Sci Biotechnol 12, 13. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00533-3>
- Gaetke LM, Chow CK (2003) Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. Toxicology; 189:147–63.
- Gehrke M, (1997) Miedź i mangan w patogenezie chorób układu kostnego zwierząt. Med. Weter. 53 (11), 644–646.
- Goff JP (2015) Minerals, bones, and joints. In: Reece WO, editor. Duke's physiology of domestic animals. Oxford: Wiley; p. 581–3.
- Jamroz D, Wertelecki T (1999) Stosowanie enzymów paszowych w mieszkankach treściwych zawierających podwyższoną ilość jęczmienia i śruty rzepakowej, przeznaczonych dla kurcząt rzeźnych. Pol. Drob. 3, 5–8.
- Kolasa A (2005) Skutki niedoboru niezbędnych składników mineralnych u drobiu. Mag. Weter. (supl.), 39–41.
- Kośla T (1999) Biologiczne i chemiczne zanieczyszczenia produktów rolniczych. Wyd. SGGW, Warszawa.
- Koreleski J (1993) Antyżywniowe działanie substancji podporowych roślin w żywieniu drobiu. Pol. Drob. 11, 4–6.
- Kubiński T (1996) Rola miedzi i molibdenu w żywieniu zwierząt. Zeszyty Naukowe. Polska Akademia Nauk. Komitet Naukowy przy Prezydium PAN Człowiek i Środowisko. 14, s. 210-215.
- Larbier M, Leclercq B (1995) Żywnienie Drobiu. PWN Warszawa.
- Luppi A (2016) How to handle Swine Colibacillosis in the field? What kind of resistance do we have to expect? 24th IPVS Congress and 8th ESPHM, Dublin, Ireland, 50–63.
- Ma YL, Guo T, Xu ZR (2007) Effect of Cu (II)-exchange montmorillonite on diarrhea incidence, intestinal microflora and mucosa morphology of weaning pigs. Chin J Vet Sci; 27:279–83.
- Manto M (2014) Abnormal copper homeostasis: mechanisms and roles in neurodegeneration. Toxics; 2:327–45.
- Makarski B (2002) Wpływ kompleksu chelatowego miedzi z lizyną oraz fitazy na reakcje biologiczne indyków. Rozpr. Nauk. AR Lub. 256.
- Marchetti M, Tossani N, Marchetti S (1995) Degradazione delle vitamine A, E, B1. CeK3 negli interaction zootecnici in funzione del tipo di oligoelementi presenti. Zootecnica e Nutrizione Animale, 21 (2), 67–73.

- Przeniosło-Siwczyńska M, Kwiatek K (2013) Dlaczego zakazano stosowania w żywieniu zwierząt antybiotykowych stymulatorów wzrostu? *Życie Weterynaryjne* 88(2): 104-107
- Raetz CR, Whitfield C (2002) Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem*; 71: 635-700.
- Studziński T, Matras J, Grela ER, (i in.) (2006) Minerals: functions, requirements, excessive intake and toxicity, [w:] Mosenthin R, Zentek J, Żebrowska T: *Biology of Nutrition in Growing Animals*. Elsevier, Edinburgh, 467-509.

9. Widma w podczerwieni i analiza obliczeniowa galanginy i kaempferolu

Infrared spectra and computational analysis of galangin and kaempferol

Sokal Arkadiusz⁽¹⁾, Stoczerz Klaudia⁽²⁾, Kadela-Tomanek Monika⁽³⁾, Kubina Robert⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Chemii Organicznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Farmacji Aptecznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽³⁾ Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽⁴⁾ Katedra i Zakład Patologii, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Opiekun naukowy: dr hab. n. farm. Monika Kadela-Tomanek

Sokal Arkadiusz: asokal@outlook.com

Słowa kluczowe: widma w podczerwieni, galangina, kaempferol

Streszczenie

Galangina i kaempferol to dwa związki zaliczane do rodziny flawonoidów. Doniesienia naukowe z ostatnich lat, potwierdzające ich szeroki zakres aktywności biologicznej, sprawiają, że coraz częściej są one badane jako potencjalni kandydaci na podstawę nowych leków. Celem niniejszych badań była analiza eksperymentalnych i obliczonych widm w podczerwieni flawonoidów. Otrzymane wyniki mogą stanowić podstawę do analizy ich pochodnych, a także jako wzorzec podczas identyfikacji nieznanymi związków. Dodatkowo obliczone zostały orbitale HOMO-LUMO, a także mapy potencjału elektronowego MEP. Informacje pozyskane z tych analiz mogą posłużyć do określenia stabilności, reaktywności oraz rodzaju reakcji w jakich galangina i kaempferol mogą uczestniczyć.

1. Wstęp

Galangina i kaempferol są przedstawicielami flawonoidów – polifeonolowych metabolitów roślin. Galangina, wyizolowana z kłącza *Alpinia officinarum*, wykazuje działanie m.in. przeciwwirusowi EV-A71 oraz działanie przeciwbakteryjne wobec szczepów *S.aureus*. Ponadto ze względu na swoje działanie protekcyjne w chorobach przewlekłych takich jak cukrzyca (Lee i in. 2022; Lalani i Poh 2020; Cushine i in. 2003). Kaempferol naturalnie występuje w wielu roślinach takich jak liście herbaty, jarmuż czy szpinak. Wykazano, że może on działać jako substancja neuroprotekcyjna w chorobie Parkinsona oraz demencji. Ze względu na swoje działanie antyoksydacyjne może on działać także jako substancja hepatoprotekcyjna (Dabeek i Marra 2019; Silva dos Santos i in. 2021; Alkandahri i in. 2023). Z względu na swoje szerokie spectrum działań substancje te często stanowią substancję aktywną w wielu lekach Tradycyjnej Medycyny Chińskiej (Lyu i in. 2022; Liu i in. 2022).

Spektroskopia podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) to nieinwazyjna metoda, która umożliwia analizę składu chemicznego i struktury różnych związków organicznych (Barnes et al., 2023). Molekuły w próbkach poddawanych badaniu mogą absorbować, przenikać lub odbijać promieniowanie podczerwone w zależności od drgań cząsteczek podczas oddziaływania. Zakres od 4000 cm^{-1} do 400 cm^{-1} jest powszechnie stosowany do identyfikacji charakterystycznych pasm drgań grup funkcyjnych w związkach organicznych (Gerald, 2020). Główne zalety tej techniki to dostępność, prostota i szybkość, co przyczynia się do jej powszechnego i efektywnego stosowania. Ponadto, spektroskopia FT-IR umożliwia analizę próbek w fazie gazowej, ciekłej i stałej, co umożliwia identyfikację interakcji międzycząsteczkowych, takich jak wiązania wodorowe. Niemniej jednak, analiza widm podczerwonych jest często złożona i wymaga korzystania z bibliotek

spektralnych lub obliczeń teoretycznych, co czasami ogranicza ich praktyczne zastosowanie (Zhang et al., 2022; Krysa et al., 2022). Mimo to, metoda ta znajduje szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach, takich jak chemia molekularna, mikrobiologia, patologia, ekologia oraz analiza żywności (Koczoń et al., 2023; Passaris et al., 2022; Sala et al., 2022).

Celem naszych badań jest zbadanie widm podczerwonych oraz wyznaczenie HOMO-LUMO i MEP dla galanginy i kaempferolu. Informacje pozyskane w wyniku naszych badań mogą być dalej wykorzystane do syntezy oraz analizy pochodnych tych flawonoidów.

2. Materiał i Metody

Widma w podczerwieni zostały wykonane na aparacie IRAffinity-1 Shimadzu. Widma mierzono w temperaturze pokojowej w zakresie 4000-400 cm^{-1} , a ich rozdzielczość wynosiła 0,5 cm^{-1} . Otrzymane widma eksperymentalne porównano z widmami obliczonymi.

Pierwszym etapem obliczeń było zoptymalizowanie struktury związków metodą B3LYP 6-31G(d,p) zaimplementowaną w programie Gaussian 9.0 (Frisch i in. 2016). Zoptymalizowane struktury wykorzystano do wyznaczenia orbitali HOMO i LUMO oraz map potencjału elektrostatycznego (MEP). Do wizualizacji wyników wykorzystano program Gaussian View 5.0 (Dennington i in. 2009).

3. Wyniki i dyskusja

3.1 Widma w podczerwieni (IR)

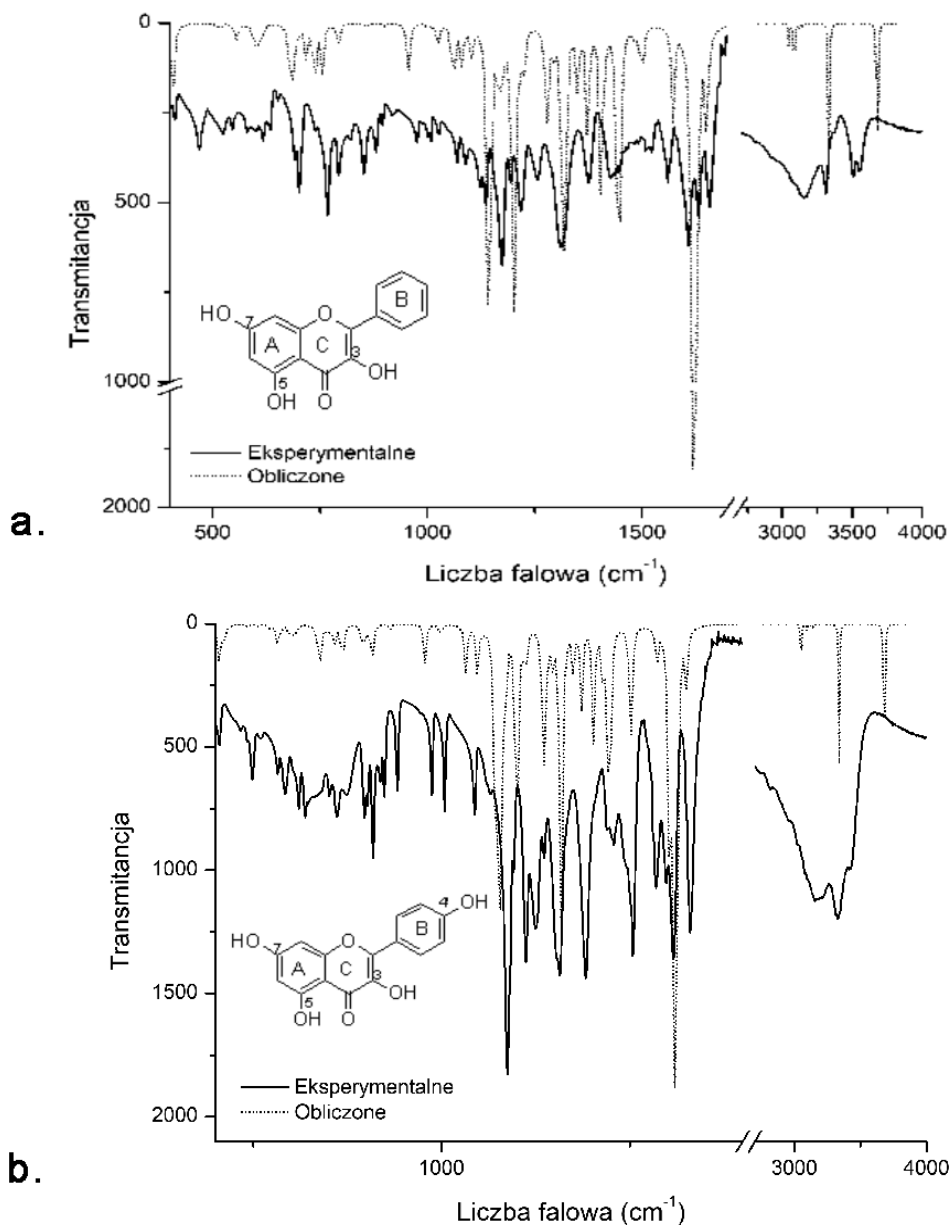
Na Rys. 1 przedstawiono widma eksperymentalne i obliczane dla galanginy oraz kaempferolu. Porównując widma eksperymentalne i obliczone stwierdzono dobre dopasowanie.

Na podstawie widm obliczonych dopasowano pasma w widmach eksperymentalnych do rodzaju drgań (Tab. 1).

Porównując widma eksperymentalne dla badanych związków największe różnice stwierdzono w zakresie 3541-3157 cm^{-1} oraz 3433-3136 cm^{-1} , w którym występują drgania rozciągające grup hydroksylowych. W widmie IR galanginy grupy hydroksylowe tworzą oddzielne pasma, natomiast w eksperymentalnym widmie IR otrzymanym dla kameferolu grupy te tworzą jedno szerokie pasmo. Pasma drgań rozciągających grupy C=O odpowiednio dla galanginy i kaempferolu występuje przy wartości 1657 cm^{-1} oraz 1663 cm^{-1} . Natomiast pasmo drgań rozciągających grupy C-O występuje przy wartości 1174 cm^{-1} dla obydwu związków. W zakresie 1633-1608 cm^{-1} oraz 1614-1595 cm^{-1} odpowiednio dla galanginy i kaempferolu występują drgania rozciągające grup C-H. Pasma drgań rozciągających C-C występują przy wartościach 1560 cm^{-1} oraz 1448-1427 cm^{-1} .

Tab. 1. Analiza wybranych pasm w eksperymentalnych i obliczonych widmach IR.

Rodzaj drgań	Galangina		Kaempferol	
	eksperymentalne	obliczone	eksperymentalne	obliczone
v O-H C7	3541-3514	3686	3433-3136	3686
v O-H C4'	-	-		3588
v O-H C5	3315	3325		3339
v O-H C3	3157	3085		3053
v C=O	1657	1650	1663	1650
v C-H pierścień A	1633-1608	1619	1614-1595	1619
v C-C pierścień A	1560	1573	1571	1573
γ O-H C5	1524	1503	1510	1503
v C-C	1448-1427	1450-1403	1456	1450-1403
γ C-H pierścień B	1375	1372	1384	1372
γ O-H C5	1309	1318	1311	1319
v C-O	1174	1204	1174	1156

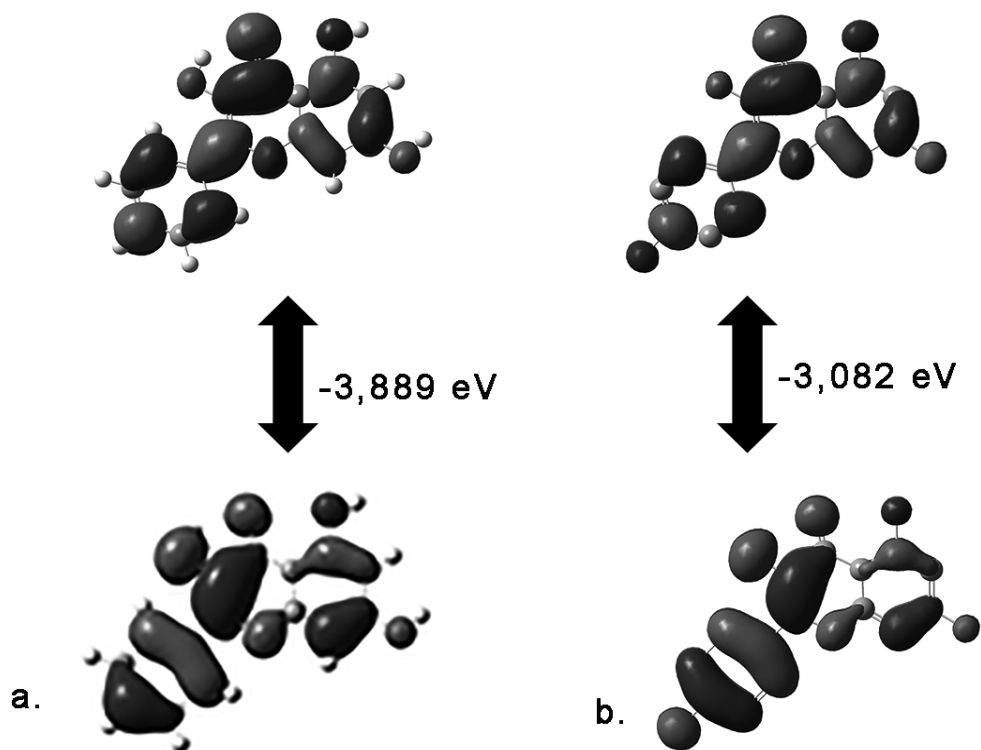


Rys. 1. Eksperymentalne i obliczone widma IR dla a. galanginy, b. kaempferolu.

3.2 Orbitale molekularne

Teoria granicznych orbitali molekularnych opisująca najwyższy zajęty (HOMO) i najniższy niezajęty (LUMO) orbitali jest przydatna do określania rozkładu energii i zachowania energetycznego cząsteczki. Przerwa energetyczna ($\Delta E = E_{\text{HOMO}} - E_{\text{LUMO}}$) umożliwia wyznaczenie stabilności kinetycznej i reaktywności związku (Choudhary i in. 2019).

Dla obydwu związków orbitale HOMO i LUMO są rozmieszczone wzdłuż całej cząsteczki co umożliwia swobodne przejście elektronów z orbitalu HOMO na orbital LUMO (Rys. 2). Różnica energii pomiędzy orbitalami HOMO i LUMO świadczy o wysokiej reaktywności obydwu związków (Ali i in. 2021).



Rys. 2. Orbitale HOMO-LUMO wyznaczone dla a. galanginy, b. kaempferolu.

Energia orbitali HOMO i LUMO pozwala na wyznaczenie globalnych deskryptorów reaktywności takich jak: potencjał jonizacji, powinowactwo elektronowe (A), twardość (η), potencjał chemiczny (μ), elektroujemność (χ) oraz indeks elektrofilowości (ω) (Tab. 2) (Govindarajan i in. 2012).

Tab. 2. Wyznaczone globalne deskryptory reaktywności dla badanych związków.

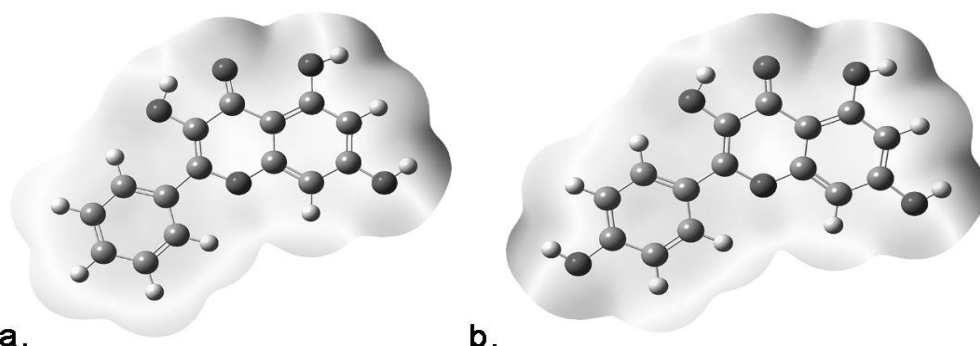
	E_{HOMO}	E_{LUMO}	ΔE	I	A	η	μ	χ	ω
GALANGINA	-5,526	-1,627	-3,899	5,526	1,627	1,949	-3,577	3,577	3,281
KAEMPFEROL	-5,296	-1,493	-3,802	5,296	1,493	1,901	-3,395	3,395	3,030

Obliczone wartości deskryptorów reaktywności wskazują, że badane flawonoidy będą łatwo przyjmować elektrony. Niskie wartości indeksu elektrofilowości (ω) świadczą, że związki będą podatne na atak czynników nukleofilowych (Alghamdi, Abbas i Hussein 2023).

3.3 Mapy potencjału elektrostatycznego (MEP)

Mapy potencjału elektrostatycznego (MEP) służą do wizualizacji rozkładu ładunku w cząsteczce związku (Chandrasekaran i Thilak Kumar 2015). Mapy MEP dla badanych flawonoidów przedstawiono na Rys. 3.

Pierścień fenylowy w obydwu związkach jest neutralny elektronowo. Obszar o zwiększonej gęstości elektronowej znajduje się w pobliżu atomu tlenu grupy karbonylowej przy atomie węgla w pozycji C1. Dodatkowo dla kaempferolu występuje obszar zwiększonej gęstości elektronowej przy atomie tlenu grupy hydroksylowej w pozycji C4'. Natomiast obszary zmniejszonej gęstości elektronowej obserwujemy się przy atomach wodoru grup hydroksylowych. Taki rozkład ładunku sugeruje, że flawonoidy mogą oddziaływać zarówno z czynnikami elektrofilowymi jak i nukleofilowymi.



a.

b.

Rys. 3. Mapy potencjału elektrostatycznego dla a. galanginy, b. kaempferolu.

4. Wnioski

Podsumowując stwierdzono, że widma w podczerwieni są przydatnym narzędziem do identyfikacji struktury związków. Porównanie widma otrzymane dla galanginy i kaempferolu stwierdzono, że największe różnice obserwuje się w zakresie $3500\text{--}3150\text{ cm}^{-1}$, w którym występują pasma grup hydroksylowych. Za pomocą programu Gaussian wyznaczono orbitale graniczne HOMO i LUMO oraz mapy potencjału elektrostatycznego. Otrzymane wyniki wskazują, że związki mogą oddziaływać zarówno z cząsteczkami o charakterze nukleofila jak i elektrofila.

5. Literatura

- Alghamdi SK, Abbas F, Hussein RK (2023) Spectroscopic characterization (IR, UV-Vis), and HOMO-LUMO, MEP, NLO, NBO Analysis and the Antifungal Activity for 4-Bromo-N-(2-nitrophenyl) benzamide; Using DFT Modeling and In silico Molecular Docking. *Journal of Molecular Structure*, Volume 1271,134001,
- Ali B, Khalid M, Asim S i in. (2021) Key Electronic, Linear and Nonlinear Optical Properties of Designed Disubstituted Quinoline with Carbazole Compounds. *Molecules*. 7;26(9):2760.
- Alkandahri MY, Pamungkas BT, Oktoba Z i in. (2023) Hepatoprotective Effect of Kaempferol: A Review of the Dietary Sources, Bioavailability, Mechanisms of Action, and Safety. *Adv Pharmacol Pharm Sci*. 1387665
- Chandrasekaran K, Thilak Kumar R. (2015) Structural, spectral, thermodynamical, NLO, HOMO, LUMO and NBO analysis of fluconazole. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 150:974-91
- Barnes M, Sulé-Suso J, Millett J i in. (2023) Fourier transform infrared spectroscopy as a non-destructive method for analysing herbarium specimens. *Biol. Lett*. 19, 20220546.
- Choudhary V, Bhatt A, Dash D i in (2019) DFT calculations on molecular structures, HOMO-LUMO study, reactivity descriptors and spectral analyses of newly synthesized diorganotin(IV) 2-chloridophenylacetohydroxamate complexes. *J Comput Chem*. 15;40(27):2354-2363
- Cui L, Butler H J, Martin-Hirsch P L i in. (2016) Aluminium Foil as a Potential Substrate for ATR-FTIR, Transflection FTIR or Raman Spectrochemical Analysis of Biological Specimens. *Anal. Methods*, 8 (3), 481–487.
- Cushine TP, Hamilton VE, Lamb AJ (2003) Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol Res*.158(4): 281-9
- Dabeek WM, Marra MV (2019) Dietary Quercetin and Kaempferol: Bioavailability and Potential Cardiovascular-Related Bioactivity in Humans. *Nutrients* 25;11(10): 2288
- Lalani S, Poh CL (2020) Flavonoids as Antiviral Agents for Enterovirus A71 (EV-A71). *Viruses* 12(2): 184
- Dennington R, Keith T, Millam J. (2009) Gauss View, Version 5. Semichem Inc., Shawnee Mission.

- Foresman JB, Frisch A. (1996) Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods. 2nd Edition, Gaussian Inc., Pittsburgh.
- Frisch MJ, Trucks GW i in (2016) Gaussian 16 Revision A.03.
- Geraldes, C.F.G.C. (2020) Introduction to infrared and raman-based biomedical molecular imaging and comparison with other modalities. *Molecules*, 25, 5547.
- Govindarajan M, Karabacak M, Periandy S i in. (2012) Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, UV and NMR) investigation and NLO, HOMO-LUMO, NBO analysis of organic 2,4,5-trichloroaniline. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. Nov*;97:231-45
- Krysa M, Szymańska-Chargot M, Zdunek A (2022) FT-IR and FT-Raman fingerprints of flavonoids - a review. *Food Chem.* 393, 133430.
- Lee JJ, Ng S.C., Hsu JY i in. (2022) Galangin Reverses H₂O₂-Induced Dermal Fibroblast Senescence via SIRT1-PGC-1 α /Nrf2 Signaling. *International Journal of Molecular Sciences* 26;23(3): 1387
- Liu C, Fan F, Zhong L (2022) Elucidating the material basis and potential mechanisms of Ershiwuwei Lvxue Pill acting on rheumatoid arthritis by UPLC-Q-TOF/MS and network pharmacology. *PLoS One.* 7;17(2):e0262469
- Lyu M, Wang Y, Chen Q i in. (2022) Molecular Mechanism Underlying Effects of Wumeiwan on Steroid-Dependent Asthma: A Network Pharmacology, Molecular Docking, and Experimental Verification Study. *Drug Des Devel Ther.* 2022 Mar 30;16:909-929
- Milosevic M (2004) Internal Reflection and ATR Spectroscopy. *Appl. Spectrosc. Rev.* 39 (3), 365–384.
- Sala A, Cameron J M, Jenkins C A i in. (2022) Liquid Biopsy for Pancreatic Cancer Detection Using Infrared Spectroscopy. *Cancers*, 14 (13), 3048
- Saliva Dos Santos J, Gonçalves Cirino JP, de Oliveira Carvalho P i in. (2021) The Pharmacological Action of Kaempferol in Central Nervous System Diseases: A Review. *Front Pharmacol.*13;11:565700
- Thorsteinsson T, Loftsson T, Masson M (2003) Soft antibacterial agents. *Curr Med Chem.* Jul;10(13):1129-36
- Wolinski K, Hinton JF, and Pulay P (1990) Efficient implementation of the gauge-independent atomic orbital method for NMR chemical shift calculations *Journal of the American Chemical Society* 112(23): 8251-8260
- Zhang, J, Zhou Q, Zhang D i in (2022) The agronomic traits, alkaloids analysis, FT-IR and 2DCOS-IR spectroscopy identification of the low-nicotine-content nontransgenic tobacco edited by CRISPR-Cas9. *Molecules* 2022, 27, 3817.

10. Wykorzystanie technik spektroskopii magnetycznego rezonansu jądowego do analizy struktury flawonoli

The use of nuclear magnetic resonance spectroscopy techniques to analyze the structure of flavonols

Arkadiusz Sokal⁽¹⁾, Klaudia Stoczer⁽²⁾, Monika Kadela-Tomanek⁽³⁾, Robert Kubina⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Chemii Organicznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Farmacji Apteicznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽³⁾ Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽⁴⁾ Katedra i Zakład Patologii, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Opiekun naukowy: dr hab. n. farm. Monika Kadela-Tomanek

Arkadiusz Sokal: asokal@outlook.com

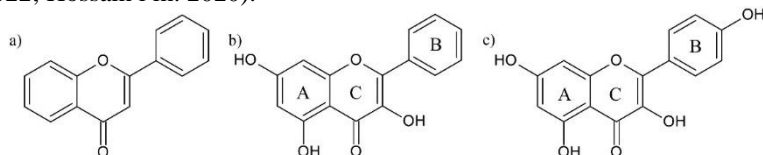
Słowa kluczowe: analiza struktury, galangina, kaempferol

Streszczenie

Flawonole to grupa związków o udowodnionym szerokim zakresie aktywności biologicznych. Opis ich struktury chemicznej ma kluczowe znaczenie dla dalszych badań ich właściwości oraz syntezy, a następnie analizy otrzymanych flawonolowych pochodnych. Celem przeprowadzonych badań był opis struktury chemicznej galanginy i kaempferolu za pomocą magnetycznego rezonansu jądowego (NMR). W badaniach wykorzystano widma ¹H NMR, ¹³C NMR, HSQC i HMBC. Przeprowadzona analiza umożliwiła przypisanie każdego sygnału w widmach ¹H NMR i ¹³C NMR do odpowiedniego atomu w cząsteczce flawonoli. W ramach przeprowadzonych badań stwierdzono, że wprowadzenie dodatkowej grupy hydroksylowej nieznacznie wpływa na przesunięcia chemiczne atomów węgla i wodoru w cząsteczce flawonoli. Przeprowadzone badania mogą zostać wykorzystane do analizy struktury innych flawonoli oraz ich półsyntetycznych pochodnych.

1. Wstęp

Flawonole to grupa wtórnych metabolitów występujących w wielu owocach, warzywach, ziarnie, herbacie oraz winie. Związki wykazują szerokie spektrum działania biologicznego, które obejmuje m.in. aktywność przeciwutleniającą, przeciwzapalną oraz przeciwnowotworową (Panche i in. 2016; Dias i in. 2021; Ramesh i in. 2021). Flawonole strukturalnie należą do polifenoli o szkielecie 2-fenylochromanu. Ponadto w ich strukturze chemicznej występuje jedna lub kilka grup hydroksylowych (Rys. 1a). Jednymi z głównych przedstawicieli flawonoli są galangina (Rys. 1b) oraz kaempferol (Rys. 1c). Pod względem chemicznym związki różnią się ilością grup hydroksylowych. W strukturze kaempferolu występuje dodatkowa grupa hydroksylowa przy atomie węgla C4' (Al-Khayri i in. 2022; Hossain i in. 2020).



Rys. 1. Struktura chemiczna: a) 2-fenylochromanu, b) galanginy, c) kaempferolu.

Celem pracy było analiza struktury galanginy i kaempferolu z wykorzystaniem spektroskopii magnetycznego rezonansu jądowego (NMR). W pracy wykorzystano jedno- (¹H NMR oraz ¹³C NMR) oraz dwuwymiarowe (HSQC i HMBC) widma spektroskopowe.

Spektroskopia NMR wykorzystuje właściwości absorpcyjne promieniowania elektromagnetycznego w zakresie częstotliwości radiowych (RF). Pozwala to na identyfikację badanych związków na podstawie ich pasm absorpcyjnych, których unikatowość wynika z różnic w właściwościach jąder atomów obecnych w cząsteczkach oraz otoczenia elektrochemicznego, w jakim się znajdują. Widma NMR, otrzymywane są najczęściej z fazy ciekłej, dzięki czemu pojedyncze molekuly mogą swobodnie oddziaływać z środowiskiem oraz polem magnetycznym, co pozwala na zbadanie nie tylko oddziaływań w obrębie jednej cząsteczki, ale także oddziaływań międzycząsteczkowych, takich jak wiązania wodorowe. W spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego wykorzystuje się określone izotopy pierwiastków, ponieważ nie wszystkie izotopy ulegają wzbudzeniu pod wpływem promieniowania elektromagnetycznego. W badaniach strukturalnych z wykorzystaniem NMR wykorzystuje się izotopy ^1H i ^{13}C . Izotop ^2H (D) nie daje sygnału w widmach ^1H NMR dlatego podczas badań stosuje się rozpuszczalniki deuterowane (np. D_2O , CDCl_3 , CD_3OD) dzięki czemu znacznie ograniczamy zakłócenia wynikające z obecności dodatkowych cząsteczek rozpuszczalnika (Ernst i in. 1987; Silverstein i in. 2008).

Widma ^1H NMR oraz ^{13}C NMR są widmami jednowymiarowymi, które obrazują pasma absorpcyjne, odpowiednio atomów wodoru i węgla, występujące w badanych związkach. Widma dostarczają informacji na temat ilości atomów wodoru lub węgla w cząsteczce, a także ich otoczenia chemicznego. Pośrednio widma NMR umożliwiają scharakteryzowanie grup funkcyjnych występujących w badanym związku chemicznym. Widma jednowymiarowe nie dają odpowiedzi na temat połączenia poszczególnych grup atomów wodoru i węgla ze sobą. Z tego powodu aby w pełni scharakteryzować strukturę niezbędne jest wykonanie widm korelacyjnych takich jak HSQC i HMBC (Ernst i in. 1987; Silverstein i in. 2008; Zieliński i Rajca 2000).

Widmo HSQC (Heteronuclear single-quantum correlation) jest dwuwymiarowym widmem, które umożliwia wyznaczenie korelacji pomiędzy sygnałami widm ^1H NMR i ^{13}C NMR. Jeśli pomiędzy dwoma sygnałami wystąpi w tym widmie korelacja oznacza to, że atomy H i C odpowiadające sygnałom są bezpośrednio (jednym wiązaniem kowalencyjnym) związane ze sobą.

Widmo HMBC (Heteronuclear multiple-bond correlation) także ukazuje korelację pomiędzy sygnałami atomów H i C, jednakże wykrywa ono korelacje, jeżeli między atomami występuje 2 do 4 wiązań kowalencyjnych (Ernst i in. 1987; Silverstein i in. 2008; Zieliński i Rajca 2000).

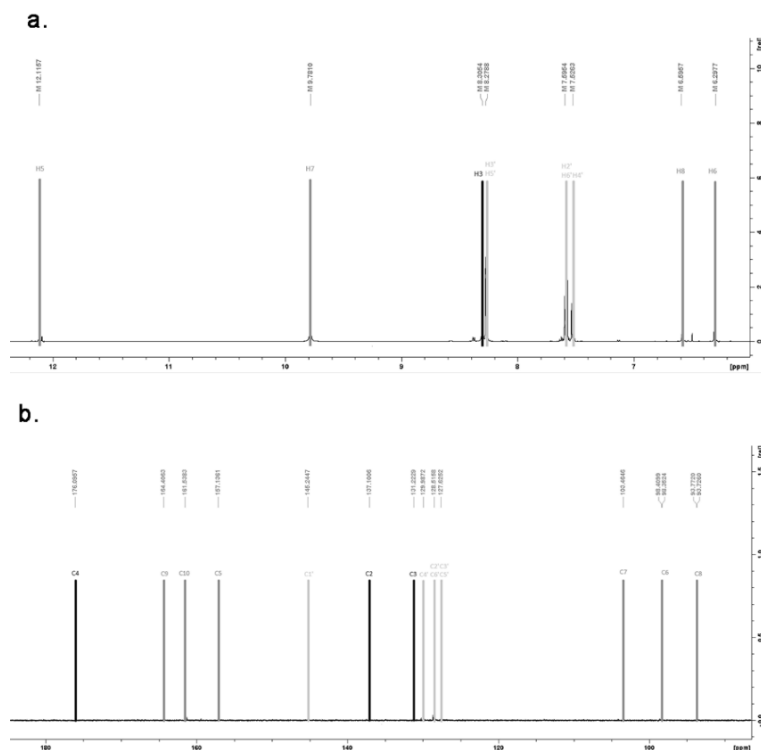
Analiza widm umożliwia identyfikację znanych substancji, a także analizę struktury nowo odkrytych związków chemicznych. Sprawia to, że spektroskopia NMR jest powszechnie wykorzystana w wielu dziedzinach nauki, takich jak chemia organiczna, biochemia, chemia leków czy technologia żywności (Li i Kang 2017; Pacholczyk-Sienicka i in 2021; Theillet i Luchinat 2022).

2. Materiał i Metody

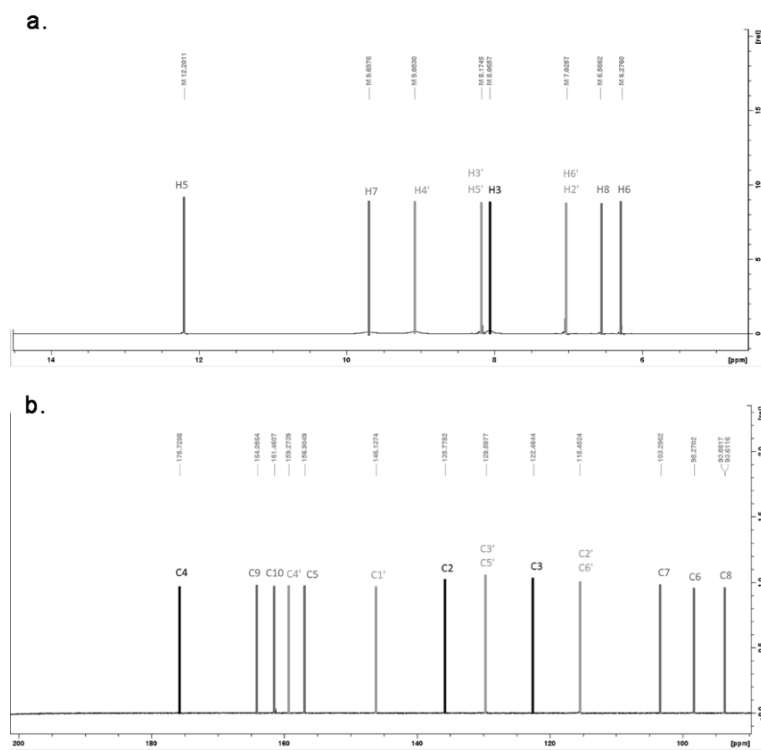
W badaniach wykorzystano komercyjnie dostępne galanginę oraz kaempferol. Związki zostały zakupione w firmie Merck, a ich czystość wynosiła 98%. Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR wykonano na spektrometrze Bruker AVANCE III o częstotliwości 600 MHz lub 150 MHz, przesunięcia chemiczne (δ) podano w ppm. Ten sam spektrometr wykorzystano do wykonania widm korelacyjnych HSQC oraz HMBC. Próbkę do badań przygotowano poprzez rozpuszczenie 10mg badanej substancji w acetonie deuterowanym (aceton- d_6).

3. Wyniki i dyskusja

Pierwszym etapem badań było wykonanie widm ^1H NMR i ^{13}C NMR galanginy i kaempferolu (Rys. 2-3). W widmach ^1H NMR zidentyfikowano wszystkie sygnały atomów wodoru. Porównując widma ^1H NMR dla obydwu związków stwierdzono, że największe różnice występują w obrębie pierścienia B. Różnice te są spowodowane występowaniem w strukturze kaempferolu dodatkowej grupy hydroksylowej przy atomie węgla $\text{C}4'$ (Rys. 2a oraz Rys 3a). Analiza widma ^{13}C NMR umożliwiła jednoznaczne zidentyfikowanie sygnału atomu węgla grupy karbonylowej ($\text{C}4'$) przy wartości 176 ppm oraz 157,7 ppm odpowiednio dla kaempferolu i galanginy (Rys. 2b oraz Rys 3b).

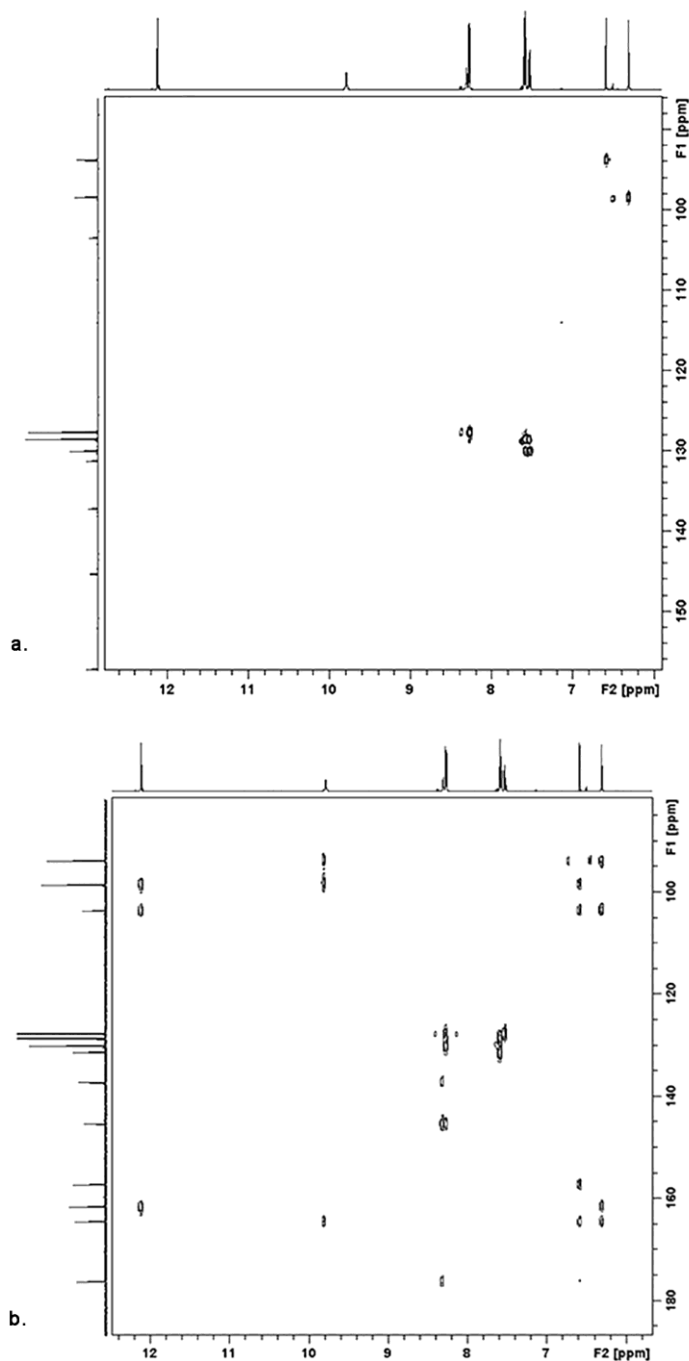


Rys. 2. Widma NMR otrzymane dla galanginy: a. ^1H NMR, b. ^{13}C NMR.

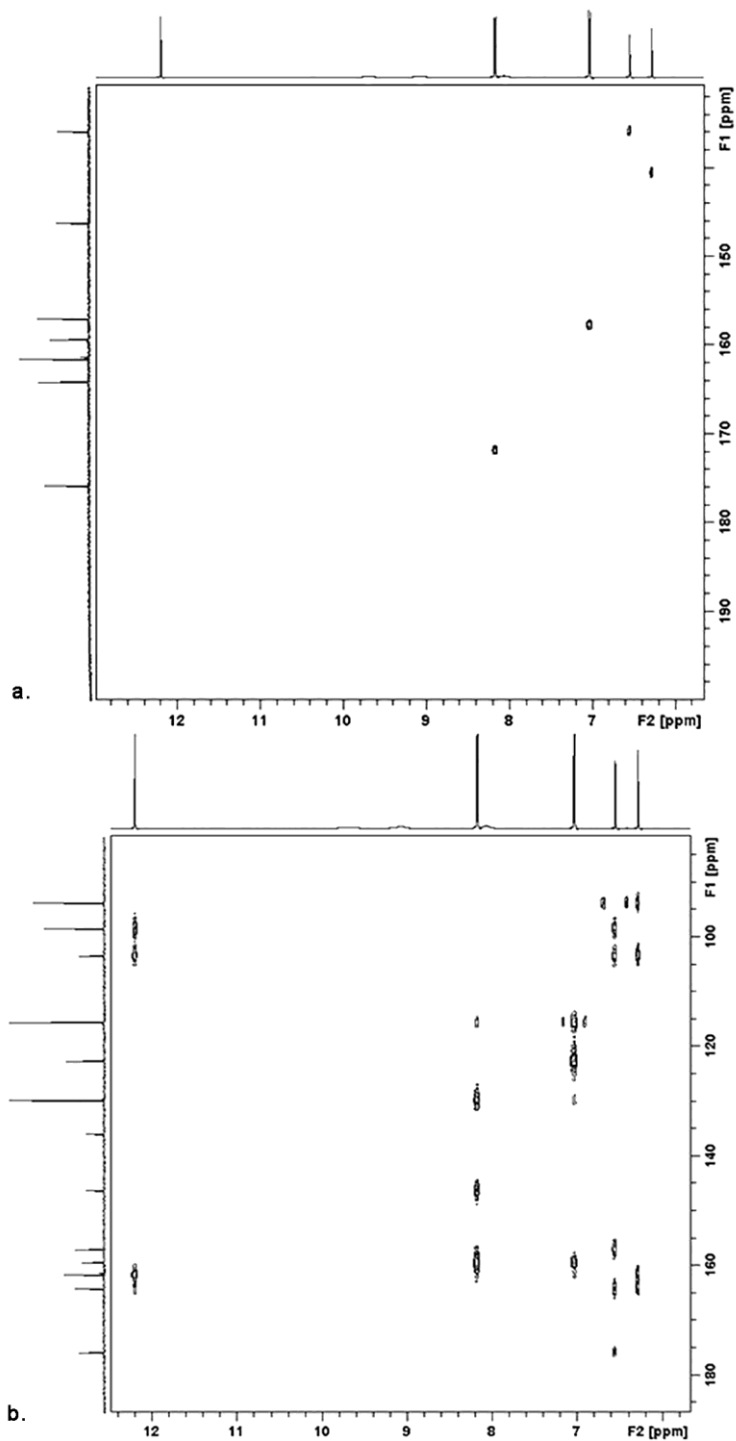


Rys. 3. Widma NMR otrzymane dla kaempferolu: a. ^1H NMR, b. ^{13}C NMR.

Widma korelacyjne HSQC i HMBC zostały wykorzystane do przypisania sygnałów atomów węgla i wodoru otrzymanych na widmach ^{13}C NMR i ^1H NMR do odpowiednich atomów w cząsteczce związków. Widmo HSQC umożliwia określenia pary atomów wodor-węgiel, które są ze sobą połączone. Porównanie widm HSQC otrzymanych dla galanginy i kaempferolu umożliwiło przypisanie sygnału atomu węgla C4', ponieważ w cząsteczce kaempferolu, w odróżnieniu od cząsteczki galanginy, atom ten nie jest bezpośrednio połączony z atomem wodoru. W widmach HMBC obserwuje się oddziaływania pomiędzy sąsiadującymi atomami węgla i wodoru (Rys. 4-5).



Rys. 4. Widma korelacyjne otrzymane dla galanginy: a. HSQC; b. HMBC.

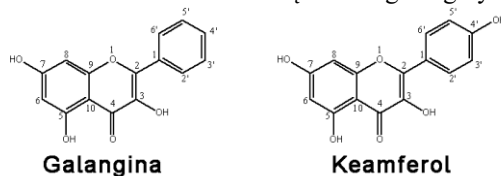


Rys. 5. Widma korelacyjne otrzymane dla kaempferolu: a. HSQC; b. HMBC.

Tab. 1 przedstawia zestawienie wartości przesunięć chemicznych sygnałów pochodzących od atomów wodoru i węgla odczytanych odpowiednio z ^1H NMR i ^{13}C NMR dla cząsteczek galanginy i kaempferolu. Widma HSQC pozwoliły na przypisanie sygnałów odpowiednich atomów węgla do

atomów wodoru. Natomiast korelacje odczytane z widm HMBC pozwoliły na przypisanie wartości sygnałów, po porównaniu ze strukturą chemiczną tych związków.

Tab. 1. Zestawienie wartości sygnałów ^1H NMR i ^{13}C NMR z atomami wodoru (H) i węgla (C) oraz korelacji pomiędzy atomami w widmie HMBC dla cząsteczek galanginy i kaempferolu.



Atom H	Atom C	Galangina			Kaempferol		
		^1H NMR δ [ppm]	^{13}C NMR δ [ppm]	HMBC	^1H NMR δ [ppm]	^{13}C NMR δ [ppm]	HMBC
-	C2	-	137	C2-H3	-	135,7	-
H3	C3	8,3	131	H3-C2 H3-C1' H3-C4 C3-H2' C3-H6'	8,07	122,5	C3-H2' C3-H6'
-	C4	-	176	C4-H8 C4-H8 C4-H3	-	175,7	C4-H8 C4-H6 C4-H5
H5	C5	12	157	H5-C6 H5-C7 H5-C10 C5-H8	12,2	156,7	H5-C6 H5-C7 H5-C10 H5-C4 C5-H8
H6	C6	6,3	98	H6-C8 H6-C7 H6-C10 H6-C9 H6-C4 C6-H7 C6-H8 C6-H5	6,28	98,3	H6-C8 H6-C7 H6-C10 H6-C9 H6-C4 C6-H8 C6-H5
H7	C7	9,8	103	H7-C8 H7-C6 H7-C9 C7-H8 C7-H5 C7-H6	9,7	103,5	C7-H8 C7-H5 C7-H6
H8	C8	6,58	93	H8-C6 H8-C7 H8-C5 H8-C9 H8-C4 C8-H7 C8-H6	6,56	93,6	H8-C6 H8-C7 H8-C5 H8-C9 H8-C4 C8-H6
-	C9	-	164,6	C9-H7 C9-H8 C9-H6	-	164	C9-H8 C9-H8

Przegląd badań – Część II

-	C10	-	161,7	C10-H5 C10-H6	-	161,5	C10-H8 C10-H5
-	C1'	-	145	C1'-H3 C1'-H2' C1'-H6' C1'-H3' C1'-H5'	-	146,1	C1'-H3' C1'-H5' C1'-H2' C1'-H6'
H2'	C2'	7,58	128,5	H2'-C6' H2'-C3 H2'-C1' C2'-H4' C2'-H6'	7	115,5	H2'-C6' H2'-C3' H2'-C4' H2'-C1' H2'-C3 C2'-H3' C2'-H6'
H3'	C3'	8,27	127,5	H3'-C5' H3'-C4' H3'-C1' C3'-H5'	8,16	129,6	H3'-C2' H3'-C5' H3'-C1' H3'-C4' C3'-H2' C3'-H5'
H4'	C4'	7,52	130	H4'-C2' H4'-C6' C4'-H3' C4'-H5'	9,1	159,2	C4'-H3' C4'-H5' C4'-H2' C4'-H6'
H5'	C5'	8,27	127,5	H5'-C3' H5'-C4' H5'-C1' C5'-H3'	8,16	129,6	H5'-C6' H5'-C3' H5'-C1' H5'-C4' C5'-H3' C5'-H6'
H6'	C6'	7,58	128,5	H6'-C2' H6'-C3 H6'-C1' C6'-H2' C6'-H4'	7	115,5	H6'-C2' H6'-C5' H6'-C4' H6'-C1' H6'-C3 C6'-H2' C6'-H5'

W widmie HMBC galanginy atom węgla C4 najsilniej koreluje z sygnałem przy wartości 8,3 ppm, z tego powodu został on przypisany do H3. Ponadto sygnał ten koreluje z sygnałem przy wartości 137 ppm, który został przypisany do atomu węgla C2 oraz z sygnałem przy wartości 145 ppm, który został przypisany do atomu węgla C1'. Na podstawie korelacji sygnału pochodzącego od atomu węgla C1' w widmie HMBC wyznaczone zostały sygnały dla atomów wodoru w pierścieniu B, które następnie z pomocą widm HSQC pozwoliły na przypisanie sygnałów do atomów węgla pierścienia B. Ze względu na występowania osi symetrii w pierścieniu B wartości przesunięć chemicznych sygnałów pochodzących od atomów wodoru i węgla w pozycjach 2' i 6' będą takie same. Taka sama zależność występuje w przypadku atomów wodoru i węgla w pozycji 3' i 5'. Sygnały atomów wodoru H2' oraz H6' korelują w widmie HMBC z sygnałem przy wartości 131 ppm. Ze względu na oddziaływania przestrzenne pomiędzy pierścieniem B oraz C stwierdzono, że atom wodoru w pozycji H2' może oddziaływać tylko z atomem węgla w pozycji C3. Sygnał atomu węgla C9 został przypisany na podstawie korelacji z sygnałami atomów wodoru H6 i H8. Ponadto w widmie HMBC występuje korelacja pomiędzy sygnałem atomu węgla w pozycji C9 a sygnałem przy wartości 9,8 ppm. Jedynym atomem wodoru, który może korelować z tym atomem węgla jest atom wodoru

w pozycji H7. W widmie HSQC sygnał atomu węgla przy wartości 161,7 ppm nie koreluje z żadnym atomem wodoru, co umożliwiło przypisanie go do atomu węgla w pozycji C10. W widmie HMBC występuje korelacja pomiędzy atomem węgla C10 a sygnałem przy wartości 6,3 ppm. Na podstawie struktury związku stwierdzono, że jedynym atomem wodoru, który może korelować z tym atomem węgla jest atom w pozycji H6. Przeprowadzona analiza umożliwiła przypisanie sygnału przy wartości 6,58 ppm do atomu wodoru H8. Po zidentyfikowaniu sygnałów atomów wodoru w pozycjach 6 i 8, na podstawie korelacji w widmie HSQC, przypisano sygnały przy wartościach 98 ppm oraz 93 ppm odpowiednio do atomów węgla w pozycjach C6 i C8. W widmie HMBC nie ma korelacji pomiędzy sygnałem atomu wodoru H8, ale występuje korelacja pomiędzy sygnałem atomu wodoru H6 a sygnałem przy wartości 157 ppm. Na tej podstawie stwierdzono, że sygnał ten należy do atomu węgla w pozycji C5. Ostatni nieprzypisany sygnał przy wartości 12 ppm atomu wodoru musi odpowiadać przesunięciu chemicznemu atomu wodoru w pozycji H5. Przeprowadzona analiza umożliwiła przypisanie sygnału przy wartości 103 ppm do atomu węgla w pozycji C7.

W analizie widm HMBC otrzymanego dla kaempferolu wykorzystano informację o przesunięciu chemicznym atomu węgla w pozycji C4' oraz informacje uzyskane na podstawie analizy widm NMR galanginy. Wszystkie korelacje opisano w Tab. 1. Porównując widma otrzymane dla obydwu związków stwierdzono, że w widmie kaempferolu sygnał przy wartości 8,16 ppm będzie odpowiadał atomowi wodoru H3. W widmie HMBC kaempferolu sygnał atomu wodoru H3 koreluje z sygnałem przy wartości 145 ppm, co sugeruje, że przy tej wartości znajduje się atom węgla w pozycji C1'. Największe różnice pomiędzy obydwoma widmami zaobserwowano dla sygnału pochodzącego od atomu wodoru w pozycji C4'. Sygnał atomu węgla w pozycji C4' został zidentyfikowany na podstawie korelacji pomiędzy sygnałem atomu węgla przy wartości 159,2 ppm, który koreluje z sygnałami pochodzącymi od atomów wodoru w pozycjach H2', H3', H5' oraz H6'. Natomiast sygnał przy wartości 9,1 ppm nie koreluje z żadnym atomem węgla w widmach HSQC ani HMBC. Zatem musi on pochodzić od atomu wodoru grupy hydroksylowej przy atomie węgla C4'.

4. Wnioski

Przeprowadzone badania umożliwiły opisanie struktury galanginy oraz kaempferolu za pomocą widm magnetycznego rezonansu jądrowego, takich jak ^1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC oraz HMBC. Analiza widm korelacyjnych pozwala w sposób jednoznaczny na przypisanie sygnałów atomów węgla i wodoru do odpowiedniego atomu w strukturze związku. Ponadto przeprowadzona analiza potwierdziła, że poszczególne ugrupowania chemiczne i strukturalne (np. szkielet flawonu lub ugrupowanie karboksylowe) odznaczają się stałym zakresem występowania sygnału w widmach NMR. Umożliwia to wykorzystanie niniejszej pracy jako wzorca do analizy organicznych pochodnych galanginy i kaempferolu, a także innych flawonów.

5. Literatura:

- Al-Khayri JM, Sahana GR, Nagella P i in (2022) Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules*. 2;27(9):2901
- Dias, MC, Pinto DCGA, Silva AMS (2021) Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 26 (17): 5377.
- Ernst RR., Bodenhausen G., Wokaun A. (1987) Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions. Clarendon Press; Oxford, UK.: Volume 42, Issue 7
- Hossain U, Das AK, Ghosh S i in (2020) An Overview on the Role of Bioactive α -Glucosidase Inhibitors in Ameliorating Diabetic Complications. *Food Chem. Toxicol.* 145, 111738.
- Li Y, Kang C. (2017) Solution NMR Spectroscopy in Target-Based Drug Discovery. *Molecules*. Aug 23;22(9):1399.
- Pacholczyk-Sienicka B, Ciepielowski G, Albrecht Ł. (2021) The Application of NMR Spectroscopy and Chemometrics in Authentication of Spices. *Molecules*. Jan 13;26(2):382.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR (2016) Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci.* 29;5:e47
- Ramesh P, Jagadeesan R, Sekaran S i in. (2021) S. Flavonoids: Classification, Function, and Molecular Mechanisms Involved in Bone Remodelling. *Front. Endocrinol.* 12, 779638.

Przegląd badań – Część II

- Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle D.J. (2008) Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008.
- Theillet FX, Luchinat E, (2022) In-cell NMR: Why and how? Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 132–133:1-112.
- Zieliński W, Rajca A (2000) Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.

11. Wybrane certyfikowane systemy utrzymania drobiu w Polsce i Europie

Certified poultry housing systems in Poland and Europe

Paulina Wac⁽¹⁾, Zuzanna Bąk⁽¹⁾, Maria Sysik⁽¹⁾, Dawid Ziobro⁽²⁾, Justyna Batkowska⁽²⁾,
Kamil Drabik⁽²⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe Biologii, Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾ Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekunowie SKN: dr hab. Justyna Batkowska prof. UP, dr. Kamil Drabik

Dawid Ziobro: dawid.ziobro@onet.pl

Słowa kluczowe: Chów ekologiczny, Label Rouge, British Lion

Streszczenie

Obecnie dużo mówi się o dobrostanie drobiu nieśnego. Konwencjonalne systemy chowu drobiu są mało przyjazne ptakom, które mają ograniczone możliwości przejawiania swojego behawioru. Dzieje się tak przeważnie w systemach klatkowych. Ograniczenie motoryki przekłada się niejednokrotnie na zwiększoną częstotliwość schorzeń zwłaszcza układu kostnego. Dlatego, też warto przyjrzeć się bliżej certyfikowanym systemom chowu, które mogą być zdecydowanie bardziej przyjazne ptakom. W Europie zalicza się do nich chów ekologiczny, Label Rouge, czy też British Lion. Systemy te podlegają bardzo restrykcyjnym wymaganiom odnośnie dostępu do wybiegu, sposobu utrzymania i żywienia ptaków oraz ich dobrostanu. Każdy z nich posiada swój symbol, znak, który gwarantuje, że dany produkt został uzyskany zgodnie z założeniami systemu. Ponadto stale rosnąca świadomość konsumentka przyczynia się do poszukiwania przez konsumentów produktów pochodzenia naturalnego i pozyskiwanych w sposób transparentny. Dlatego, też produkty uzyskiwane z systemów certyfikowanych zyskują na popularności.

Celem pracy było przybliżenie wybranych certyfikowanych systemów chowu drobiu w Polsce i Europie.

1. Wstęp

Konwencjonalne, intensywne systemy utrzymania drobiu mogą nieść ze sobą negatywne skutki, zarówno dla sfery fizycznej, jak i psychicznej niosek. Brak możliwości manifestowania naturalnych zachowań może prowadzić do zaburzeń behawioralny czy też urazów i schorzeń, co w konsekwencji może odbić się na wynikach produkcyjnych oraz zdrowiu ptaków (Appleby i in. 2004, Bessei 2005). Alternatywą jest ograniczenie intensyfikacji sposobu utrzymania niosek i powrót do bardziej tradycyjnych metod. Chów ekstensywny cechuje się dostępem do wybiegu, gdzie zwierzęta mogą bez przeszkód wyrażać swój behawior oraz żerować (Pomykała 2010). Jednym z rodzaju chowu ekstensywnego z dostępem do wybiegów może być chów ekologiczny. Charakteryzuje się on ściśle określonymi wytycznymi. Wytyczne te dotyczą w szczególności paszy, pomieszczenia inwentarskiego czy też wybiegu (Gornowicz i in. 2013a)

2. Chów ekologiczny

Chów ekologiczny zwierząt określony jest przez podstawowe wytyczne opisane w rozporządzeniu Rady nr 834/2007 czy rozporządzeniu Komisji (WE) nr 889/2008. Mają one na celu zagwarantowanie lepszego dobrostanu zwierząt. Zgodnie z Dyrektywą z dnia 28 czerwca 2007 roku oraz 5 września 2008 roku, drób ekologiczny nie może być utrzymywany w klatkach. Pomieszczenie przeznaczone do produkcji chowu rzeźnego nie może przekraczać 1600 m² w jednej jednostce produkcyjnej. Budynek musi zapewniać odpowiednią wentylację oraz dostęp światła dziennego. Zaleca się, by wybiegi były pokryte roślinnością oraz posiadały poidła i karmidła.

Ponadto, kury muszą mieć wolny dostęp do wyjścia na zewnątrz. Wybieg powinien zapewnić ochronę przed deszczem i nadmiernym nasłonecznieniem oraz ewentualnymi drapieżnikami.

W doborze ras bądź mieszańców kur do chowu ekologicznego należy uwzględnić ptaki, które są bardziej predysponowane do tego typu utrzymania. Pod uwagę powinno się brać zdrowotność, zdolność do przystosowania się do miejscowych warunków mikroklimatycznych oraz żywotność. W Polsce najczęściej przeznaczanymi do produkcji ekologicznej są rasy rodzime, takie jak: Zielononóżka kuropatwiana, Żółtonóżka kuropatwiana, Polbar, Rhode Island Red, Sussex czy Leghorn (Gornowicz i in. 2013c, Sokołowicz i in. 2016).

Jaja charakteryzują się wysoką wartością odżywczą. Żywienie, obok czynników środowiskowych oraz genetycznych, decyduje o składzie mineralnym jaja kurzego (Gornowicz i in. 2013b). Poprzez zmianę składu podawanej paszy, łatwo o modyfikację zawartych w nim składników (Szablewski i in. 2013). Skład jaj od kur z chowu ekologicznego może różnić się od tych od ptaków utrzymywanych w inny sposób. Wynikać to może z warunków pokarmowych, pasze przeznaczone dla ptaków utrzymywanych ekologicznie nie powinny zawierać składników genetycznie modyfikowanych, czy syntetycznych dodatków paszowych lub barwników (Gornowicz i in. 2013b). Ponadto, pasza dla kur ekologicznych powinna w swoim składzie zawierać surowce z upraw ekologicznych, najlepiej na bazie własnych zbóż.

Wg Gornowicz i in. (2013b) jaja niosek z chowu ekologicznego wyróżniają się żółtkami o intensywniejszym i bardziej równomiernym wybarwieniu. Dowiedziono także (Gornowicz i in. 2013c), że skorupy jaj pozyskiwanych metodą ekologiczną są grube i wytrzymałe. Sokołowicz i in. (2012) odnotowali także korzystny wpływ warunków chowu ekologicznego na stosunek kwasów tłuszczowych n-3 do n-6 w żółtku jaj. Castellini i in. (2002) badając cechy jakościowe tuszek i mięsa brojlerów produkowanych metodą ekologiczną wykazali, że ilość tłuszczu brzuszego była istotnie niższa, a procent piersi i podudzi były wyższe u kur ekologicznych w porównaniu z ptakami nie mającymi dostępu do wybiegu trawiastego. Mniejsza ilość tłuszczu mogła być spowodowana większą aktywnością motoryczną kur ekologicznych. Profil kwasów tłuszczowych mięsa z piersi i podudzia zwierząt z gospodarstw ekologicznych wykazywał wyższą frakcję nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) i niższą jednonienasyconych (MUFA). Ponadto, udział procentowy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) był wyższy w porównaniu z ptaki utrzymywanymi w warunkach konwencjonalnego chowu ściółkowego. Również kolor mięsa u kur z chowu ekologicznego różni się od kur, które nie mają dostępu do środowiska zewnętrznego (Chen i in. 2013). Potwierdziły to badania Sosnowki-Czajki i in. (2017), w których mięso z mięśni kur z systemu organicznego było bardziej żółte w porównaniu z chowem ściółkowym w którym kury nie miały dostępu do środowiska zewnętrznego. Może to wynikać z żerowania kur na materiale roślinnym obfitującym w karotenoidy i inne barwniki roślinne.

3. Brytyjski system znaku lwa (*British Lion*)

British Lion to program zapewnienia bezpieczeństwa żywności w Wielkiej Brytanii, który został wprowadzony w życie w 1998 roku. Lion Quality Code jest gwarancją dla konsumentów, jak i dla sprzedawców, że jaja ze znakiem Lion są produkowane w Wielkiej Brytanii, pochodzą od brytyjskich kur utrzymywanych zgodnie z wymogami dobrostanu zwierząt określonych przez Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (RSPCA – *Królewskie Towarzystwo Ochrony Zwierząt przed Okrucieństwem*, tłum. własne).

Jaja oznaczone Lion Quality posiadają stempel z kodem fermi, z której pochodzą, metody produkcji i datę przydatności do spożycia. Oznaczenie Red Lion jest szeroko rozpoznawane i budzi wysoki poziom zaufania konsumentów (www.egginfo.co.uk). Oznaczenie to gwarantuje także, że kury były szczepione przeciwko *S. enteritidis* oraz *S. typhimurium*. British Lion obejmuje cztery rodzaje chowu kur i produkcji jaj: system klatkowy, ściółkowy, wybiegowy i ekologiczny. Każdy z rodzajów spełnia konkretne wymogi programu (www.egginfo.co.uk).

Chów klatkowy, certyfikowany Lion Quality jest prowadzony w klatkach wzbogaconych, których powierzchnia jest nie mniejsza niż 750 cm² na ptaka, a na jedną klatkę przypada od 40 do 80 kur. Każda klatka posiada budkę łęgową, grzędę do spania i miejsce do drapania, co spełnia potrzeby behawioralne kur niosek. Klatki są zaopatrzone w automatyczny system zadawania paszy i wody.

Nioski są utrzymywane w warunkach stałej temperatury i światła dającego optymalną długość dnia przez cały rok. Jaja pochodzące z takiego chowu nie mogą posiadać określeń typu „wiejskie”, bądź zdjęć poruszających się swobodnie, po nieograniczonej przestrzeni kur na opakowaniu (www.egginfo.co.uk).

W systemie ściółkowym kury mogą swobodnie poruszać się po kurniku. Zgodnie z dyrektywą Unii Europejskiej, z którą wciąż są zgodne zasady panujące w produkcji według zasad British Lion pomimo Brexitu w 2020 r., odnoszącej się do dobrostanu kur (Dyrektywa Rady 1999/74/WE z dnia 19 lipca 1999 r.), maksymalna gęstość obsady niosek nie może przekraczać 9 kur/m² powierzchni użytkowej. Grzędy muszą zapewniać 15 cm długości na kurę, zaś ściółka musi zajmować 1/3 powierzchni podłoża. Zapewnia się jedną budkę lęgową na 5 kur lub gniazda wspólne, w liczbie 120 ptaków/m² powierzchni. Karmidła liniowe muszą zapewniać co najmniej 10 cm na kurę, a karmidła okrągłe co najmniej 4 cm na kurę. Koryta na wodę i paszę są podwyższone, aby uniknąć strat paszy. Oświetlenie elektryczne zapewnia optymalną długość dnia, tj. 14 godzin na dobę, w ciągu całego roku. Po zakończeniu okresu nieśności kurnik jest całkowicie czyszczony i dezynfekowany. Chów ściółkowy według standardów British Lion w 2019 roku wprowadził własne, zastrzeżone normy. Maksymalna gęstość obsady nie może przekraczać 6000 kur na stado. Konieczne są dwa wzbogacenia na 1000 ptaków, w tym ulepszone budki lęgowe, które mają zachęcać do gniazdowania (www.egginfo.co.uk).

Jaja od kur z wolnego wybiegu według standardów Unii Europejskiej, z którymi zgodne są normy British Lion, mogą być tak nazwane wyłącznie wtedy, kiedy nioski mają w ciągu dnia stały dostęp do wybiegów, które są w większości pokryte roślinnością. Warunki w kurniku dla kur z wolnego wybiegu są takie same jak dla ptaków utrzymywanych w systemach ściółkowych. Dodatkowe normy Lion Quality to zapewnienie zacienienia na zewnątrz w przypadku braku werandy, jeden otwór na 600 ptaków otwarty przez 8 godzin dziennie, maksymalna wielkość stada określona na 16000 ptaków podzielona na mniejsze podgrupy, tak, aby finalnie stada nie liczyły więcej niż po 6000 ptaków (www.egginfo.co.uk).

Produkcja jaj ekologicznych według zasad British Lion opiera się głównie na założeniach chowu kur wybiegowych z pewnymi różnicami. Kury produkujące certyfikowane jaja ekologiczne żyją w stadach o maksymalnej wielkości 3000 ptaków, a obsada nie może wynosić więcej niż 6 niosek/m² powierzchni użytkowej. Ptaki muszą mieć zapewnione gniazda, a także odpowiednie grzędy, zapewniające po 18 cm miejsca na każdą kurę. Zapewniona musi być także ściółka, stanowiąca 1/3 powierzchni. Ważnym jest, aby zaznaczyć, iż kury produkujące jaja ekologiczne muszą być żywione paszami ekologicznymi. Dodatkowymi wymaganiami odnośnie produkcji ekologicznej, egzekwowanej przez British Lion, jest m.in. zacienienie na zewnątrz, większa wysokość i szerokość otworów wyjściowych oraz możliwość wychodzenia poza kurnik przez 8 godzin dziennie (www.egginfo.co.uk).

W zakresie jakości jaj produkowanych w systemie British Lion można wyróżnić dwie klasy jakości: A i B. Klasa A to najwyższa klasa jakości. Jaja oznaczone w ten sposób są naturalnie czyste, świeże, posiadają nienaruszoną skorupę, a głębokość komory powietrznej w tępych końcu jaja nie przekracza 6 mm. Jaja te zawsze są sprzedawane jako jaja w skorupach. Jaja klasy B są to jaja które nie spełniają wymogów dla klasy A. Z tego powodu są rozbijane i pasteryzowane (www.egginfo.co.uk).

Obecnie 85-90% jaj w Wielkiej Brytanii jest produkowane zgodnie z zasadami systemu British Lion. Głównymi wymogami chowu kur i produkcji jaj zgodnie z normami Lion Quality są przede wszystkim szczepienia przeciwko *Salmonelli* (Gellatley 2017). Dzięki nim skutecznie zmniejszono ilość zachorowań na salmonellozę. Zwiększono także bezpieczeństwo biologiczne oraz wprowadzono procedury ograniczające poziome przenoszenie się drobnoustrojów chorobotwórczych na stada. Działania te obejmują między innymi obróbkę pasz, stosowanie barier bezpieczeństwa biologicznego lub zmianę obuwia, wykluczenie obecności dzikich zwierząt, także gryzoni i dzikich ptaków, zwierząt domowych i owadów oraz rygorystyczne zabiegi higieniczne, tj. czyszczenie i dezynfekcja kurników pomiędzy stadami. Program posiada system rejestracji producentów, a także system specjalnych „paszportów” gwarantujący kompletną identyfikowalność kur, jaj i ich paszy. Wśród wymogów do osiągnięcia oznaczenia British Lion znalazły się ponadto podwyższony poziom

higieny oraz regularne badania na obecność *Salmonelli* we wszystkich stadach w procesie produkcji jaj. Badaniom podlega także pasza, którą żywione są kury. Ze względu na wysokie ryzyko skażenia jej *Salmonellą*, musi być ona zatwierdzona przez Universal Feed Assurance Scheme (UFAS- Uniwersalny system gwarantowania pasz tłum. własne) (Newell 2015).

Według Food Standards Agency (FSA, *Agencja ds. Standardów Żywności, tłum. własne*) jaja z oznaczeniem British Lion są bezpieczne do spożycia nawet dla najbardziej wrażliwych grup, takich jak niemowlęta, kobiety w ciąży, dzieci i osoby starsze (www.egginfo.co.uk).

4. Label Rouge

Label Rouge jest francuskim sposobem chowu drobiu, jak również znakiem towarowym oznaczającym najwyższą jakość produktów, a także warunków ich produkcji. Odnosi się on do wszystkich cech produktu i jego właściwości, dzięki czemu konsument otrzymuje przejrzystą informację dotyczącą sposobu produkcji. Sztandarowym produktem tego programu jest drób, aczkolwiek odnosi się on także do jaj. Label Rouge odnosi się do takich cech jakościowych drobiu, jak smak i wygląd mięsa oraz sugeruje, iż produkt jest zgodny z zasadami bezpieczeństwa produkcji żywności oraz praktykami produkcyjnymi jaj z wolnego wybiegu (<https://www.inao.gouv.fr>).

Historia powstania Label Rouge sięga roku 1965. Po II Wojnie Światowej nastąpiło uprzemysłowienie produkcji drobiarskiej. Spowodowało to niezadowolenie wśród francuskich konsumentów, którzy oczekiwali, aby produkty odzwierzęce odznaczały się smakiem takim jak wcześniej, gdy kury były utrzymywane ekstensywnie. Aby spełnić oczekiwania konsumentów i zapewnić gwarancję jakości, francuski rząd, z inicjatywy hodowców drobiu, ustanowił znak Label Rouge, który miał być używany w przemyśle spożywczym (www.labelrouge.fr). Znak ten używany jest również obecnie, a jakość produktów tworzonych pod tą marką określana jest mianem najwyższej. Drób i jaja oznaczone w ten sposób stanowią obecnie, aż 30% całkowitej sprzedaży produktów drobiarskich. Oznaczenie to wpływa także znacznie na cenę, która w porównaniu z tą, z konwencjonalnej produkcji drobiu jest, aż dwa razy wyższa (Westgren 1999).

W celu uzyskania odznaczenia Label Rouge na wszystkich etapach, zarówno podczas produkcji jak i przetwarzania produktu, musi on spełniać konkretne wytyczne określone przez INAO: Institut National de L'origine et de la Qualité (INAO, *Narodowy Instytut Pochodzenia i Jakości, tłum. własne*). Niezbędne jest też zatwierdzenie produktu w ustawie opublikowanej w Dzienniku Urzędowym Republiki Francuskiej. Rozporządzenie Unii Europejskiej 543/2008 z dnia 16 czerwca 2008 roku definiuje Label Rouge jako "tradycyjny chów wybiegowy".

Etykieta Label Rouge opiera się na trzech kluczowych dokumentach, którymi są:

- specyfikacje, precyzyjnie określające charakterystykę produktu, a także etapy produkcji i kryteria etykietowania. Wytyczne określone są przez Defense and Management Organization (ODG, *Organizacja Obrony i Zarządzania, tłum. własne*);
- plik oceny najwyższej jakości, który jest raportem z przeprowadzonych analiz sensorycznych i organoleptycznych produktów. Regularne testowanie smaku jest wymogiem certyfikacyjnym. Przeprowadzane jest, aby wykazać, że produkty te są odróżnialne pod względem smakowym od drobiu i jaj, od kur utrzymywanych w systemach konwencjonalnych. Zasady te są regularnie aktualizowane przez ODG;
- plan kontroli, który podsumowuje dwa powyższe dokumenty.

Według Zarządzenia o Wspólnej Produkcji (*Conditions de production communes relatives a la production en label rouge*), z dnia 7 października 2022 roku, gospodarstwo obejmować może maksymalnie 2 kurniki, w których znajduje się po 6 000 kur, co daje łączną liczbę 12 000 zwierząt. Zgodnie z wymogami na 1 m² powierzchni użytkowej można utrzymywać maksymalnie 9 kur. Hodowle oznaczone czerwoną etykietą, oznaczającą system Label Rouge, szczególnie powinny zwracać uwagę na dobrostan kur na wszystkich etapach produkcji, obejmuje to zarówno ich warunki bytowe, jak i transportowe, a także humanitarne metody uboju.

W kurnikach oznaczonych etykietą Label Rouge kury obowiązkowo muszą być utrzymywane na wolnym wybiegu oraz nie dopuszcza się systemów wielopoziomowych. Powierzchnia zewnętrzna wybiegu powinna wynosić minimum 5 m² na jedno zwierzę, co po

przeliczeniu daje minimalnie 2000 kur/ha. Wybiegi powinny także wkomponowywać się w otoczenie naturalne.

Wytyczne Label Rouge ściśle opisują dietę kur, która powinna opierać się głównie na zbożach. Pasza musi składać się w co najmniej 50% ze zbóż i ubocznych produktów zbożowych. Pasza nie może zawierać produktów pochodzenia zwierzęcego, z wyjątkiem muszli ostryg. Niedozwolone jest także stosowanie sztucznych barwników, dopuszczalne są jedynie barwniki naturalne, roślinne.

System Label Rouge posiada także konkretne wytyczne dotyczące produkcji jaj. Jaja objęte tym oznaczeniem pozyskiwane są od niosek przynajmniej 2 razy dziennie w dni robocze oraz raz dziennie w niedziele oraz święta. Czas pomiędzy zniesieniem i pakowaniem jaj powinien wynosić maksymalnie 4 dni, przy czym maksymalny czas między zniesieniem jaja, a jego rozbiciem w celach spożywczych wynosić może 21 dni. Maksymalny czas użytkowania nieśnego wynosi 76 tygodni. Jaja pochodzące z chowu metodą Label Rouge charakteryzują się masą wynoszącą minimum 48 g oraz powinny być świeże i wykazywać minimum 70 jednostek Haugh'a [Conditions de production..., 2022].

Chów kur pod marką czerwonej etykiety określa też warunki selekcyjne zwierząt. Kury, których jaja będą oznakowane czerwoną etykietą, muszą być jak najlepiej przystosowane do lokalnych warunków mikroklimatycznych. Ważne jest też, aby kury te przystosowane były do chowu wybiegowego oraz znosiły jaja odpowiadające konkretnym specyfikacjom.

Hodowca wybierając kury powinien kierować się określonymi kryteriami, takimi jak:

- -wysoka wytrzymałość skorupy
- -nioski powinny ważyć więcej od kur utrzymywanych metodami konwencjonalnymi i jednocześnie cieszyć się dobrym zdrowiem,
- -ptaki nie powinny być agresywne, aby uniknąć walk i wzajemnego dziobania się.

Według katalogu krzyżówek kur, rasy, które spełniają powyższe kryteria to: Lohmann Brown, Novogen Color, Hy-line Rural, oraz Bresse Gauloise [Répertoire des croisements de poules pondeuses utilisables en Label Rouge, 2020]. W stadach oznaczonych Label Rouge to właśnie te linie niosek spotykane są najczęściej.

5. Podsumowanie

Wydaje się, że certyfikowane sposoby utrzymania drobiu stanowią alternatywę dla systemów konwencjonalnych (chów klatkowy bądź ściółkowy). Faktem przemawiającym za ich wyborem może być fakt, umożliwienia ptakom przejawiania naturalnego behawioru (dziobanie, grzebanie czy też żerowanie na wybiegach). Ponadto obecnie konsumenci poszukają produktów naturalnych z racji przekonania o ich lepszej jakości i są w stanie oferować za nie większe stawki. Aczkolwiek jaja pochodzące z systemów chowu z dostępem do wybiegu mogą cechować się wyższym zanieczyszczeniem mikrobiologicznym niż jaja chociażby z systemu klatkowego. Dlatego, też certyfikowane systemy utrzymania drobiu mogą okazać się opłacalną gałęzią produkcji drobiarskiej zwłaszcza drobnotowarowej.

6. Literatura

- Appleby MC, Mench JA, Hughes BO (2004) Poultry behaviour and welfare. Cabi Publishing, Wallingford, UK.
- Bessei W (2005) Welfare of meat producing poultry-an overview. Animal Science Papers and Reports, 23(1), 205-216.
- Castellini C, Mugnai C, Dal Bosco A (2002) Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. Meat Science, 60(3), 219-225.
- Chen X, Jiang W, Tan HZ i in. (2013) Effects of outdoor access on growth performance, carcass composition, and meat characteristics of broiler chickens. Poultry Science, 92(2), 435-443.
- Conditions de production communes relatives a la production en label rouge z dnia 7 października 2022 roku (załącznik do Bulletin officiel du Ministère de l'agriculture et de l'alimentation n 2022-42).

- Gellatley J (2017) *Laying hens: The inside story*. Bristol: Viva.
- Gornowicz E, Lewko L, Szablewski T (2013a) Ekologiczny chów kur jako czynnik kształtujący jakościowe cechy żółtka jaja. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 58(3), 161-164.
- Gornowicz E, Lewko L, Szablewski T (2013b) Ekologiczny chów kur jako czynnik kształtujący jakościowe cechy żółtka jaja. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 58(3), 161-164.
- Gornowicz E, Węglarzy K, Szablewski T (2013c) Jakość skorupy jaj pozyskanych metodami ekologicznymi. *Wiadomości Zootechniczne*, 4(51), 19-30.
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/HTML/?uri=CELEX:52007DC0865&from=PL>, data dostępu 7.05.2023
<https://www.inao.gouv.fr/eng/Official-signs-identifying-quality-and-origin/Label-Rouge-Red-Label>, data dostępu 15.04.2022
<https://www.labelrouge.fr/une-histoire>, data dostępu 15.04.2022
- Newell DG (2015) The Lion Code approach to control and prevention of salmonella in the UK. *International Poultry Production*, 23(7), 15-17.
- Pomykała D (2010) Wymogi dobrostanu zwierząt w gospodarstwach ekologicznych. Centrum Doradztwa Rolniczego, Oddział w Radomiu, 1-29.
- Répertoire des croisements de poules pondeuses utilisables en Label Rouge z dnia 3 lipca 2020 roku (załącznik do Conditions de production communes relatives a la production en label rouge z dnia 7 października 2022 roku).
- Rozporządzenie Komisji (WE) 889/2008 z dnia 5 września 2008 r. ustanawiające szczegółowe zasady wdrażania Rozporządzenia Rady (WE) nr 834/2007 w sprawie produkcji ekologicznej, znakowania i kontroli. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej*, 250/1, 18.9.2008, 1–84
- Rozporządzenie Komisji (WE) NR 543/2008 z dnia 16 czerwca 2008 r. wprowadzające szczegółowe przepisy wykonawcze do rozporządzenia Rady (WE) nr 1234/2007 w sprawie niektórych norm handlowych w odniesieniu do mięsa drobiowego *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 157, 17.6.2008, 46-87.
- Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) 2092/91. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej*, 189, 20.7.2007, 1-23
- Sokołowicz Z, Krawczyk J, Herbut E (2012) Jakość jaj z chowu ekologicznego w pierwszym i drugim roku użytkowania niosek. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 19(4), 185-194
- Sokołowicz Z, Krawczyk J, Świątkiewicz S (2016) Quality of poultry meat from native chicken breeds – a review. *Annals of Animal Science*, 16(2), 347-368.
- Sosnowka-Czajka E, Skomorucha I, Muchacka R (2017) Effect of organic production system on the performance and meat quality of two purebred slow-growing chicken breeds. *Annals of Animal Science*, 17(4), 1197-1213.
- Szablewski T, Gornowicz E, Stuper-Szablewska K i in. (2013) Skład mineralny treści jaj kur ras zachowawczych z chowu ekologicznego. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 20(5), 42-51.
- Westgren, RE (1999) Delivering food safety, food quality, and sustainable production practices: The Label Rouge poultry system in France.: *American Journal of Agricultural Economics* 81(5), 1107-1111.
www.egginfo.co.uk/british-lion-eggs/lion-code-practice, data dostępu 7.05.2023
www.egginfo.co.uk/egg-facts-and-figures/industry-information/egg-codes-and-quality, data dostępu 7.05.2023
www.egginfo.co.uk/egg-facts-and-figures/production, data dostępu 7.05.2023
www.egginfo.co.uk/egg-facts-and-figures/production/barn-egg, data dostępu 7.05.2023
www.egginfo.co.uk/egg-facts-and-figures/production/cage-egg, data dostępu 7.05.2023
www.egginfo.co.uk/egg-facts-and-figures/production/free-range-egg, data dostępu 7.05.2023
www.egginfo.co.uk/egg-facts-and-figures/production/organic-egg, data dostępu 7.05.2023
www.egginfo.co.uk/news/new-government-advice-british-lion-eggs-safe-mums-be-babies-and-elderly-people (2017).