

NAUKI PRZYRODNICZE  
I MEDYCZNE:



ŚWIAT ŻYWY  
A TECHNOLOGIE  
W OTOCZENIU LUDZI  
I ZWIERZĄT

---



LUBLIN 2018



**Nauki Przyrodnicze i Medyczne:  
Świat żywy a technologie w otoczeniu  
ludzi i zwierząt**



**Lublin 2018**

## **Redakcja**

dr. n. med. Jerzy Bednarski – redaktor naczelny

(Zakład Anatomii Prawidłowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie)

dr Milena Bajda – redaktor naczelna

(Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)

mgr Agata Kobyłka

Marta Pawlicka

Kamil Bałabuszek

Anna Mroczek

mgr farm. Kamila Kasprzak

dr n. farm. Karolina Wojtunik-Kulesza

dr n. o zdr. Marlena Krawczyk-Suszek

## **Korekta, skład i łamanie:**

Kamil Bałabuszek, Agata Kobyłka, Marta Pawlicka

## **Projekt okładki:**

Agata Kobyłka

ISBN 978-83-950719-2-8

## **OBJĘTOŚĆ:**

Ponad 8 arkuszy wydawniczych

Każdy rozdział zawiera minimum 20 000 znaków (minimum 0,5 arkusza wydawniczego)

## **WYDAWCA**

Instytut Promocji Kultury i Nauki Dr Jerzy Bednarski

ul. Bohdana Dobrzańskiego 3, 20-262 Lublin

kontakt@ipkn.edu.pl

© Copyright by Instytut Promocji Kultury i Nauki Dr Jerzy Bednarski

Autorzy ponoszą odpowiedzialność za treść swoich tekstów.

Wydawca składa serdeczne podziękowania dla zespołu Recenzentów za zaangażowanie w dokonane recenzje oraz merytoryczne wskazówki dla Autorów.

### **Recenzenci:**

prof. dr hab. Anna Czech

dr hab. inż. Krzysztof Gaska

dr hab. Jolanta Jaroszuk-Ściseł

dr hab. Jolanta Król

dr hab. Małgorzata Kwiecień

dr inż. Ewelina Kwaśniewska

dr inż. Krzysztof Mudryk

dr inż. Magdalena Pogorzelec

dr inż. Marek Wróbel

dr Katarzyna Jedynak

dr Magdalena Myszura

Wszystkie opublikowane rozdziały uzyskały pozytywne recenzje od niezależnych recenzentów.

## Spis treści

STAN SANITARNY LODÓWEK W DOMACH PRYWATNYCH .....	8
ADSORPCJA CHLOROPROFAMU Z ROZTWORU WODNEGO NA WYBRANYCH ADSORBENTACH .....	18
PTASZYNIC KURZY ( <i>DERMANYSSUS GALLINAE</i> ) – ZAGROŻENIE W PRODUKCJI DROBIARSKIEJ .....	32
ZRÓWNOWAŻONY ODZYSK ZWIĄZKÓW FOSFORU Z OSADÓW ŚCIEKOWYCH .	41
WYBRANE METODY ZAGOSPODAROWANIA ODPADÓW ROLNICZYCH.....	51
AKTYWNOŚĆ SERCA ROZWIELITKI ( <i>DAPHNIA SP.</i> ) JAKO FIZJOLOGICZNY BIOMARKER ODDZIAŁYWANIA SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH.....	59
ROZMNAŻANIE TRAW W KULTURACH TKANKOWYCH ZA POŚREDNICTWEM ORGANOGENEZY POŚREDNIEJ .....	68
WPŁYW MECHANIZMU SAMOSTARTU NA MOMENT ROZRUCHOWY ORAZ MOC TURBINY WIATROWEJ O PIONOWEJ OSI OBROTU.....	79
WPŁYW SYSTEMU CHOWU NA ZAWARTOŚĆ METALI CIĘŻKICH W JAJACH .....	93
RUCH TURYSTYCZNY W PARKACH NARODOWYCH WOJEWÓDZTWA LUBELSKIEGO W LATACH 2007-2016 .....	103
ROŚLINNE ANALOGI AHL JAKO NOWA STRATEGIA OCHRONY ROŚLIN I ZWIERZĄT PRZED PATOGENNYMI BAKTERIAMI .....	115
METODY ZAGOSPODAROWANIA BIOMASY Z SADÓW JABŁONIOWYCH W POLSCE.....	138



## STAN SANITARNY LODÓWEK W DOMACH PRYWATNYCH

Mateusz Ossowski<sup>(1)</sup>, Martyna Kasela<sup>(2)</sup>, Bożena Nowakowicz-Dębek<sup>(1)</sup>, Łukasz Wlazło<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>*Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

<sup>(2)</sup>*Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie*

*Mateusz.Ossowski@student.up.edu.pl*

### Streszczenie

Zgodnie z danymi epidemiologicznymi gospodarstwa domowe uważane są za potencjalne źródło zagrożeń biologicznych, mających naczelne znaczenie w zatruciach układu pokarmowego. Choroby przenoszone za pośrednictwem żywności określane są terminem FBI (ang. Foodborne Illness). Zatrucia pokarmowe powodowane są przez spożycie żywności zanieczyszczonej mikrobiologicznie. Do zanieczyszczenia drobnoustrojami dochodzi najczęściej w trakcie przygotowywania lub przechowywania żywności, co związane jest z brakiem wiedzy na temat właściwych nawyków higienicznych. Brak odpowiedniej higieny w kuchniach domowych prowadzi do rozprzestrzeniania się bakterii zarówno na powierzchniach, jak i samej żywności. W trakcie mikrobiologicznego psucia się żywności dochodzi nie tylko do zmian właściwości fizykochemicznych produktów spożywczych, ale przede wszystkim do produkcji toksyn bakteryjnych stanowiących bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia, a nawet życia ludzi. Środowisko wewnątrz lodówek stwarza warunki wystarczające do bytowania, a nawet namnażania się drobnoustrojów, w tym również patogennych. Rozwój mikroorganizmów możliwy jest dzięki obecności dużych ilości składników pokarmowych.

Celem badań było określenie stanu sanitarnego lodówek w domach prywatnych. Lodówki podzielone zostały na trzy strefy: półkę górną, środkową oraz dolną. Z każdej z półek pobrano wymazy, uzyskany materiał posiano na podłoża wzrostowe i różnicujące, a następnie inkubowano w odpowiednich warunkach. Najliczniej identyfikowaną grupą bakterii był rodzaj *Staphylococcus*. Znaczący udział procentowy w mikroflorze zasiedlającej powierzchnie wewnętrzne lodówek miała także rodzina *Micrococcaceae*, pałeczka *Escherichia coli* oraz gronkowce koagulazo-ujemne.



## Wstęp

Mikroorganizmy są nieodstępnymi towarzyszami ludzkiego życia. Zarówno bakterie, jak i grzyby mogą być składnikami naturalnej mikrobioty ludzkiego ciała. Występują w każdym środowisku, a człowiek na drodze różnych działań może modyfikować zarówno ich skład jakościowy, jak i ilościowy. Większość swojego życia spędzamy w pomieszczeniach zamkniętych, w pracy czy w domu. Prawidłowe nawyki higieniczne odnoszące się do codziennego życia są podstawą do zapewnienia nam otoczenia pozbawionego mikroorganizmów potencjalnie patogennych, niekorzystanie oddziałujących na nasze zdrowie [1]. Mikroorganizmy są obecne w wodzie, powietrzu, na wszystkich otaczających nas powierzchniach oraz należą do naturalnej mikrobioty, a sama ich obecność w otaczającym środowisku może wywierać na nas różne efekty, zarówno pozytywne jak i szkodliwe [2]. Wiele konsumentów kojarzy zatrucia pokarmowe z faktem jedzenia poza domem, choć badania wskazują, że równie często do zatruc pokarmowych dochodzi w naszych kuchniach. Bezpośrednie przyczyny zatruc pokarmowych leżą w brakach wiedzy domowników na temat higienicznego obchodzenia się żywnością i są spowodowane przez nieprawidłowe przechowywanie żywności, nieprawidłową obróbkę termiczną żywności oraz kontaminację krzyżową żywności. Obecnie, państwa kładą bardzo duży nacisk na przedsiębiorstwa zajmujące się wytwarzaniem czy przetwarzaniem żywności. Efektem jest powstanie złożonych systemów zarządzania tj. HACCP (ang. hazard analysis and critical control points), które mają za zadanie kontrolę na każdym etapie produkcji i dystrybucji żywności. Jednakże, należy zaznaczyć, że ostatnim elementem tego łańcucha jest najczęściej nasza kuchnia [3].

Ze wszystkich pomieszczeń naszych domów, kuchnie są najbardziej narażone na nadmierną kolonizację przez drobnoustroje. Ekspozycja domowników na mikroorganizmy jest wywołana bezpośrednio przez wykonywanie czynności tj. przygotowywanie jedzenia, spożywanie pokarmów oraz pośrednio przez kontakt z zanieczyszczonymi powierzchniami. Drobnoustroje obecne na skażonych powierzchniach mają swe źródła w wodzie, produktach spożywczych, są także związane z samą obecnością człowieka, jak i zwierząt domowych. Żywność może być nośnikiem bakterii potencjalnie chorobotwórczych, dlatego wiadomym jest, iż prawidłowe nawyki higieniczne dotyczące obchodzenia się z produktami spożywczymi minimalizują ryzyko rozprzestrzeniania się takich drobnoustrojów i możliwość zatrucia. Do najbardziej niebezpiecznych dla zdrowia ludzi patogenów, pochodzących od żywności nieprzetworzonej i powodujących zatrucia pokarmowe należą: *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* oraz różne szczepy *Escherichia coli* [4]. Podstawowym krokiem, który może podjąć konsument w celu zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego

kupowanej żywności jest transport i jej przechowywanie w odpowiedniej temperaturze. Ważna jest także kwestia oddzielenia poszczególnych produktów żywnościowych od siebie, co uniemożliwi transmisję krzyżową drobnoustrojów na inne produkty. Zgodnie z raportem EFSA (ang. European Food Safety Authority) z 2013 roku, 32,7% ognisk epidemicznych zarejestrowanych na terenie Europy związanych z zatruciami pokarmowymi miało swe źródła w domowych kuchniach. Głównym źródłem drobnoustrojów prowadzącym do skażenia żywności są zanieczyszczone nimi powierzchnie, z którymi żywność ma bezpośredni kontakt. Drobnoustroje mogą przebywać na takich powierzchniach przez długi czas dzięki zdolności do produkcji biofilmu bakteryjnego [5]. Obecnie, istnieje wiele rodzajów środków dezynfekcyjnych, jak i samych metod dezynfekcyjnych mających za zadanie utrzymanie kuchni w czystości: środki dezynfekcyjne do rąk, środki do mycia naczyń, ściereczki nasączone płynami dezynfekcyjnymi. Stosowanie takich środków myjących znacząco wpływa na skład jakościowy mikroflory zasiedlającej nasze środowisko. Niezwykle istotnym czynnikiem wpływającym na zachowanie odpowiedniego poziomu higienicznego w naszych domach jest świadomość ich mieszkańców w zakresie miejsc szczególnie podatnych na zanieczyszczenie mikroorganizmami, w tym drobnoustrojami patogennymi, jak i sama wiedza na temat gatunków drobnoustrojów potencjalnie chorobotwórczych [1].

Choroby przenoszone przez żywność (FBI, ang. Foodborne Illness) stanowią bardzo ważny problem dla kwestii zdrowia publicznego, zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się. Wg WHO, FBI to każda choroba, która spowodowana została obecnością czynników infekcyjnych lub toksyn w spożytej żywności lub wodzie. [6]. WHO oszacowało, iż tylko w 2005 roku, 1,8 mln osób zmarło z powodu chorób biegunkowych [7]. Lodówki są w tym momencie tak powszechnymi urządzeniami obecnymi w naszych kuchniach, że bardzo trudno znaleźć gospodarstwo domowe w krajach rozwiniętych, które nie posiada tego urządzenia. Oszacowano, że w 2008 roku na świecie używanych było ok. 1 miliarda lodówek, co oznacza podwojenie liczby działających urządzeń w porównaniu do roku 1996. Bez lodówek nie byłby możliwy transport i dystrybucja większości produktów spożywczych. FDA (ang. Food and Drug Administration), FSA (ang. Food Standards Agency) i FSAI (ang. Food Safety Authority of Ireland) rekomendują regularne czyszczenie lodówek [8]. Warunki panujące w lodówce są wystarczające dla przeżycia, a nawet rozmnażania się bakterii mezofilnych, do których należą m.in. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Salmonella spp.*, a także dla drobnoustrojów psychrofilnych, wśród których wymienić można patogeny tj. *Listeria monocytogenes* czy *Yersinia enterocolitica*. Drobnoustroje są w stanie

skolonizować różne powierzchnie i obiekty tj. deski do krojenia mięsa i warzyw, przybory kuchenne i naczynia, gąbki, ścierki [7].

Przechowywanie żywności w lodówkach jest jedną z najpowszechniej stosowanych metod mających na celu zahamowanie wzrostu mikroorganizmów i przedłużenie świeżości produktów spożywczych. Temperatura wewnątrz lodówek domowych powinna wynosić ok. 4 – 5°C. Taka niska temperatura ma za zadanie zahamowanie reakcji chemicznych, w tym tych w których udział biorą enzymy pochodzenia bakteryjnego. Należy także zaznaczyć, iż w warunkach chłodniczych psucie się produktów spożywczych nigdy nie zostanie całkowicie zatrzymane. Proces ten przebiega wolniej i jest spowodowany działalnością drobnoustrojów czy procesem oksydacji. Na działalność poszczególnych mikroorganizmów obecnych w żywności, jak i na ich skład gatunkowy wpływa także sposób jej przechowywania, na co składa się przykładowo rodzaj materiału w jaki produkt jest zapakowany, czy rodzaj pojemnika, w którym żywność jest przechowywana. Brudne pojemniki są źródłem drobnoustrojów, które mogą pozostawać na powierzchniach wewnątrz lodówek domowych, co prowadzi do dalszego rozprzestrzeniania się mikroorganizmów potencjalnie zdolnych do wywołania zatruc pokarmowych. Powierzchnie wewnętrzne lodówek nie tworzą środowiska sprzyjającego dla drobnoustrojów, aczkolwiek zapewniają warunki minimalne, które umożliwiają bakteriom przetrwanie i wzrost [2]. Podaje się, że zatrucia pokarmowe mające swe źródła w domowych lodówkach mogą być nawet trzy razy częstsze niż w przypadku lodówek komercyjnych. Skażenie mikrobiologiczne lodówek spowodowane jest najczęściej przez niemyte surowe produkty spożywcze, przeniesienie mikroorganizmów z ludzkiej skóry, przeciekające opakowania [9].

Szacuje się, że zły stan higieniczny lodówek domowych może być bezpośrednią przyczyną nawet 28% przypadków chorób przenoszonych przez żywność. Obecność czy nawet namnażanie się drobnoustrojów na wewnętrznych powierzchniach lodówki stanowi szczególne zagrożenie dla produktów żywnościowych, które nie będą poddawane obróbce termicznej. Istnieją także uzasadnione obawy na temat transmisji patogenów wielolekoopornych ze skażonej nimi żywności na człowieka. Przykładowo, wielolekooporne szczepy pałeczki *Klebsiella pneumoniae* zostały wyizolowane z produktów żywnościowych tj. surowe pakowane mięso, zarówno drobiowe, jak i wołowe [10]. W wielu badaniach surowy drób czy inne produkty mięsne, jajka, ryby, skorupiaki, warzywa i owoce zostały uznane jako źródło drobnoustrojów patogennych związanych z zatruciami pokarmowymi. Wśród drobnoustrojów z nich izolowanych wymienia się np. *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *E. coli* O157:H7 czy *Staphylococcus aureus* [11]. Na trzecim miejscu wśród patogenów powodujących zatrucia

pokarmowe znajduje się *Listeria monocytogenes*. Do żywności, które może być skażona tą bakterią należą produkty gotowe do spożycia po odgrzaniu, niepasteryzowane mleko oraz przetwory na bazie niepasteryzowanego mleka. Co bardzo istotne, ten patogen posiada zdolność nie tylko do przeżycia, ale także wzrostu w warunkach temperatury panującej w lodówkach [12] *Listeria monocytogenes* posiada właściwości pozwalające jej na adhezję do powierzchni mających bezpośredni kontakt ze spożywanymi produktami tj. stal nierdzewna, guma, szkło czy polipropylen [13]. Jednym z kroków minimalizujących ryzyko zatrucia tym drobnoustrojem jest utrzymywanie lodówki w czystości, na co składają się takie czynności jak: regularne usuwanie resztek produktów spożywczych, czyszczenie powierzchni półek oraz ścianek lodówki oraz utrzymywanie tych powierzchni w suchości [12].

Badania ankietowe wskazują, że konsumenci bardzo często przechowują różne produkty żywnościowe w niewłaściwej dla nich temperaturze [6]. Producenci lodówek starają się aktywnie wspierać konsumentów w utrzymaniu dobrego stanu sanitarnego tych urządzeń przez np. dodatek srebra do powłok pokrywających wewnątrz lodówko-zamrażarek [14]. Większość badań oceniających stan sanitarny kuchni dotyczy analizy różnych powierzchni czy powietrza tego pomieszczenia. Niewiele badań skupia się na wnętrzu lodówek, które służą do przechowywania żywności. Stosunkowo duża wilgotność w lodówkach oraz obecność dużych ilości składników pokarmowych zapewnia warunki wystarczające do przeżycia i wzrostu mikroorganizmów pochodzących z żywności, jak i skóry dłoni ludzi. Ludzka skóra jest podstawowym źródłem drobnoustrojów w pomieszczeniach wewnętrznych, dlatego w wielu badaniach dotyczących składu jakościowego mikroflory pomieszczeń obserwuje się dużą zbieżność między wyizolowanymi mikroorganizmami a gatunkami mikroorganizmów, które należą do naturalnej mikrobioty ludzkiego ciała [15]. Z tego powodu podjęto się wstępnej oceny jakościowej mikroflory zasiedlającej lodówki domowe. Celem badań było stwierdzenie czy istnieje ryzyko zatrucia pokarmowego wynikające z obecności drobnoustrojów potencjalnie patogennych na powierzchniach wewnętrznych lodówek.

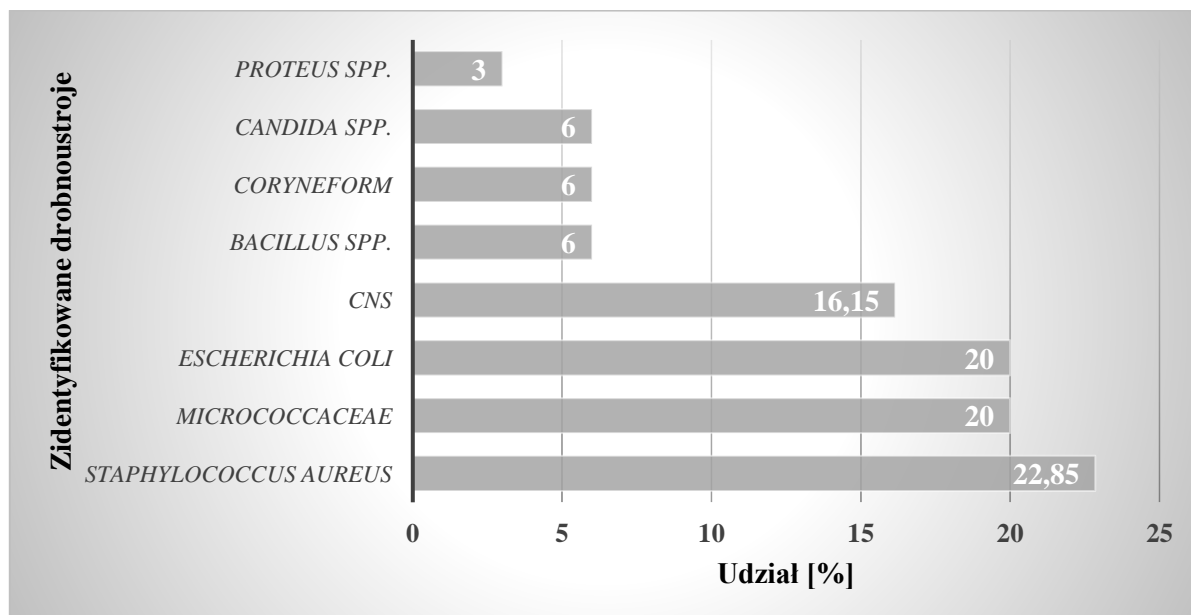
### **Metodyka badań**

Wstępnymi badaniami mikrobiologicznymi objęto 6 lodówek tej samej wielkości. Lodówki zostały podzielone na trzy sektory: górną, środkową oraz dolną półkę. Wymazy zostały pobrane za pomocą jałowych wymazówek z powierzchni ograniczonej sterylnym szablonem o wymiarach 10 x 10 cm, a następnie przetransportowane w warunkach chłodniczych do laboratorium. Wymazy posiewano na komplet podłoży mikrobiologicznych: podłoże agarowe, podłoże Chapmana (podział na gronkowce mannitolododatnie

i mannitoloujemne), podłoże mFC, podłoże EndoLes (podłoża wybiórczo różnicujące dla rodziny *Enterobacteriaceae*) oraz podłoże Sabourauda z chloramfenikolem (podłoże wzrostowe dla grzybów). Podłoże Sabourauda inkubowano przez 5 dni w temperaturze 25°C. Pozostałe podłoża inkubowano przez 24 h w temperaturze 37°C. Wstępnej identyfikacji dokonano na podstawie morfologii wzrostu kolonii bakteryjnych na podłożach wybiórczo różnicujących, barwienia metodą Grama, próby katalazowej i koagulazowej.

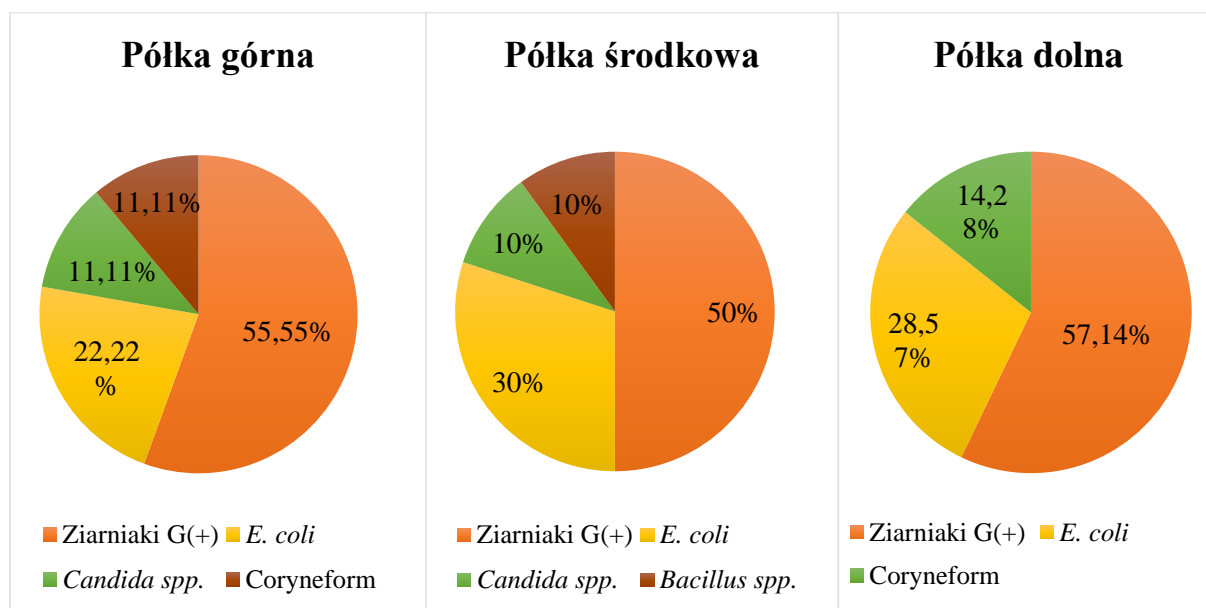
## Wyniki i dyskusja

Udział procentowy poszczególnych mikroorganizmów wyizolowanych ze wszystkich 18 wymazów przedstawiony został na **Rysunku 1**. Wśród drobnoustrojów wyizolowanych z powierzchni wewnętrznej lodówek domów prywatnych największy udział posiadały ziarniaki Gram-dodatnie: koagulazo-dodatnie gronkowce (22,85%), gronkowce koagulazo-ujemne (CNS – z ang. coagulase-negative staphylococci – 16,15%) oraz ziarniaki z rodziny *Micrococcaceae* (20%). Aż jedną piątą wszystkich wyizolowanych mikroorganizmów stanowiła pałeczka okrężnicy - *Escherichia coli* (20%). Z częstością 6% izolowane były tlenowe laseczki *Bacillus spp.*, pałeczki Gram-dodatnie *Coryneform* oraz grzyby drożdżopodobne *Candida spp.*. Najmniej licznym przedstawicielem mikroflory zasiedlającej lodówki były Gram-ujemne pałeczki z rodzaju *Proteus*.



**Rysunek 1.** Udział procentowy poszczególnych drobnoustrojów zidentyfikowanych z wewnętrznych powierzchni badanych lodówek

Źródło: opracowanie własne



**Rysunek 2.** Udział procentowy poszczególnych grup drobnoustrojów wyizolowanych z trzech sektorów badanych lodówek (półka górna, środkowa oraz dolna)

Źródło: opracowanie własne

Udział procentowy poszczególnych grup drobnoustrojów wyizolowanych z trzech sektorów badanych lodówek został przedstawiony na **Rysunku 2**. Skład jakościowy mikroflory poszczególnych półek badanych lodówek nie różnił się od siebie znacząco. Na powierzchni każdej z nich najczęściej izolowanymi mikroorganizmami były ziarniaki Gram-dodatnie, największy ich odsetek został zanotowany w przypadku półki dolnej i wynosił on 57,14%. Zarówno na powierzchni półki górnej, środkowej, jak i dolnej drugim co do częstości izolacji drobnoustrojem była pałeczka okrężnicy *Escherichia coli*, izolowana z częstością kolejno: 22,22%, 30%, 28,57 %. Na półkach górnej oraz dolnej zanotowano obecność pałeczek Gram-dodatnich Coryneform (11,11% i 14,28%). Laseczki tlenowe z rodzaju *Bacillus* występowały tylko na powierzchni półki środkowej, a ich udział w tworzeniu mikroflory tego sektora lodówki wynosił 10%. W wyniku posiania wymazów z dwóch sektorów badanych lodówek (półka górna i półka środkowa) zaobserwowany został wzrost na podłożu Sabourauda, co świadczyło o obecności na badanych powierzchniach grzybów drożdżopodobnych. *Candida spp.* mogą przyczyniać się do psucia owoców, części warzyw oraz produktów mlecznych [16]. W badaniach Bechanko i wsp. [2012] najczęściej izolowaną grupą drobnoustrojów z powierzchni kuchennych była grupa *Coliform*. Za prawdopodobną przyczynę ich występowania autorzy przyjęli obecność nieprzetworzonych, surowych produktów

spożywczych tj. surowy drób, owoce czy warzywa. Podkreślono także, że taka sytuacja stwarza możliwość kontaminacji krzyżowej innych produktów spożywczych i może prowadzić do zatruc pokarmowych. Drobnoustrojami patogennymi wyizolowanymi z wewnętrznych powierzchni lodówek domowych w badaniach Kennedy i wsp. [2005] były gatunki *Staphylococcus aureus* (41%), *Salmonella spp.* (7%), *Listeria monocytogenes* (6%) i *Yersinia enterocolitica* (2%). Również w badaniach Otu-Bassey i wsp. [2017] najczęściej izolowaną bakterią był *Staphylococcus aureus* (27,3 %). Wyizolowano także *Escherichia coli*, *Shigella spp.* czy *Pseudomonas aeruginosa*. Na powierzchniach półek lodówek zanotowano obecność grzybów *Candida albicans* i *Penicillium spp.* W niniejszych badaniach obserwuje się podobną tendencję – dominacji w środowisku lodówek tego gatunku drobnoustroju. *Staphylococcus aureus* należy do naturalnej mikrobioty nawet 50% osób. Kolonizuje nos, gardło oraz skórę. Jego obecność w lodówkach jest najprawdopodobniej spowodowana jego transmisją z ludzkiego organizmu. Jako, że posiada grubą ścianę komórkową, jest stosunkowo odporny na wysychanie, czego efektem jest jego dominacja nad innymi gatunkami bakterii w niesprzyjającym środowisku lodówek [7]. Analiza Oluwafemi i wsp. [2015] wykazała, że utrzymanie prawidłowej temperatury w lodówkach w krajach tj. Nigeria nadal jest bardzo istotnym czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia zatruc pokarmowych. Tylko 29,4% zbadanych lodówek zapewniało temperaturę 4°C lub niższą. Wśród wyizolowanych mikroorganizmów znalazły się m.in. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas spp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* czy *Penicillium spp.*. Wyższa niż prawidłowa temperatura lodówek może być także spowodowana zbyt dużą ilością produktów w niej przechowywanych. Macias-Rodriguez i wsp. [2013] stwierdzili w przypadku zbyt pełnych lodówek średnią temperaturę na poziomie 7,1°C. Zauważono także, że mniej niż połowa respondentów myje warzywa, owoce i jajka po zakupie i przed włożeniem do lodówki. Chen i wsp. [2011] wykazali, iż na efektywność dezynfekcji powierzchni kuchennych wpływają raczej metody sprzątania i rodzaj środków czyszczących niż sama częstość dezynfekcji.

## Podsumowanie

Niniejsze badania wykazały, że nawet dla organizmów nie będących psychrofilami możliwe jest przeżycie w warunkach chłodniczych. Całkowita eliminacja drobnoustrojów potencjalnie chorobotwórczych z kuchni i wnętrza lodówek jest niemożliwa, aczkolwiek wdrożenie poprawnych nawyków higienicznych może zminimalizować ich liczbę. Zachowanie

prawidłowej higieny w kuchni jest głównym czynnikiem ograniczającym występowanie przypadków zatruc pokarmowych w naszych domach.

## Literatura

- [1] Bechanko R, Hitt N, O'Malley K, Charnauski T: Are we aware of microbial hotspots in our household?. *J Environ Health*, 75(2), 12, 2017.
- [2] Otu-Bassey I B, Ewaoche I S, Okon B F, Ibor U A: Microbial Contamination of Household Refrigerators in Calabar Metropolis-Nigeria. *AJEID*, 5(1), 1-7, 2017.
- [3] Kennedy J, Jackson V, Blair I S, McDowell D A, Cowan C i wsp.: Food safety knowledge of consumers and the microbiological and temperature status of their refrigerators. *J Food Prot*, 68(7), 1421-1430, 2005.
- [4] Flores G E, Bates S T, Caporaso J G, Lauber C L, Leff J W i wsp.: Diversity, distribution and sources of bacteria in residential kitchens. *Environ Microbiol*, 15(2), 588-596, 2013.
- [5] Catellani P, Scapin R M, Alberghini L, Radu I L, Giaccone V: Levels of microbial contamination of domestic refrigerators in Italy. *Food control*, 42, 257-262, 2014.
- [6] Oluwafemi F, Akpoguma S, Oladiran T, Kolapo A: Microbiological quality of household refrigerators in three cities south-west of Nigeria. *J Microb Biochem Technol*, 7(4), 206-209, 2015.
- [7] Bharathirajan R, Gopinathan R, Prakash M: Microbial management of household cold storage exploratory study in Jeddah, Saudi Arabia. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 1, 50-55, 2012.
- [8] James C, Onarinde B A, James S J: The use and performance of household refrigerators: a review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 16(1), 160-179, 2017.
- [9] Kumar M R, Apurva B, Osborne J W: Isolation of various bacterial pathogens from domestic refrigerators. *Asian J Pharm Clin Res*, 5(3), 151-153, 2012.
- [10] Kilonzo-Nthenge A, Chen F C, Godwin S L: Occurrence of *Listeria* and *Enterobacteriaceae* in domestic refrigerators. *J Food Prot*, 71(3), 608-612, 2008.
- [11] Chen F C, Godwin S L, Kilonzo-Nthenge A: Relationship between cleaning practices and microbiological contamination in domestic kitchens. *Food Prot Trends*, 31(11), 2011.
- [12] US Food and Drug Administration: Preventing *Listeria* Infections: What You Need to Know.



<https://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM079778.pdf>  
[dostęp: 08.12.2017], 2017.

- [13] Macias-Rodriguez M E, Navarro-Hidalgo V, Linares-Morales J R, Olea-Rodriguez M A, Villarruel-López A i wsp.: Microbiological safety of domestic refrigerators and the dishcloths used to clean them in Guadalajara, Jalisco, Mexico. *J Food Prot*, 76(6), 984-990, 2013.
- [14] Kampmann Y, Klingshirn A, Kloft K, Kreyenschmidt J: The application of ionizers in domestic refrigerators for reduction in airborne and surface bacteria. *J Appl Microbiol*, 107(6), 1789-1798, 2009.
- [15] Jeon Y S, Chun J, Kim B S: Identification of household bacterial community and analysis of species shared with human microbiome. *Curr Microbiol*, 67(5), 557-563, 2013.
- [16] Rawat S: Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. *Asian J plant sci res*, 5(4), 47-56, 2015.

## ADSORPCJA CHLOROPROFAMU Z ROZTWORU WODNEGO NA WYBRANYCH ADSORBENTACH

Laura Frydel<sup>(1)</sup>, Beata Szczepanik<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Studenckie Koło Naukowe „Kalcyt”, Instytut Chemii, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

<sup>(2)</sup>Zakład Fizyki Chemicznej, Instytut Chemii, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

*laura.frydel@gmail.com*

### Streszczenie

Chloropofam (N-3-chlorofenylokarbaminian izopropylu) jest herbicydem stosowanym w uprawach roślin, m. in. sałaty, szpinaku, marchwi, fasoli, truskawki i pomidorów, bardzo często jest stosowany również jako inhibitor - związek hamujący kiełkowanie, szczególnie w uprawach ziemniaków. Jego łatwość rozpadu do pochodnych chlorowych aniliny, wykazujących działanie szkodliwe dla środowiska naturalnego, sprawia, że poszukuje się dobrych i tanich metod usuwania chloropofamu i produktów jego rozkładu ze środowiska, szczególnie z wód gruntowych i ścieków. Wśród metod usuwania zanieczyszczeń organicznych jedną z bardziej skutecznych metod jest adsorpcja. W związku z tym istotne są badania materiałów, które mogą zostać zastosowane jako naturalne, tanie i efektywne adsorbenty. Często wykorzystywane są w tym celu węgle aktywne oraz minerały ilaste, które mogą być odpowiednio modyfikowane.

W badaniach adsorpcji chloropofamu z roztworu wodnego zastosowano adsorbenty haloizytowe i węglowe. Zbadano wpływ stężenia roztworów chloropofamu, masy adsorbentu oraz czasu kontaktu na adsorpcję chloropofamu z fazy wodnej. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że badane adsorbenty: surowy minerał haloizytowy, haloizyt aktywowany kwasem siarkowym(VI) oraz węgiel aktywny WG 15 można zastosować do usuwania chloropofamu z roztworu wodnego. Węgiel WG 15 wykazał najwyższe zdolności adsorpcyjne w porównaniu z adsorbentami haloizytowymi. Aktywacja kwasem siarkowym(VI) haloizytu zwiększyła zdolności adsorpcyjne tego adsorbentu.

### Wprowadzenie

Chloropofam jest stosowany jako herbicyd, insektycyd oraz jako inhibitor kiełkowania, szczególnie w uprawach ziemniaków [1-11]. Podczas stosowania chloropofamu jako

rozpuszczalników używa się metanolu lub dichlorometanu, które są niebezpieczne dla ludzi i środowiska naturalnego, ponieważ są lotne i łatwo przedostają się do gleby [1]. Chloroprofam należy do grupy insektycydów karbaminianowych, które stanowią ok. 11% wszystkich środków owadobójczych na całym świecie [1]. Anilina i pochodne chlorowe, które stosuje się w produkcji poliuretanów, barwników, dodatków gumowych, farmaceutyków, herbicydów oraz pestycydów, są związkami toksycznymi o wysokiej trwałości, dużej dyfuzji i niskiej naturalnej biodegradacji [12, 13]. Ich intensywne stosowanie powoduje gromadzenie się tych związków w glebach i wodach pochodzących z rolnictwa, ściekach i osadach przemysłowych [13, 14]. Zarówno chloroprofam, jak i 3-chloroanilina, będąca produktem jego rozkładu, uważane są za związki toksyczne. 3-Chloroanilina jest również potencjalną substancją kancerogenną [2]. Do usuwania czynników szkodliwych dla środowiska, takich jak np. pochodne aniliny, wykorzystuje się następujące metody: fotolizę (rozpad pod wpływem światła), utlenianie, adsorpcję, biodegradację oraz inne procesy [12-16].

Jednym z często stosowanych, skutecznych i tanich sposobów usuwania zanieczyszczeń organicznych jest proces adsorpcji. Wciąż poszukuje się skutecznych, naturalnych, ale również stosunkowo tanich adsorbentów. Do usuwania pochodnych chlorowych aniliny ze środowiska wodnego stosowano wiele adsorbentów, m.in.: węgiel aktywny oraz adsorbenty glinokrzemianowe [12, 16].

Węgiel aktywny jest skutecznym adsorbentem, gdyż posiada dużą powierzchnię właściwą i dobrze rozwiniętą strukturę porowatą [16]. Jest wykorzystywany do oczyszczania gleby z pestycydów, będących pochodnymi chlorowymi aniliny oraz polichlorowanych bifenyli (PCB). Zapobiega przenikaniu tych substancji do wód gruntowych i zbiorników powierzchniowych, dzięki czemu przeciwdziała gromadzeniu się ich w rybach (bioakumulacja). Stosowanie niewielkich dawek węgla aktywnego w powłokach nasiennych lub na gruntach rolnych zmniejsza skutki stosowania dużej ilości trwałych herbicydów i pozwala na otrzymanie ekologicznie czystych produktów w skażonych glebach [17]. Zwiększona hydrofobowość powierzchni węgla powoduje dużą zdolność adsorpcyjną w odniesieniu do wielu hydrofobowych cząsteczek organicznych, m.in. pochodnych chlorowych aniliny, których rozmiary cząsteczek pozwalają przenikać im do większości mikroporów węgla [17]. Mimo, że węgiel aktywny jest adsorbentem często stosowanym do oczyszczania wody i ścieków, jego użycie jest ograniczone ze względu na koszt [18]. Duże nadzieje wiąże się z naturalnymi glinokrzemianami, takimi jak np. ziemia Fullera, czyli aktywowany, naturalny montmorylonit. Jest ona tania i może być wykorzystywana do adsorpcji toksycznych substancji chemicznych [19]. Jako adsorbenty stosuje się również inne minerały

ilaste: bentonit, haloizyt lub kaolinit [18]. Dzięki swojej dużej powierzchni właściwej, minerały ilaste, szczególnie bentonit i montmorylonit, są znane ze swoich dobrych właściwości adsorpcyjnych. Stosuje się różne metody aktywacji tych minerałów, gdyż minerały te z natury są hydrofilowe, a ich zdolność adsorpcji organicznych cząsteczek jest ograniczona. Modyfikacja tych naturalnych adsorbentów poprawia ich zdolności adsorpcyjne w przypadku zanieczyszczeń organicznych, którymi są m. in. pestycydy i pochodne aniliny [18, 20]. Badania adsorpcji pochodnych chlorowych aniliny na kaolincie i montmorylonicie wykazały, że kaolinit najlepiej adsorbuje 2,4,6-trichloroanilinę, w porównaniu do 3-chloroaniliny i 3,4-dichloroaniliny. Montmorillonit nasycony jonami  $\text{Na}^+$  wykazuje lepsze właściwości adsorpcyjne w stosunku do pochodnych chlorowych aniliny w porównaniu z kaolinitem, co może być związane z różnym mechanizmem adsorpcji [20].

Haloizyt należy do minerałów z grupy kaolinitu. Mineral ten posiada ten sam chemiczny skład chemiczny jak kaolinit, jednak ma większą od niego zawartość wody [21], dlatego jest uważany za uwodnioną fazę kaolinitową [22]. Wzór strukturalny haloizytu jest następujący:  $\text{Al}_2(\text{OH})_4\text{Si}_2\text{O}_5 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , gdzie  $n$  jest równe 2 dla haloizytu 10Å i 0 dla haloizytu 7Å [23]. Haloizyt jest minerałem ilastym o budowie nanorurkowej, składającym się z naprzemiennie ułożonych warstw tetraedrów krzemionki  $\text{SiO}_2$  i oktaedrów tlenku glinu  $\text{Al}_2\text{O}_3$  [24]. Każda z tych dwóch warstw jest oddzielona jedną warstwą składającą się z cząsteczek wody. Chemiczny skład haloizytu ulega niewielkim wahaniom, ze względu na obecność w jego budowie zanieczyszczeń, związanych z obecnością innych minerałów ilastych lub tlenków żelaza, takich jak hematyt lub maghemit oraz z reakcjami podstawienia jonów  $\text{Fe}^{3+}$  zamiast  $\text{Al}^{3+}$  w warstwie oktaedrycznej. Jako zanieczyszczenie haloizytu mogą występować również niewielkie ilości tytanu, które są przypisywane tlenkom tytanu, np. anatazowi [21].

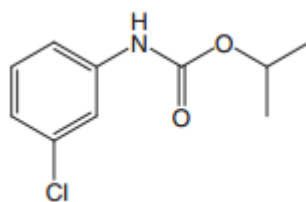
Haloizyt jest bardzo często używany w produkcji wyrobów porcelanowych, jak i dodatków wypełniających w tworzywach sztucznych oraz polimerach [21, 24]. W ostatnich latach jest coraz częściej stosowany w przemyśle i ochronie środowiska jako materiał adsorpcyjny w biofiltrach oraz wykorzystuje się go w oczyszczalniach ścieków [25].

Celem przedstawionych badań było poszukiwanie nowych adsorbentów chloroprofamu z roztworu wodnego, które będą jednocześnie dobrze adsorbowały ten związek oraz będą tanie i nieszkodliwe dla środowiska. Do badań wybrano adsorbenty haloizytowe oraz węglowe. Zbadano wpływ masy adsorbentu, stężenia roztworów chloroprofamu oraz czasu kontaktu z adsorbentem na proces adsorpcji tego związku.

## Metodyka badań

### Materiały i odczynniki

W badaniach wykorzystano następujące odczynniki i materiały: chloroprofam (N-3-chlorofenylokarbaminian izopropylu) ~95% (Fluka), którego wzór strukturalny przedstawia **Rysunek 1**, nanorurki haloizytowe (halloysite nanoclay) (Sigma-Aldrich), węgiel aktywny WG15 (GryfSkand Hajnówka, Gryfino), haloizyt surowy z kopalni „Dunino” koło Legnicy, tert-butanol (Merck), kwas siarkowy(VI) – min. 96% (Avantor Performance Materials Poland S.A.), sacharoza, woda destylowana.



**Rysunek 1.** Wzór strukturalny chloroprofamu [1].

Źródło: opracowanie własne

### Aparatura

Spektrofotometr UV-ViS Shimadzu UV-1800 - rejestracja widm w zakresie UV-ViS roztworów chloroprofamu przed i po adsorpcji.

### Preparatyka adsorbentów

Haloizyt surowy po przesianiu przemywano wodą z sieci wodociągowej, a następnie wodą dejonizowaną w celu pozbycia się zanieczyszczeń oraz suszono w temperaturze 80°C przez 24 godz., a następnie rozdrabniano w młynie kulowym i przesiewano do uzyskania frakcji 0,4 – 0,63 mm.

### Haloizyt aktywowany 50% m/m kwasem siarkowym(VI)

Do naważki o masie 250 g wstępnie oczyszczonego haloizytu surowego dodano 800 cm<sup>3</sup> 50% m/m kwasu siarkowego(VI). Mieszaninę ogrzewano w temperaturze 50°C przez 1 godzinę z równoczesnym mieszaniem. Następnie po zdekantowaniu roztworu haloizyt przemywano wodą destylowaną aż do osiągnięcia pH wody ok. 5. Aktywowany haloizyt suszono w temperaturze 80°C przez 24 godziny. Po wysuszeniu haloizyt zmielono i przesiano na sitach w celu otrzymania frakcji 0,4 – 0,63 mm.

### Adsorpcja chloroprofamu na wybranych adsorbentach

Podczas badań stosowano roztwory wodne chloroprofamu o stężeniach w zakresie od 50 mg/dm<sup>3</sup> do 200 mg/dm<sup>3</sup> (haloizyt surowy HS i aktywowany kwasem siarkowym(VI) H50 oraz węgiel aktywny WG 15) oraz od 80 mg/dm<sup>3</sup> do 200 mg/dm<sup>3</sup> (komercyjne nanorurki haloizytowe HNT). Masy adsorbentów wynosiły 0,2 g i 2 g (haloizyt surowy HS, haloizyt trawiony kwasem siarkowym(VI) H50 oraz nanorurki haloizytowe HNT) oraz 0,1 g, 0,05 g i 0,01 g (węgiel aktywny WG 15).

Odważone adsorbenty glinokrzemianowe (haloizyt surowy i aktywowany kwasem oraz nanorurki haloizytowe) umieszczano w kolbie stożkowej w określonej objętości wody destylowanej i wytrząsano przez 24 godziny, następnie dodawano określoną objętość roztworu chloroprofamu i wytrząsano przez kolejne 24 godziny. Węgiel aktywny WG15 stosowano bez wstępnego moczenia w wodzie destylowanej. Po 24 godzinnym czasie kontaktu adsorbentów z roztworem chloroprofamu, po odwirowaniu i odfiltrowaniu adsorbentów, mierzono absorbancję roztworu chloroprofamu przy długości fali 276 nm wykorzystując spektrofotometr UV-ViS w kuwetach kwarcowych o grubości warstwy 1 cm. Jako roztwór odniesienia stosowano wodę destylowaną.

Stopień adsorpcji chloroprofamu ( $R$ , %) obliczano na podstawie równania:

$$R = \left( \frac{C_0 - C_e}{C_0} \right) \cdot 100\%$$

gdzie:  $C_0$  – stężenie początkowe (mg/dm<sup>3</sup>),  $C_e$  – stężenie równowagowe (mg/dm<sup>3</sup>)

Stężenie równowagowe chloroprofamu wyznaczano na podstawie zależności:

$$c_e = \frac{A}{A_0} \cdot c_0$$

gdzie:  $A$  - absorbancja roztworu badanego, mierzona przy długości fali 276 nm,  $A_0$  - absorbancja roztworu wzorcowego mierzona przy tej samej długości fali.

Pojemność adsorpcyjną  $q_e$  obliczano na podstawie następującego równania:

$$q_e = \frac{(c_0 - c_e) \cdot V}{m}$$

gdzie:  $V$  - objętość roztworu chloroprofamu (dm<sup>3</sup>),  $m$  - masa adsorbentu.

## Wyniki i dyskusja

### Charakterystyka adsorbentów haloizytowych

Skład chemiczny adsorbentów haloizytowych oznaczono techniką fluorescencji rentgenowskiej z dyspersją fali (WDXRF) [26]. Wyniki przedstawiono w Tabeli 1. Skład chemiczny haloizytu surowego HS jest typowy dla minerałów ilastych, z wyjątkiem wysokiej

zawartości  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Aktywowanie haloizytu kwasem siarkowym(VI) powoduje znaczne zmniejszenie zawartości tlenku glinu ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) i żelaza ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ): dla  $\text{Al}_2\text{O}_3$  z 36,95% do 26,44%, dla  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  z 16,1% do 8,2%. W przypadku pozostałych tlenków ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$  i  $\text{CaO}$ ) ich zawartość maleje w wyniku trawienia kwasem bardzo nieznacznie.

**Tabela 1.** Skład chemiczny adsorbentów haloizytowych HS i H50 otrzymany metodą WDXRF [26]

Adsorbent	$\text{SiO}_2$	$\text{Al}_2\text{O}_3$	$\text{Fe}_2\text{O}_3$	$\text{TiO}_2$	$\text{Na}_2\text{O}$	$\text{MgO}$	$\text{K}_2\text{O}$	$\text{CaO}$
	[%]							
HS	39,57	36,95	16,44	2,51	0,04	0,13	0,05	0,66
H50	49,29	26,44	11,71	2,50	0,03	0,09	0,05	0,17

Źródło: opracowanie własne.

### Adsorpcja chloroprofamu

#### Wpływ masy adsorbentu na adsorpcję chloroprofamu

Zbadano wpływ masy adsorbentu na proces adsorpcji chloroprofamu dla następujących adsorbentów: surowego haloizytu HS, haloizytu aktywowanego kwasem siarkowym(VI) H50, nanorurek haloizytowych HNT oraz węgla WG15. Wyniki przedstawiono na rysunkach 2-5.

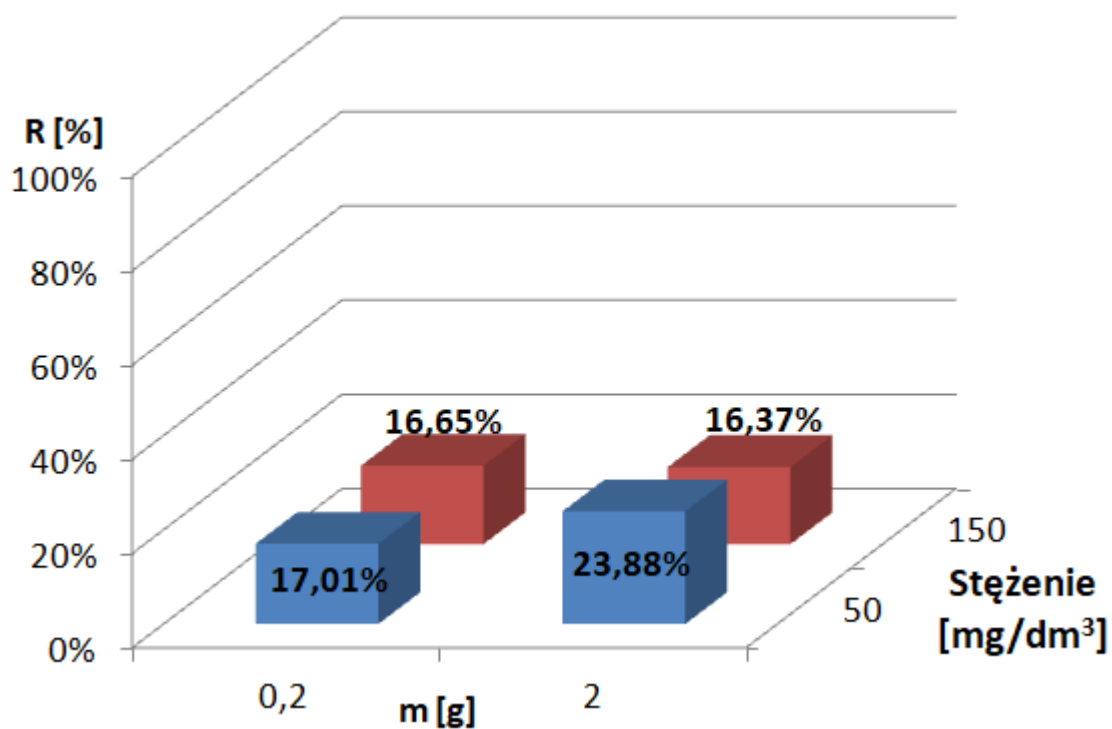
Dla roztworu chloroprofamu o stężeniu  $50 \text{ mg/dm}^3$  stopień adsorpcji na adsorbencie HS (haloizyt surowy) rośnie ze wzrostem masy adsorbentu (masa adsorbentu 0, 2 g i 2 g) od ok. 17% do ok. 24%, zaś dla roztworu chloroprofamu o stężeniu  $150 \text{ mg/dm}^3$  masa adsorbentu nie ma znaczącego wpływu na stopień adsorpcji chloroprofamu (16,7% i 16,4%) (Rysunek 2).

Aktywacja haloizytu surowego kwasem siarkowym(VI) poprawiła zdolności adsorpcyjne tego adsorbentu. Stopień adsorpcji dla roztworu chloroprofamu o stężeniu  $50 \text{ mg/dm}^3$  rośnie ze wzrostem masy adsorbentu (masa adsorbentu 0,2 g i 2 g) od 19,3% do 28,5%, zaś dla roztworu chloroprofamu o stężeniu  $150 \text{ mg/dm}^3$  od 20,5% do 30,9% (Rysunek 3).

W przypadku adsorbentu HNT (komercyjne nanorurki haloizytowe) zarówno dla roztworów o stężeniu  $80 \text{ mg/dm}^3$ , jak i  $150 \text{ mg/dm}^3$ , stopień adsorpcji jest znacznie mniejszy niż dla adsorbentów HS i H50: 6,7% i 8,4% - stężenie roztworu  $80 \text{ mg/dm}^3$ , masa adsorbentu 0,2 g oraz 10,4% i 10,2% - stężenie roztworu  $150 \text{ mg/dm}^3$ , masa adsorbentu 2 g (Rysunek 4). Wartości te wskazują, że zwiększenie masy adsorbentu nie wpływa znacząco na wartość stopnia adsorpcji chloroprofamu z roztworu wodnego.

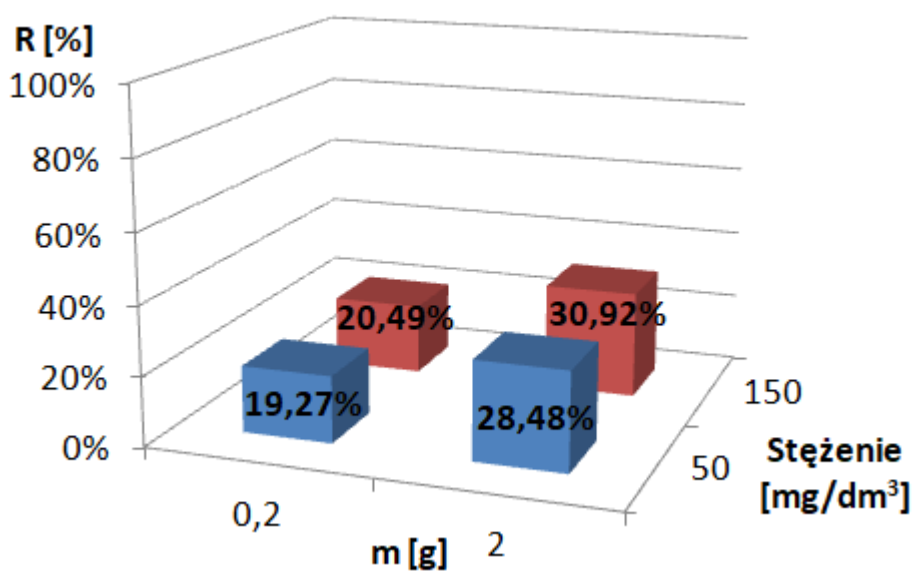
W przypadku węgla aktywnego WG15 stopień adsorpcji był najwyższy dla masy adsorbentu 0,05 g (94,2%) dla roztworów chloroprofamu o stężeniu  $50 \text{ mg/dm}^3$ , dla roztworów

o stężeniu  $150 \text{ mg/dm}^3$  stopień adsorpcji osiągnął wartość  $97,3\%$  dla masy adsorbentu wynoszącej  $0,1 \text{ g}$  (Rysunek 5).



**Rysunek 2.** Stopień adsorpcji chloropofamu na adsorbencie HS w funkcji masy adsorbentu

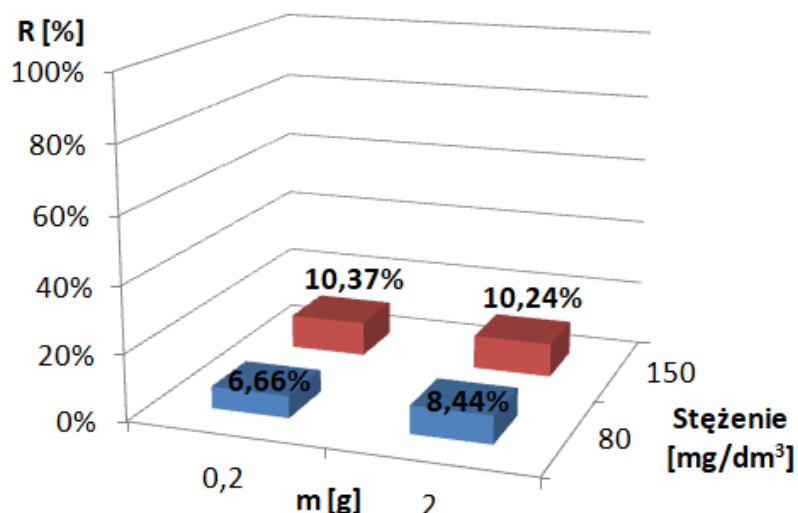
Źródło: opracowanie własne



**Rysunek 3.** Stopień adsorpcji chloropofamu na adsorbencie H50 w funkcji masy adsorbentu.

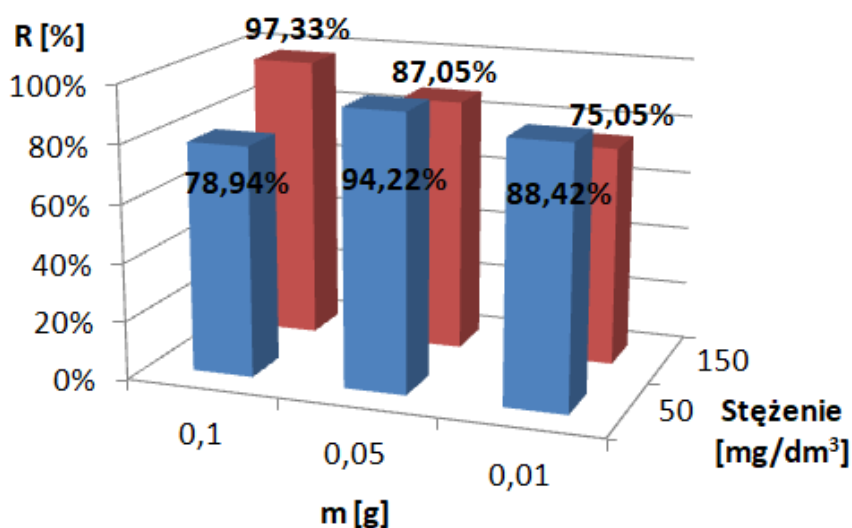
Źródło: opracowanie własne





**Rysunek 4.** Stopień adsorpcji chloropropofamu na adsorbencie HNT w funkcji masy adsorbentu.

Źródło: opracowanie własne



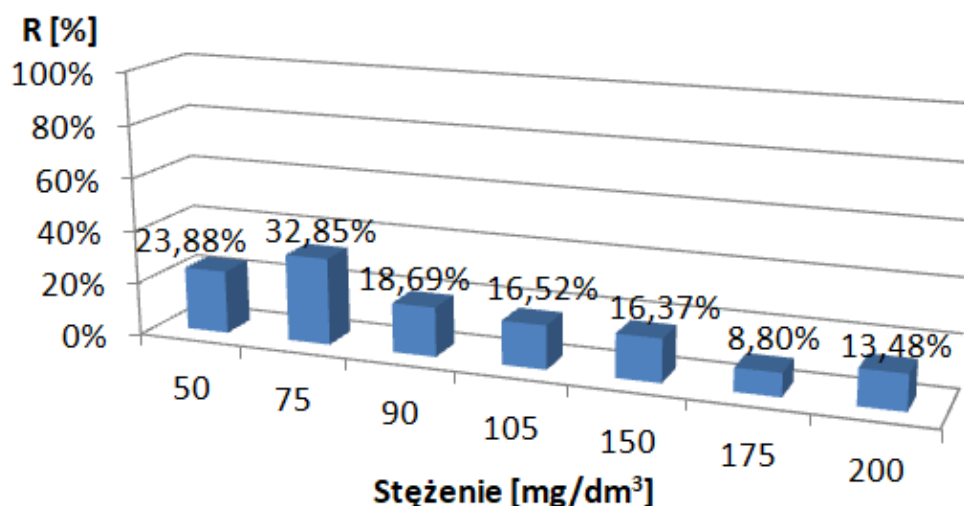
**Rysunek 5.** Stopień adsorpcji chloropropofamu na adsorbencie WG 15 w funkcji masy adsorbentu

Źródło: opracowanie własne

#### Wpływ stężenia roztworu chloropropofamu na proces adsorpcji

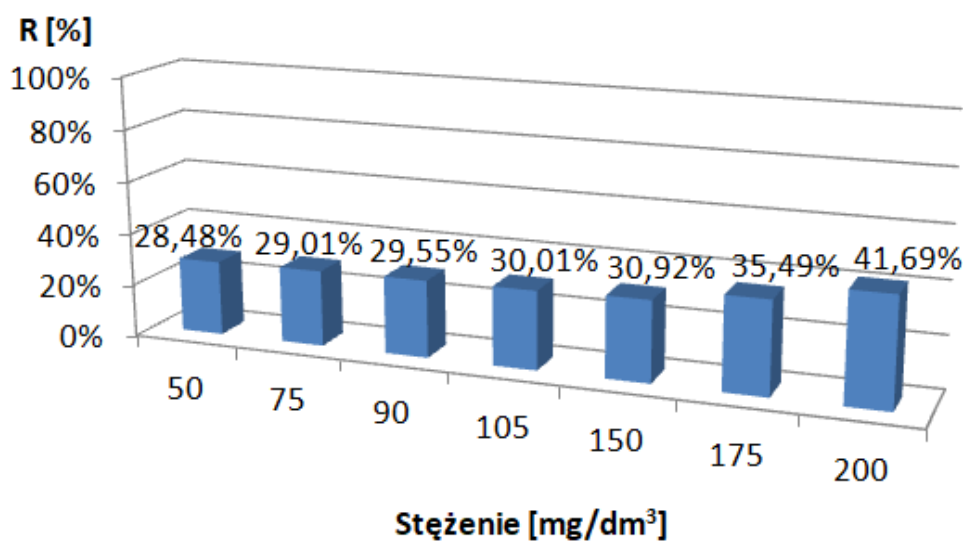
Wyniki badania wpływu stężenia na proces adsorpcji chloropropofamu z roztworu wodnego przedstawiono na Rysunkach 6-9. W przypadku adsorbentu HS stopień adsorpcji chloropropofamu był największy (32,85%) dla stężenia roztworu 75 mg/dm<sup>3</sup> (Rysunek 6). Adsorbent H50 wykazał znacznie lepsze zdolności adsorpcyjne w porównaniu z adsorbentem HS. Wraz ze wzrostem stężenia roztworu stopień adsorpcji zwiększał się aż do osiągnięcia

wartości 41,7% dla stężenia roztworu 200 mg/dm<sup>3</sup> (Rysunek 7). Stopień adsorpcji chloropofamu na adsorbencie HNT osiągnął wartość największą 10,2% dla stężenia roztworu 150 mg/dm<sup>3</sup> (Rysunek 8). Stopień adsorpcji chloropofamu na adsorbencie WG15 w całym zakresie stężeń roztworów chloropofamu był znacznie wyższy niż dla adsorbentów haloizytowych osiągając wartości w zakresie od 75% do ok. 90% dla stężenia 50 mg/dm<sup>3</sup> (Rysunek 9).



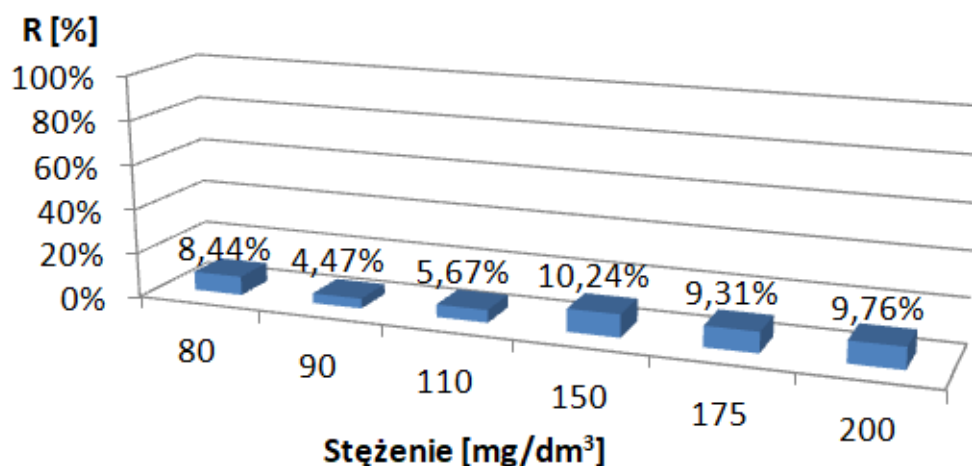
**Rysunek 6.** Stopień adsorpcji chloropofamu na adsorbencie HS (masa 2g) w funkcji stężenia adsorbentu

Źródło: opracowanie własne



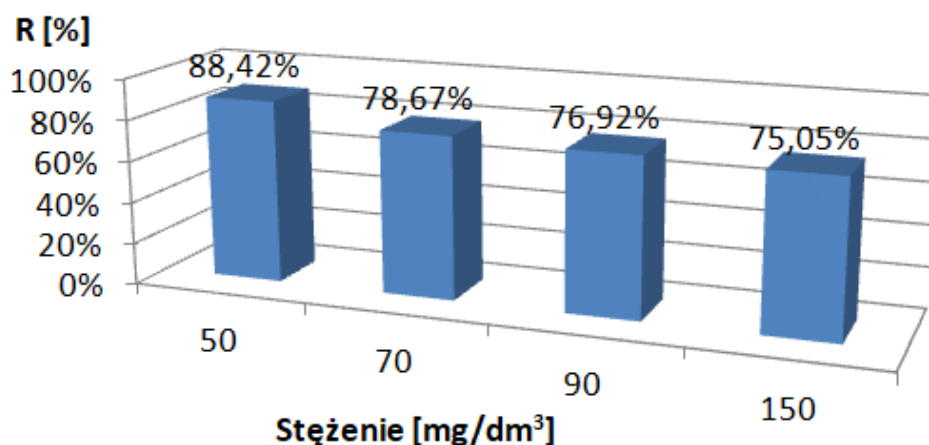
**Rysunek 7.** Stopień adsorpcji chloropofamu na adsorbencie H50 (masa 2g) w funkcji stężenia adsorbentu.

Źródło: opracowanie własne



**Rysunek 8.** Stopień adsorpcji chloropofamu na adsorbencie HNT (masa 2g) w funkcji stężenia adsorbentu

Źródło: opracowanie własne



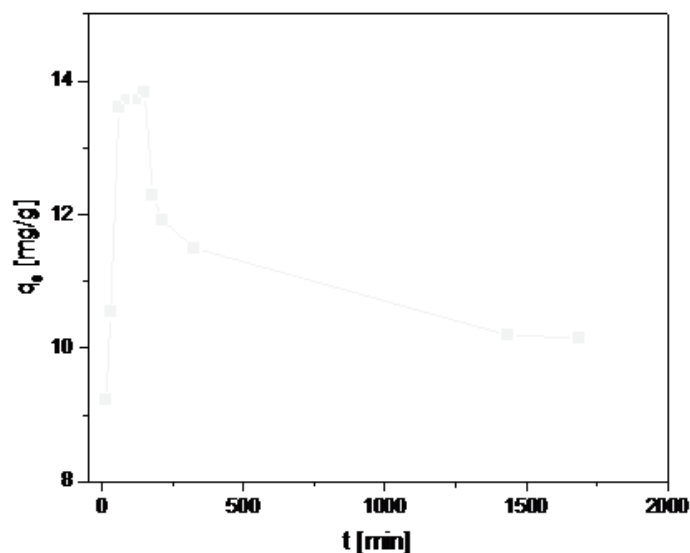
**Rysunek. 9.** Stopień adsorpcji chloropofamu na adsorbencie WG 15 (masa 0,01 g) w funkcji stężenia adsorbentu.

Źródło: opracowanie własne

#### Wpływ czasu kontaktu na proces adsorpcji chloropofamu

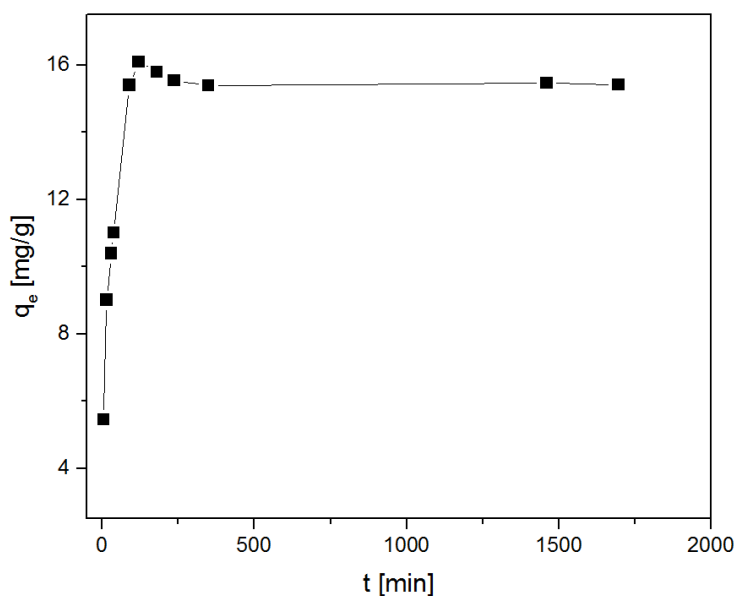
Badania wpływu czasu kontaktu na adsorpcję chloropofamu przeprowadzono dla haloizytu surowego HS, aktywowanego kwasem siarkowym(VI) H50 oraz dla węgla aktywnego WG15. Wyniki przedstawiono na rysunkach 10, 11 i 12. W przypadku adsorbentu HS pojemność adsorpcyjna osiąga maksymalną wartość po 180 minutach, następnie spada i osiąga praktycznie stałą wartość po 24 godzinach (ustala się stan równowagi) (Rysunek 10). Dla adsorbentu H50 pojemność adsorpcyjna osiąga maksymalną wartość również po 180 minutach, ale potem maleje w znacznie mniejszym stopniu w porównaniu z adsorbentem HS i stan równowagi również ustala się po 24 godzinach (Rysunek 11). W przypadku adsorbentu

WG15 pojemność adsorpcyjna szybko rośnie w przedziale od 5 do 300 minut, a stan równowagi jest osiągnięty po 24 godzinach (rys. 12). Przebieg zależności pojemności adsorpcyjnej od czasu kontaktu w przypadku adsorbentu HS i WG15 jest różny, co sugeruje inny mechanizm adsorpcji w przypadku tych adsorbentów.



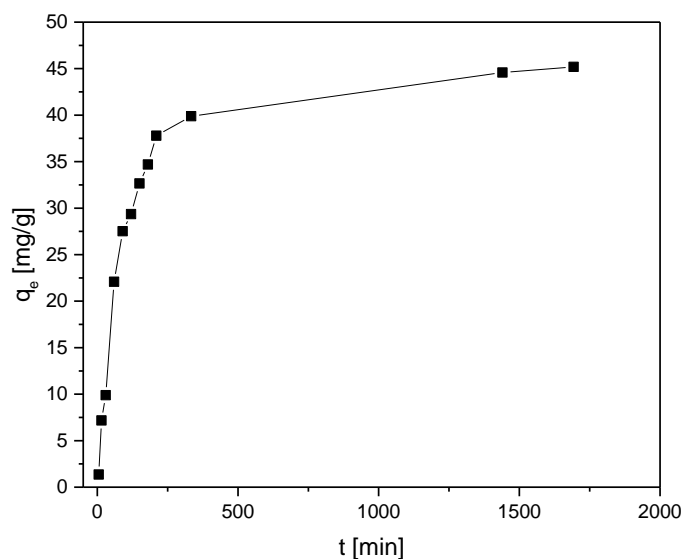
**Rysunek 10.** Zależność pojemności adsorpcyjnej  $q_e$  dla chloroprofamu od czasu kontaktu z adsorbentem haloizytowym HS (masa adsorbentu 2 g)

Źródło: opracowanie własne



**Rysunek 11.** Zależność pojemności adsorpcyjnej  $q_e$  dla chloroprofamu od czasu kontaktu z adsorbentem haloizytowym H50 (masa adsorbentu 2 g)

Źródło: opracowanie własne



**Rysunek 12.** Zależność pojemności adsorpcyjnej  $q_e$  dla chloroprofamu od czasu kontaktu z adsorbentem węglowym WG 15 (masa adsorbentu 0,1 g)

Źródło: opracowanie własne

## Podsumowanie

Węgiel aktywny WG 15 okazał się najlepszym adsorbentem chloroprofamu z roztworu wodnego. Adsorbenty glinokrzemianowe – haloizyt surowy oraz komercyjne nanorurki haloizytowe wykazały znacznie słabsze właściwości adsorpcyjne w porównaniu do węgla aktywnego, przy czym haloizyt surowy adsorbował chloroprofam prawie dwukrotnie lepiej niż komercyjne nanorurki haloizytowe. Aktywacja haloizytu surowego kwasem siarkowym(VI) pozwoliła na poprawienie właściwości adsorpcyjnych tego minerału w odniesieniu do chloroprofamu w porównaniu z haloizytem surowym.

Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, że stopień adsorpcji chloroprofamu z roztworu wodnego na badanych adsorbentach maleje w następującej kolejności:

węgiel WG15 >> haloizyt aktywowany  $H_2SO_4$  H50 > haloizyt surowy HS > nanorurki haloizytowe HNT

## Literatura

- [1] Smith M J, Bucher G.: Tools to study the degradation and loss of the N-phenyl carbamate chloroprofamide — A comprehensive review. *Environ Int.*, 49, 38-50, 2012.
- [2] Smith M J, Müller S, Sander W, Bucher G.: Mechanisms of the thermal decay of

- chlorpropham. *J. Hazard Mater.*, 246-247, 154-162, 2013.
- [3] David B, Lhote M, Faure V, Boule P.: Ultrasonic and photochemical degradation of chlorpropham and 3-chloroaniline in aqueous solution. *Wat Res.*, 32(8), 2451-2461, 1998.
- [4] Fujitani T, Tada Y, Fujii A, Kimura M, Yoneyama M.: Subchronic Toxicity of Chlorpropham (CIPC) in ICR Mice. *Food Chem Toxicol.*, 38(7), 617-625, 2000.
- [5] Lu Z, Donner E, Yada R Y, Liu Q.: Impact of  $\gamma$ -irradiation, CIPC treatment, and storage conditions on physicochemical and nutritional properties of potato starches. *Food Chem.*, 133(4), 1188-1195, 2012.
- [6] Blenkinsop R W, Copp L J, Yada R Y, Marangoni A G.: Effect of chlorpropham (CIPC) on carbohydrate metabolism of potato tubers during storage. *Food Res Int.*, 35(7), 651-655, 2002.
- [7] Nagami H.: Residues of Maleic Hydrazide and Chlorpropham in Potato Chips. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 58(5), 764-768, 1997.
- [8] Daniels-Lake B J, Prange R K, Kalt W, Walsh J R.: Methods to minimize the effect of ethylene sprout inhibitor on potato fry colour. *Potato Res.*, 49(4), 303-326, 2006.
- [9] Franzaring J, Kempenaar C, Van Der Eerden L J M.: Effects of vapours of chlorpropham and ethofumesate on wild plant species. *Environ Pollut.*, 114(1), 21-28, 2001.
- [10] Carrera G, Alary J, Melgar M J, Lamboeuf Y, Pipy B.: Metabolism and Cytotoxicity of Chlorpropham (CIPC) and Its Essential Metabolites in Isolated Rat Hepatocytes During a Partial Inhibition of Sulphation and Glucuronidation Reactions: A Comparative Study. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 35(1), 89-96, 1998.
- [11] Fujitani T, Tada Y, Noguchi A, Yoneyama M.: Effects of chlorpropham (CIPC) on the hemopoietic system of rats. *Food Chem Toxicol.*, 39(3), 253-259, 2001.
- [12] Szczepanik B, Słomkiewicz P, Garnuszek M, Czech K.: Adsorption of chloroanilines from aqueous solutions on the modified halloysite. *Appl Clay Sci.*, 101, 260-264, 2014.
- [13] Hongsawat P, Vangnai A S.: Biodegradation pathways of chloroanilines by *Acinetobacter baylyi* strain GFJ2. *J Hazard Mater.*, 186(2-3), 1300-1307, 2011.
- [14] Zhu L, Lv M, Dai X, Xu X, Qi H i wsp.: Reaction kinetics of the degradation of chloroanilines and aniline by aerobic granule. *Biochem Eng J.*, 68, 215-220, 2012.

- [15] Adrian P, Andreux F, Viswanathan R, Freitag D, Scheunert I.: Fate of anilines and related compounds in the environment. A review. *Toxicol Environ Chem.*, 20-21(1), 109-120, 1989.
- [16] [16] Fu-Qiang A, Dong Z, Xiao-Xia Y, Guo-Li O, Jian-Feng G i wsp.: Effective removal of anilines using porous activated carbon based on ureaformaldehyde resin. *Korean J Chem Eng.*, 33(2), 576-581, 2016.
- [17] [17] Bakhaeva L P, Vasilyeva G K, Surovtseva E G, Mukhin V M.: Microbial degradation of 3,4-dichloroaniline sorbed by activated carbon. *Microbiology.*, 70(3), 277-284, 2001.
- [18] [18] Ahammed Shabeer T P, Saha A, Gajbhiye V T, Gupta S, Manjaiah K M i wsp.: Exploitation of nano-bentonite, nano-halloysite and organically modified nano-montmorillonite as an adsorbent and coagulation aid for the removal of multi-pesticides from water: A sorption modelling approach. *Water Air Soil Pollut.*, 226(3), 1-14, 2015.
- [19] [19] Thakur P, Garg R K.: New developing reagent for latent fingermark visualization: Fuller's earth (Multani Mitti). *Egypt J Foren Sci.*, 6(4), 449-458, 2016.
- [20] [20] Angioi S, Polati S, Roz M, Rinaudo C, Gianotti V i wsp.: Sorption studies of chloroanilines on kaolinite and montmorillonite. *Environ Pollut.*, 134(1), 35-43, 2005.
- [21] Szczepanik B, Słomkiewicz P, Garnuszek M, Czech K, Banaś D i wsp.: The effect of chemical modification on the physico-chemical characteristics of halloysite: FTIR, XRF, and XRD studies. *J Mol Struct.*, 1084, 16-22, 2015.
- [22] Grabka D, Raczyńska-Żak M, Czech K, Słomkiewicz P M, Józwiak M A.: Modified halloysite as an adsorbent for prometryn from aqueous solutions. *Appl Clay Sci.*, 114, 321-329, 2015.
- [23] Shu Z, Chen Y, Zhou J, Li T, Sheng Z i wsp.: Preparation of halloysite-derived mesoporous silica nanotube with enlarged specific surface area for enhanced dye adsorption. *Appl Clay Sci.*, 132-133, 114-121, 2016.
- [24] Słomkiewicz P M, Szczepanik B, Garnuszek M.: Determination of adsorption isotherms of aniline and 4-chloroaniline on halloysite adsorbent by inverse liquid chromatography. *Appl Clay Sci.*, 114, 221-228, 2015.
- [25] Banaś D, Kubala-Kukuś A, Braziewicz J, Majewska U, Pajek M, i wsp.: Study of properties of chemically modified samples of halloysite mineral with X-ray fluorescence and X-ray powder diffraction methods. *Radiat Phys Chem.*, 93, 129-134, 2013.
- [26] Szczepanik B, Słomkiewicz P, Garnuszek M, Czech K.: Adsorption of chloroanilines from aqueous solutions on the modified halloysite. *App Clay Sci.*, 101, 260-264, 2014.

## PTASZYNIEC KURZY (*DERMANYSSUS GALLINAE*) – ZAGROŻENIE W PRODUKCJI DROBIARSKIEJ

Monika Wiśniewska<sup>(1)</sup>, Jakub Ceregrzyn<sup>(1)</sup>, Ewelina Misiec<sup>(1)</sup>, Patrycja  
Chabroszewska<sup>(1)</sup>, Angelika Gryta<sup>(1)</sup>, Justyna Batkowska<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Sekcja Hodowli Drobiu Studenckiego Koła Naukowego Biologów i Hodowców Zwierząt, Wydział Biologii,  
Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie\*

<sup>(2)</sup>Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki,  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

justyna.batkowska@up.lublin.pl

### Streszczenie

Celem artykułu było zwrócenie uwagi na problem, który dotyka znaczną część ferm drobiu tj. inwazji jednego z najczęściej spotykanych pasożytów zewnętrznych ptaków. Jest nim ektopasożyt zwany ptaszyńcem kurzym (*Dermanyssus gallinae*). Praca przybliży charakterystykę biologiczną pasożyta, jego cykl rozwojowy oraz objawy wywoływane u żywiciela, które umożliwiają rozpoznanie inwazji. Wskazano także ekonomiczne skutki inwazji *D. gallinae* w fermach kur nieśnych w krajach UE, jej wpływ na jakość surowców drobiarskich, ich ilość i cenę, w aspekcie możliwej akumulacji akarycydów i konieczności zapewnienia bezpieczeństwa konsumentów.

### Wprowadzenie

Obecnie jednym z najbardziej rozpowszechnionych i uciążliwych ektopasożytów drobiu jest ptaszyniec kurzy, *Dermanyssus gallinae* (De Geer 1778, gromada: Arachnoidea, rząd: Acarina, podrząd: Mesostigmata, rodzina: Gamasidae, rodzaj: *Dermanyssus*) zwany inaczej czerwonym roztoczem (ang. poultry red mite, PRM). Nazwa pasożyt pochodzi od greckiego słowa *parasitos* – współbiesiadnik, darmozjad. Z definicji pasożyt wywiera negatywny wpływ na swojego żywiciela. *D. gallinae* bytuje na zewnętrznej powierzchni żywiciela głównie nocą i z tego względu jest klasyfikowany jako okresowy ektopasożyt.

### Charakterystyka biologiczna

Ciało samca osiąga długość 600 µm i szerokość 320 µm; samicy odpowiednio 700-

---

\* Sekcja działa pod patronatem Krajowej Rady Drobiarstwa



750  $\mu\text{m}$  i 400  $\mu\text{m}$ . Kształt *D. gallinae* jest określany jako gruszkowaty i zmienny w stosunku to ilości spożytej krwi. Jego ciało jest spłaszczone, owalne, pokryte szarym chitynowym pancerzem. W czasie wysysania krwi zmienia barwę na czerwoną. Kiedy krew jest trawiona, staje się brązowy, a jelita są wyraźniej widoczne [1]. Odwłok otoczony jest krótkimi, rzadko rozszanymi szczecinkami, nogi silnie zbudowane. Zewnętrznie jest chroniony przez chitynowy egzoszkielet, który pokrywa ciało na całej długości. W stadium larwalnym chityna jest półprzezroczysta i stosunkowo elastyczna. Hormony wydzielane przez pory wywołują jej polimeryzację i utwardzenie [2, 3]. Zewnętrzna powierzchnia egzoszkieletu jest pokryta warstwą wosku, która dodatkowo ogranicza utratę wody [4].

Przewód pokarmowy *D. gallinae* podzielony jest na trzy części. Część przednią stanowi gardło i przełyk rozciągający się od narządów gębowych do jelita środkowego. Jelito środkowe jest głównym miejscem odpowiedzialnym za trawienie. Rozszerzona powierzchnia jelita ślepego ułatwia prawidłowy przebieg procesów trawiennych oraz skraca czas transportu substancji odżywczych. PRM posiada 6 jelit ślepych umiejscowionych po bokach ciała; 4 z przodu i 2 z tyłu, wszystkie połączone w części środkowej na wysokości 3 odnóża. Komórki jelit ślepych zawierają lizosomy, gładką siateczkę endoplazmatyczną i mitochondria, co świadczy o wysokiej aktywności metabolicznej związanej z aktywnością enzymów trawiennych [4].

*D. gallinae* nie posiada oczu. Odbiera bodźce środowiskowe za pomocą wyrostków skupionych na odnóżach. Także szczęki zlokalizowane na przedniej stronie ciała pełnią ważną rolę w odbieraniu bodźców mechanicznych oraz węchowych [5] o czym świadczy zwiększony ruch PRM w odpowiedzi na wibracje i wzrost ciepła otoczenia, sugerujące obecność żywiciela [6].

### **Cykl rozwojowy**

*D. gallinae* rozwija się w środowiskach o wysokiej wilgotności. Preferuje zaciemnione, niedostępne miejsca, na przykład pęknięcia w budynkach kurników i szczeliny klatek, gdzie odbywa swój cykl rozwojowy. W cyklu wyróżnia się 5 etapów: jajo, larwa, protonimfa, deutonimfa i dojrzały osobnik. Zarówno stadia nimfy jak i dorosłego osobnika muszą żywić się krwią, zaś swojego żywiciela lokalizują odbierając bodźce takie jak sygnały chemiczne, temperatura, drgania i dwutlenek węgla [7, 8, 9]. Po posiłku nabrzmiąły roztocz, kierowany zapachem feromonów wydzielanych przez inne osobniki, wraca do kryjówki, gdzie kumulują się wszystkie pasożyty [10, 11]. W ciągu 3 dni od wysysania krwi samica składa kolejne jaja zaś ich liczba zależy od warunków środowiska. Zwykle na jeden wylęg przypada 4 - 8 jaj, a samica

w ciągu swojego życia składa około 30 jaj. Jajo jest owalne, gładkie w kolorze perłowo białym ( $400 \times 270\mu$ ). Po około 2 dniach wylęga się larwa, która w ciągu kolejnych 24 godzin ulega linieniu i przechodzi w stadium protonimfy. Deutonimfa, podobnie jak poprzednie stadia, wymaga krótkiego okresu odpoczynku, aby utwardzić pancerzyk i od razu staje się gotowa do pobierania krwi. Po kolejnym etapie i przejściu w stadium imago, osobniki męskie po krótkim czasie są gotowe go ponownego odtworzenia cyklu. Mogą kopulować z samicami, nawet jeśli te nie wyszły ze stadium nimfy.

Długość cyklu życia *D. gallinae* zależy od dostępności żywiciela, temperatury otoczenia i wilgotność względnej. Zwykle trwa około 2 tygodnie. W sprzyjających warunkach (temp. 20 – 25 °C, wilg. wzgl. >70%) może skrócić się do ok. 7 - 10 dni. W takim wypadku populacja może podwoić się w ciągu jednego tygodnia [12, 13]. W mniej sprzyjających warunkach środowiskowych jego cykl życia może zostać przedłużony, a w przypadku braku żywiciela całkowicie zahamowany.

*D. gallinae* jest bardzo odporny na niekorzystne warunki środowiskowe. Może przetrwać w oczekiwaniu na gospodarza 8 - 9 miesięcy, a w temp. 5 °C około 6 tygodni. Temperatura wynosząca poniżej -20 °C i powyżej 45 °C jest czynnikiem śmiertelnym. Na podstawie analizy genu mitochondrialnego COI (podjednostka oksydazy cytochromu 1) i genu rRNA 16S wykazano zmienność genetyczną między blisko spokrewnionymi oraz geograficznie oddalonymi gatunkami rodzaju *Dermanyssus*. Różnorodność genetyczna populacji tego gatunku może być konsekwencją rozwoju odporności na pestycydy stosowane w poszczególnych krajach lub regionach geograficznych [14, 15]. Uważa się, że z powodu zmienności genetycznej *D. gallinae* może wykazywać pewną elastyczność w stosunku do żywiciela i wykazuje tolerancję na zmiany warunki środowiskowe [16].

## Rozpoznanie inwazji

Roztacza w sprzyjających warunkach namnażają się bardzo szybko. Po dostaniu się do kurnika w krótkim czasie ich liczba może wzrosnąć do milionów osobników [17]. Zagrożeniem dla stada ze strony środowiska może być introdukcja *Dermanyssus gallinea* przez gryzonie oraz dzikie ptaki, które mogą roznieść pasożyta po całym obiekcie. Najczęściej ptaszyniec występuje u kur, gołębi, indyków, kaczek, jaskółek, wróbli i innych wróblowatych. Większe jednak ryzyko stanowi wprowadzenie pasożyta z nowym stadem niosek lub z wyposażeniem z innego kurnika. Poważne źródło zagrożenia stanowi też przeniesienie ptaszyńca między kurnikami, a nawet fermami na ubraniach czy włosach personelu [18].

Rozpoznanie inwazji ptaszyńca na fermie drobiu nie jest trudne. Szybko poruszające

się, opite krwią samice ptaszyńca można znaleźć w osadzie z klatek i ścian [19]. Obecność tego ektopasożyta po niedługim czasie widoczna jest w zmianach jak występują u ptaków takich jak zwiększony stres przyczyniający się do wzrostu agresji, zmniejszona produkcja jaj przy pogorszonej ich jakości, jaja z krwawymi plamami na skorupie, utrata krwi prowadząca do anemii, a nawet upadków, oraz wzrost zachorowalności, wynikający z zakażeń przenoszonych przez ptaszyńca patogenami [20]. Ptaszyniec jest pasożytem który powoduje powstawanie na skórze pól zapalnych z przerzedzonym włosem, zgrubiałą skórą oraz pokryte wysiękiem surowicznym. Objawy są bardzo podobne do zarażenia wszami. Często miejsca po ukąszeniach są wtórnie zakażane bakteriami, co wzmacnia odczyn zapalny. Pasożyty żerują na skórze ptaka lecz czasami można je znaleźć także w nosie, oczach czy jamie dzioba. Bronią ptaszyńców jest ślina wpuszczana podczas ugryzienia. Młode ptaki słabo znoszą zawartą w niej toksynę, co często prowadzi do ich śmierci. Starsze ptaki nie giną bezpośrednio od toksyny lecz padają z powodu wycieńczenia i anemii [21]. Opisane masowe występowanie pasożytów, spowodowało padnięcie aż 10,2% początkowej liczby kacząt brojlerów [32].

Zwiększona agresja oraz strach i ból po ugryzieniach pasożytów są przyczyną istotnego problemu behawioralnego, jakim jest samookaleczenie i kanibalizm wśród ptaków. Powszechne jest dziobanie i wrywanie piór oraz skubanie kloaki, które często są obserwowane w bezklatkowym chowie kur niosek.

## Zwalczanie

*Dermanyssus gallinae* obecnie jest najważniejszym ektopasożytem kur niosek w wielu krajach. W mniejszym stopniu, wpływa również na ptaki stad rodzicielskich zapewniających jaja wylęgowe do produkcji brojlerów [16]. Inwazje ptaszyńca kurzego są znaczącym problemem ekonomicznym, sanitarnym i obniżającym dobrostan ptaków. Ich obecność na zaatakowanych fermach przejawia się spadkiem nieśności i wzrostem śmiertelności do 6-8% [22]. Ze względu na duże straty gospodarcze, powodowane wystąpieniem inwazji ptaszyńca, podejmuje się ciągle próby jego zwalczania. Jednak wykorzystywanie nieodpowiednich, nieskutecznych lub nielegalnych środków chemicznych, w celu eliminacji tego ektopasożyta, było odpowiedzialne za wzrost częstości występowania inwazji z powodu rozprzestrzeniania się oporności na akarycydy. Zwiększenie liczby pojawień się *Dermanyssus gallinae* obserwowano szczególnie w systemach ekstensywnych: wolno wybiegowym, ściółkowym lub przyzagrodowym, częściej u kur niosek niż u brojlerów. Mniej intensywne systemy chowu sprzyjają rozpowszechnianiu ptaszyńca ze względu na liczne możliwości ukrywania się tego pasożyta oraz unikania zwalczania chemicznego [23].

W zwalczaniu ptaszyńca można stosować olejki eteryczne z różnych roślin oraz leki farmakologiczne. Istnieją dwa sposoby stosowania preparatów bezpośrednio na zwierzęta (ptaki) lub opryskiwanie ścian, podłóg, sufitów, karmników i poideł. Najlepsza zabójczość zauważono u lawendy po 48 - 72 godzinach aż 97% oraz tymianku po 72 godzinach 84% ptaszyńca zginęło w dawce 0,012 mg/cm<sup>2</sup> [24]. Inne olejki eteryczne takie jak bazylia, oregano lub olejek z cytryny wykazywało skuteczność 30% lub mniejszą. W zwalczaniu inwazji *D. gallinae* stosowane są też inne związki eteryczne np. mieszanka karwakrołu oraz tymolu w stosunki 4:1 [25]. Niestety olejki nie mogą być stosowane bezpośrednio na ptaki i są mniej skuteczne niż leki roztoczobójcze. Istnieje szeroka gama leków dedykowanych w terapii ptaszyńca. Bardzo wysoką efektywność w zwalczaniu *D. gallinae* wykazują cypermetryna oraz malation [26]. Samo leczenie kur zarażonych ptaszyńcem jest prawnie niewykonalne z powodu sposobu odżywiania pasożyta, dlatego najlepsze jest opryskiwanie pomieszczeń. Stosuje się także pułapki na *D. gallinae*. Są to skrzyneczki 100 × 4 × 0,3 cm w których znajduje się 2% roztwór metrifonatu. Pułapki zmienia się co 2 dni. W ciągu dwutygodniowego używania redukuje on populację ptaszyńca o 95% [27].

Większość krajów Unii Europejskiej boryka się z problemem inwazji ptaszyńca. Bardzo wyraźnie na przykładzie Niemiec, gdzie pasożyt występuje na większości ferm, zaś jego tryb życia nie pozwala na wykrycie zagrożenia wcześniej niż przy samej inwazji. Obecnie jednym z najlepszych dostępnych na rynku preparatów zwalczających ptaszyńca jest fipronil. Zawdzięcza on swoją skuteczność temu, iż został odkryty stosunkowo niedawno [28]. Fipronil jest związkiem chemicznym, którego stosuje się do zwalczania wszy, kleszczy i roztoczy, m.in. *D. gallinae*. Na terenie Unii Europejskiej dozwolono używania tego środka w hodowli zwierząt domowych, ale zakazano stosowania go w produkcji żywności. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaklasyfikowała tą substancję jako umiarkowanie toksyczną, powodującą nudności i zawroty głowy, która jednak spożyta w większych ilościach może skutkować uszkodzeniem nerek, węzłów chłonnych oraz wątroby. I tu pojawia się problem możliwej kumulacji fipronilu w surowcach drobiarskich (mięso, jaja). W roku 2017 doszło do wykrycia fipronilu w jajach komercyjnych w ponad 15 krajach członkowskich UE oraz Hong Kongu, co pociągnęło za sobą wzrost cen tego surowca i zintensyfikowanie kontroli ferm. Na niektórych fermach w Holandii i Belgii fipronil, którym opryskiwano ptaki, stał się przyczyną zanieczyszczenia jaj i mięsa drobiowego [29]. W połowie 2017 także w Polsce wykryto fipronil w jajkach [30]. Zgodnie z wytycznymi Europejskiego Urzędu do spraw bezpieczeństwa żywności poziom fipronilu w mięsie drobiowym, podrobach i jajach nie powinien przekraczać 0,005 mg/kg. Jaja z większą jego ilością nie są dopuszczone do sprzedaży i w konsekwencji utylizowane. Wg Państwowej

Inspekcja Sanitarnej ilość fipronilu oznaczona w próbach z trzech polskich ferm przekraczała dozwolony poziom prawie dziesięciokrotnie krotnie. W sierpniu 2017 w PIWET IB w Puławach w próbach mięsa drobiowego wykryto fipronil na poziomie 0,016 mg/kg. Kury pochodziły z niemieckiej fermy stosującej preparat zawierający fipronil (DEGA 16), dopuszczony do użytku m.in. w Belgii, Holandii i Niemczech. W związku z nieprawidłowościami mięso zostało zutylizowane [31]. Z uwagi na potencjalne zagrożenie Główny Lekarz Weterynarii polecił terenowym organom Inspekcji Weterynaryjnej kontrolę polskich ferm utrzymujących stada drobiu w celu ewentualnego, nielegalnego stosowania preparatów biobójczych zawierających fipronil.

### **Podsumowanie**

Trwają poszukiwania leków pozwalających na skuteczną obronę przed ptaszyńcem oraz samego zwalczania inwazji. Skuteczne wyeliminowanie pasożyta na poziomie kurników przyniesie korzyści nie tylko hodowlane i ekonomiczne, ale również zapewni bezpieczeństwo ludziom i innym zwierzętom gospodarskim oraz towarzyszącym.

### **Literatura**

- [1] Koziatek S, Sokół R.: *Dermanyssus gallinae* still poses a serious threat for the rearing of laying hens. Pol J Natur Sc. 2015, 30(4), 451–463.
- [2] Evans GO, Till WM.: Mesostigmatic mites of Britain and Ireland (Chelicerata: Acari Parasitiformes): an introduction to their external morphology and classification. J Zool. 1979, 35, 139–262.
- [3] Hackman RH. Structure and function in tick cuticle. Annu Rev Entomol. 1982, 27, 75–95.
- [4] Pritchard J, Kuster T, Sparagano O, Tomley F.: Understanding the biology and control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*: a review. Avian Pathol. 2015, 44(3), 143–153.
- [5] Cruz MD, Robles MC, Jespersen JB, Kilpinen O, Birkett M i in.: Scanning electron microscopy of foreleg tarsal sense organs of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (DeGeer) (Acari: Dermanyssidae). Micron. 2005, 36, 415–421.
- [6] Kilpinen O.: Activation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae), by increasing temperatures. Exp Appl Acarol. 2001, 25, 859–867.
- [7] Zeman P.: Surface skin lipids of birds: a proper host kairomone and feeding inducer in

- the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Exp Appl Acarol. 1988, (1–2), 163–173.
- [8] Kilpinen O, Mullens BA.: Effect of food deprivation on response of the mite, *Dermanyssus gallinae*, to heat. Med Vet Entomol. 2004, 18(4), 368–371.
- [9] Kilpinen O.: How to obtain a bloodmeal without being eaten by a host: the case of poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Physiol Entomol. 2005, 30(3), 232–240.
- [10] Entrekin DL, Oliver JH Jr.: Aggregation of the chicken mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). J Med Entomol. 1982, 19(6), 671–678.
- [11] Koenraadt CJM, Dicke M.: The role of volatiles in aggregation and host-seeking of the haematophagous poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Exp Appl Acarol. 2010, 50, 191–199.
- [12] Maurer V, Baumgartner J.: Temperature influence on life table statistics of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Exp Appl Acarol. 1992, 15(1), 27–40.
- [13] Hoglund J, Nordenfors H, Uggla A.: Prevalence of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, in different types of production systems for egg layers in Sweden. Poult Sci. 1995, 74(11), 1793–1798.
- [14] Roy L, Dowling APG, Chauve C, Buronfosse T.: Delimiting species boundaries within *Dermanyssus Duges, 1834* (Acari: Dermanyssidae) using a total evidence approach. Mol Phylogenet Evol. 2009, 50(3), 446–470.
- [15] Marangi M, Cafiero M, Cappelli G, Camarda A, Sparagano O i in.: Evaluation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae), susceptibility to some acaricides in field populations from Italy. Exp Appl Acarol. 2009, 48(1–2), 11–18.
- [16] Chauve C.: The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Dr Geer, 1778): current situation and future prospects for control. Vet. Parasitol. 1998, 79(3), 239–245.
- [17] Ziomko I, Cencek T.: Ptaszyniec (*Dermanyssus gallinae*) - zagrożenie w chowie drobiu. Pol Drob. 1999, 8(5), 26–28.
- [18] Mul MF, Koenraadt CJ.: Preventing introduction and spread of *Dermanyssus gallinae* in poultry facilities using the HACCP method. Exp Appl Acarol. 2009, 48(1–2), 167–181.
- [19] Sokół R, Romaniuk K.: Przebieg i dynamika inwazji *Dermanyssus gallinae* w fermie kur niosek. Med Weter. 2007, 63(04), 484–486.
- [20] Kilpinen O, Roepstorff A, Permin A, Nørgaard-Nielsen G, Lawson LG i in.: Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus domesticus*). Brit Poult Sci. 2005, 46(1), 26–34.
- [21] Brauneis MD, Zoller H, Williams H, Zschiesche E, Heckeroth AR.: The acaricidal speed

- of kill of orally administered fluralaner against poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) on laying hens and its impact on mite reproduction. *Parasite Vector*, 2017, 10(1), 594.
- [22] Sokół R.: *Dermanyssus gallinae* - jego szkodliwość i monitorowanie inwazji. *Pol Drob.* 2011, 18(8), 57-59.
- [23] Sparagano O, Pavličević A, Murano T, Camarda A, Sahibi H i in.: Prevalence and key figures for the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* infections in poultry farm systems. *Exp Appl Acarol.* 2009, 48(1-2), 3-10.
- [24] Nechita IS, Poirel MT, Cozma V, Zenner L.: The repellent and persistent toxic effects of essential oils against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Vet Parasitol.* 2015, 214(3), 348-352.
- [25] Masoumi F, Youssefi M.R, Tabari MA.: Combination of carvacrol and thymol against the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *J Parasitol Res.* 2016, 115(11), 4239-4243.
- [26] Fiddes MD, Le Gresley S, Parsons DG, Epe C, Coles GC, Stafford KA.: Prevalence of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) in England. *Vet Rec.* 2005, 157(8), 233-235.
- [27] Chirico J, Tauson R.: Traps containing acaricides for the control of *Dermanyssus gallinae*. *Vet Parasitol.* 2002, 110(1), 109-116.
- [28] Gunasekara AS, Truong T, Goh KS, Spurlock F, Tjeerdema RS.: Environmental fate and toxicology of fipronil. *J Pest Sci.* 2007, 32(3), 189-199.
- [29] Główny Inspektorat Sanitarny. Informacja Głównego Inspektora Sanitarnego związana ze skażeniem drobiu i produktów pochodnych fipronilem. 2017, <https://gis.gov.pl/onas/aktualnosci/552-informacja-glownego-inspektora-sanitarnego-zwiazana-ze-skazeniem-drobiu-i-produktow-pochodnych-fipronilem?highlight=WyJmaXByb25pbCJd>, data dostępu: 15.12.2017.
- [30] Główny Inspektorat Weterynarii (2017) Komunikat Głównego Lekarza Weterynarii w sprawie obecności niedozwolonej substancji - fipronil w jajach i mięsie drobiowym pochodzącym z państw członkowskich Unii Europejskiej. <https://www.wetgiw.gov.pl/main/komunikaty/Komunikat-Glownego-Lekarza-Weterynarii-w-sprawie-obecnosci-niedozwolonej-substancji-fipronil-w-jajach-i-miesie-drobiowym-pochodzacych-z-panstw-czlonkowskich-Unii-Europejskiej/idn:591>, data dostępu: 15.12.2017.
- [31] Główny Inspektorat Weterynarii (2017) Komunikat Głównego Lekarza Weterynarii w sprawie obecności niedozwolonej substancji - fipronil w jajach konsumpcyjnych pochodzących z polskich ferm. <https://www.wetgiw.gov.pl/main/komunikaty/Komunikat-Glownego-Lekarza->

Weterynarii-w-sprawie-obecnosci-niedozwolonej-substancji-fipronil-w-jajach-konsumpcyjnych-pochodzacych-z-polskich-ferm/idn:635, data dostępu: 15.12.2017.

- [32] Cencek T, Ziomko I, Topór W. Inwazja *Dermanyssus gallinae* przyczyną masowych padnięć kacząt brojlerów. Med. Weter. 2002, 58(5), 353-355.



# ZRÓWNOWAŻONY ODZYSK ZWIĄZKÓW FOSFORU Z OSADÓW ŚCIEKOWYCH

**Agata Wajda<sup>(1)</sup>**

*<sup>(1)</sup>Katedra Technologii i Urządzeń Zagospodarowania Odpadów, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki,  
Politechnika Śląska*

*Agata.Wajda@polsl.pl*

## **Streszczenie**

Odzysk fosforu z osadów ściekowych w obliczu wyczerpujących się złóż fosforytów jest istotnym elementem zrównoważonego gospodarowania surowcami wtórnymi zawartymi w materiale odpadowym. W pracy dokonano zestawienia aktualnie stosowanych technik odzysku fosforu z osadów ściekowych oraz z popiołów powstałych po ich termicznym przekształcaniu. Jako kryterium analizy przyjęto efektywność procesu oraz aspekt ekonomiczny. Dokonano oceny istniejących rozwiązań. Podjęto również próbę określenia możliwych kierunków rozwoju procesu odzyskiwania związków fosforu z osadów ściekowych.

## **Wprowadzenie**

Fosfor należy do grupy pierwiastków biogennych, odgrywających kluczową rolę w budowie wszystkich organizmów żywych. Ilość tego pierwiastka w organizmach nie jest wysoka, natomiast jego rola jest bardzo istotna, m.in. jest to uczestniczenie w procesach metabolicznych, wzrostu i regeneracji. Fosfor jest też składnikiem kluczowych związków biochemicznych jak ATP czy też NADP. Fosfor i jego związki znajdują również szerokie zastosowanie w gospodarce. Największe zapotrzebowanie na związki fosforu zgłaszają przedsiębiorstwa sektora produkcji nawozów sztucznych. Ponad 85% światowego wydobycia fosforytów i apatytów kierowane jest do procesów produkcyjnych w tej gałęzi gospodarki. Dodatkowo prognozy wskazują na tendencję wzrostową wskaźnika zapotrzebowania tego pierwiastka w produkcji nawozów. Ponadto związki fosforu są wykorzystywane w przemyśle chemicznym, głównie do produkcji detergentów, w przemyśle farmaceutycznym, elektronicznym, w produkcji preparatów do fosforanowania i ochrony przed korozją, antypirenów czy też ceramiki [1, 2].

## **Determinanty odzysku fosforu**

Podjęcie działań mających na celu odzysk fosforu z odpadów, w opisywanym

przypadku z osadów ściekowych, jest bardzo złożoną kwestią, przy której rozpatrywaniu należy wziąć pod uwagę kilka czynników. Pierwszym z nich jest wyczerpywanie się światowych rezerw złóż fosforytów i apatytów. Rezerwy, które można eksploatować w obecnych warunkach techniczno-ekonomicznych starczą na około 130 lat, a ich wielkość szacowana jest na 18 mld Mg. Wydawać by się mogło, że perspektywa wyczerpania się złóż fosforonośnych jest daleka, jednak problemem w tym aspekcie jest jakość złóż. Aktualnie można zaobserwować zjawisko wzrastającego zanieczyszczenia wydobywanego surowca metalami ciężkimi, przede wszystkim kadmem. Wiąże się to z koniecznością zastosowania kosztownych procesów odkadniania, celem których jest przygotowanie substratu fosforonośnego do procesów produkcyjnych.

Kolejnym czynnikiem, który stał się momentem przełomowym i zapoczątkował finansowanie technik odzyskiwania fosforu z osadów ściekowych, jest gwałtowny wzrost cen surowca fosforonośnego na rynku światowym. Największy, niemal siedmiokrotny wzrost cen w porównaniu do okresu stabilnie utrzymującej się ceny, zanotowano na przełomie 2008/2009 roku, przy czym wzrost cen skał fosforowych giełdy notowały już od początku roku 2007. Niestabilne notowania cen były wynikiem głównie wzrostu popytu ze strony Chin i Indii oraz ograniczonych możliwości wydobywczych. Aktualnie cena surowca wynosi niecałe 100\$/Mg i w porównaniu do roku 2006 – przed kryzysem na rynku surowców fosforonośnych, jest wyższa około dwukrotnie.

Konkluzje wynikające z wyżej przywołanych faktów zostały zawarte w dokumentach unijnych dotyczących tak zwanych surowców krytycznych – CRM (Critical Raw Materials). Jest to trzeci czynnik sprzyjający rozwojowi metod odzysku fosforu. Komisja Europejska, zarówno w roku 2013 jak i 2017, sporządziła listę surowców krytycznych z punktu widzenia gospodarki europejskiej. Są one strategicznymi materiałami warunkującymi procesy produkcyjne w Unii Europejskiej, natomiast z określonych względów problematyczne jest ich pozyskiwanie. W obu zestawieniach ujęto fosfor, w przypadku którego oprócz wzrostu cen i coraz mniejszej jakości surowca, dochodzi też aspekt bezpieczeństwa zaopatrzenia w surowiec. W Europie praktycznie nie ma czynnych złóż fosforonośnych (znikome ilości wydobywa Finlandia), które byłyby w stanie zaspokoić zapotrzebowanie na ten surowiec. Z tego powodu europejscy producenci są zmuszeni importować fosforyty z innych krajów, głównie Afryki Północnej i Sahary Zachodniej. Kraje takie jak Maroko, Algieria czy Senegal są najbliższymi położonymi dostawcami związków fosforu, jednak uwarunkowania geopolityczne wskazują na niestabilność tych rejonów. Producentami związków fosforu są również kraje takie jak: USA, Chiny, Jordania czy Rosja. Odzysk fosforu jest promowany

w Unii Europejskiej poprzez wdrażanie modelu gospodarki cyklicznej, inaczej Gospodarki Obiegu Zamkniętego. Idea ta wiąże się z znacznym zwiększeniem poziomu odzysku surowców zawartych w materiale odpadowym. Wszystkie wymienione czynniki wpływają na opracowywanie i ulepszanie technik odzysku fosforu z osadów ściekowych, przy czym największa skala podejmowania działań w tym zakresie ma miejsce w Niemczech, Szwajcarii i krajach skandynawskich [1-3].

### **Metody odzysku fosforu z fazy ciekłej**

Odzysk związków fosforu w odniesieniu do procesu oczyszczania ścieków można przeprowadzać w różnych etapach. Pierwszą możliwością jest odzysk w wyniku procesów krystalizacji oraz strącania ze ścieków i odcieków powstałych w oczyszczalniach. Wydajność w tym przypadku będzie jednak niewielka, głównie ze względu na małe stężenie fosforu, które wynosi mniej niż 0,5 mg/l dla ścieków oraz 20-100 mg/l dla odcieków. Maksymalna, możliwa do osiągnięcia wydajność to 45%, przy czym zasadniczo większość metod odzysku fosforu z fazy płynnej ma zastosowanie do odcieków aniżeli ścieków. Wśród metod odzysku z fazy ciekłej wyróżnić można następujące technologie: Struvia, DHV Crystalactor, Ostara Pearl Reactor, AirPrex, Phosnix oraz P-Roc. Zasadniczo wymienione metody można podzielić na wykorzystujące procesy strącania (AirPrex, Struvia) oraz pozostałe, podczas których zachodzi krystalizacja.

Pierwsza z wymienionych dedykowana jest odciekom powstałym w wyniku odwadniania przefermentowanych osadów ściekowych. Faza ciekła podawana jest do reaktora ciągłego mieszania. Do procesu dodawana jest sól magnezu, dzięki czemu środowisko reakcji staje się zasadowe oraz jest donorem magnezu. Uzyskanie takich warunków pozwala na strącanie struwitu, czyli fosforanu magnezowo-amonowego (MAP), który jest następnie oddzielany od cieczy przez zintegrowany osadnik lamelkowy. Struwit, który jest wysoce przyswajalną przez rośliny, biodostępną postacią fosforu, w dalszych etapach procesu zostaje odsączony, magazynowany i pakowany z przeznaczeniem handlowym.

Pozostałe wymienione technologie z wyłączeniem P-Roc mają podobny przebieg i koncentrują się na uzyskaniu tego samego produktu – struwitu w wyniku reakcji strącania lub krystalizacji. Istotną różnicą jest rodzaj zastosowanego urządzenia realizującego proces mieszania. W ciągu technologicznym DHV Crystalactor występuje złożo fluidalne, natomiast w procesach Pearl, Phosnix i AirPrex dedykowane reaktory mieszania. Ponadto w przypadku metody wykorzystującej technikę fluidalną oraz Phosnix do mieszaniny dodawane są związki

odpowiednio: wodorotlenek wapnia i wodorotlenek sodu. Technologia P-Rock polega na bezpośrednim odzysku fosforanu wapnia z fazy wodnej. Metoda została opracowana w celu równoczesnego usuwania i odzyskiwania fosforu ze ścieków bytowo-gospodarczych, może być również stosowana dla ścieków przemysłowych. Reagentem jest tu uwodniony krzemian wapnia. Powstały produkt – fosforan wapnia, ma właściwości fizyko-chemiczne zbliżone do fosforytu, dodatkowo nie wymaga dalszej obróbki i może być stosowany jako nawóz [1, 2, 4].

### **Metody odzysku fosforu z osadów ściekowych**

Można również realizować odzysk z osadów ściekowych w ogólnym ujęciu przy wykorzystaniu reakcji utleniania i filtracji. Proces ten charakteryzuje się wydajnością około 60%, natomiast zawartość fosforu w tej fazie wynosi w przybliżeniu 10 g/kg suchej masy. Istnieje wiele metod odzysku związków fosforu z osadów ściekowych, spośród których najbardziej efektywne to: Aqua Reci, Seaborn, Phoxnan, Krepro czy Heatphos.

Pierwsza z opisywanych technologii zachodzi w warunkach nadkrytycznych wody. Opiera się ona na utlenieniu osadów do składników gazowych, natomiast fosfor zostaje wytrącony w postaci wodorofosforanu wapnia. Dzięki istnieniu silnie zasadowego pH (>13) metale ciężkie zostają włączone w związki nierozpuszczalne, które są następnie usuwane. Wydajność odzysku fosforu w tym przypadku jest znaczna i może oscylować nawet w granicach 70%.

Technologia Seaborn zakłada kompleksowe postępowanie z osadami ściekowymi polegające na odzysku fosforu i azotu oraz oczyszczaniu biogazu. Sam proces, inaczej określany jako Gifhorner, złożony jest z czterech etapów, którymi są: ługowanie kwasem, usunięcie metali ciężkich i dwufazowy odzysk substancji mineralnych, podczas którego zachodzi wytrącanie struwitu. Przefermentowane osady ściekowe najpierw wystawione są na działanie kwasu siarkowego, w wyniku czego pH obniża się do wartości 4,5. W tym czasie następuje uwolnienie fosforu z fazy stałej osadu. Dzięki dozowaniu siarczku sodu ma miejsce wytrącenie metali ciężkich w postaci siarczków. W celu odzysku substancji odżywczych, przede wszystkim fosforu w postaci struwitu, należy zwiększyć pH roztworu dodając wodorotlenki sodu i magnezu. W przypadku tej inwestycji szacowana efektywność odzysku wynosi 40%. Również należy zaznaczyć, że instalacja Seaborn ze względu na konieczność dopasowywania pH w kolejnych etapach procesu wymaga sporych nakładów inwestycyjnych rzędu 7,5 mln euro.

Technologia Phoxnan jest procesem dwuetapowym. Pierwszy z nich – Loprox,

to proces utleniania osadów ściekowych w czystym tlenie. Wcześniej jednak należy stworzyć określone warunki zachodzenia procesu, a mianowicie osiągnąć temperaturę 160-220°C, ciśnienie 12-28 barów oraz uzyskać silnie kwaśne pH (<1,5) dozując kwas siarkowy. W wyniku utleniania następuje wyraźna redukcja związków organicznych, a fosforany przechodzą w związki o charakterze kwasowym –  $H_2PO_4$  i  $H_3PO_4$ . W drugim etapie przewidziano natomiast procesy membranowe – ultrafiltrację oraz nanofiltrację. W wyniku ultrafiltracji następuje oddzielenie cząstek stałych od cieczy, natomiast skutkiem filtracji jest rozdział w obrębie substancji stałych. Z filtratu oddzielone zostają metale ciężkie, podczas gdy struwit zostaje poddany dalszym przekształceniom. Wydajność tu będzie wynosiła około 50%.

Kolejna metoda odzysku fosforu z osadów ściekowych – Krepro, polega na termicznej hydrolizie osadów ściekowych w środowisku kwasu siarkowego. Proces wymaga jednak wcześniejszego zagęszczenia osadu do 5-7% suchej masy. Dozowanie kwasu powinno pozwolić na uzyskanie pH w zakresie 1-3, po czym zawiesina znajdująca się w reaktorze jest podgrzewana do temperatury 140°C przez półgodzinny okres. Hydrolizie ulega ponad 40% materii organicznej, która w późniejszym etapie może być wykorzystana jako źródło węgla w procesie denitryfikacji. Większość związków nieorganicznych ulega rozpuszczeniu. Pozostała część zawiesiny jest rozdzielana w procesie odwirowania. Powstały roztwór kierowany jest do reaktora, w którym na skutek wzrostu pH, wytrącają się ortofosforany.

Metoda Heatphos zakłada uwalnianie z osadu czynnego polifosforanów na skutek działania ciepła. W początkowej fazie konieczne jest trzykrotne zagęszczenie biologicznego osadu nadmiernego. Jest on kierowany przez wymiennik ciepła do zbiornika, gdzie przez okres jednej godziny podgrzewany jest do temperatury 70–90°C. Następujące potem schłodzenie do temperatury otoczenia pozwala na odzysk energii. Kolejnym etapem jest odwirowanie, dzięki któremu następuje oddzielenie faz. Wolne związki fosforu zostają strącane dzięki dozowaniu  $CaCl_2$  do fazy płynnej. Osad poddawany temu procesowi charakteryzuje się wydajnością gotowego produktu rzędu 70 kg/l, w tym fosforu około 10 kg P/d. Wadą jest tu wysoki koszt ogrzewania osadu nadmiernego. Zapotrzebowanie na energię do ogrzewania wsadu może zostać pokryte przez biogaz produkowany w oczyszczalniach ścieków [1, 2, 4-6].

### **Metody odzysku fosforu z popiołów z monospalania osadów ściekowych**

Ostatnim rozpoznany sposób jest poddanie procesom ługowania kwasem lub zasadą (również kombinacją obu), a następnie strącania, popiołów powstałych w wyniku

monospalania osadów ściekowych. W związku ze znikomą zawartością związków organicznych udział fosforu w popiołach wynosi tu około 64 g/kg suchej masy. Również wydajność odzysku jest na bardzo wysokim poziomie wynoszącym szacunkowo 80%, w niektórych opracowanych technologiach nawet 90%. Problem w tym przypadku stanowi zwiążanie fosforu z metalami ciężkimi, przez co zachodzi konieczność działania związkami o charakterze kwasowym oraz zasadowym. Należy również nadmienić o konieczności uprzedniego poddania osadów ściekowych termicznemu przekształcaniu, co jest kosztowną inwestycjami. W związku z zakazem składowania, między innymi osadów ściekowych, wynikającym z Rozporządzenia Ministra Gospodarki [7], proces termiczny jest jednak coraz częściej realizowany w gospodarce odpadami pochodzącymi z oczyszczalni ścieków. Aktualnie w Polsce istnieje sześć spalarni osadów ściekowych zlokalizowanych przy oczyszczalniach, opartych w większości na technice fluidalnej. W związku z powyższym istnieje duży potencjał odzysku fosforu z tej frakcji.

W procesie BIOCON popiół poddawany jest działaniu kwasu siarkowego do osiągnięcia pH około 1. Następnie roztwór przepuszczany jest przez ciąg wymienników jonowych. Pierwszy z nich to wymiennik kationowy, który odseparowuje jony żelaza. W dalszym etapie oddzielane są jony potasowe w wymienniku anionowym. Trzeci wymiennik, również anionowy, ma na celu oddzielenie jonów fosforu, dzięki czemu powstaje strumień kwasu fosforowego. Ostatni wymiennik – kationowy, usuwa chlorki metali ciężkich. Ze względu na konieczność częstych regeneracji wymienników, metoda BIOCON postrzegana jest jako nieekonomiczna.

Kolejną technologią odzyskiwania fosforu z popiołów po termicznym przekształcaniu osadów ściekowych jest SEPHOS. Popiół w środowisku o  $\text{pH} < 1,5$  jest mieszany w obecności jonów glinu z kwasem siarkowym. Kolejny etap to oddzielenie zawiesiny oraz dodanie wodorotlenku sodu, dzięki czemu zwiększa się wartość pH. Związkiem otrzymanym w wyniku wytrącania jest  $\text{AlPO}_4$  wraz z dużą ilością metali ciężkich zawartych w popiołach. Do wad procesu należy niska jakość produktu końcowego, na co wpływa zawartość metali ciężkich i glinu. Przez to produkt końcowy nie może być wykorzystywany w rolnictwie. Źródła literaturowe wskazują na podejmowane przez naukowców starania mające na celu ulepszenie procesu SEPHOS. Doprowadziły one do powstania jego zaawansowanej wersji, w której odzyskuje się fosforan wapnia stosowany w rolnictwie. Przekształcanie fosforanu glinu oraz odseparowanie metali ciężkich jest możliwe dzięki podwyższeniu pH do wartości 12–14 oraz dodanie  $\text{CaO}$ .

W metodzie PASCH fosfor jest odzyskiwany w wyniku ługowania 8% roztworem

HCl, dzięki czemu możliwe jest osiągnięcie rozpuszczalności fosforu równej 90%. Po ługowaniu roztwór transportowany jest do mieszalnika, w którym ma miejsce oddzielenie osadu. Filtrat zawierający fosfor, wapń i związki metali jest ekstrahowany w fosforanie tributylu (TBP). Podczas tej reakcji trwającej 15 minut, zachodzi redukcja metali ciężkich o ponad 95% oraz żelaza o ponad 90%. Efektem procesu PASCH jest wytrącanie związków fosforu – struwitu lub fosforanu wapnia. Produkt końcowy charakteryzuje się zawartością fosforu na poziomie około 16%, a wydajność odzysku szacowana jest na 70–80%. Roczne koszty eksploatacyjne instalacji PASCH wynoszą około 4 mln euro. Produkt powstały w wyniku zastosowania metody Ash Dec jest stabilny i gotowy do zastosowania rolniczego. W pierwszej fazie popiół jest kierowany do reaktora termalnego i poddany działaniu wysokiej temperatury rzędu około 1 000°C w czasie 20 minut. Zaistniałe warunki pozwalają na to, aby metale ciężkie przereagowały z solami i uległy odparowaniu. Określony reżim temperaturowy pozwala również na przekształcenie trudno rozpuszczalnych związków fosforu do formy łatwo przyswajalnej dla roślin. W procesie można wyróżnić dwa etapy. Pierwszy 30-minutowy, przebiegający w temperaturze 300°C ma na celu osuszenie oraz podgrzanie granulatu. Następujący po tym wzrost temperatury powyżej 1 000°C pozwala na oddzielenie metali ciężkich od granulatu. Czas w tym przypadku powinien wynosić maksymalnie 20 minut. Wśród zalet technologii Ash Dec wyróżnić można niski koszt odzysku oraz wysoką wydajność, a produkt końcowy jest wysokogatunkowym nawozem sztucznym. W procesie usuwane jest ponad 90% metali ciężkich, natomiast około 75% związków alkalicznych jest odzyskiwane i przeznaczone do ponownego wykorzystania. Wady procesu to przede wszystkim emisje gazów odlotowych, złożoność procesu oraz wysokie zapotrzebowanie energetyczne. Wydajność dobową instalacji rzeczywistej to wielkość produkcji rzędu 7 Mg gotowego produktu handlowego, przy założeniu ilości wsadu na poziomie 7-10 Mg popiołu/dobę. Konieczny nakład energii nie przekracza 800 kWh/Mg. Koszty inwestycyjne w tym przypadku wynoszą 10–13 mln euro, a szacowane dochody ze sprzedaży znajdują się w przedziale 8,5–18 mln euro [4-6, 8, 9].

### **Porównanie metod odzysku fosforu**

Analiza porównawcza wybranych metod odzysku fosforu obejmuje sprawność procesu oraz wskaźnik kosztu produkcji 1 kg fosforu. Mając taki zestaw danych oraz odnosząc się do wyżej przywołanych zawartości fosforu w poszczególnych miejscach prowadzenia procesu, można również oszacować roczne koszty eksploatacyjne dla danej technologii i ich potencjał [2, 4, 11].

**Tabela 1.** Porównanie metod odzysku fosforu na podstawie [2, 4, 11]

Miejsce prowadzenia procesu	Nazwa metody	Sprawność [%]	Wskaźnik kosztu produkcji [euro/kg P/
Ścieki i odcieki	DHV Crystalactor	40	5-7
	Ostara Pearl Reactor	20	9-10
	AirPrex	15	8
	P-Roc	27	6
Osady ściekowe	Aqua Reci	65	22-24
	Seaborn	40	12-14
	Phoxnan	50	25-28
Popioły z monospalania osadów ściekowych	PASCH	70	3-6
	Ash Dec	85	0,5-4

Porównując technologie pod kątem miejsca prowadzenia procesu, można zauważyć, że najbardziej ekonomiczne są metody odzysku fosforu z popiołów po termicznym przekształcaniu osadów ściekowych oraz ze ścieków i odcieków. Natomiast mając na względzie sprawność procesu i potencjał odzysku fosforu w poszczególnych etapach oczyszczania ścieków, jako najefektywniejszy można wskazać odzysk z popiołów. Wśród dwóch wymienionych technologii wykorzystujących jako substrat popiół należy szczególnie wyróżnić Ash Dec, która pod względem kosztów produkcji nawozu, w tym fosforu, jest zbliżona do produkcji przemysłowej, dla której wskaźnik kosztu produkcji wynosi około 0,9 euro/kg fosforu. Wysoka wydajność i specyfika tej metody pozwalają na zwrot kosztów inwestycyjnych i uzyskiwanie dochodu ze sprzedaży nawozów po okresie około 3 lat [2, 4, 11].

### Podsumowanie

Kwestia zastosowania technologii odzyskiwania fosforu jest szczególnie ważna w krajach, w których ponowne wykorzystanie rolnicze osadów ściekowych nie jest obecnie akceptowane lub jest ograniczone przez ustawodawstwo. Również przywrócenie naturalnych cykli składników odżywczych oznacza niezależność od importu surowca z regionów niestabilnych geopolitycznie, niezależność od zmiennych cen rynkowych, rozwój regionalnych



łańcuchów wartości, a jednocześnie mniejszy wpływ na środowisko. Z powyższych względów rozwój technologii odzysku fosforu z oczyszczania ścieków jest szczególnie widoczny w krajach Unii Europejskiej, głównie w Niemczech i Skandynawii. Niektóre z metod aktualnie znajdują zastosowanie w przemyśle nawozów sztucznych. Mimo to, nadal nie można przedstawić najbardziej optymalnej technologii odzyskiwania. Jednak przy założeniu istnienia spalarni osadów ściekowych zlokalizowanych przy oczyszczalni ścieków, można wskazać technologię Ash Dec jako spełniającą najwięcej kryteriów ekonomicznych i środowiskowych. Znakomita efektywność procesu sprawia, że można ją przyrównywać do procesów przemysłowych wykorzystujących surowce pierwotne – fosforyty i apatyty. To pokazuje dynamiczny rozwój dziedziny odzyskiwania fosforu ze ścieków komunalnych, która stale ewoluje od niespełna dekady. W związku z tym, przewidywane są zmiany wynikające z ciągłego postępu technologii. Aktualnie obserwuje się podejmowanie działań mających na celu dalsze ulepszenie metod odzysku pod kątem zapewnienia maksymalnej szybkości odzysku fosforu, wysokiej wydajności usuwania niepożądanych związków, jak metale ciężkie, czy zanieczyszczenia organiczne oraz uzyskanie produktu końcowego o niskim ryzyku środowiskowym, dobrych właściwościach nawozowych i przy osiągnięciu wysokiej efektywności ekonomicznej.

## Literatura

- [1] Hudziak G, Gorazda K, Wzorek Z.: Główne kierunki w zastosowaniu popiołów po termicznej obróbce osadów ściekowych, *Chemia, Czasopismo techniczne*. Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej. 1-Ch/2012 zeszyt 16.
- [2] Kasprzyk M, Gajewska M, Molendowska S.: Możliwości odzysku fosforu z odcieków, osadów ściekowych i popiołów po termicznym przekształcaniu osadów ściekowych, *Inżynieria Ekologiczna*. 2017 Vol. 18.
- [3] Study on the review of the list of critical raw materials. EU publications.
- [4] Poluszyńska J, Ślęzak E.: Możliwości odzysku fosforu z osadów ściekowych. *Prace Instytutu Ceramiki i Materiałów Budowlanych*. 2015 nr 22.
- [5] Atienza-Martinez M, Gea G, Arauzo J, Kersten S.R.A, Kootstra A.M.J.: Phosphorus recovery from sewage sludge char ash. *Biomass and Bioenergy*. 2014 Vol. 65.
- [6] Blocher C, Niewersch C, Melin T.: Phosphorus recovery from sewage sludge with a hybrid process of low pressure wet oxidation and nanofiltration. *Water Research*. 2012 Vol. 46.

- [7] Rozporządzenie Ministra Gospodarki z dnia 16 lipca 2015 r. w sprawie dopuszczania odpadów do składowania na składowiskach (Dz.U. z 2015 r., poz. 1277).
- [8] Łukawska M.: Analiza specjacyjna fosforu w osadach ściekowych po termicznym spalaniu. Inżynieria i Ochrona Środowiska. 2014 t. 17 nr 3.
- [9] Niewersch C, Battaglia Bloch A.L, Yuce S, Melin T, Wessling M.: Nanofiltration for the recovery of phosphorus-Development of a mass transport model. Desalination. 2014 Vol. 346.
- [10] Petzet S, Peplinski B, Cornel P.: On wet chemical phosphorus recovery from sewage sludge ash by acidic or alkaline leaching and an optimized combination of both. Water Research. 2012 Vol. 46.
- [11] Egle E, Rechberger H, Krampe J, Zessner M. Phosphorus recovery from municipal wastewater: an integrated comparative technological, environmental and economic assessment of P recovery technologies. Science of The Total Environment. 2016 Vol. 571.

# WYBRANE METODY ZAGOSPODAROWANIA ODPADÓW ROLNICZYCH

Ewa Świder<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>*Katedra Technologii i Urządzeń Zagospodarowania Odpadów, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki,  
Politechnika Śląska*

*katedra.bydla@up.lublin.pl*

## Streszczenie

Środowisko naturalne oraz jego ochrona to wzmożony temat dzisiejszych czasów. Zwiększona produkcja rolnicza i hodowlana powoduje narastający problem z zagospodarowaniem odpadów, a tym samym porusza ważną kwestię zanieczyszczenia środowiska. Odpady rolne, które są wytwarzane w trakcie chowu zwierząt oraz podczas przetwórstwa produktów rolnych to odpady organiczne w formie płynnej i półstałej. Racjonalne zagospodarowanie tych odpadów powinno odbywać się według zasad określonych na przykład w Kodeksie Dobrej Praktyki Rolniczej. Stanowi to ogromne wyzwanie dla rolników, przede wszystkim pod względem ekonomicznym jak i w trosce o środowisko naturalne. Odpady organiczne posiadają wartościowe składniki, które mają ważny wpływ na żyzność gleby. Po odpowiednim ich przetworzeniu, mogą być wykorzystywane np. jako nawozy, co jest alternatywą dla recyklingu tych odpadów. Niestety w dzisiejszych czasach odpady te są unieszkodliwiane w sposób, który wywołuje bunt publiczny ze względu na uwalniające się zapachy, a tym samym zdrowie i komfort życia ludności.

## Wprowadzenie

Zagadnienie ochrony środowiska w ostatnich czasach nabrało szczególnego znaczenia. Problem wzmożonego wytwarzania odpadów jest charakterystyczny dla współczesnego świata. Jego rozwiązania szuka się w unieszkodliwianiu, a także powtórnym wykorzystaniu odpadów. Zrównoważony rozwój a także zwiększenie świadomości ekologicznej ludzi ma na celu eliminację go. Problem ten to nie tylko powszechnie znane odpady komunalne. Duży wpływ ma na to wzrost ilości odpadów oraz zanieczyszczeń organicznych pochodzących z rolnictwa i przemysłu z nim związanego.

Odpady rolnicze obejmują zarazem organiczne (naturalne) jak i nieorganiczne (nienaturalne) produkty uboczne powstające podczas działalności rolniczej. Do organicznych odpadów rolniczych w postaci stałej, ciekłej bądź półstałej zalicza się naturalne pozostałości

takie jak słoma, odpady kukurydziane, łodygi itp. oraz pozostałości zwierzęce np. mocz, kał, pomiot drobiu, ściółka itp. Do nienaturalnych odpadów rolniczych zaliczamy torby plastikowe po nawozach i innych środkach chemicznych, pozostałości mechaniczne, stare maszyny, ogrodzenia po oborach itp.

Wśród wielu procesów biologicznych i chemicznych przetwarzania odpadów organicznych (frakcji biologicznej) w rolnictwie najpopularniejsze to kompostowanie, fermentacja beztlenowa, fermentacja aerobowa, termofilna fermentacja beztlenowa, elektrodializa, utlenianie, piroliza, spalanie, ozonowanie. Tak przetworzone odpady są następnie stosowane jako nawóz lub rozprowadzane na glebach w celu rekultywacji [1].

Przykładem racjonalnego wykorzystania odpadów rolniczych jest tradycyjna słoma przechowywana najczęściej w stogach pod gołym niebem, która jest wykorzystywana jako ściółka o niskich wartościach użytkowych ze względu na często występujące w niej mankamenty takie jak: zbyt dużą wilgotność, porażenie pleśniami lub grzybami oraz możliwe znaczne zapylenie. Słoma o lepszych parametrach fizycznych podawana jest zwierzętom jako pokarm lub też do nawożenia pól. Słoma wykazuje bardzo wysoką wartość opałową (14,3 – 15,2 MJ·kg<sup>-1</sup>), co pozwala na wykorzystanie jej w energetyce. Współcześnie tworzy się z niej pellet, który jest świetną alternatywą dla tradycyjnych paliw kopalnianych takich jak np. węgiel. Pellet ze słomy (siana) ma zastosowanie zarówno w domowych kotłowniach, które posiadają odpowiednio przygotowane piece centralnego ogrzewania, a także w kotłowniach przemysłowych.

Kolejnym opadem związanym z hodowlą zwierząt są odchody zwierzęce (gnojowica), pozostałości paszowe oraz materiały ściółkowe. Alternatywą dla tych odpadów jest poddawanie ich procesowi kompostowania. Dobrą praktyką wykorzystującą powstałe odpady jest również tworzenie biogazowni rolniczych. Działalność tego typu pozwala wyprodukować paliwa gazowe, a jednocześnie zutylizować różnego rodzaju odpady organiczne [2]. Wprowadzanie nowoczesnych rozwiązań technologicznych, pozytywnie wpływa na redukcję odpadów, a to z kolei na środowisko naturalne [3]. Rocznie wzrasta zainteresowanie biogazowniami jak również przetwórstwem pofermentu, który również jest produktem fermentacji metanowej. Najważniejszymi substratami rolniczymi wykorzystywanymi w produkcji biogazu są odchody zwierzęce, uprawy energetyczne i odpady z hodowli roślin.

### **Kompostowanie**

Kompostowanie to jedna z najstarszych metod unieszkodliwiania odpadów, która polega na rozkładzie, czyli mineralizacji związków organicznych. To dzięki mikroorganizmom

takim jak: bakterie, promieniowce i grzyby, ten proces jest możliwy.

W kompostowaniu zachodzą dwa równoległe procesy biochemiczne [4]:

- mineralizacji (utlenienia substancji organicznej do dwutlenku węgla, wody, azotanów, siarczanów, fosforanów i innych składników w najwyższym odpowiadającym im stopniu utlenienia – reakcje egzotermiczne, stąd proces samonagrzewania się pryzm);
- humifikacji (syntezy składników rozkładu w wielkocząsteczkowe substancje próchniczne).

Kompostowanie jest bardzo prostym technologicznie procesem, dlatego też jest tak często stosowany. Zagospodarowanie odpadów metodą kompostowania możliwe jest cały rok. Nie wymaga wysokiego nakładu energii. Proces ten jest również bardzo ważny w ochronie środowiska ponieważ eliminuje zagrożenia sanitarne związane z usuwaniem odpadów oraz uciążliwe odory, które towarzyszą łatwo rozkładającym się substancją organicznym. Odpady kompostowane zmniejszają swoją masę i objętość – z 1 Mg odpadów uzyskuje się od 0,35-0,50 Mg kompostu. Kompost może być również stosowany jako nawóz co zmniejsza zużycie nawozów mineralnych oraz ich wymywanie z gleby, tym sposobem kompost wykorzystywany jest w rolnictwie, leśnictwie, ogrodnictwie, sadownictwie oraz na terenach miejskiej zieleni. Uszlachetnienie kompostu do celów rolniczych powinno się odbywać z uwzględnieniem potrzeb gleb, do których jest on przeznaczony, co w znacznym stopniu poprawia strukturę gleby i jej właściwości fizyko-chemiczne pod upraw. Duża zawartość próchnicy w glebie pomaga zatrzymać substancje nawozowe w glebie. Kompost w glebach lekkich może działać jako lepiszcze natomiast w glebach ciężkich zwiększa jej porowatość. Aby kompost był przyjęty jako produkt bezpieczny i akceptowany na rynku, musi on spełniać następujące warunki:

- musi być bezpieczny pod względem sanitarnym,
- musi posiadać ograniczoną koncentrację metali ciężkich,
- musi być bezzapachowy,
- musi być wolny od nadmiaru szkła, plastiku, tekstyliów, papieru i innych [4].

### **Fermentacja metanowa**

Biogaz to produkt, który powstaje podczas fermentacji metanowej. Składa się on głównie z metanu, dwutlenku węgla oraz niewielkich ilości azotu, siarkowodoru i wodoru. Biogaz powstaje w naturalnych procesach zachodzących w dnach zbiorników wodnych (oceany, jeziora), podczas erupcji wulkanicznych i pęknięć skorupy ziemskiej, w przewodach pokarmowych przeżuwaczy i termitów, podczas rozkładu nawozów organicznych (obornika, gnojowicy) [4].

Do antropogenicznych źródeł metanu zalicza się m.in. [4]:

- wydobywanie węgla, gazu ziemnego i ropy naftowej,
- hodowla zwierząt domowych,
- pola ryżowe,
- składowiska odpadów i oczyszczalnie ścieków.

Pomijając naturalne i antropogeniczne źródła, z których metan trafia do atmosfery, jest on również produkowany w procesach sterowanych przez człowieka w celu utylizacji odpadów, bądź też produkcji energii elektrycznej i ciepłej [4].

Fermentacja beztlenowa to proces biochemiczny, zachodzący w warunkach beztlenowych. Bakterie rozkładają substancje organiczne na związki proste, przede wszystkim na metan i dwutlenek węgla. Do 60% substancji organicznej zamienia się w biogaz podczas procesu fermentacji beztlenowej.

Do produkcji biogazu rolniczego, mogą być stosowane produkty uboczne rolnictwa, płynne lub stałe odchody zwierzęce, produkty uboczne lub pozostałości przemysłu rolno-spożywczego lub biomasy leśnej. Gnojowica (trzody, bydła i drobiu) ze względu na bardzo dobre właściwości buforujące stała się powszechnie stosowanym substratem do produkcji biogazu rolniczego. Wiąże się to wieloma zaletami, ponieważ oprócz możliwości utylizacji uciążliwych odpadów z terenów rolniczych, możliwa jest również produkcja biogazu oraz ekologicznego nawozu.

Biogazownia rolnicza wytwarzająca metan realizuje pięć etapów procesu technologicznego [4]:

- etap 1 – dostarczanie, składowanie i przygotowywanie substratów,
- etap 2 – wprowadzanie substratów (wsadu) do komory fermentacyjnej,
- etap 3 – uzyskiwanie biogazu,
- etap 4 – uzdatnianie i zagospodarowywanie odpadów pofermentacyjnych,
- etap 5 – uzdatnianie i wykorzystywanie biogazu.

Wszystkie wyżej wymienione etapy procesu są ze sobą ściśle powiązane. Szczególną uwagę należy zwrócić na powiązania etapów 3 oraz 5. Podczas etapu 5 – wykorzystania biogazu, produkowana jest energia cieplna, która może być wykorzystywana do utrzymania pożądanej temperatury fermentacji w etapie 3.

Poniżej przedstawiono charakterystykę wybranych substratów stosowanych w procesie fermentacji odpadów rolniczych wraz z potencjałem do produkcji biogazu.

**Tabela 1.** Charakterystyka wybranych substratów wraz z potencjałem produkcji biogazu [5]

<b>Nazwa substratu</b>	<b>Procentowa zawartość s.m. w t substratu</b>	<b>Procentowa zawartość s.m.o. w zawartości s.m.</b>	<b>Produkcja metanu z 1 t s.m.o. (m<sup>3</sup>/t s.m.o.)</b>
Gnojowica bydłęca	9,5	77,4	222,5
Gnojowica świńska	6,6	76,1	301,0
Gnojowica kurza	15,1	75,6	320,0
Gnojowica krów mlecznych	8,5	85,5	154,0
Gnojówka	2,1	60,0	222,5
Słoma	87,5	87,0	387,5
Trawa – kiszonka	40,3	83,4	396,6
Trawa	11,7	88,0	587,5
Siano	87,8	89,6	417,9
Ziemniaki – liście	25,0	79,0	587,5
Kukurydza – kiszonka	32,6	90,8	317,6
Buraki cukrowe	23,0	92,5	444,0
Cebula	12,9	94,8	360,3
Odpady i resztki owoców	45,0	61,5	400,0
Serwatka	5,4	86,0	383,3

W Polsce temat przydomowych biogazowni nie jest jeszcze tak rozpowszechniony jak w innych krajach rozwiniętych np. Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Niemczech czy Holandii, jak również w krajach rozwijających się- Chiny, Indie, gdzie odzyskuje się sporą część energii z przydomowych biogazowni. Znaczny wpływ mają na to rządowe programy wspierające inwestycje w biogazownie zarówno małe o pojemnościach bioreaktorów 20-500m<sup>3</sup>, jak i te duże 1000-10 000 m<sup>3</sup>.

Nieprzefermentowane odpady rolnicze niosą ze sobą emisję odorów, które są usuwane z biogazowni różnymi sposobami (np. biologiczne odsiarczanie). Odpady mogą być również źródłem licznych patogenów, które wywołują u ludzi i zwierząt liczne choroby. Znaczna

większość mikroorganizmów chorobotwórczych ginie w podwyższonej temperaturze jaka panuje w komorze fermentacyjnej, jednak w celu całkowitego wyeliminowania ich i przedostania się do środowiska naturalnego wprowadzono wymóg higienizacji przefermentowanego materiału przed jego wykorzystaniem jako potencjalny nawóz.

### **Zagospodarowanie materiału pofermentacyjnego z biogazowni rolniczych**

Pulpa pofermentacyjna z biogazowni, aby mogła być wykorzystana jako potencjalny nawóz lub ulepszcacz ziemi musi spełniać odpowiednie wymogi w sprawie odzysku R10. Stosowanie odchodów zwierzęcych jako nawóz reguluje prawo. W przefermentowanej gnojowicy znaczna większość azotu występuje w postaci jonu amonowego, który jest łatwo przyswajalny przez rośliny [6]. Prócz tego odpady poddane procesowi fermentacji beztlenowej są cenniejszym nawozem niż odpady, które nie uległy temu procesowi np. gnojowica. Skutkuje to brakiem nasion chwastów, płynną konsystencją, ograniczeniem agresywnego działania na rośliny oraz zwiększoną zawartością dobrze przyswajalnego dla roślin azotu amonowego, fosforu i potasu. Wykorzystanie materiału pofermentacyjnego jako nawóz jest bardzo racjonalną metodą zagospodarowania.

### **Podsumowanie**

Odpady z sektora rolniczego to duży problem dzisiejszych czasów. Zaostrzone przepisy prawne wzmagają u rolników racjonalniejszego zagospodarowania odpadów. Obecnie ze względu na specyficzny zapach niektórych odpadów rolniczych odchodzi się od ich składowania lub bezpośredniego wykorzystywania jako nawóz, ze względów na szybką degradację surowca w wyniku działania mikroflory. Odpady te poddawane są procesowi recyklingu organicznego. Stosowanie recyklingu jako metody odzysku odpadów, powinno odbywać się w jak największym procencie, czego efektem są nowe produkty, które na nowo zostają wykorzystane przez ich rozproszanie na powierzchni ziemi, w celu poprawy struktury i rekultywacji zdegradowanej gleby [9]. Recykling organiczny ma szczególne znaczenie, gdyż większość gleb w Polsce pozbawiona jest próchnicy.

Istnieje wiele rozwiązań zagospodarowania odpadów rolniczych, jednym z nich jest poddanie ich fermentacji metanowej i kompostowaniu. Procesy te są dobrze znane w rolnictwie, należy jednak pamiętać, iż kompostowanie przebiega w warunkach tlenowych, natomiast fermentacja odbywa się bez udziału tlenu. W obydwu tych procesach można odpowiednio zoptymalizować warunki i otrzymać produkty bogate w substancje humusowe [9]. W procesie fermentacji, otrzymujemy również z substancji organicznych- metan



i dwutlenek węgla czyli biogaz. Produkcja biogazu cieszy się coraz większym zainteresowaniem. Rola jaką może odgrywać fermentacja metanowa związana z wytwarzaniem bioenergii jest zatem wielka. Po pierwsze daje możliwość przekształcania energii zawartej w odpadach rolniczych na użyteczne paliwo, który może być gromadzony i transportowany [1]. Po drugie jest to forma recyklingu odpadów organicznych, która pozwala uzyskać nawóz. Po trzecie jest metodą inertyzacji odpadów, która obniża niekorzystne oddziaływanie na środowisko naturalne. Należy również wspomnieć, iż metoda ta jest uniwersalna, w porównaniu z innymi odnawialnymi źródłami energii. Do produkcji biogazu można wykorzystywać biomasę różnego pochodzenia, a w szczególności produkty uboczne i odpady powstające przy wytwarzaniu żywności z surowców roślinnych i zwierzęcych, które są uciążliwe dla środowiska i wymagają właściwej technologii składowania i utylizacji [6]. Prawidłowe zagospodarowanie odpadów rolniczych przysparza ogromne problemy w świetle dzisiejszego prawa.

W wielu krajach fermentacja beztlenowa jest istotnym elementem kompleksowego, zintegrowanego systemu zagospodarowania odpadów [1]. Racjonalne wykorzystanie odpadów rolniczych ma na celu zmniejszyć zanieczyszczenie środowiska naturalnego jak również w pewnym stopniu poprawić bilans energetyczny kraju.

Świadomość ekologiczna współczesnego społeczeństwa pozwoli na racjonalne zagospodarowanie wszystkich odpadów dzisiejszego świata. Prawidłowa gospodarka odpadami potrzebuje takich działań jak przetwórstwo, wykorzystanie i unieszkodliwianie odpadów. Należy pamiętać, iż to ile odpadów będzie wytwarzanych za kilkanaście lat i co z nimi będzie się działo w dużej mierze zależy od społeczeństwa.

## **Literatura**

- [1] Daniel Z., Juliszewski T., Kowalczyk Z., Malinowski M., Sobol Z., Wrona P.: Metoda szczegółowej klasyfikacji odpadów z sektora rolniczego i rolno-spożywczego. Infrastruktura i ekologia terenów wiejskich. 2012 nr 2/IV: 141-152.
- [2] Kalina J., Skorek J., Cebula J., Latocha L.: Pozyskiwanie i energetyczne wykorzystanie biogazu z biogazowni rolniczych. Gospodarka Paliwami i Energii. 2003 nr 12.
- [3] Chaaban Moustafa A.: Hazardous waste source reduction in materials and processing technologies. Journal of Materials Processing Technology. 2001 nr 119: 336-34.
- [4] Żółtkowski B., Kwiatkowski K.: Zagrożone środowisko. Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy. 2012.

- [5] Europejska inicjatywa instytucji badawczo-rozwojowych na rzecz zwiększenia efektywności wykorzystania biogazu. Projekt 6 Programu Ramowego Badań i Rozwoju Unii Europejskiej, 91-98. UE: Agrobiogaz, 2007-2010.
- [6] Podkówka Z., Podkówka W.: Substraty dla biogazowni rolniczych. 2010.
- [7] Janowicz L.: Biogazownie rolnicze. Broszura. Wydawnictwo KPODR Minikowo. 2008.
- [8] Latocha L.: Materiały ze szkolenia „Odnawialne źródła energii dla domu i biznesu”, 2010.
- [9] Pilarski K., Dach J., Pilarska A.: Preferowane kierunki rolniczego zagospodarowania odpadów z produkcji biopaliw. Technika rolnicza ogrodnicza leśna. 2010 nr 3.
- [10] Ulewicz M., Siwka J.: Procesy odzysku i recyklingu wybranych materiałów. Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej. Częstochowa. 2010.

# AKTYWNOŚĆ SERCA ROZWIELITKI (*DAPHNIA SP.*) JAKO FIZJOLOGICZNY BIOMARKER ODDZIAŁYWANIA SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH

Aleksandra Szabelak<sup>(1)</sup>, Adam Bownik<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>*Institut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

*szabelak.aleksandra@gmail.com*

## Streszczenie

Rozwielitka (*Daphnia sp.*) jest słodkowodnym bezkręgowcem powszechnie wykorzystywanym w wielu dziedzinach biologii w ocenie oddziaływania substancji bioaktywnych. Oprócz typowych biomarkerów jak śmiertelność oraz immobilizacja coraz powszechniej określane są parametry behawioralne. Ze względu na przezroczysty karapaks obserwacja wpływu różnych związków bioaktywnych na aktywność serca rozwielitek jest nieskomplikowana. Celem pracy jest przegląd dostępnej literatury dotyczącej zastosowania aktywności serca rozwielitki (*Daphnia sp.*) jako fizjologicznego biomarkera oddziaływania substancji bioaktywnych. Z piśmiennictwa wynika, iż pewne substancje mogą wpływać na szybkość bicia serca oraz na powierzchnię w fazie systolicznej (skurczu) i diastolicznej (rozkurczu), dlatego też parametry te z powodzeniem mogą służyć jako biomarkery oddziaływania substancji bioaktywnych.

## Wprowadzenie

*Daphnia* należy do wioślarek, podrodzaju *Ctenodaphnia* i rodziny *Daphniidae*. Jest to słodkowodny organizm zamieszkujący zarówno trwałe jak i okresowe ekosystemy wodne takie jak stawy czy jeziora. Jako gatunek eurytermiczny wykazuje tolerancję na szeroki zakres temperatur, co pozwala na zasiedlanie różnych stref klimatycznych [1]. Rozwielitki odżywiają się bakteriami, glonami i zawiesiną organiczną [2]. W zależności od gatunku rozmiar ciała waha się w zakresie 1-6mm. Niewielkie wymiary oraz przezroczysty pancerz tych organizmów umożliwiają badanie procesów fizjologicznych przy pomocy nieskomplikowanych metod optycznych. Ciało rozwielitek jest silnie skrócone i bocznie spłaszczone. Silnej redukcji uległa I para czułków, na której znajdują się szczecinki pełniące funkcje czuciowe. Natomiast II para czułków jest bardzo silnie rozwinięta i rozgałęziona, co stanowi główny narząd ruchu. *Dafnie* poruszają się w wodzie ruchem skokowym generowanym za pomocą skurczów mięśni drugiej

pary odnóży głowowych. Większość gatunków rozwielitki stale unosi się w toni wodnej. Stwierdza się również, że organizmy te przytwierdzają się do powierzchni roślin, bądź do dna zbiorników wodnych. Ruchliwość jest zależna od wielkości osobników, a także od warunków środowiska zewnętrznego [3]. Na tułowiu pod karapaksem znajduje się pięć par krótkich i spłaszczonych odnóży służących głównie do odfiltrowania pokarmu z wody. *Daphnia* ze względu na wymienione cechy jest modelowym organizmem wykorzystywanym w badaniach toksykologicznych do oceny wpływu substancji bioaktywnych. Duża wrażliwość skorupiaków pozwala określić nie tylko działanie letalne, ale także subletalne związków bioaktywnych w niskich stężeniach. Do podstawowych biomarkerów w badaniach toksykologicznych z zastosowaniem rozwielitek zalicza się śmiertelność i immobilizację [4], jednak badania przeprowadzone przez różnych autorów sugerują, iż parametry fizjologiczne wykazują się większą wrażliwością. Dominującym elementem na głowie *Daphni* jest kuliste oko złożone, zbudowane z niedużej ilości omatydów. Ruch tego narządu jest skorelowany z kierunkiem padania światła [5]. Poniżej oka złożonego występuje, także szczątkowe oko nauplisowe. Przy większym powiększeniu można zaobserwować mięśnie poruszające okiem oraz nerwy łączące je ze zwojem głowowym. Funkcję gruczołu trawiennego pełni parzysty uchylek jelita środkowego [6]. Rozwielitki w sprzyjających warunkach rozmnażają się przez partenogenezę czyli dzieworództwo i większość populacji stanowią samice, składające wiele jaj niewymagających zapłodnienia o natychmiastowym rozwoju [7]. Jaja rozwijają się w komorze lęgowej zlokalizowanej przy ujściu jajowodów. Ten sposób rozmnażania pozwala na szybkie opanowanie środowiska pod warunkiem wystąpienia sprzyjających warunków i dużej ilości pożywienia. W przypadku pogorszenia warunków, na przykład w wyniku braku tlenu, czy pożywienia zaczynają rozwijać się też samce, które są mniejsze od samic i przejmują rolę zapłodnienia tak zwanych jaj zimowych. W związku z powyższym, jak wcześniej wspomniano *Daphnia* jest modelowym organizmem wykorzystywanym w badaniach toksykologicznych do oceny wpływu substancji bioaktywnych. Duża wrażliwość skorupiaków pozwala określić nie tylko działanie letalne, ale także subletalne związków bioaktywnych w niskich stężeniach. Do podstawowych biomarkerów w badaniach toksykologicznych z zastosowaniem rozwielitek zalicza się śmiertelność i immobilizację [4], jednak badania przeprowadzone przez różnych autorów sugerują, iż parametry fizjologiczne wykazują się większą wrażliwością.

### Fizjologia serca

Podobnie jak u pozostałych stawonogów, *Daphnia* posiada otwarty układ krążenia z prostą budową serca. Narząd ten znajduje się po stronie grzbietowej ciała [8]. Rozwielitki

posiadają hemoglobinę zewnątrzkomórkową, co oznacza, że białko ma zdolność do nietrwałego przyłączenia tlenu i pobiera je ze środowiska [9]. Ilość hemu zależy ściśle od warunków środowiskowych. Wysokie stężenie tlenu w wodzie obniża poziom hemoglobiny w hemolimfie, podczas gdy niska zawartość tlenu wywołuje nawet dwudziestokrotny wzrost czerwonego barwnika krwi. W przypadku dużej zawartości hemoglobiny w organizmie, zmienia się zabarwienie całego skorupiaka [9]. Normalna częstotliwość rytmu serca waha się od czterech uderzeń na sekundę przed karmieniem do dziesięciu uderzeń na sekundę po karmieniu drożdżami piekarskimi w temperaturze pokojowej. W ciągu minuty można odnotować około 180 uderzeń na minutę [10]. Ze względu na przezroczysty karapak obserwacja serca rozwielitek jest nieskomplikowana i pozwala na badanie wpływu różnych związków bioaktywnych na jego aktywność. Serce *Daphni* w odróżnieniu od innych stawonogów zbudowane jest z komórek mięśniowych [8], co pozwala na określanie wpływu różnych substancji kardioaktywnych pod kątem ich możliwego wykorzystania w medycynie [11].

### **Szybkość bicia serca**

Rozwielitki ze względu na dużą wrażliwość na substancje aktywne wykorzystuje się w wielu dziedzinach biologii, szczególnie do badań toksykologicznych. Wyniki badań sugerują, iż pewne substancje mogą wpływać na szybkość bicia serca. Do substancji powodującej pobudzenie układu sercowo-naczyniowego należy m.in. sulfonian perfluorooktanu (PFOS), obecny w morzach i wywołujący szereg niekorzystnych skutków dla organizmów wodnych. Dotychczasowe badania jego przewlekłej i ostrej toksyczności na faunę wodną były niewystarczające, dlatego też Liang i wsp. [12] analizowali wpływ związku perfluorowanego na *Daphnie*. Wyniki wykazały, że po 48 godzinach ekspozycji na PFOS bicie serca zostało znacząco przyspieszone (Tab. 1) [12]. Bardzo interesujące są również wyniki badań przeprowadzone na nikotynie [10]. Nikotyna jako neurotoksyna w niskich stężeniach wykazuje zdolność do pobudzania akcji serca u rozwielitek. Przy 100  $\mu\text{M}$  związek ten w sposób odwracalny zwiększa średnią częstość uderzeń serca o około 20%. Natomiast wysoka koncentracja nikotyny wywołuje spadek częstotliwości skurczu i zatrzymanie jego akcji (Tab. 1) [10].

**Tabela 1.** Wpływ wybranych związków na częstość skurczów serca u *Daphnia*

Nazwa związku	Działanie na serce	Literatura
Sulfonian perfluorooktanu [PFOS]	Pobudzenie	[12]
Nikotyna	Spadek częstości bicia serca	[10]
Kofeina	Pobudzenie	[13]
Atropina	Pobudzenie	[15]
Acetylocholina	Spadek częstości bicia serca	[15]
Fizostygmina	Spadek częstości bicia serca	[10]
Ektoina	Pobudzenie	[16,17]
Olejek goździkowy	Spadek częstości bicia serca	[19, 20]
Etanol	Pobudzenie	[22]
Chlorek potasu	Spadek częstości bicia serca	[10]
Laktoza	Spadek częstości bicia serca	[23]

Kolejną naturalną substancją wpływającą na akcję serca jest kofeina, która działając bezpośrednio na serce *Daphni*, powoduje w małych stężeniach wzrost siły i częstotliwości jego skurczu. Wyższa koncentracja tego związku wywołuje skurcz toniczny, zakończony jego zatrzymaniem (Tab. 1) [13].

Podosinovikova i in. [14] wykazali, że karbamylcholina zwiększa częstotliwość skurczu serca. Efekt ten utrzymuje się przez dwie godziny, natomiast po 24 godzinach następuje wyraźne obniżenie częstotliwości skurczów. Podobna reakcja zachodzi w przypadku oddziaływania na serce kofeiny w połączeniu z karbamylcholiną. Częstotliwość skurczu nasila się w ciągu pierwszej godziny, a następnie obserwuje się zahamowanie wpływu substancji na działanie leku. Ponadto wykazano, iż kofeina łagodzi zmniejszenie szybkości bicia serca [14]. Stwierdzono, że na szybkość bicia serca rozwielitki wpływa także atropina [15]. Ten organiczny związek chemiczny w niskich stężeniach powoduje wzrost częstotliwości skurczów serca (Tab. 1), a w dużych stężeniach spadek liczby uderzeń. Zmiany wywołane przez ten alkaloid okazały się nieodwracalne i doprowadziły do śmierci badanych osobników. Antagonistyczne działanie w stosunku do atropiny stwierdzono w przypadku acetylochliny.

Wyniki uzyskane po przeprowadzeniu szeregu doświadczeń wykazały, że związek ten hamuje częstość akcji serca rozwielitek w sposób zależny od koncentracji (Tab. 1) [15]. Kolejnym alkaloidem wywołującym zmiany w działaniu serca jest fizostygmina [eseryna] będą alkaloidem indolowym hamującym aktywność acetylocholinesterazy. Badania wykazały, że związek ten powoduje początkowo obniżenie częstości bicia serca, a następnie zahamowanie akcji serca (Tab. 1). Powstałe zmiany fizjologiczne miały charakter nieodwracalny, gdyż rozcieńczenie czynnika poprzez dodanie czystej wody nie doprowadziło do znormalizowania tętna [10].

Innym naturalnym organicznym związkiem wytwarzanym i akumulowanym przez bakterie halofilne w warunkach stresu jest ektoina. Jej działanie polega głównie na ochronie komórek przed oddziaływaniem szkodliwych czynników, takich jak wysoka temperatura, promieniowanie UV, formaldehyd (FA) [16]. Rozwielitki poddane stresowi cieplnemu oraz dodatkowo eksponowanej na ektoinę utrzymywały prawidłową częstotliwość bicia serca (Tab. 1) w porównaniu do zwierząt nie traktowanych tym osmoprotektantem, u których oprócz dużej śmiertelności stwierdzono wahania aktywności serca. W innych badaniach, wykazano podobne ochronne działanie ektoiny na serce [łagodzenie obniżania częstości skurczów] oraz zmniejszoną śmiertelność osobników eksponowanych na kombinację ektoiny i formaldehydu w porównaniu do rozwielitek narażonych na sam formaldehyd [17]. Stwierdzono również, iż działanie stresogenne polegające na zmniejszeniu częstotliwości bicia serca wywołane przez nadtlenek wodoru może zostać złagodzone przez ektoinę. Badania wykonane przez Bownika i Stępniewską [18] wykazały, że rozwielitki traktowane kombinacją nadtlenu wodoru i ektoiny cechują się zmniejszoną śmiertelnością i poprawą czynności serca w porównaniu do zwierząt eksponowanych jedynie na nadtlenek wodoru.

Naturalną substancją mającą wpływ na szybkość bicia serca jest również olejek goździkowy (CO). Jest on stosowany jako środek znieczulający w akwarystyce w celu obniżenia stresu u ryb i innych bezkręgowców podczas transportu [19, 20]. Wykazano, iż ekstrakt CO powoduje znieczulenie, arytmie serca oraz zmniejszoną częstość jego akcji [Tab. 1], natomiast kombinacja ektoina i CO znacznie łagodzi zmiany wywołane przez CO [21].

Hu i in. [22] wykazali, iż częstość akcji serca rozwielitki *Daphnia pulex* może ulec zmianie pod wpływem etanolu. W badaniach tych stwierdzono, iż alkohol etylowy w zarówno w dużym jak i niskim stężeniu zwiększył częstotliwość bicia serca (Tab. 1). Interesujące, iż częstość skurczu ulegała zwiększeniu po odstawieniu etanolu, natomiast powracała do poziomu podstawowego po ponownej ekspozycji na alkohol. Badania te pozwoliły na określenie progu adaptacji i tolerancji alkoholu etylowego dla tych skorupiaków.

Rozwielitki są wykorzystywane również do badania efektów toksycznych powodowanych przez laktozę. Campbell [23] wykazał, iż związek ten hamuje częstość akcji serca o 30-100% i generuje silną arytmieję po 60 min ekspozycji (Tab. 1). Efekty te były w pełni odwracalne po 3-4 godzinach [23].

Na częstotliwość skurczów serca wpływają również związki nieorganiczne takie jak chlorek potasu. Wg Baylor [10] związek ten ma działanie podobne do acetylocholin i w niskich stężeniach powoduje zmniejszenie szybkości bicia serca (Tab. 1), natomiast w wysokich koncentracjach wywołuje zahamowania akcji serca.

### **Powierzchnia w fazie systolicznej (skurczu) i diastolicznej (rozkurczu)**

Wpływ różnych związków bioaktywnych może zostać określony przy wykorzystaniu pomiaru powierzchni serca *Daphni* w fazie systolicznej (skurczu) i diastolicznej (rozkurczu). Jednym ze związków toksycznych, które zmieniają stosunek powierzchni w tych dwóch fazach jest wcześniej omawiany olejek goździkowy (CO). Istotne jest, iż jako środek powodujący znieczulenie ma bardzo cienką granicę pomiędzy działaniem bezpiecznym a toksycznym. W wyższych stężeniach wpływa na wydolność sercowo-naczyniową ze skutkiem śmiertelnym. Bownik [21] w badaniach dotyczących wpływu olejku goździkowego na częstość skurczu i rozkurczu serca u rozwielitek wykazał, że u *Daphnii* traktowanych samym olejkiem lub w połączeniu z ektoiną obszar skurczu serca nie uległ znaczącym zmianom, natomiast w przypadku jego rozkurczu obszar zwiększał się, wraz ze wzrastającym stężeniem substancji toksycznej. Zastosowanie kombinacji olejek goździkowy i ektoina spowodowało zmniejszenie powierzchni diastolicznej. Wyniki wskazują, że ECT może być zastosowany jako czynnik regulujący aktywność serca u zwierząt poddanych działaniu [21].

Powierzchnia serca rozwielitki może zostać wykorzystana jako biomarker w oznaczaniu wpływu na organizm poszczególnych leków kardiologicznych takich jak: strofantyna, werapamil, metaproterenol oraz metoprolol. Villegas-Navarro i in. [24] prowadząc badania na *Daphnia magna* w celu rozróżnienia skutków farmakologicznych i toksykologicznych wywołanych przez powyższe związki chemiczne wykazali, iż najbardziej toksyczną substancją jest strofantyna, która spowodowała wzrost kurczliwości kardiomiocytów oraz siłę skurczu serca poprzez zmianę wewnątrzkomórkowego stężenia jonów  $Ca^{2+}$ . Werapamil wywołał zwiększenie częstości skurczów serca, a także dodatnie efekty inotropowe wraz ze wzrostem stężenia, podczas gdy metaproterenol wykazał dodatni wpływ chronotropowy zależny od stężenia. Wzrost częstości skurczów serca już przy niskich stężeniach wykazano w przypadku metoprololu. Metoprolol w *Daphnia magna* wywoływał podobne skutki,



co u ssaków. Werapamil natomiast powodował odwrotne efekty [24]. Reakcje aktywności serca na wszystkie związki bioaktywne nie są jeszcze dokładnie znane, dlatego istnieje potrzeba prowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

## Podsumowanie

Rozwielitki (*Daphnia sp.*) ze względu na nieskomplikowaną budowę oraz dużą wrażliwość na substancje bioaktywne są powszechnie wykorzystywane w badaniach toksykologicznych. Charakterystyczna budowa *Daphni* umożliwia określanie wpływu różnych związków nieorganicznych oraz naturalnych substancji na skorupiaki.

Wpływ różnych związków bioaktywnych może zostać określony poprzez pomiar szybkości bicia serca oraz pomiar powierzchni serca *Daphni* w fazie systolicznej (skurczu) i diastolicznej (rozkurczu).

Analiza powierzchni serca skorupiaka znajduje zastosowanie w oznaczaniu wpływu na organizm poszczególnych leków kardiologicznych, co umożliwia potencjalne wykorzystanie tych badań w medycynie ludzkiej.

## Literatura

- [1] Coen De, Wim M, Colin R.: Janssen: The missing biomarker link/Relationships between effects on the cellular energy allocation biomarker of toxicant stressed *Daphnia magna* and corresponding population characteristics/ Environ Toxicol Chem. 2003 Jul;22(7):1632-41.
- [2] Marinho M.C, Lage O.M, Catita J, Antunes S.: Adequacy of planctomycetes as supplementary food source for *Daphnia magna*/Antonie van Leeuwenhoek. 2017 Dec 8. doi: 10.1007/s10482-017-0997-1. [Epub ahead of print]
- [3] Bownik A: *Daphnia* swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment/A review/ Sci Total Environ. 2017 Dec 1; 601-602:194-205. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.199. Epub 2017 May 25.
- [4] Klaper R, Crago J, Barr J, Arndt D, Setyowati K i wsp.: Toxicity biomarker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles:changes in toxicity with functionalization/Environmental Pollution. 2009 157[4], 1152-1156.
- [5] Brausch K.A, Anderson T.A, Smith P.N, Maul J.D.: The effect of fullerenes and functionalized fullerenes on *Daphnia magna* phototaxis and swimming behavior/ Environ Pollut. 2009 Apr;157(4):1152-6. doi: 10.1016/j.envpol.2008.11.010. Epub 2008 Dec 17.

- [6] Rist S, Baun A, Hartmann N.B.: Ingestion of micro-and nanoplastics in *Daphnia magna*—Quantification of body burdens and assessment of feeding rates and reproduction/ *Environ Pollut*. 2017 Sep;228:398-407. doi: 10.1016/j.envpol.2017.05.048. Epub 2017 May 26.
- [7] Sancho E, Banegas S, Villarroel M. J, Ferrando D.: Impaired reproduction and individual growth of the water flea *Daphnia magna* as consequence of exposure to the non-ester pyrethroid etofenprox/ *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017 Dec 14. doi: 10.1007/s11356-017-0952-8. [Epub ahead of print].
- [8] Stein R.J, Richter W.R, Zussman R.A, Brynjolfsson G.: Ultrastructural characterization of *Daphnia* heart muscle/ *J Cell Biol*. 1966 Apr;29(1):168-70.
- [9] Pirow R, Bäumer C, Paul R.J.: Crater landscape: two-dimensional oxygen gradients in the circulatory system of the microcrustacean *Daphnia magna*/ *J Exp Biol*. 2004 Dec;207(Pt 25):4393-405.
- [10] Baylor E.: Eserine, and atropine on intestinal movement in *Daphnia*. Acetyl-choline stimulates intestinal movement, its action is inhibited/E. R. Baylor *Biological Bulletin*. 1942 83, No. 2 pp. 165-172.
- [11] Sarka V, Kuca K, Jun D.: *Daphnia* intoxicated by nerve agent tabun can be treated using human antidotes/ *Environ Toxicol Pharmacol*. 2008 May;25(3):329-33. doi: 10.1016/j.etap.2007.11.001. Epub 2007 Nov 13.
- [12] Liang R. i wsp.: Effects of Perfluorooctane sulfonate on immobilization, heartbeat, reproductive and biochemical performance of *Daphnia magna*/ *Chemosphere*. 2017 Feb;168:1613-1618. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.11.147. Epub 2016 Dec 7.
- [13] Bang Seung H. i wsp.: Acute and chronic toxicity assessment and the gene expression of *Dhb*, *Vtg*, *Arnt*, *CYP4*, and *CYP314* in *Daphnia magna* exposed to pharmaceuticals/ *Environ Toxicol*. 2011 Oct;26(5):515-23. doi: 10.1002/tox.20665. Epub 2011 Feb 9.
- [14] Podosinovicova N.P, Beliaev V.A, Dolgo-Saburov V.B: Studying intermediary regulation of heart rhythm using *Daphnia magna* as the alternative test object/ *Eksp Klin Farmakol*. 2009 Nov-Dec;72(6):49-51.
- [15] Carvalho Félix D. i wsp.: Use of atropine-treated *Daphnia magna* survival for detection of environmental contamination by acetylcholinesterase inhibitors/ *Ecotoxicol Environ Saf*. 2003 Jan;54(1):43-6.
- [16] Bownik A, Stępniewska Z, Skowroński T.: Protective effects of ectoine on heat-stressed *Daphnia magna*/ *J Comp Physiol B*. 2014 Dec;184(8):961-76. doi: 10.1007/s00360-014-0860-x. Epub 2014 Sep 16.

- [17] Bownik A, Stępniewska Z.: Ectoine alleviates behavioural, physiological and biochemical changes in *Daphnia magna* subjected to formaldehyde/ *Environ Sci Pollut Res Int*. 2015 Oct;22(20):15549-62. doi: 10.1007/s11356-015-4747-5. Epub 2015 May 27.
- [18] Bownik A, Stępniewska Z.: Protective effects of ectoine on behavioral, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna* subjected to hydrogen peroxide/*Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2015 Apr;170:38-49. doi: 10.1016/j.cbpc.2015.02.002. Epub 2015 Feb 19.
- [19] Jaganathan S.K, Mazumdar A, Mondhe D, Mandal M.: Apoptotic effect of eugenol in human colon cancer cell lines/ *Cell Biol Int*. 2011 Jun;35(6):607-15. doi: 10.1042/CBI20100118.
- [20] Javahery S, Nekoubin H, Moradlu A.H.: Effects of anaesthesia with clove oil in fish [review]/ *Fish Physiol Biochem*. 2012 Dec;38(6):1545-52. doi: 10.1007/s10695-012-9682-5. Epub 2012 Jun 30.
- [21] Bownik A.: Protective Effects of Ectoine on Physiological Parameters of *Daphnia magna* Subjected to Clove Oil-induced Anaesthesia/*Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2016 16.3:691-701.
- [22] Hu A. M, Zhu T, Dong L, Luo N. F, Du G.Z.: Ethanol alters the expression of ion channel genes in *Daphnia pulex*/ *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2016 May;42(3):325-32. doi: 10.3109/00952990.2016.1162168. Epub 2016 May 9.
- [23] Campbell A.K, Wann K.T, Matthews S.B.: Lactose causes heart arrhythmia in the water flea *Daphnia pulex*/ *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2004 Oct;139(2):225-34.
- [24] Villegas-Navarro A, Rosas-L. E, Reyes J. L.: The heart of *Daphnia magna*: effects of four cardioactive drugs/ *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2003 Oct;136(2):127-34.

## ROZMNAŻANIE TRAW W KULTURACH TKANKOWYCH ZA POŚREDNICTWEM ORGANOGENEZY POŚREDNIEJ

Poniewozik Monika<sup>(1)</sup>, Marzena Parzymies<sup>(1)</sup>, Paweł Szot<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>*Katedra Roślin Ozdobnych i Architektury Krajobrazu, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu,  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

*monika87\_1987@o2.pl*

### Streszczenie

Trawy ozdobne są roślinami, które coraz bardziej zyskują na popularności i są powszechnie wykorzystywane nie tylko jako rośliny dekoracyjne w nasadzeniach ogrodowych, ale też w celach przemysłowych do produkcji biomasy oraz do fitoremediacji. Rozmnażanie traw tradycyjnymi metodami opiera się głównie na podziale dorosłych egzemplarzy i jest mało wydajne, dlatego też masowa produkcja sadzonek często oparta jest na technice *in vitro*. W pracy przedstawiono istniejący stan wiedzy na temat mikrorozmnażania traw ozdobnych, obejmujący najistotniejsze wyniki badań dotyczących pośredniej organogenezy z uwzględnieniem problemów jakie można napotkać prowadząc kultury tkankowe tych roślin.

### Wprowadzenie

Trawy są nieodłącznym elementem naszej flory. Początkowo traktowane były wyłącznie jako rośliny pastewne, jednak obecnie zyskały bardzo duże znaczenie jako rośliny ozdobne, które z powodzeniem mogą być uprawiane w ogrodach. Są nieodzownym elementem wykorzystywanym do obsadzania oczek wodnych, a wyższe odmiany nadają się doskonale na nieformalne żywopłoty. Ponadto trawy cechuje szeroka gama barw i pokrojów, ich zaschnięte kwiatostany stanowią ciekawą dekorację w okresie zimowym, szczególnie obsypane śniegiem, a co najważniejsze wprowadzają do ogrodu element ruchu i dźwięku oraz są kryjówką dla wielu zwierząt i zapewniają zimą pokarm ptakom. Trawy mają małe wymagania siedliskowe i wymagają minimalnej pielęgnacji.

Trawy ozdobne są też wykorzystywane w przemyśle. Szczególnie gatunki z rodzaju *Micanthus sp.* są uprawiane jako rośliny energetyczne do produkcji biomasy, a koszt uzyskania energii z traw jest znacznie mniejszy niż przy użyciu węgla kamiennego czy nawet słomy. Ponadto w trakcie spalania emitują mniej zanieczyszczeń do atmosfery [1]. Warto też zwrócić uwagę na fakt, że wiele gatunków wykorzystywanych jest do fitoremediacji terenów przemysłowych i zanieczyszczonych, gdyż dzięki swoim minimalnym potrzebom radzą sobie

w tak trudnym środowisku, a z podłoża pobierają, stabilizują i detoksykują substancje szkodliwe, np. do fitowolatyzacji rtęci szczególnie polecana jest kostrzewa owcza (*Festuca ovina*) [2].

W latach 90-tych znacząco wzrosło zainteresowanie uprawą miskanta, ze względu na możliwość wykorzystania biomasy tych roślin jako odnawialnych źródeł energii. Koszt uzyskania energii z traw jest znacznie mniejszy niż przy użyciu węgla kamiennego, czy nawet słomy. Na skutek spalania emitują one znacznie mniej zanieczyszczeń do [1]. *Miscanthus × giganteus* ze względu na całkowitą lub częściową sterylność nie wytwarza płodnych nasion, a rozmnażanie poprzez podział jest mało wydajne, dlatego też bardzo ważne jest zastosowanie techniki *in vitro* [3]. Robacker i Corley [4] potwierdzili przydatność wykorzystania tej techniki u *Cortaderia selloana*, czyli trawy pampasowej, która jest rośliną dwupienną, a żeńskie egzemplarze są o wiele częściej wykorzystywane do nasadzeń ze względu na bardziej okazałe kwiatostany.

Rozmnażanie traw tradycyjnymi metodami, takimi jak podział, jest mało wydajne i nie pozwala na uzyskanie dużej liczby sadzonek w krótkim czasie, a popyt na te rośliny stale rośnie. Z tego względu, coraz więcej gatunków traw ozdobnych rozmnażanych jest w kulturach tkankowych, poprzez tzw. pośrednią organogenezę, podczas której z merystemów przybyszowych, w wyniku organogenny lub embriogenezy tworzy się tkanka kalusowa (tzw. przyrana) [5].

### **Stan istniejącej wiedzy**

Aby uzyskać tkankę kalusową u traw do inicjacji kultur można wykorzystać różne fragmenty organów roślinnych tj.: fragmenty kwiatostanów, liści oraz nasiona. Segmenty młodych kwiatostanów wykorzystywano do mikrorozmnażania *Pennisetum americanum × Pennisetum purpureum* [6] i *Pennisetum glaucum* [7]. Gawel i in. [8] uzyskali kalus w kulturach *Miscanthus sinensis* 'Zebrinus' i 'Gracillimus' wykorzystując niedojrzałe kwiatostany o długości nie przekraczającej 15 cm, zebrane 3-4 tygodnie przed kwitnieniem, a u odmiany 'Variegatus' o długości poniżej 5 cm, przy czym autorzy wykazali, że dłuższe eksplantaty były nieprzydatne, ponieważ zamierały lub produkowały bardzo cienką warstwę kalusa. Zauważyli też, że u badanego gatunku wpływ na regenerację kalusa ma liczba kwiatostanów umieszczonych w próbówce. Brązowienie i zamieranie roślin na skutek gromadzenia się związków fenolowych w pożywce obserwowano, kiedy w fiolce o średnicy 25 mm umieszczono więcej niż 3-5 fragmentów kwiatostanów. Liu i in [9] uzyskiwali kalus z niedojrzałych kwiatostanów *Leymus chinensis* podzielonych na odcinki o długości 3-6 cm po około 2 tygodniach prowadzenia

kultury. Płazek i Dubert [10] potwierdzają przydatność kwiatostanów *Miscanthus × giganteus* o długości 10-20 cm zamkniętych w pochwach liściowych. Natomiast Płazek i in. [11] u wyżej opisanego gatunku uzyskiwali kalus z kwiatostanów, które dzielono na odcinki o długości od 0,5 do 2 cm. Przydatność tych struktur wykazano też u *Cortaderia selloana* [4]. Holme i Petersen [12] polecają wykorzystywać do mikrorozmnażania niedojrzałe kwiatostany o długości poniżej 2,5 cm, ponieważ wytwarzają więcej tkanki kalusowej w porównaniu do tych dojrzałych. Vasil i Vasil [6] izolowali z kwiatostanów pylniki które posłużyły do mikrorozmnażania *Pennisetum purpureum*. Także Płazek i in. [11] zakładali kultury mikrospor z pylników *Miscanthus × giganteus*, które izolowali z wiech o długości ok 30 cm przy wykorzystaniu blendera Warringa. Z eksplantatów wierzchołkowy uzyskiwano kalus u: *Pennisetum glaucum* [13], *Calamagrostis × acutiflora* 'Overdam' [14], *Miscanthus × ogiformis* 'Giganteus' [12] oraz *Liriope spicata* [15], *Shorgum bicolor* [16]. Do inicjacji kultur tkankowych traw można wykorzystywać także nasiona. Stosowali je m.in. Arockiasamy i in. [17] oraz Jha i in. [7] u *Pennisetum glaucum* oraz Bablak i in. [18] u *Brachypodium distachyon*. Natomiast Oldach i in. [19] wykorzystywali niedojrzałe nasiona *Pennisetum glaucum* i *Sorghum bicolor* zbierane około 10-20 dni po zapyleniu. Do mikrorozmnażania *Miscanthus × giganteus* wykorzystywano pąki boczne [20], a Holme i Petersen [12] wykorzystywali liście do inicjacji kultur *in vitro* *Miscanthus × ogiformis*, a Haydu i Vasil [21] u *Pennisetum purpureum*. Natomiast Kotecki i in. [22] podjął próby rozmnażania klonalnego *Miscanthus × giganteus* przy użyciu pąków przybyszowych oraz osadek kłosowych. Najlepsze wyniki uzyskał wykładając na pożywki osadki kłosowe pobieranych we wrześniu – efektywność regenerowanej tkanki kalusowej wynosiła 20%, a pędów 7,6%.

Najczęściej stosowanym podłożem do mikrorozmnażania traw jest pożywka Murashige & Skooga (MS). Używano jej do inicjacji kultur z nasion m. in. takich gatunków jak: *Pennisetum glaucum* [17; 7], *Miscanthus × giganteus* [10; 11] oraz *Shorgum bicolor* [19]. Liczni autorzy wykorzystywali to podłoże do mikrorozmnażania traw przy wykorzystaniu fragmentów kwiatostanów m. in.: *Pennisetum americanum × Pennisetum purpureum* [6] *Miscanthus sinensis* [8], *Pennisetum glaucum* [7], oraz *Cortaderia selloana* 'Pumila' [4]. Potwierdzono przydatność pożywki MS do zakładania kultury z eksplantatów wierzchołkowych *Miscanthus × ogiformis* 'Giganteus' [12] oraz *Shorgum bicolor* [16]. Haydu i Vasil [21] zakładali kultury z liści *Pennisetum purpureum*, a Holme i Petersen [12] *Miscanthus × ogiformis* na pożywce MS. Odpowiednie właściwości tego podłoża sprawiły, że Haydu i Vasil [12] użyli je do rozmnażania klonalnego *Pennisetum purpureum* z wykorzystaniem pylników, a Płazek i in. [11] zakładali kultury mikrospor u *Miscanthus × giganteus*.

U *Brachypodium distachyon* rozmnażanego za pomocą nasion najlepsze efekty uzyskano stosując pożywkę Linsmaier & Scoog (LS) oraz N6 [18]. Podłoże N6 wykorzystywali też Liu i in. [9] u *Leymus chinensis*. Natomiast pożywka LS była wykorzystywana przez Mythili i in. [13] do mikrorozmnażania *Pennisetum glaucum*, za pomocą eksplantatów wierzchołkowych. Oldach i in. [19] potwierdzają pozytywny wpływ podłoża L3 na kultury nasion *Pennisetum glaucum* i *Shorgum bicolor*, zaś regenerację kultury przeprowadzali na połowie składu mineralnego tej pożywki.

Do zestalania podłoży najczęściej wykorzystywano agar. W zależności od gatunku autorzy stosowali różne stężenia tej substancji, i tak agar w stężeniu  $8 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  używano do zestalania podłoży przeznaczonych do mikrorozmnażania *Pennisetum americanum* × *Pennisetum purpureum* [6], *Pennisetum glaucum* [7], *Pennisetum purpureum* [21] oraz *Miscanthus* × *giganteus* [10]. Bablak i in. [18] u *Brachypodium distachyon* stosowali  $4 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ , a Liu i in. [9] u *Leymus chinensis*  $5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Robacker i Corley [4] do zestalania podłoży przeznaczonych do rozmnażania klonalnego *Cortaderia selloana* stosowali preparat Gerlite w ilości  $2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Ten sam preparat w stężeniu  $3 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  wykorzystano w kulturach *Pennisetum glaucum* i *Shorgum bicolor* [19]. Robacker i Corley [4] wzbogacali natomiast pożywki przeznaczone do zakładania kultur *in vitro* *Cortaderia selloana*, a Gawel i in. [8] – *Miscanthus sinensis*, chlorkiem magnezu ( $\text{MgCl}_2$ ). Wykorzystanie tej substancji zostało wymuszone przez użycie do zestalania podłoża preparatu Gerlite. Chlorek magnezu miał na celu zastąpienie dwuwartościowych kationów zamaskowanych przez Gerlite podczas żelowania pożywki.

Podłoża przeznaczone do mikrorozmnażania są uzupełniane cukrami. Są one źródłem energii, a ponadto w czasie autoklawowania ulegają hydrolizie przez co zwiększa się ich potencjał osmotyczny w podłożu. Ze względu na łatwą przyswajalność najczęściej wykorzystuje się sacharozę. Autorzy Bablak i in. [18] u *Brachypodium distachyon*, Liu i in. [9] u *Leymus chinensis* oraz Oldach i in. [19] u *Pennisetum glaucum* i *Shorgum bicolor* wzbogacali pożywkę sacharozą w stężeniu  $3 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Vasil i Vasil [6] u *Pennisetum purpureum* używali tę substancję w stężeniu  $6 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Autorzy Robacker i Corley [4] dla *Cortaderia selloana* używali  $20 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  sacharozy,  $30 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  wykorzystywano u: *Pennisetum glaucum* [7] oraz *Miscanthus* × *giganteus* [10]. Oldach i in. [19] stosowali maltozę w stężeniu 3%, jednak substancja ta w znaczący sposób ograniczała częstotliwość regeneracji kalusa u *Pennisetum glaucum* i *Shorgum bicolor*.

Jako dodatek do pożywek stosuje się regulatory wzrostu, za pomocą których można wpływać na rozwój roślin. Liczni autorzy podkreślają możliwość wykorzystania auksyn, cytokinin oraz kwasu giberelinowego.

W roślinnych kulturach *in vitro* bardzo często wykorzystuje się regulatory wzrostu z grupy cytokinin. Liczne prace badawcze podkreślają możliwość szerokiego działania 6-benzyloaminopuryny (BAP). Stosując ten regulator wzrostu można oddziaływać na regenerację tkanki kalusowej. U *Shorgum bicolor* i *Pennisetum glaucum* regeneracji sprzyjał dodatek do pożywki  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  BAP [19]. Liu i in. [9] wykazali że intensywna regeneracja pędów z tkanki kalusowej *Leymus chinensis* była widoczna w obecności  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  kinetyny i  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  BAP. Oldach i in. [19] u *Pennisetum glaucum* i *Shorgum bicolor* stwierdzili, że wysoki poziom indukcji kalusa następował na podłożach bez lub z niską zawartością BAP, przy czym korzystne okazało się zastosowanie tego regulatora w stężeniu  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  wywołując indukcję kalusa u rozplenicy na poziomie 86%, a u prosa - 85%. Wyższe dawki tj.  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  i  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  hamowały powstawanie tej tkanki.

Cytokiny często stosowane są łącznie z auksynami. U *Pennisetum purpureum* celowe było wzbogacenie podłoża  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  BAP łącznie z  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D (kwas 2,4-dichlorofenksyctwoy) [23]. Jha i in. [7] dowiedli, że korzystny wpływ na regenerację kalusa miało uzupełnienie podłoża  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  BAP i  $0,63 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D.

Liczne doświadczenia pokazują, że auksyny mają wpływ na intensywność tworzenia się tkanki kalusowej w kulturach traw. Wang i Vasil [23] u *Pennisetum purpureum* osiągnęli somatyczną embriogenezę na poziomie większym niż 70% po wzbogaceniu pożywki N6  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D,  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  BAP i  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  NAA (kwas naftylooctowy) lub MS z  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D i  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  BAP. Ponadto wykazali, że wyższa od zastosowanej ilość 2,4-D hamowała embriogenezę. Identyczne stężenie 2,4-D stosowali Akashi i Adachi [24] w celu indukcji somatycznej organogenezy *Paspalum dilatatum*. Ponadto autorzy zaobserwowali że, kalus utrzymywał embriogenne zdolności dłużej niż rok na podłożu MS z  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D. Natomiast Balbak i in. [18] optymalny rozwój embrioidalnego kalusa u *Brachypodium distachyon* uzyskali w obecności  $2,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D i 3% sacharozy. Wysoką częstotliwość regeneracji tej struktury u *Pennisetum glaucum* wykazano na pożywce MS uzupełnionej  $3,14 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D u *Brachypodium distachyon* [17]. Jha i in. [7] wykazali, że duże ilości kalusa ( $85 \pm 2,2\%$ ) tworzyły się w obecności  $3,75 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D, natomiast zastosowanie tej substancji w stężeniu  $1,25 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  powodowało znaczny spadek ilości tej tkanki ( $20 \pm 5,15\%$ ) u *Pennisetum glaucum*. U *Miscanthus sinensis* 94% sadzonek produkowało kalus po wzbogaceniu podłoża  $2,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D [8]. Haydu i Vasil [21] dowiedli, że na formowanie białej i dobrze zorganizowanej tkanki kalusowej o embrioidalnej strukturze u *Pennisetum purpureum* następowało w obecności  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2,4-D. Liu i in. [9] stwierdzili, że strukturę ta można uzyskać z segmentów kwiatostanów *Leymus chinensis* po ok. 3 tygodniach



prowadzenia kultury przy wysokiej koncentracji w podłożu 2,4-D oscylującej w przedziale pomiędzy  $2,51 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  –  $6,27 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Podobne rezultaty uzyskali Lewandowski i Kahant [25] w przypadku *Miscanthus 'Giganteus'* wzbogacając podłoża przeznaczone do mikrorozmnażania  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  łącznie z  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  BAP.

Gibereliny w tym kwas giberelinowy ( $\text{GA}_3$ ) są stosowane w celu przełamania spoczynku nasion, jednak w literaturze spotykamy doniesienia o wykorzystaniu substancji z tej grupy do regeneracji pośredniej roślin z rodziny *Poaceae* w kulturach tkanowych. U *Paspalum dilatatum* somatyczne zarodki tworzyły się na pożywce MS z  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{GA}_3$  [24]. Liu i Qu [26] zaobserwowali poprawę kiełkowania *Cynodon dactylon* × *Cynodon transvaalensis* cv. *Tifareen* poprzez wzbogacenie podłoża  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{GA}_3$  łącznie z  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  BAP. Substancje te przyczyniły się do poprawy kiełkowania zarodków somatycznych. Wang i Vasil [23] przenosili kalus na podłoża MS z dodatkiem  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{GA}_3$ . Substancja ta wpływała na kiełkowanie zarodków oraz tworzenie sadzonek (60%). Ponadto wyżej opisana ilość kwasu giberelinowego powodowała, że kompaktowy i zorganizowany kalus utrzymywał swój potencjał zarodkowy powyżej roku tj. przez 18-20 subkultur.

W kulturach *in vitro* roślin ozdobnych z powodzeniem stosuje się dodatki organiczne. Kokos i banan są źródłem różnych hormonów, witamin i soli mineralnych. Ponadto miąższ z banana to bogate źródło naturalnych cytokinin które wpływają na różnicowanie komórek i wzrost roślin [10]. Wang i Vasil [23] uzupełniali pożywki przeznaczone do inicjacji kultur z niedojrzałych kwiatostanów *Pennisetum purpureum* mlekiem kokosowym w stężeniu 5% jednak substancja ta nie powodowała wzrostu kalusa. Płażek i Dubert [10] przeprowadzali regenerację tkanki kalusowej *Miscanthus* × *giganteus* na pożywce MS uzupełnionej miodem  $30 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Dowiedli, że substancja ta ograniczała brązowienie eksplantatów, a jej zastosowanie zwiększało produkcję kalusa do 84%. Na wysoki stopień regeneracji tej struktury wpływało również zastosowanie cysteiny w ilości  $100 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  (79%) oraz chitosanu w stężeniu  $200 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  (81%). Ponadto autorzy stwierdzili, że dodatek  $65 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  miąższu z banana stymulował wzrost korzeni u *Miscanthus* × *giganteus*. W kulturach kalusa *Leymus chinensis* [9] oraz *Miscanthus* × *giganteus* [11] zastosowano  $500 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  hydrolizatu kazeiny. Jednak w przypadku miskanta nie wykazano pozytywnych efektów i stwierdzono, że ze względu na obecność żywotnych mikrospor można rozmnażać za pomocą tej metody badany gatunek, jednak wymaga ona dopracowania [11].

Badania wielu autorów potwierdzają, że w podłożach przeznaczonych do mikrorozmnażania traw następowało gromadzenie się związków fenolowych, powodujących brązowienie, a w konsekwencji zamieranie eksplantatów [10;11;19]. Płażek i in.

[11] zakładali kultury kalusa, załączni i pylników *Miscanthus × giganteus*. Jednak eksplantaty nie wykazywały zdolności do podziałów i bardzo szybko ciemniały i obumierały, bo już po ok. 1 tygodniu prowadzenia kultury. Autorzy stwierdzili jednak, że kalus może powstać na pożywkach agarozowych z niedojrzałych wiech o długości powyżej 8 cm po ok. 2 miesiącach. Ponadto stwierdzili, że wzbogacenie podłoża 1mM kwasu  $\alpha$ -aminooksyoctowego (AOA) który jest inhibitorem amoniakolizy fenyloalaniny oraz poliwinylpirolidonu (PVP) w ilości 2% nie hamowało gromadzenie się produktów utleniania fenoli. Kotecki i in. [22] w kulturach *Miscanthus × giganteus* stosowali jako dodatek do podłoża 100 mg·dm<sup>-3</sup> azotanu srebra (AgNO<sub>3</sub>), 2 g·dm<sup>-3</sup> węgla aktywowanego (AC) oraz 5 g·dm<sup>-3</sup> poliwinylpirolidonu (PVP). Jednak wykorzystanie tych substancji nie miało istotnego wpływu na blokowanie powstawania związków fenolowych w podłożach i nie przyczyniało się w znaczny sposób do regeneracji roślin. Jedynie Oldach i in. [19] zaobserwowali, że wzbogacenie podłoża azotanem srebra w ilości 5 mg·dm<sup>-3</sup> znacząco przyczyniło się do wzrostu regeneracji kalusa *Shorgum bicolor*, a tym samym hamowało produkcję wyżej opisanych związków.

Warunki fizyczne uprawy roślin w kulturach tkankowych także mają wpływ na wzrost i rozwój roślin. Kultury kalusa prowadzono często w ciemności [7;9;10;18;19;22]. W zależności od gatunku autorzy umieszczali kultury w różnych temperaturach. U *Brachypodium distachyon* [18] stosowano temperaturę 24±2°C. Jha i in. [7] polecają umieszczanie eksplantatów *Pennisetum glaucum* w 25±2°C. Natomiast Oldach i in. [19] wykazali, że do tworzenia tej tkanki u *Pennisetum glaucum* i *Shorgum bicolor* korzystna jest temperatura otoczenia wynosząca 26°C. 25°C to odpowiednia temperatura do regeneracji *Leymus chinensis* [9]. Także Płażek i Dubert [10] oraz Płażek i in. [11] uzyskiwali kalus u gatunku *Miscanthus × giganteus* po ok. 2 miesiącach prowadzenia kultury w temperaturze otoczenia wynoszącej 25°C, natomiast Kotecki i in. [22] u tego samego gatunku stosował 22°C. Wang i Vasil [23] u *Pennisetum purpureum* stosowali temperaturę 27°C w połączeniu z 16h doświetlaniem roślin światłem rzutowym, jednak nie zaobserwowali tworzenia się kalusa. Robacker i Corley [4] u *Cortaderia selloana* zastosowali temperaturę 27-30°C oraz 16 godzinny dzień wywołany przez żarówki fluorescencyjne o szerokim spektrum, o mocy 110W. Jednak tylko 1% kultury wytworzyło kalus. Głowacka i in. [27] przeprowadzili badania nad udoskonaleniem metody mikrorozmnażania *Miscanthus × giganteus* za pomocą światła lasera helowo – neonowego emitującego fale o długości 632 nm w przedziale światła czerwonego o mocy 24 mW i jednostką mocy światła na padający obiekt 1 mW·cm<sup>-2</sup>. Wykazali, że światło lasera stymulowało regenerację pędów z 3-miesięcznego embriogennego kalusa uzyskanego

z fragmentów niedojrzałych kwiatostanów, a tym samym pozwalało zwiększyć ich ilość o 26,1-30,1 % w stosunku do kontroli, jednak nie miało wpływu na liczbę regenerujących kalusów. Płażek i Dubert [10] po 2 miesiącach trwania kultury pasażowali kalus *Miscanthus × giganteus* i poddawali je regeneracji w temperaturze 20°C i PPF 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Kiedy w warunkach laboratoryjnych uzyskamy dużą ilość jednorodnych genetycznie roślin, przed przeniesieniem ich do podłoża należy je ukorzenie. Liczne doniesienia podają, że w celu indukcji korzeni poleca się wzbogacenie podłoża hormonami z grupy auksyn tj. NAA [17]. Jha i in. [7] zadowalające efekty uzyskali na skutek hartowania sadzonek *Pennisetum glaucum* umieszczając je na pożywce MS lub 1/2 MS uzupełnionej 15  $\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  sacharozy oraz dodatkowo do pożywki dodawali 0,8% aktywnego węgla (AC) lub bez. We wszystkich kombinacjach autorzy uzyskali maksymalną indukcję korzeni. Także Robacker i Corley [4] potwierdzili, że pożywki MS bez dodatku regulatorów wzrostu indukowała wytwarzanie korzeni u *Cortaderia selloana*.

Ostatnim etapem rozmnażania *in vitro* jest aklimatyzacja zregenerowanych sadzonek. Rośliny *Pennisetum glaucum* sadzano do podłoża składającego się z wermikulitu i piasku w proporcjach 1:1 i na 2 tygodnie umieszczano w temperaturze  $27\pm 1^\circ\text{C}$ , przy 16 godzinnym dniu oraz wilgotności powietrza na poziomie 80-90%. Początkowo, co drugi dzień nawadniano sadzonki ¼ siły roztworu hydroponicznego Hoagland, zawierającego niezbędne składniki odżywcze do wzrostu i rozwoju roślin. Następnie do tego celu używano wody z kranu przez ok. 1 tydzień [17]. Jha i in. [7] po 21 dniach wyjmowali rośliny z probówek, przemywali wodą destylowaną, aby usunąć resztki pożywki i umieszczali na 2-3 dni w probówkach zawierających jałową wodę z kranu, a następnie w doniczkach zawierających mieszankę gleby. Liu i in. [9] przenosili ukorzone sadzonki *Leymus chinensis* do małych doniczek zawierających soilrite i piasek (1:1). Robacker i Corley [4] sadzili rośliny *Cortaderia selloana* 'Pumila' w tradycyjnych podłożach (tj. Pro Geo 200, Gro-Kira, McCormic, S.C.), umieszczali w szklarni w warunkach 65% zacielenia i przez 1 tydzień co godzinę przez 10 min. stosowali zamgławianie, a następnie sadzili rośliny do gruntu. Rośliny *Miscanthus sinensis*, gdy wytworzyły od 2 do 4 korzeni, przenoszono do doniczek wypełnionych podłożem (Pro Mix BX, Premier Brand, New Rochelle, N.Y.). Przez 6-9 dni przetrzymywano doniczki w cieniu, w warunkach przerywanego zamgławiania ( $5\text{sek}/5\text{min}/24\text{h}\cdot\text{dzeń}^{-1}$ ). W ciągu ostatnich 3 dni intensywność zamgławiania stopniowo spadała do zera. W ostatnim etapie aklimatyzacji sadzonki były nawożone nawozem Peter's o proporcjach NPK 20:20:20 i po posadzeniu w gruncie zakwitły po ok. 4 miesiącach. Natomiast Płażek i Dubert [10] rozpoczynali aklimatyzację *Miscanthus × giganteus* od posadzenia sadzonek do doniczek o średnicy 7 cm

wypełnionych sterylnym perlitem. Pojemniki dla utrzymania odpowiedniej wilgotności przykrywali szkłem, a po tygodniu sadzonki sadzili do doniczek o średnicy 10 cm zawierających glebę, torf i piasek (2:2:1) o pH 5,8 i umieszczali w szklarni w temperaturze 20°C.

### Podsumowanie

Obecnie klienci centrów ogrodnich poszukują nowych interesujących roślin do nasadzeń ogrodnich. Trawy są cennymi roślinami, nadają się zarówno do nowoczesnych jak i tradycyjnych ogrodnich.

Rozmnażanie traw tradycyjnymi metodami, poprzez podział jest bardzo powolne i pracochłonne. Wykorzystanie techniki *in vitro* oparte na pośredniej organogenezie pozwala na wprowadzenie na rynek dużej ilości materiału roślinnego charakteryzującego się jednocześnie wysoką jakością.

Historia mikrorozmnażania traw jest stosunkowo krótka, bowiem jej początki sięgają lat 80-tych XX wieku. W literaturze są liczne doniesienia dotyczące pośredniej organogenezy traw, głównie za pomocą nasion i kwiatostanów. Opracowanie protokołów mikrorozmnażania przy rosnącym zainteresowaniu roślinami z rodziny *Poaceae* pozwoliłoby na masowe zaopatrzenie centrów ogrodnich w te gatunki. Warto zaznaczyć, że obecnie bardzo trudno o dobrej jakości materiał nasadzeniowy, ponadto niektóre gatunki i odmiany traw są trudno dostępne dla konsumentów.

### Literatura

- [1] Romanowska – Duda Z, Grzesik M, Pszczołkowski W, Piotrowski K, Pszczołkowska A.: Dydaktyczne i środowiskowe funkcje kolekcji roślin energetycznych w centrum transferu technologii OZE w Konstancynie Łódzkim. *Acta Innov.*, 13, 2014.
- [2] Cizek D, Nowak B, Pogrzeba M.: Zastosowanie procesów fitoremediacji w ograniczeniu reemisji rtęci do powietrza na terenach zanieczyszczonych tym pierwiastkiem. *Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska. Tom 6 Praca zbiorowa pod red. Andrzeja Kotowskiego, Katarzyny Piekarskiej i Bartosza Kaźmierczaka Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 2015.*
- [3] Cichorz S, Gośka M, Litwiniec A.: Trawy wieloletnie z rodzaju *Miscanthus* – potencjalne źródło energii odnawialnej. *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Rośl.*, 274, 2014.
- [4] Robacker C, Corley WL.: Plant regeneration of pampas grass from immature

- inflorescences cultured *in vitro*. Hort Sci., 27(7), 1992.
- [5] Andrzejewska-Golec E, Makowczyńska J.: Zdolności regeneracyjne liści w kulturach *in vitro* ze szczególnym uwzględnieniem taksonów rodziny *Plantaginaceae*. Wiad. Bot. 1.54, 2010.
- [6] Vasil V, Vasil IK.: Somatic embryogenesis and plant regeneration from tissue cultures of *Pennisetum americanum*, and *P. americanum* × *P. Purpureum* hybrid. Amer. H. Bot., 68(6), 1981.
- [7] Jha P, Yadav CB, Anjaiah V, Bhat V.: *In vitro* plant regeneration through somatic embryogenesis and direct shoot organogenesis in *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant., 45, 2006, doi10.1007/s11627-009-9198-6.
- [8] Gawel NJ, Robacker CD, Corley W.: *In vitro* propagation of *Miscanthus sinensis*. Hort. Sci., 25(10), 1990.
- [9] Liu GS, Liu JS, Qi DM, Chu CC, Li HJ.: Factors affecting plant regeneration from tissue cultures of Chinese leymus (*Leymus chinensis*). Plant Cell Tiss. Organ Cult., 76, 2004.
- [10] Płażek A, Dubert F.: Improvement of medium for *Miscanthus* × *giganteus* callus induction and plant regeneration. Acta Biol. Cracov. Bot., 52(1), 2010, doi: 10.2478/v10182-010-0013-9.
- [11] Płażek A, Dubert F, Żur I, Waligórski P.: Kultury *in vitro* miskanta olbrzymiego (*Miscanthus* × *giganteus*). Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 532, 2007.
- [12] Holme IB, Petersen KK.: Callus induction and plant regeneration from different explant types enhanced *in vitro* propagation of *Miscanthus* × *oligiformis* Honda 'Giganteus'. Plant Cell Tiss. Organ Cult., 45, 1996.
- [13] Mythili PK, Madhavi A, Reddy VD, Seetharama N.: Efficient regeneration of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) from shoot tip cultures. Indian J. Exp. Biol., 39, 2001.
- [14] Zhang J, Han L, Ju G-S, Qian Y-Q, Li H-L.: Establishment of tissue culture and plant regeneration of *Calamagrostis x acutiflora* 'Overdam'. Guang Agricult. Sci., 11, 2010.
- [15] He J-T, Zhao J-S, Bie Y-Q, Qu J.: The technological research on *in vitro* culture from stem tip of *Liriope spicata* var. *prolifera*. Li Shi Zhen Med. Mat. Med. Res., 6, 2006.
- [16] Bhaskaran S, Smith RH.: Enhanced somatic embryogenesis in *Shorgum bicolor* from shoot tip culture. In Vitro Cell Dev Biol., 24(1), 1998.
- [17] Arockiasamy S, Sahaya Rani S, Ignacimuthu S, Melchias G.: Efficient protocols for *in vitro* regeneration *Pennisetum glaucum* (L.) Br. Indian J. Exp. Biol., 44, 2006.
- [18] Bablak P, Draper J, Davey MR, Lynch PT.: Plant regeneration and micropropagation

- Brachypodium distachyon*. Plant Cell Tiss. Organ Cult., 42, 1995.
- [19] Oldach KH, Morgenstern A, Rother S, Girgi M.: Efficient *in vitro* plant regeneration from immature zygotic embryos of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) and *Shorgum bicolor* (L.) Moench. Plant Cell. Rep., 20, 2001, doi 10.1007/s002990100335.
- [20] Gubišowá M, Gubiš J, Žofajowá A, Mihálik D, Kraic J.: Enhanced *in vitro* propagation *Miscanthus* × *giganteus*. Ind. Crop Prod., 41, 2012, doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.004.
- [21] Haydu Z, Vasil IK.: Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissues and anthers of *Pennisetum purpureum* Schum. Theor. Appl. Genet., 59, 1981.
- [22] Kotecki A.: Uprawa miskanta olbrzymiego. Energetyczne i pozaenergetyczne możliwości wykorzystania słomy. Wyd. UP we Wrocławiu, 2010.
- [23] Wang D-Y, Vasil IK.: Somatic embryogenesis and plant regeneration from inflorescence segments of *Pennisetum purpureum* Schum. (Napier or elephant grass). Plant Sci. Lett., 25, 1982.
- [24] Akashi R, Adachi T.: Somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured immature inflorescences of apomictic dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.). Plant Sci., 82(2), 1992.
- [25] Lewandowski I, Kahnt G.: Development of a tissue culture system with unemerged inflorescence of *Miscanthus* 'Gigantheus' for the induction and regeneration of somatic embryos. Beit Biol. Pflanz. H. Schraudolf, S. Vogel, F. Weberling (Eds). Duncker & Humblot, Berlin.
- [26] Li L, Qu R.: *In vitro* somatic embryogenesis in turf-type bermudagrass: roles of abscisic acid and gibberellic acid, and occurrence of secondary somatic embryogenesis. Plant Breed., 121(2), 2008.
- [27] Głowacka K, Rybiński W, Jeżowski S.: Regeneracja kalusa *Miscanthus* × *giganteus* przy wykorzystaniu stymulującego wpływu światła lasera helowo – neonowego. Acta Agroph., 210(1), 2007.

# WPŁYW MECHANIZMU SAMOSTARTU NA MOMENT ROZRUCHOWY ORAZ MOC TURBINY WIATROWEJ O PIONOWEJ OSI OBROTU

Tomasz Noszczyk<sup>(1)</sup>, Arkadiusz Dyjakon<sup>(2)</sup>

*<sup>(1)</sup>Studenckie Koło Naukowe „BioEnergia”, Wydział Przyrodniczo-Technologiczny, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

*<sup>(2)</sup>Zakład Niskoemisyjnych Źródeł Energii i Gospodarki Odpadami, Instytut Inżynierii Rolniczej, Wydział Przyrodniczo-Technologiczny, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

*noszczyktomasz@gmail.com, arkadiusz.dyjakon@upwr.edu.pl*

## Streszczenie

Ze względu na swój odnawialny i przyjazny dla środowiska charakter, energetyka wiatrowa małej mocy jest ważnym elementem lokalnej produkcji energii elektrycznej. Przedmiotem badań była elektrownia wiatrowa H-Darrieusa własnej konstrukcji. Częstym problemem występującym podczas eksploatacji tego typu turbin wiatrowych jest ich zerowy moment startowy (rozruchowy), co wymaga zastosowania dodatkowego napędu wprawiającego wirnik w ruch obrotowy przy napływającej strudze powietrza. Celem badań była analiza wpływu zastosowanego rozwiązania mechanizmu samostartu (odpowiednio uformowanej dodatkowej powierzchni roboczej na końcu łopatek wirnika) na moment rozruchowy oraz moc elektrowni wiatrowej. Badania przeprowadzono w tunelu aerodynamicznym przy zmiennych parametrach kąta ustawienia łopatek turbiny wiatrowej oraz obciążenia turbiny. Dokonano także porównania funkcjonowania turbiny wiatrowej bez mechanizmu samostartu oraz wyposażonej w mechanizm samostartu. Przeprowadzone testy wykazały, że zastosowanie dodatkowego mechanizmu samostartu zwiększa moment rozruchowy turbiny wiatrowej, umożliwiając tym samym jej pracę przy niższych prędkościach wiatru. Dodatkową zaletą zastosowania autorskiego rozwiązania była zwiększona produkcja energii elektrycznej oraz wyższa sprawność. Ilość wyprodukowanej energii była dwukrotnie większa niż w przypadku tradycyjnej konstrukcji.

## Wprowadzenie

Obecnie, do najważniejszych priorytetowych działań większości państw na świecie zalicza się ochronę środowiska naturalnego oraz poprawę jakości powietrza atmosferycznego [1]. Osiągnięcie tych celów możliwe jest między innymi poprzez zmniejszenie zużycia energii

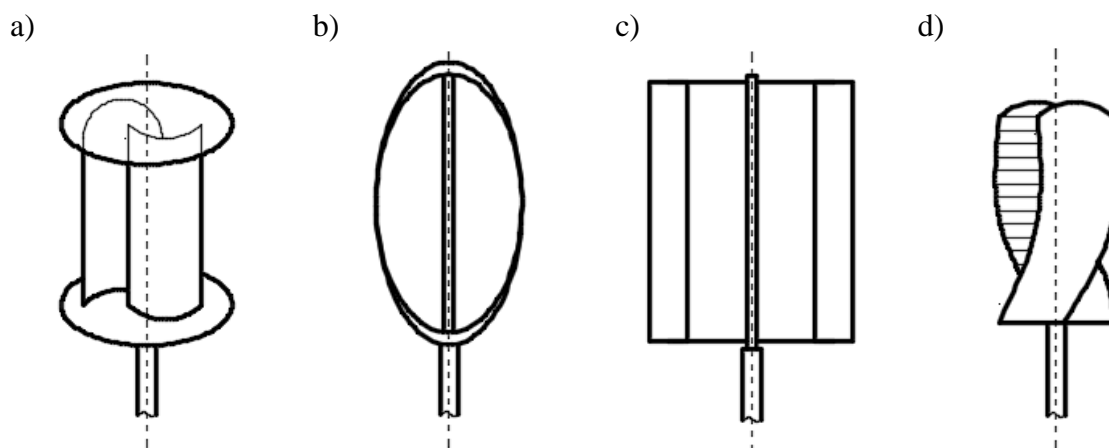
oraz ograniczenie udziału paliw konwencjonalnych w produkcji ciepła i energii elektrycznej. Alternatywą dla paliw kopalnych są odnawialne źródła energii (OZE).

Wśród dostępnych rozwiązań OZE znaczący udział w produkcji energii elektrycznej mają elektrownie wiatrowe [2, 3]. Ze względu na położenie osi obrotu wirnika, turbiny wiatrowe dzielą się na [4]:

- turbiny wiatrowe o poziomej osi obrotu (ang. HAWT – Horizontal Axis Wind Turbines), których udział w stosowanych rozwiązaniach konstrukcyjnych zajmuje ponad 95%,
- turbiny wiatrowe o pionowej osi obrotu (ang. VAWT – Vertical Axis Wind Turbines).

Silniki wiatrowe o poziomej osi obrotu można podzielić na bębnowe silniki wiatrowe oraz turbinowe silniki wiatrowe. Ich sprawność konwersji energii wiatru na energię elektryczną jest o wiele większa niż w przypadku typowych elektrowni wiatrowych typu VAWT i stosowane są głównie w dużych jednostkach wytwórczych [4]. Do najważniejszych wad tego typu konstrukcji, które mogą wystąpić w wybranych rozwiązaniach należą: duża i masywna konstrukcja, potrzeba stosowania mechanizmów naprowadzania wirnika na wiatr, połączenia ślizgowe z generatorem oraz nadmierna emisja hałasu [5].

Alternatywną konstrukcją dla turbin typu HAWT są elektrownie wiatrowe o pionowej osi obrotu (rys. 1). Wśród turbin wiatrowych o pionowej osi obrotu wyróżnia takie konstrukcje, jak: turbina Savoniusa, turbina Darrieusa, turbina H-Darrieusa oraz turbina świderkowa [7].



**Rysunek 1.** Turbiny wiatrowe o pionowej osi obrotu: a) turbina Savoniusa, b) turbina Darrieusa, c) turbina H-Darrieusa, d) turbina świderkowa

Źródło: Opracowanie własne

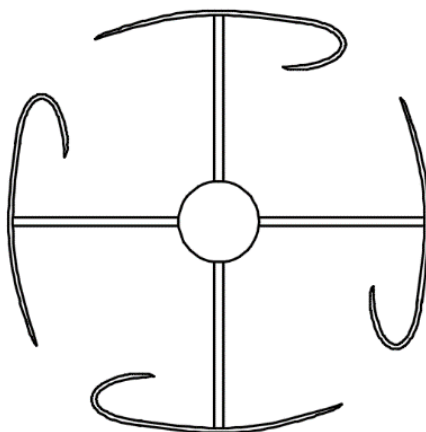
Wykorzystuje się je na obszarach zurbanizowanych ze względu na prostą i mobilną budowę, pracę niezależnie od kierunku i prędkości wiatru, niski poziom hałasu oraz możliwość montażu na dachach lub masztach [4, 5]. Ze względu na niższą sprawność, ich udział



w wykorzystaniu elektrowni wiatrowych wynosi zaledwie 4% [5, 6].

Podstawowa turbina H-Darrieusa jest udoskonaleniem typowej turbiny Darrieusa i składa się z dwóch łopatek. Zmodyfikowane turbiny H-Darrieusa mogą posiadać wirniki składające się z większej liczby łopatek [4]. W jej konstrukcji zastosowano proste łopaty układające się w kształt litery H, których opływowy przekrój poprzeczny zbliżony jest do profili stosowanych powszechnie w turbinach wiatrowych o osi poziomej czy lotnictwie pasażerskim. Praca turbiny H-Darrieusa opiera się na wykorzystaniu siły nośnej, dlatego odpowiedni profil pozwala na zwiększenie sprawności konwersji energii wiatru na energię elektryczną [8, 9]. Niestety, poważną wadą takiego rozwiązania jest zerowy moment startowy. Dlatego, do jej bezobsługowej pracy, wymagane jest zastosowanie dodatkowego urządzenia w postaci silnika elektrycznego lub innego mechanizmu, który powodowałby samoczynny rozruch wirnika turbiny.

Istnieje wiele rozwiązań konstrukcji turbiny H-Darrieusa z mechanizmami powodującymi samoczynne rozpoczęcie pracy bez konieczności użycia zewnętrznych silników elektrycznych. Jednym z rozwiązań jest zastosowanie specjalnie wykonanych cylindrycznych łopatek (rys. 2). Ich koniec jest wygięty w półksiężyc, na którym powstaje siła parcia wytwarzana przez napływającą strugę powietrza, która powoduje samoczynne rozpoczęcie pracy turbiny [10].

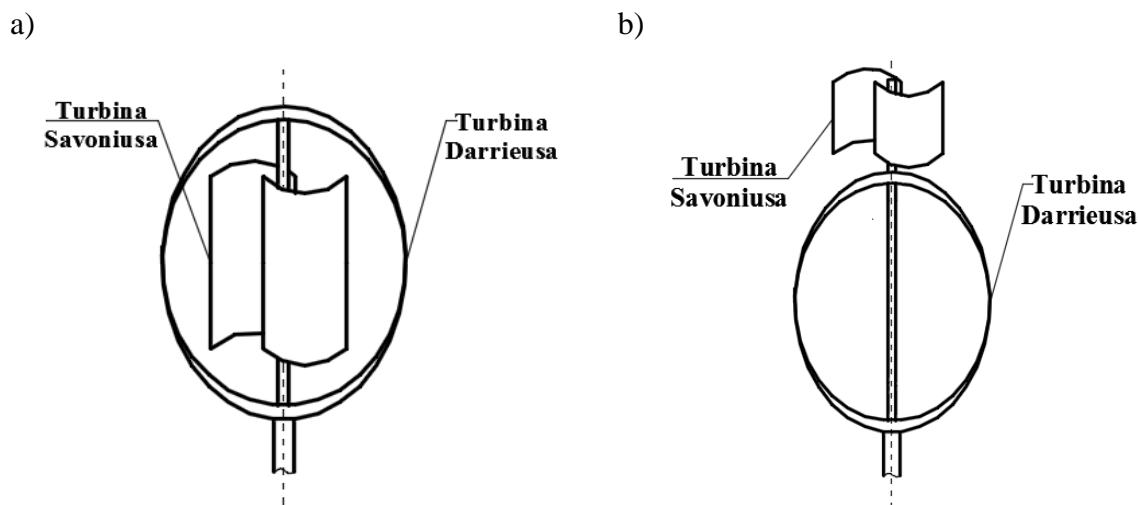


**Rysunek 2.** Wirnik z cylindrycznymi łopatkami

Źródło: Opracowanie własne na podstawie [10]

Innym rozwiązaniem jest zastosowanie turbiny Savoniusa do konstrukcji turbiny Darrieusa (rys. 3), której cechą charakterystyczną jest samoczynny rozruch i praca już przy prędkościach około  $2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ . W efekcie, sprzężenie na jednym wale turbiny Savoniusa i Darrieusa powoduje wywołanie ruchu obrotowego obu wirników. Prędkość startowa przy takim rozwiązaniu jest zwykle w zakresie prędkości powietrza  $4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Wadą takiego układu

jest zwiększona ogólna masa urządzenia oraz zwiększone gabaryty [12].



**Rysunek 3.** Hybryda turbiny H-Darrieusa z turbiną Savoniusa: a) wewnątrz wirnika, b) na zewnątrz wirnika

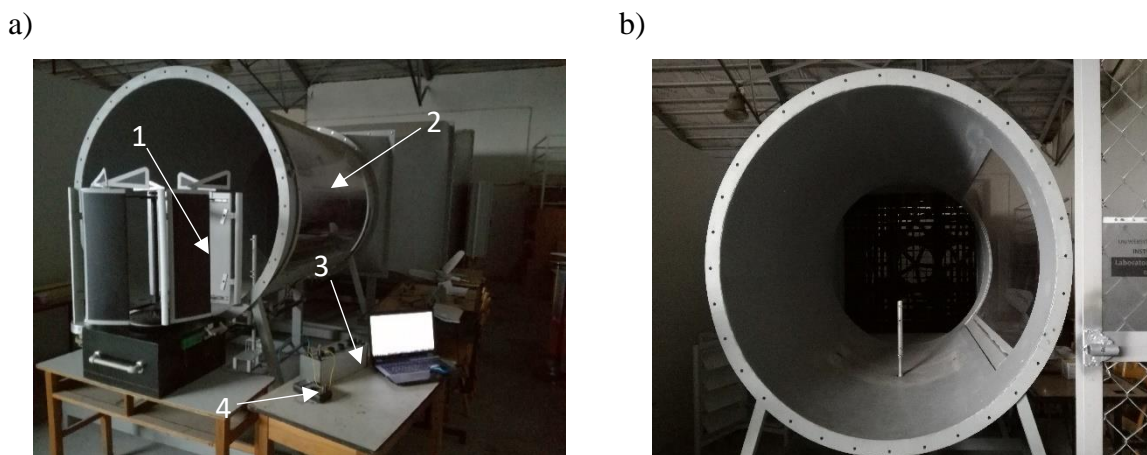
Źródło: Opracowanie własne na podstawie [11, 12]

Celem pracy była analiza wpływu mechanizmu samostartu na moment rozruchowy turbiny o pionowej osi obrotu (H-Darrieus) w zależności od zmiennego kąta ustawienia łopatek oraz zmiennego obciążenia elektrowni wiatrowej. Ocena wpływu zastosowanego rozwiązania opracowano na podstawie badań przeprowadzonych w tunelu aerodynamicznym z wykorzystaniem specjalnie przygotowanego modelu turbiny wiatrowej.

### Metodyka badań

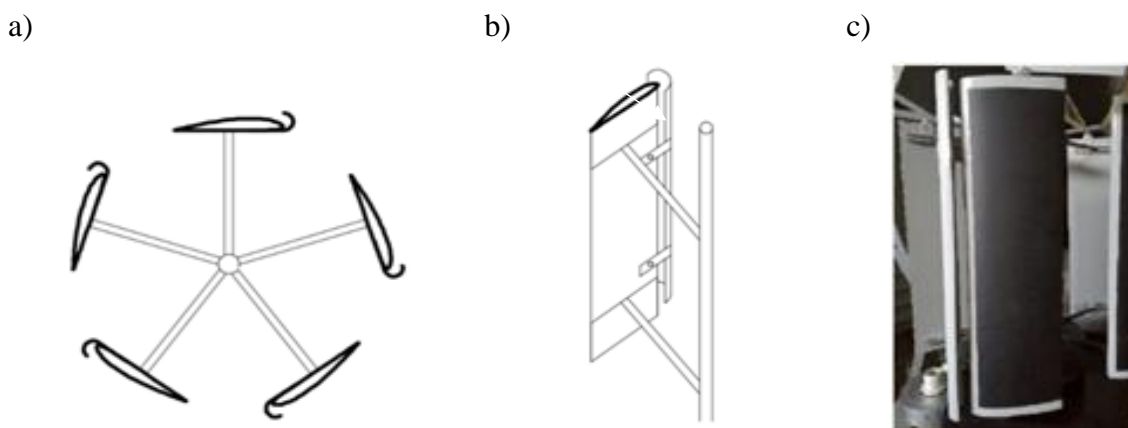
Badania wykonano w tunelu aerodynamicznym w Centrum Odnawialnych Źródeł Energii na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu. Stanowisko badawcze (rys. 4) składało się z prototypu turbiny H-Darrieusa, tunelu aerodynamicznego z 9 wentylatorami osiowymi wytwarzającymi strumień powietrza o zadanej prędkości, opornicy dekadowej oraz multimetru wielofunkcyjnego.

Do przeprowadzenia badań skonstruowano model turbiny wiatrowej o pionowej osi obrotu. Wirnik prototypu składał się z pięciu łopatek, których koniec został zaopatrzony w odpowiednio uformowaną powierzchnię (rys. 5). Zadaniem mechanizmu samostartu było wytworzenie siły parcia, której skutkiem miał być samoczynny rozruch wirnika. Mechanizm został wykonany z tworzywa sztucznego, aby nie zwiększać znacząco całkowitej masy wirnika.



**Rysunek 4.** Stanowisko badawcze: a) stanowisko badawcze: 1. prototyp turbiny H-Darrieusa, 2. tunel aerodynamiczny, 3. opornik dekadowy, 4. multimetr cyfrowy; b) tunel aerodynamiczny

Źródło: Opracowanie własne (fot. T. Noszczyk)

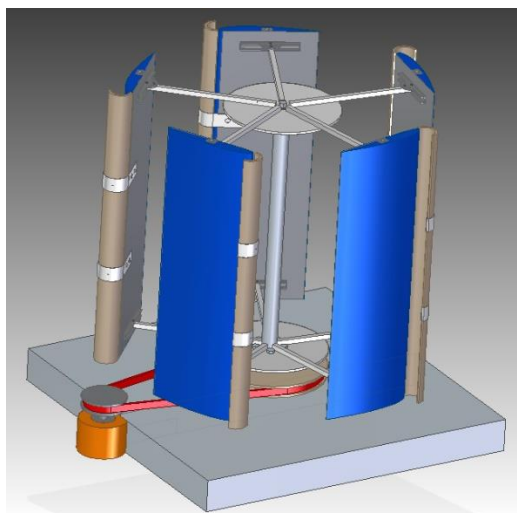


**Rysunek 5.** Schemat badanego modelu turbiny o pionowej osi obrotu z mechanizmem samostartu: a) widok z góry, b) widok z boku jednej łopaty, c) widok rzeczywisty

Źródło: Opracowanie własne (fot. T. Noszczyk)

Łopaty wirnika zostały wykonane w odpowiedniej skali oraz według parametrów charakterystycznych dla kształtu profilu Clark Y ze styropianu ekstrudowanego. Dodatkowo, łopaty posiadały możliwość zmiany kąta ustawienia w zakresie od 0 do 90° na zewnątrz oraz do wewnątrz. Jako generator zastosowano dynamo rowerowe Shimano DH-3N20 o mocy 3 W i napięciu znamionowym wynoszącym 6 V. Wał generatora prądu został połączony z wałem wirnika za pomocą przekładni pasowej o przełożeniu równym 3.

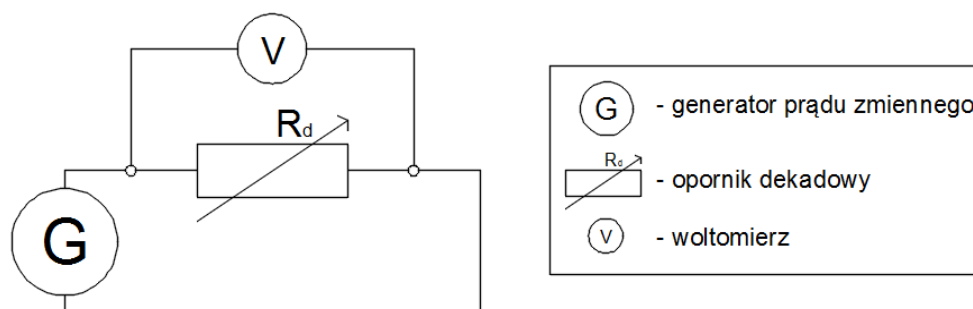
Projekt skonstruowanej elektrowni wiatrowej z turbiną H-Darrieusa wykonany w środowisku Solid Edge został przedstawiony na rysunku 6.



**Rysunek 6.** Elektrownia wiatrowa z turbiną H-Darrieusa z mechanizmem samostartu (rzut izometryczny wykonany w środowisku Solid Edge)

Źródło: Opracowanie własne

Badanie wpływu mechanizmu samostartu na pracę turbiny wiatrowej przeprowadzono przy zmiennych kątach ustawienia łopatek wirnika oraz obciążeniach elektrowni wiatrowej. Podczas badań prędkość strugi powietrza wynosiła  $V_p = 10,2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Prędkość taka została dobrana ze względu na osiągnięcie optymalnych parametrów pracy turbin wiatrowych w zakresie prędkości wiatru od  $10$  do  $12 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  [13]. Kąt ustawienia łopat wirnika wynosił odpowiednio:  $0^\circ$ ,  $15^\circ$  i  $30^\circ$  na zewnątrz wirnika oraz  $15^\circ$  i  $30^\circ$  do wewnątrz wirnika. Zmienne obciążenie układu osiągnięto za pomocą opornicy dekadowej. Zakres zmiennego obciążenia wynosił od  $10 \text{ k}\Omega$  do  $1 \Omega$  (z uwzględnieniem zagęszczenia pomiarów w zakresie od  $30 \Omega$  do  $1 \Omega$ ). Odczytu wartości napięcia prądu elektrycznego generowanego przez turbinę wiatrową dokonywano za pomocą multimetru cyfrowego UNI-T M890G podłączonego równolegle do układu pomiarowego (rys. 7).



**Rysunek 7.** Schemat podłączenia układu pomiarowego

Źródło: Opracowanie własne

Na podstawie wartości obciążenia układu oraz generowanego napięcia prądu elektrycznego obliczono moc elektrowni wiatrowej wg wzoru:

$$N_{el} = \frac{U^2}{R} \quad (1)$$

gdzie:

$N_{el}$  – moc turbiny wiatrowej, W,

$U$  – napięcie prądu elektrycznego w układzie, V,

$R$  – rezystancja (obciążenie układu pomiarowego),  $\Omega$ .

Moc teoretyczną strugi wiatru oddziałującej na turbinę wiatrową H-Darrieusa obliczono na podstawie zależności:

$$N_w = \frac{\rho \cdot S \cdot V^3}{2} \quad (2)$$

gdzie:

$N_w$  – teoretyczna moc strugi wiatru, W,

$\rho$  – gęstość powietrza w danej temperaturze (dla  $T = 5^\circ\text{C}$  przyjęto  $\rho = 1,253 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ),  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ,

$S$  – pole powierzchni zataczanej przez wirnik turbiny,  $\text{m}^2$ ,

$V_p$  – prędkość wiatru,  $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ .

W efekcie wyznaczono sprawność turbiny wiatrowej o pionowej osi obrotu z zależności:

$$\eta = \frac{N_{el}}{N_w} \cdot 100\% \quad (3)$$

gdzie:

$\eta$  – sprawność turbiny wiatrowej, %,

$N_{el}$  – moc turbiny wiatrowej, W,

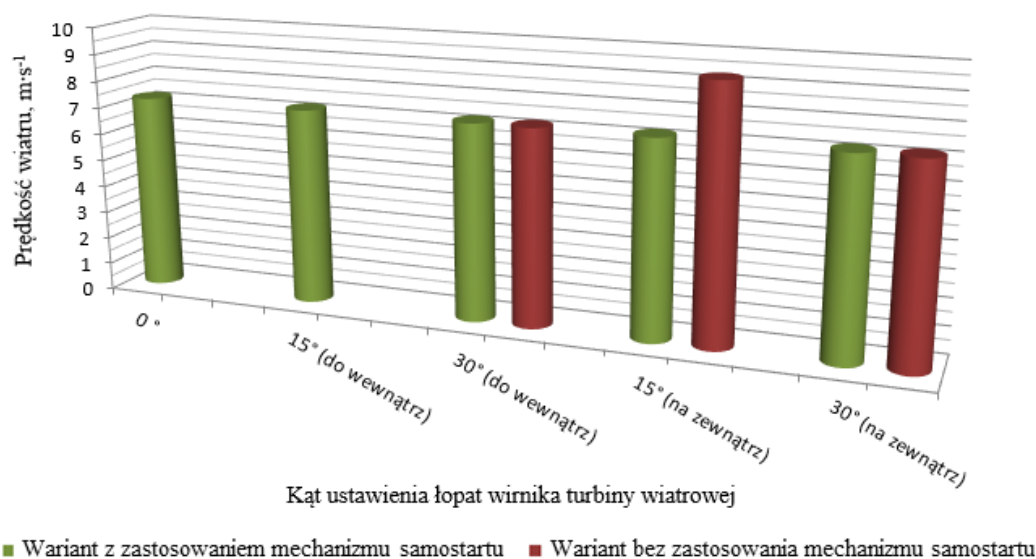
$N_w$  – teoretyczna moc wiatru, W.

## Wyniki i dyskusja

Ocena wpływu zastosowania mechanizmu samostartu na pracę elektrowni wiatrowej o pionowej osi obrotu została opracowana na podstawie analizy zależności prędkości rozruchowej strugi powietrza od kąta ustawienia łopatek oraz zastosowania mechanizmu samostartu, charakterystyki prądowo-napięciowej, zależności mocy uzyskanej w funkcji wartości obciążenia układu oraz zależności sprawności od wartości obciążenia układu.

Na podstawie rysunku 8 można stwierdzić, że zastosowanie mechanizmu samostartu

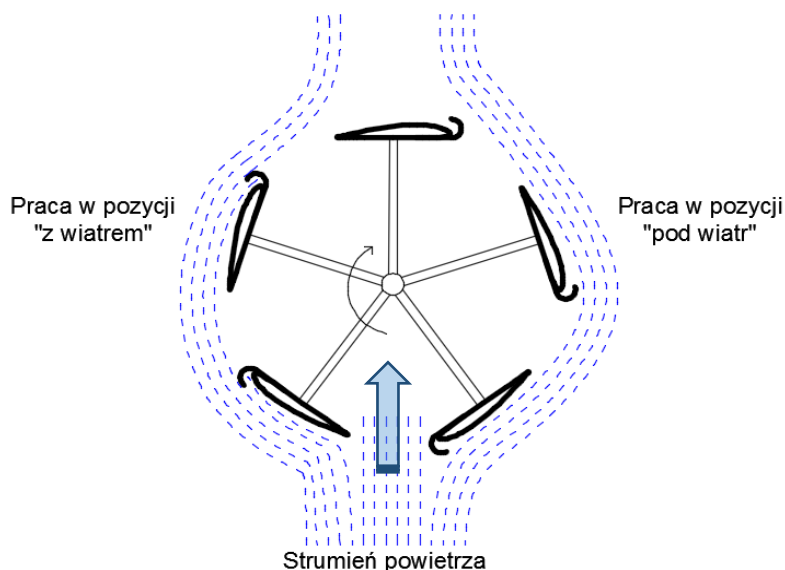
pozytywnie wpływa na moment rozruchowy turbiny H-Darrieusa. Przy badanym ustawieniu łopat pod kątem  $0^\circ$  oraz  $15^\circ$  do wewnątrz wirnika, turbina bez mechanizmu samostartu nie podejmowała żadnej pracy, w przeciwieństwie do wariantu z zastosowaniem dodatkowej powierzchni czynnej na końcu każdej z łopat. Przy pozostałych kątach ustawienia łopatek prędkość rozruchowa wirnika z zastosowaniem mechanizmu samostartu była niższa lub równa prędkości rozruchowej wirnika bez zastosowania mechanizmu.



**Rysunek 8.** Prędkość rozruchowa wirnika w zależności od zastosowanego rozwiązania oraz kąta ustawienia łopat

Źródło: Opracowanie własne

Dzięki zastosowaniu mechanizmu samostartu do konstrukcji wirnika turbiny H-Darrieusa, powstała dodatkowa siła parcia, której skutkiem był samoczynny rozruch wirnika. Mechanizm samostartu ustawiając się wklęsłą powierzchnią w pozycji „z wiatrem” stawiał duży opór, przez co wirnik z pozycji spoczynkowej rozpoczynał swoją pracę bez konieczności wcześniejszego wprowadzania go w ruch. Natomiast dzięki swojemu opływowemu kształtowi po stronie przeciwnej, nie generował zbyt dużego oporu w pozycji „pod wiatr”, kiedy istotne było generowanie siły nośnej przez profil łopaty. W efekcie, wirnik mógł swobodnie zwiększać swoją prędkość obrotową w jednym kierunku (rys. 9).



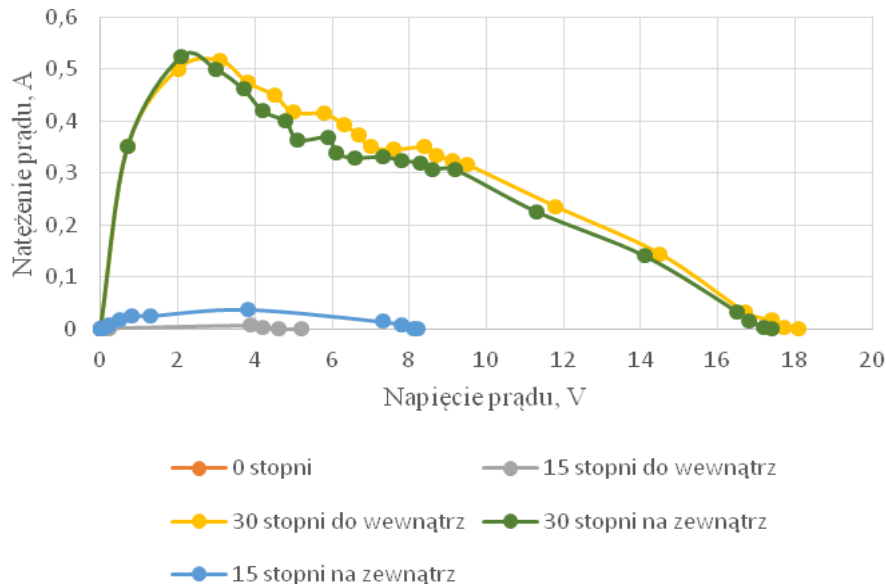
**Rysunek 9.** Opływ turbiny H-Darrieusa z mechanizmem samostartu przez strugę powietrza

Źródło: Opracowanie własne

Zasada działania mechanizmu samostartu jest podobna, jak w przypadku turbiny Savoniusa, gdzie także występują dwie powierzchnie czynne, które pracują w ustawieniu z wiatrem oraz pod wiatr [14].

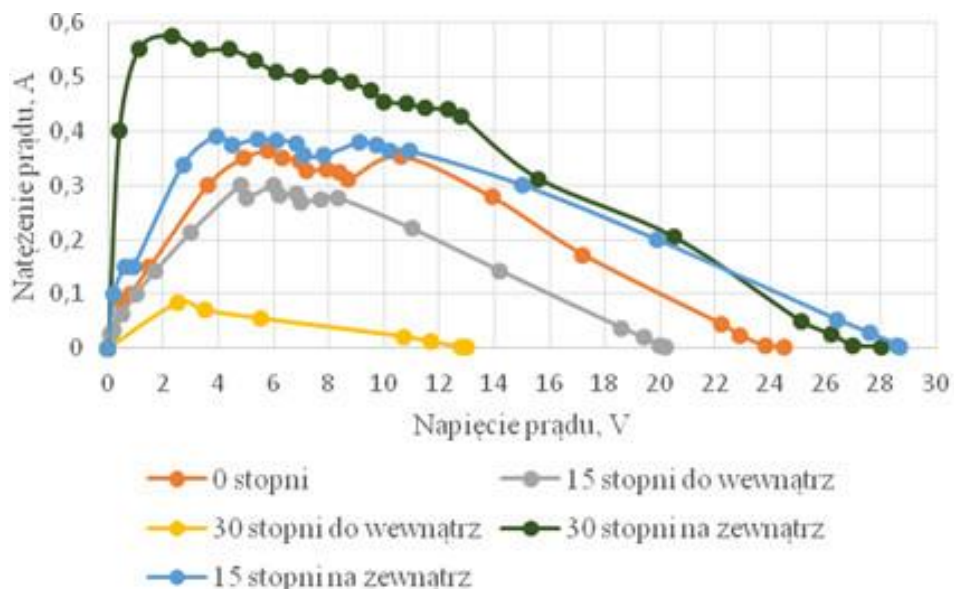
Do zwiększenia momentu rozruchowego turbiny przyczynił się także kąt ustawienia łopatek. Już przy niewielkim badanym odchyleniu łopatek o wartość 15 stopni na zewnątrz, turbina podejmowała samoczynną pracę bez mechanizmu samostartu przy nieco wyższej prędkości wiatru. Wraz ze wzrostem wartości badanego kąta odchylenia łopatek zwiększał się moment rozruchowy wirnika. Wzrost badanego kąta odchylenia łopatek (w określonym zakresie) przyczyniał się do powstawania większej siły nośnej, której składowa ma udział w powstawaniu siły wywołującej obrót wirnika. W rezultacie, wirnik rozpoczynał swoją pracę przy znacznie mniejszej prędkości wiatru, przy niewielkiej pomocy mechanizmu samostartu. To zjawisko występuje także w dużych elektrowniach typu HAWT przy zmianie kąta natarcia wiatru na łopatkę poprzez zmianę kąta ustawienia łopatek [13].

Charakterystyki prądowo-napięciowe dla pracy turbiny z mechanizmem oraz bez mechanizmu samostartu przedstawiono na rysunkach 10 i 11. Zastosowanie mechanizmu samostartu w wirniku turbiny H-Darrieusa przyczyniło się do osiągnięcia lepszych parametrów pracy, niż w przypadku tradycyjnej konstrukcji. Dzięki zastosowaniu rozwiązania, maksymalna wartość napięcia elektrycznego, jakie udało się osiągnąć podczas pracy turbiny wiatrowej, wyniosła około 29 V, gdzie przy konstrukcji bez mechanizmu samostartu wartość ta wynosiła niewiele ponad 18 V.



**Rysunek 10.** Charakterystyka prądowo-napięciowa dla prędkości wiatru  $V_p = 10,2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  (bez zastosowaniem mechanizmu samostartu wirnika)

Źródło: Opracowanie własne



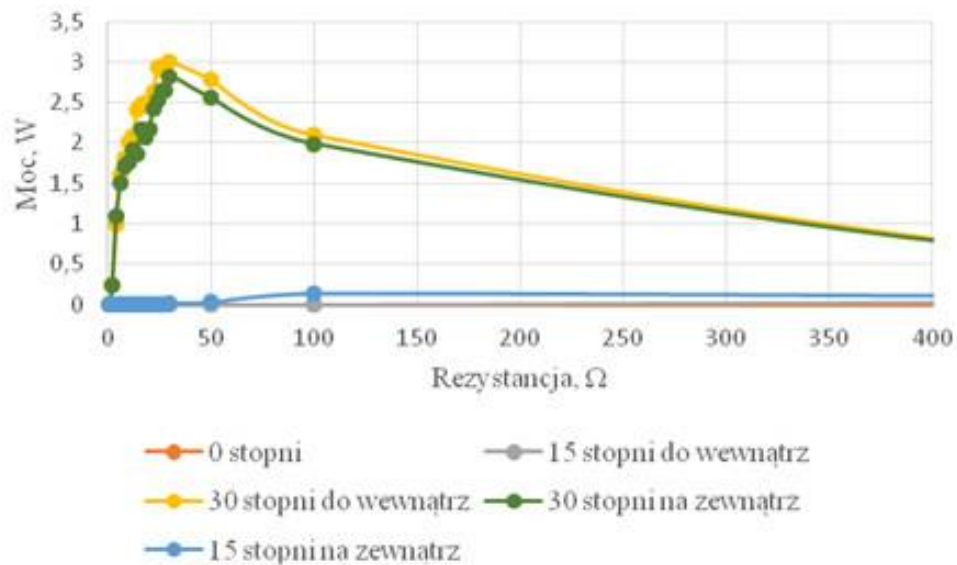
**Rysunek 11.** Charakterystyka prądowo-napięciowa dla prędkości wiatru  $V_p = 10,2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  (z zastosowaniem mechanizmu samostartu wirnika)

Źródło: Opracowanie własne

Moc osiągnięta po zastosowaniu mechanizmu samostartu (rys. 13) była prawie dwukrotnie większa od mocy uzyskanej przy tradycyjnej konstrukcji wirnika (rys. 12). W obu przypadkach punkt maksymalnej mocy został osiągnięty dla wartości obciążenia układu równej około  $30 \Omega$  dla badanego kąta ustawienia łopat równego  $30^\circ$ . Maksymalna wartość osiągniętej

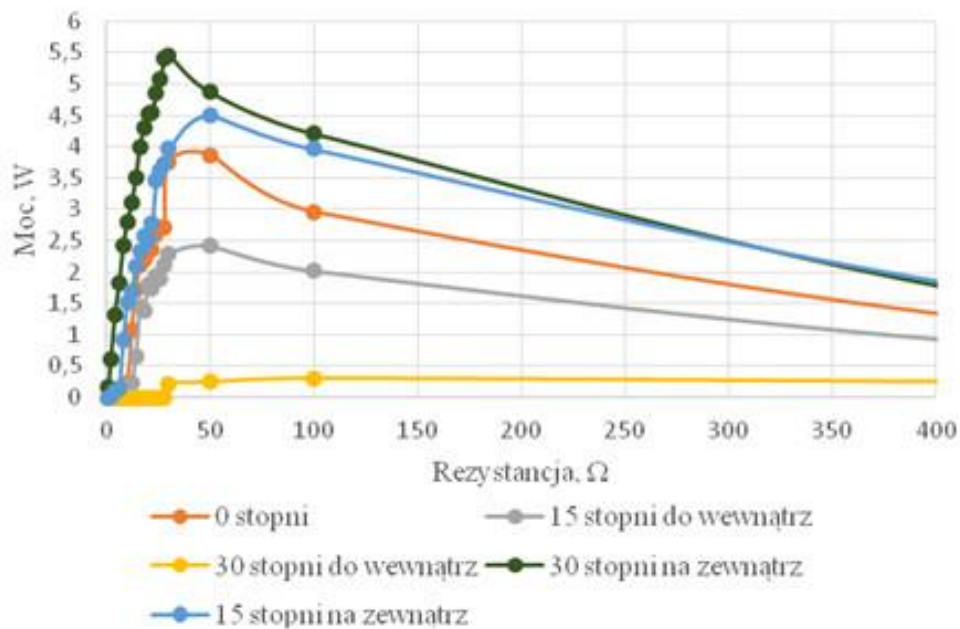


mocy podczas pracy turbiny wiatrowej wyniosła ok. 5,5 W (z zastosowanym rozwiązaniem mechanizmu samostartu) oraz około 3,0 W dla łopat bez dodatkowego mechanizmu samostartu.



**Rysunek 12.** Moc turbiny w funkcji zmiennego obciążenia dla prędkości wiatru  $V_p = 10,2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  (bez zastosowania mechanizmu samostartu wirnika)

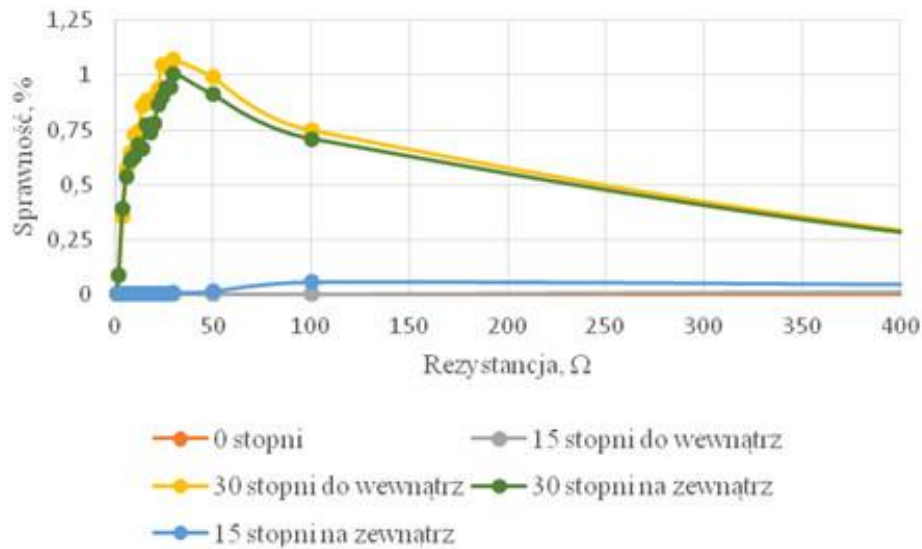
Źródło: Opracowanie własne



**Rysunek 13.** Moc turbiny w funkcji zmiennego obciążenia dla prędkości wiatru  $V_p = 10,2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  (z zastosowania mechanizmu samostartu wirnika)

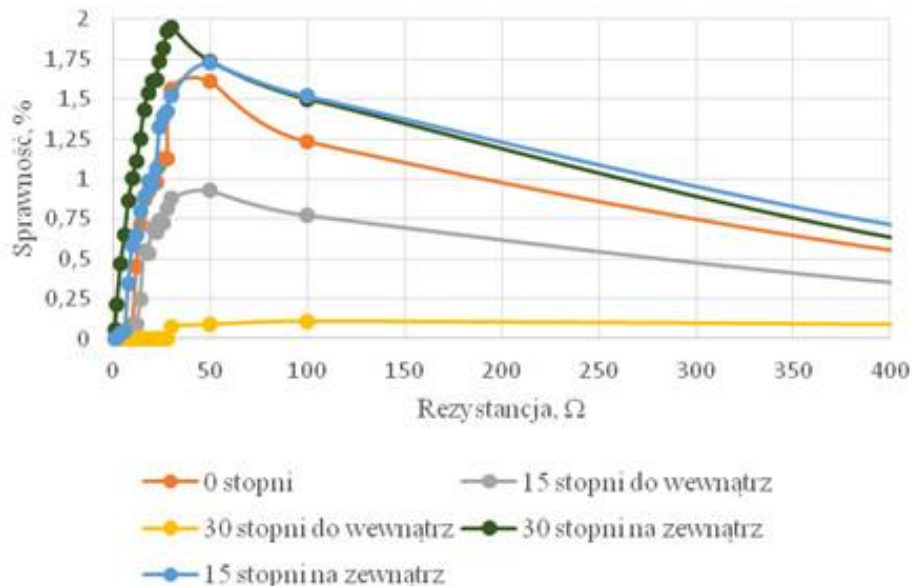
Źródło: Opracowanie własne

W przypadku sprawności turbiny wiatrowej przebieg jej zmienności był bardzo podobny, jak w przypadku uzyskanej mocy. Sprawność maksymalna wynosiła około 2,0% dla obciążenia układu około  $30 \Omega$  przy zastosowaniu mechanizmu samostartu (rys. 14). Dla wirnika bez mechanizmu samostartu wartość maksymalnej sprawności wynosiła około 1,0% (rys. 15).



**Rysunek 14.** Sprawność w funkcji zmiennego obciążenia dla prędkości wiatru  $V_p = 10,2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  (bez zastosowania mechanizmu samostartu wirnika)

Źródło: Opracowanie własne



**Rysunek 15.** Sprawność w funkcji zmiennego obciążenia dla prędkości wiatru  $V_p = 10,2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  (z zastosowania mechanizmu samostartu wirnika)

Źródło: Opracowanie własne

Uzyskanie lepszych parametrów pracy elektrowni wiatrowej było możliwe dzięki zastosowaniu odpowiednio uformowanych powierzchni czynnych na końcu każdej z łopatek oraz zmianie kąta ustawienia łopatek wirnika. Ma to związek z powstającą siłą parcia (mechanizm samostartu – turbina Savoniusa), która wraz z siłą nośną (turbina H-Darrieusa) zwiększała wartość momentu i prędkość obrotową wirnika. Wszystkie najwyższe parametry pracy prototypu turbiny VAWT zostały osiągnięte dla badanego kąta odchylenia łopatek równego 30 stopni na zewnątrz wraz z mechanizmem samostartu lub 30 stopni do wewnątrz bez wykorzystania mechanizmu. Zmiana kąta ustawienia łopatek przyczyniła się do wytworzenia znacznie większej siły nośnej, przez co zwiększeniu uległa także prędkość obrotowa wirnika, która bezpośrednio przełożyła się na wartość uzyskanej mocy elektrowni wiatrowej.

### **Podsumowanie**

Możliwość zastosowania turbin wiatrowych VAWT małej mocy w gospodarstwach domowych czy przestrzeniach miejskich jest ważna z punktu widzenia pozyskiwania energii elektrycznej ze źródeł lokalnych. Niestety, pewnym problemem w pracy elektrowni wiatrowych typu VAWT jest ich niska sprawność konwersji energii wiatru na energię elektryczną oraz problem samostartu.

W pracy przeprowadzono badania turbiny H-Darrieusa wyposażonej w dodatkowy mechanizm samostartu. Wyniki badań w tunelu aerodynamicznym wykazały, że zastosowanie mechanizmu samostartu oraz właściwy kąt ustawienia łopatek pozytywnie wpływają na parametry pracy elektrowni wiatrowej o pionowej osi obrotu. Dzięki wykorzystaniu mechanizmu samostartu zwiększono moment startowy turbiny wiatrowej, która samoczynnie rozpoczynała swoją pracę przy niższej prędkości wiatru. W przypadku zdemontowania mechanizmu, wirnik przy takich samych parametrach nie podejmował żadnej pracy. Wykorzystanie dodatkowych powierzchni czynnych na końcu każdej z łopatek oraz ustawienie łopatek pod kątem 30 stopni na zewnątrz przyczyniło się do wygenerowania znacznie większej mocy ( $N_{el} = 5,5 \text{ W}$ ), niż w przypadku tradycyjnego rozwiązania konstrukcyjnego ( $N_{el} = 3,0 \text{ W}$ ).

Rozwój oraz późniejsze wykorzystanie autorskiego rozwiązania konstrukcji turbiny H-Darrieusa może przyczynić się do ich szerszego wykorzystywania w lokalnych jednostkach wytwarzających energię elektryczną ze względu na podniesioną sprawność konwersji energii oraz zwiększony moment startowy.

## Literatura

- [1] Komisja Wspólnot Europejskich.: Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego, Rady, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego i Komitetu Regionów dot. średniookresowego przeglądu szóstego wspólnotowego programu działań w zakresie środowiska naturalnego. Bruksela. KOM 225. 2007.
- [2] Główny Urząd Statystyczny.: Energia. Departament Produkcji GUS. Wydział Bilansów Paliw, Surowców i Materiałów. 2016.
- [3] Skoczkowski T, Bielecki S, Baran Ł.: Odnawialne źródła energii – problemy i perspektywy rozwoju w Polsce. Przegląd Elektrotechniczny. 3(92). 2016.
- [4] Nalepa K, Miąskowski W, Pietkiewicz P, Piechocki J, Bogacz P.: Poradnik małej energetyki wiatrowej. Olsztyn. 2011.
- [5] Polak A, Barański M.: Porównanie turbin wiatrowych. Zeszyty Problemowe Maszyny Elektryczne. 74. 2006.
- [6] Strzelczyk P, Szczerba Z.: Turbiny wiatrowe z pionową osią obrotu. Pneumatyka. 1(78). 2011.
- [7] Tirkey A, Sarthi Y, Patel K, Sharma R, Sen P.K.: Study on the effect of blade profile, number of blade, Reynolds number, aspect ratio on the performance of vertical axis wind turbine. IJSETR. 3(12). 2014.
- [8] Beri H, Yao Y.: Effect of Camber Airfoil on Self Starting of Vertical Axis Wind Turbine. Int. J. Environ. Sci. Te. 4. 2011.
- [9] Islam M, Ting D.S.K, Fartaj A.: Aerodynamic models for Darrieus- type straight- bladed vertical axis wind turbines. RENEW. S. UST. ENERG. REV. 12. 2008.
- [10] Douglass K.J, McCabe F.J, Dickie R.: Cylindrical wind turbine. US20100150728 A1. 2010.
- [11] Srinivasan C, Ajithkumar G, Arul S, Arulprasath G, Dharunbabu T.N.: Design of Combined Savonius-Darrieus Wind Turbine. IOSR-JMCE. Col. 14(2V). 2017.
- [12] Gupta R, Biswas A.: CFD Analysis of flow physics and aerodynamic performance of combined three-bucket Savonius and three bladed Darrieus turbine. INT. J. GREEN ENERGY. 8. 2011.
- [13] Manwell J.F, McGowan J.G, Rogers A.L.: Wind Energy Explained. Theory, Design and Application. WILEY. Chichester. ISBN 978-0-470-01500-1. 2009.
- [14] Akwa J.V, Vielmo H.A, Petry A.P.: A review on the performance of Savonius wind turbines. RENEW. S. UST. ENERG. REV. 16(5). 2012.

# WPLYW SYSTEMU CHOWU NA ZAWARTOŚĆ METALI CIĘŻKICH W JAJACH

**Kamil Drabik<sup>(1)</sup>, Patrycja Chabroszewska<sup>(1)</sup>, Kostiantyn Vasiukov<sup>(1)</sup>, Agnieszka Adamczuk<sup>(2)</sup>, Eliza Blicharska<sup>(3)</sup>, Justyna Batkowska<sup>(4)</sup>**

*<sup>(1)</sup>Sekcja Hodowli Drobiu Studenckiego Koła Naukowego Biologów i Hodowców Zwierząt, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie\**

*<sup>(2)</sup>Centralne Laboratorium Agroekologiczne, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

*<sup>(3)</sup>Katedra Chemii Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie*

*<sup>(4)</sup>Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

*justyna.batkowska@up.lublin.pl*

## Streszczenie

Jaja pochodzące z ekologicznego chowu drobiu są pozytywnie postrzegane przez konsumentów ze względu na walory jakościowe, wartość odżywczą oraz prozdrowotną. Tymczasem w dostępnym piśmiennictwie brakuje prac, które potwierdzałyby te cenne właściwości jaj. W pracy przedstawiono preferencje konsumentów surowców drobiarskich w aspekcie różnych systemów utrzymania ptaków, oceniono stan ich wiedzy w oparciu o przekonania i stereotypy związane z wytwarzaniem tego rodzaju żywności. Scharakteryzowano także ekologiczne metody chowu drobiu. Zaprezentowane zostały wstępne wyniki badań własnych, których celem było porównanie stężenia metali ciężkich (Pb, Cd) w treści jaja w zależności od systemu utrzymania niosek. Większą zawartość zarówno kadmu, jak i ołowiu odnotowano w jajach od ptaków utrzymywanych w systemie ekologicznym, co może być efektem dostępu do wolnego wybiegu oraz dodatku zielonki. Metale ciężkie obecne w glebie i roślinach mogły zatem akumulować się w organizmie ptaków, a następnie przechodzić do treści jaj. W konwencjonalnym systemie klatkowym obserwuje się mniejszą zawartość metali, co może być ze ściśle standaryzowaną paszą zadawaną ptakom.

## Wprowadzenie

Prężny rozwój gospodarki oraz przemysłu przynosi ze sobą nie tylko nowe technologie,

---

\* Sekcja działa pod patronatem Krajowej Rady Drobiarstwa

ale także szereg zanieczyszczeń. Jednym z najpoważniejszych z nich jest skażenie środowiska metalami ciężkimi. Piśmiennictwo podaje szereg definicji metali ciężkich. Część z nich oparta jest o ich masę właściwą (powyżej  $4,5\text{g/cm}^3$ ), inne o liczbę atomową czy masową. Jednak w ujęciu biologicznym za metale ciężkie przyjęło się uznawać metale wykorzystywane w przemyśle, które jednocześnie wykazują działanie toksyczne w odniesieniu do środowiska, jak i organizmu ludzkiego. Ze względu na stopień zagrożenia przyjęto klasyfikację metali ciężkich na 4 zasadnicze grupy:

- bardzo wysokim stopniu potencjalnego zagrożenia, np. Cd, Hg, Pb, Cu, Zn,
- wysokim stopniu potencjalnego zagrożenia, np. Mo, Mn, Fe,
- średnim stopniu potencjalnego zagrożenia, np. Ni, Co,
- niskim stopniu potencjalnego zagrożenia, np. Sr, Zr [1].

Obecność metali ciężkich w produktach spożywczych jest tym bardziej niebezpieczna, że pomimo występujących barier biologicznych przy nadmiernej koncentracji metali ich działanie zostaje osłabione, co z kolei niesie ze sobą niebezpieczeństwo dla zdrowia człowieka [1, 2].

W zależności od stężenia czy formy, metale ciężkie mogą wywierać na organizmy żywe dwojaki wpływ. Część z nich, jak miedź czy cynk, zaliczana jest do mikroelementów ważnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych wykazując działanie stymulujące, choć stają się toksyczne już przy niewielkim przekroczeniu zapotrzebowania organizmu. Drugą grupę stanowią metale takie jak rtęć (Hg), kadm (Cd), czy ołów (Pb), które już w bardzo niewielkich stężeniach wykazują silne działanie toksyczne na ludzi i zwierzęta [3, 4].

W przypadku organizmów roślinnych toksyczność jest mniejsza, jednak w łańcuchu troficznym to właśnie rośliny są głównym źródłem metali ciężkich. Pobierają je one wprost ze środowiska glebowego lub ze swojej powierzchni przez osadzanie na nich zanieczyszczeń. Jako jeden z najistotniejszych czynników intensywności pobierania przez rośliny metali ciężkich jest ich biodostępność, czyli forma w której mogą zostać pobrane przez system korzeniowy. Biodostępna frakcja metali jest łatwo pobierana przez organizmy, a to przyczynia się do jej przekazywania na kolejne ogniwa łańcucha pokarmowego [5]. Systemy obronne roślin są na tyle skuteczne, że szkodliwe oddziaływanie metali obserwuje się dopiero przy znacznym ich stężeniu w środowisku glebowym. Człowiek natomiast jest szczególnie wrażliwy na podwyższone ilości metali ze szczególnym uwzględnieniem kadmu i ołowiu [6]. Analizując wpływ żywności pochodzenia roślinnego na poziom spożycia metali ciężkich można zauważyć, że w zależności rodzaju pierwiastka (metal) jego źródłem będą zupełnie różne produkty, np.

największą dawkę kadmu przyjmuje się wraz z produktami zbożowymi, warzywami i ziemniakami [7].

W perspektywie zawartości metali ciężkich w produktach spożywczych, niezależnie od ich rodzaju, znaczenie ma sposób uprawy (surowce roślinne) lub system chowu (surowce zwierzęce). Z założenia najmniejsze stężenie substancji szkodliwych powinny zawierać produkty ekologiczne w porównaniu do tych pozyskiwanych z systemów konwencjonalnych. W przypadku roślin uprawnych ta tendencja rzeczywiście jest zazwyczaj zachowana, a ilość metali ciężkich w roślinnych produktach rolnictwa ekologicznego jest niższa w porównaniu z tymi uzyskanymi metodami tradycyjnymi [8].

Rolnictwo ekologiczne wg definicji MRiRW oznacza system gospodarowania o zrównoważonej produkcji roślinnej i zwierzęcej. Produkcja ekologiczna powinna łączyć przyjazne środowisku praktyki gospodarowania, wspomagać wysoki stopień różnorodności biologicznej, wykorzystywać naturalne procesy oraz zapewnić właściwy dobrostan zwierząt. Rolnictwo ekologiczne, w porównaniu z metodami konwencjonalnymi, jest systemem bardzo restrykcyjnym w aspekcie ochrony środowiska. Wyraża się to między innymi całkowitym zakazem stosowania przemysłowych nawozów czy środków ochrony roślin [9]. Dodatkowo przepisy krajowe, jak również prawodawstwo europejskie zapewniają szerokie możliwości rozwoju rolnictwa ekologicznego. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że w perspektywie wschodniej Polski istnieją szerokie możliwości rozwoju produkcji ekologicznej z uwagi na niewielki stopień intensyfikacji rolnictwa [10].

Mimo korzystnych uwarunkowań przyrodniczych i prawnych, w porównaniu do pozostałych krajów członkowskich UE, polski rynek produkcji ekologicznej wciąż pozostaje rynkiem początkującym [11]. Wzrost świadomości konsumentów oraz aktualnie panujące trendy wpłynęły znacząco na jego rozwój. Wykazano, że na dynamikę zmian na rynku żywności ekologicznej ma wpływ szereg zachowań i przekonań konsumentów, wśród których jako najważniejsze wymienia się troskę o zdrowie, dbałość o środowisko czy preferencje w zakresie jakości spożywanej żywności [12]. Nie mniej istotne jest zaufanie do dostawców żywności ekologicznej. Poprawa statusu materialnego ludności także przyczyniła się do poszerzenia możliwości zakupowych konsumentów o znacznie droższe produkty pochodzenia ekologicznego [13]. Dotyczy to zarówno produktów pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego.

Jednym z podstawowych produktów zwierzęcych w naszej diecie są jaja. Wg danych Krajowej Rady Drobiarstwa statystyczny Polak w roku 2016 spożył ich ok. 150. Konsument ma wolność wyboru, zarówno co do masy zakupywanych jaj, ich opakowania, jak i systemu

chovu, z którego pochodzą. Przy wyborze jaj kieruje się on przede wszystkim wielkością, jakością i barwą skorupy jaj. Wykazano jednak, że system utrzymania ptaków nie odgrywa znaczącej roli w preferencjach zakupowych [14]. Aktualny wzrost zainteresowania żywnością ekologiczną nieco zmienił ten obraz, choć wykazano, że przeciętny konsument ma problem z wskazaniem różnic między różnymi systemami chovu.

Tymczasem systemy utrzymania ptaków mają wpływ zarówno na jakość, jak i ilość uzyskanego surowca [15]. Utrzymywanie ptaków w systemie klatkowym pozwala na zwiększenie obsady ptaków na jednostkę powierzchni i zmniejszenie kosztów produkcji w przeliczeniu na jajo [16], zaś obniżenie kosztów produkcji znacząco wpływa na cenę produktu. Dodatkowo chów klatkowy przyczynia się do ograniczenia emisji gazów, jak amoniak czy metan [17], a jaja pozyskane w ściśle regulowanych warunkach środowiskowych wykazują większą stabilność cech jakościowych w trakcie przechowywania i dłużej zachowują świeżość [18].

Niestety konsumenci są przekonani o lepszej jakości surowców pochodzących z systemu ekologicznego. W mediach niejednokrotnie sugerowano, że w ten sposób pozyskuje się „szczęśliwe jaja od szczęśliwych kur”, co znacząco wpłynęło na opinię konsumentów [19]. Ekologiczny system chovu polega na zapewnieniu ptakom dostępu do wolnego wybiegu, skarmianiu paszami pochodzącymi z upraw ekologicznych oraz stałym dostępem do zielonych wybiegów. Wśród szczególnie błędnych spostrzeżeń konsumentów w aspekcie chovu ekologicznego należy wymienić opinię jakoby „ekologiczne” kury jadły wyłącznie to, co same znajdują. Jest to informacja nieprawdziwa, ponieważ w ten sposób ptaki są w stanie zaspokoić jedynie ok. 40% zapotrzebowania na elementy mineralne. W rzeczywistości nioski te są żywione mieszankami pełnoporcjowymi na bazie surowców roślinnych (zbóż) z upraw ekologicznymi, co zaspokaja ich wymagania zarówno fizjologiczne, jak i produkcyjne [20]. Za ekologiczne uważa się jaja, gdzie na wytłaczance zamieszczono przedrostek „BIO” lub jaja kupowane „od baby”, tymczasem o pochodzeniu z systemu ekologicznego powinien świadczyć numer certyfikatu rolnictwa ekologicznego. Za wskaźnik tego systemu chovu niosek niektórzy konsumenci uważają również barwę skorupy, utożsamiając białą z chowem intensywnym, a brązową lub jaja niejednolite kolorystycznie w obrębie jednej partii, za pochodzące z wolnego wybiegu lub ekologiczne. Podczas gdy barwa skorupy nie jest wskaźnikiem ani systemu chovu ani żywienia, a zależy wyłącznie od genetycznych uwarunkowań niosek [21].

Według konsumentów chów „otwarty” ma wiele zalet, ptaki mają zapewniony dobrostan, zaś jaja charakteryzują się lepszym składem chemicznym i walorami smakowymi. I tu pojawia się pojęcie tzw. żywności funkcjonalnej i próby wzbogacania składu chemicznego



jaj [22], co okazuje się poważnym problemem. W jajach, które z definicji jest żeńską komórką rozrodczą zaopatrzoną we wszystkie substancje niezbędne dla rozwoju zarodka, można zmienić zawartość pewnych składników, ale wyłącznie poprzez modyfikacje żywienia kur nieśnych i tylko do momentu, gdy wciąż będzie możliwe uzyskanie zdrowych piskląt lub zachowanie prawidłowych właściwości technologicznych surowca i akceptacji konsumenta [23]. Stąd, tak pożądanym przez konsumenta dobroczynny skład chemiczny jaj ekologicznych, w praktyce oznacza niewielkie zmiany w profilu kwasów tłuszczowych czy barwie żółtka, które wynikają z dostępu ptaków do karotenoidów roślinnych.

Dostęp do wybiegu, mimo zwiększenia przestrzeni życiowej ptaków, niesie ze sobą pewne negatywne konsekwencje. Tu wymienić można narażenie ptaków na dodatkowe czynniki stresowe (np. pojawienie się ptaka drapieżnego nad wybiegiem, hałas), co skutkuje zwiększoną liczbą czerwonych (krwistych) plamek w jajach [24], ale także zabrudzenia skorup jaj znoszonych na wybiegu czy spożywanie przez ptaki elementów mineralnych wraz z towarzyszącymi im zanieczyszczeniami. Być może właśnie dlatego tzw. jaja wiejskie mogą charakteryzować się wyższym poziomem zanieczyszczenia metalami ciężkimi w porównaniu do jaj fermowych [25]. Jednak w przypadku produkcji ekologicznej, która ma na celu ograniczenie ilości metali ciężkich [26], podniesienie ich koncentracji nie powinno mieć miejsca. Z drugiej jednak strony mnogość sposobów przypadkowego ich wprowadzenia do środowiska ptaków pozwala przypuszczać, że takie zanieczyszczenia mogą występować.

## **Metodyka badań**

Badania miały charakter pilotażowy zaś ich celem było porównanie stężenia metali ciężkich (ołowiu i kadmu) w treści jaja w zależności od systemu utrzymania niosek.

Materiał badawczy stanowiło po 10 jaj z chowu klatkowego oraz ekologicznego (potwierzonego certyfikatem) pochodzących z zakupu. Porównywano jaja mieszczące się w zakresie tej samej kategorii wagowej oraz o zbliżonym terminie przydatności do spożycia. Treść jaj zhomogenizowano, a następnie poddano liofilizacji. Próbkę o masie 0,5 g przeprowadzono do formy roztworu przy użyciu 10 ml ultraczystego  $\text{HNO}_3$  z wykorzystaniem mineralizatora mikrofalowego MARSExpress (CEM, USA). Proces mineralizacji przeprowadzono w 3 etapach, dla których temperatura wynosiła kolejno 90°C, 110°C, 210°C, natomiast moc odpowiednio 400, 800 i 1600 W.

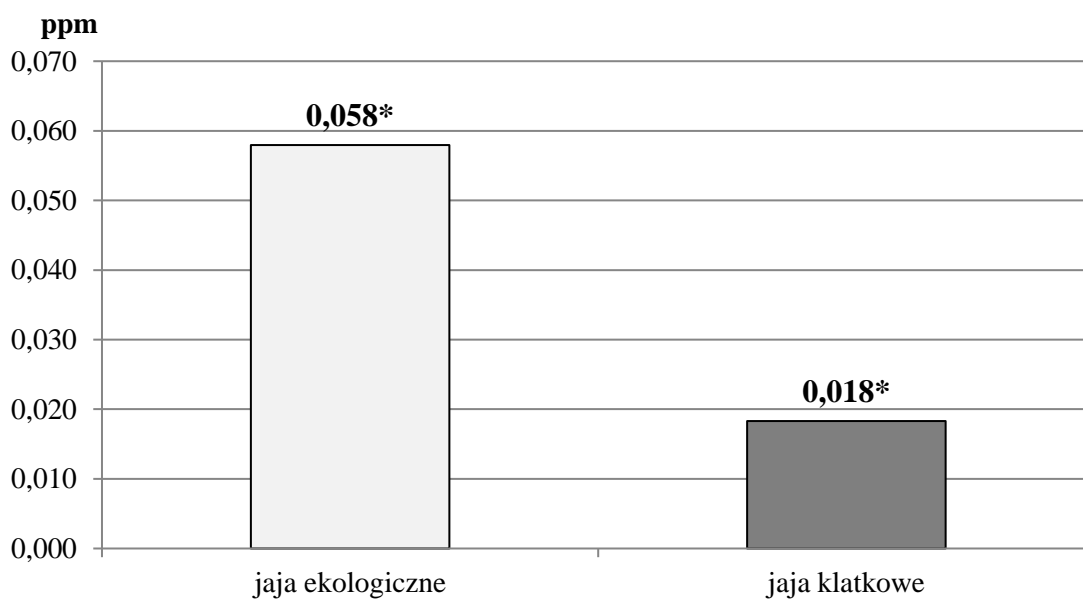
Analizę zawartości pierwiastków przeprowadzono metodą ICP-MS przy użyciu spektrometru mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej 820-MS (Varian, Australia). Do przygotowania krzywych wzorcowych użyto wzorców o czystości 99,999%.

Podczas analizy stosowano następujące parametry pomiaru: przepływ plazmy 18 l/min, przepływ pomocniczy: 1,70 l/min, przepływ przez nebulizer 1 l/min, moc generatora 1,37 kW, głębokość próbkowania 5 mm.

Metoda polegała na analizie jonów jednododatnich pierwiastków za pomocą złożonego układu detekcyjnego kwadrupol-fotopowielacz na podstawie stosunku masa/ladunek ( $m/z$ ) i wytworzeniu sygnału elektrycznego proporcjonalnego do ilości jonów trafiających do detektora. Jony wytwarzane są w wysokotemperaturowej plazmie argonowej modulowanej przez pole elektromagnetyczne o częstotliwości radiowej. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu SPSS 24.0 PL [27].

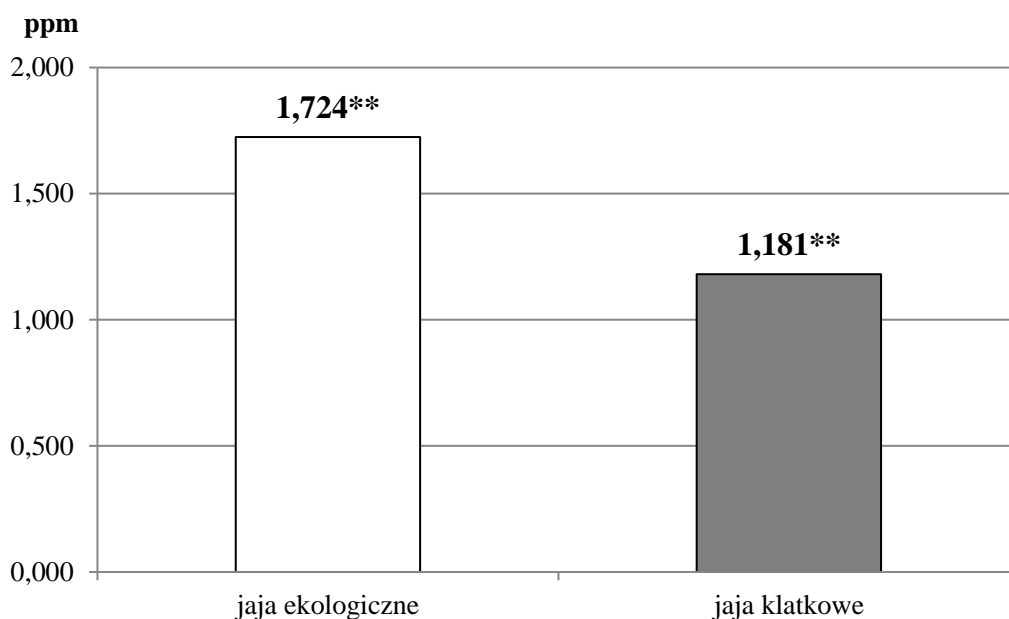
### Wyniki i dyskusja

W wyniku analizy stwierdzono, że zarówno w przypadku kadmu (Rys. 1) jak i ołowiu (Rys. 2) występują statystycznie istotne różnice koncentracji w jajach zależnie od systemu utrzymania niosek. Wyższe wartości odnotowano dla ptaków utrzymywanych w systemie ekologicznym, co może być efektem dostępu do wolnego wybiegu oraz dodatkom zielonki, jako nieodłącznego elementu diety ptaków w tym systemie chowu. Metale obecne w glebie i roślinach mogły zatem akumulować się w organizmie ptaków, a następnie przechodzić do treści jaj. W konwencjonalnym systemie klatkowym obserwuje się mniejszą zawartość metali, co jest związane ze ściśle standaryzowaną paszą zadawaną ptakom.



**Rysunek 1.** Zawartość kadmu (Cd) w jajach w zależności od systemu chowu niosek

\*\*– średnie różnią się istotnie przy  $p \leq 0,01$



**Rysunek 2.** Zawartość ołowiu (Pb) w jajach w zależności od systemu chowu niosek

\*\*– średnie różnią się istotnie przy  $p \leq 0,01$

Mimo założeń, jakie niesie ze sobą produkcja ekologiczna, badania wykazują, że ekologiczne systemy uprawy mogą zarówno ograniczać, jak i zwiększać ilość metali ciężkich w produktach rolnych. Wykazano dwukrotnie wyższą zawartość kadmu w ziemniakach i trzykrotnie wyższą w pietruszce z upraw ekologicznych niż konwencjonalnych [28]. Także w jajach od ptaków utrzymywanych w systemie ekologicznym i wolno wybiegowym odnotowano większą koncentrację metali ciężkich [29]. Wielu autorów podaje, że obecność zanieczyszczenia w środowisku rzutuje na ilość metali zatrzymanych w organizmach ptaków [30, 31]. Mechanizm akumulacji metali ciężkich ze środowiska może zatem potwierdzać przyczyny występowania tych związków w jajach z chowu ekologicznego. Analizując podniesione poziomy zawartości metali ciężkich w paszach dla zwierząt w Chinach [32] wykazano, że uzyskany w wyniku prowadzenia produkcji zwierzęcej nawóz (obornik) wnosił znaczne ilości zanieczyszczeń metalicznych do gleb. Pozyskiwanie pasz z upraw uprzednio nawożonych zanieczyszczonymi metalami ciężkimi obornikiem, będzie skutkowało dalszym zagrożeniem produkcji zwierzęcej, ale i zanieczyszczeń środowiska.

## Podsumowanie

W aspekcie surowców pochodzących z chowu ekologicznego brakuje doniesień badawczych potwierdzających opinie konsumentów na temat ich doskonałej jakości oraz dobroczynnego wpływu na zdrowie człowieka. Być może wynika to z faktu, że certyfikacja

rolnictwa ekologicznego obejmuje kontrolę prawidłowości wszystkich etapów wytwarzania surowców, czy to roślinnych, czy zwierzęcych, jednak bez oceny jakościowej ostatecznie uzyskanego produktu. Zatem tak naprawdę z założenia przyjmuje się, że to, co powstało metodami ekologicznymi, reprezentuje sobą wysoką jakość. Okazuje się jednak, że nie zawsze producent jest w stanie zachować kontrolę nad całym procesem wytwarzania, albo nie ma świadomości występowania w nim tzw. punktów krytycznych, jak to ma miejsce przy konwencjonalnych procesach wytwarzania żywności, w których obowiązują systemy zarządzania jakością i jej kontroli (np. HACCP). Dodatkowo, prawidłowa edukacja zarówno producenta, jaki i konsumenta, może pozwolić na faktyczne spełnianie założeń rolnictwa ekologicznego i przyczynić się do zachowania lub poprawy jakości oraz właściwości prozdrowotnych pozyskiwanych w ten sposób surowców roślinnych i zwierzęcych.

### Literatura

- [1] Ociepa-Kubicka A, Ociepa E.: Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi. *Inżynieria i ochrona środowiska*. 2012, 15(2), 169-180.
- [2] Walker CH, Hopkin SP, Sibly RM, Peakall DB.: *Podstawy ekotoksykologii*. PWN, Warszawa, 2002.
- [3] Wang Q, Cui Y, Liu X, Dong Y, Christie P.: Soil contamination and plant uptake of heavy metals at polluted sites in China. *J Environ Sci (China), Part A*. 2003, 38, 823-838.
- [4] Pueyo M, Lopez-Sanchez JF, Rauret G.: Assessment of CaCl<sub>2</sub>, NaNO<sub>3</sub>, and NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> extraction procedures for the study of Cd, Cu, Pb and Zn extractability in contaminated soils. *Anal Chim Acta*. 2004, 504, 217-225.
- [5] Yanai J, Fang-Jie Zhao, McGrath SP, Kosaki T.: Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Environ Pollut*. 2006, 139, 167-174.
- [6] Kabata-Pendias A, Mukherjee AB.: *Trace elements from soil to human*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2007.
- [7] Wojciechowska-Mazurek M, Starska K, Brulińska-Ostrowska E, Plewa M, Biernat U, Karłowski K.: Monitoring zanieczyszczenia żywności pierwiastkami szkodliwymi dla zdrowia. *Roczniki PZH*. 2010, 61, 27-36.
- [8] Śmiechowska M, Florek A.: Content of heavy metals in selected vegetables from conventional, organic and allotment cultivation. *Journal of Research an Applications in Agricultural Engineering*. 2011, 56(4), 152-156.

- [9] Runowski H.: Rolnictwo ekologiczne–rozwój czy regres. *Rocz Nauk Rol, Seria G*. 2009, 96(4), 182-193.
- [10] Draganek N, Kabacińska N, Zańko W, Bochnak J, Drabik K, Batkowska J, Brodacki A.: Uwarunkowania i perspektywy rozwoju rolnictwa ekologicznego Lubelszczyzny na tle danych dotyczących Polski. *Nauki Przyrodnicze*. 2017, 3(17), 17-28.
- [11] Reniuszek B.: Ekożywność na topie. *Lubelskie Aktualności Rolnicze. Miesięcznik Lubelskiego Ośrodka Doradztwa Rolniczego w Końskowoli*. 2016, 4, 45-46.
- [12] Kawa M, Cyran K.: Wiedza konsumentów jako determinanta decyzji zakupowych na rynku żywności ekologicznej. *Zesz Nauk SGGW w Warszawie. Ekonomia i Organizacja Gospodarki Żywnościowej*. 2015, 112, 63-74.
- [13] Anderson KE.: Overview of natural and organic egg production: Looking back to the future. *J Appl Poult Res*. 2009, 18(2), 348-354.
- [14] Trziszka T, Nowak M, Kaźmierska M.: Preferencje konsumentów jaj na rynku wrocławskim. *Zywn-Nauk Technol Ja*. 2006, 3(48), 107 – 117.
- [15] Batkowska J, Drabik K, Brodacki A.: Quantity and quality of poultry products depending on birds' rearing system. *Journal of Animal Science, Biology and Bioeconomy*. 2017, 85(3): 57-66, DOI: 10.24326/jasbb.2017.3.6.
- [16] Biesiada-Drzazga B, Janocha A.: Wpływ pochodzenia i systemu utrzymania kur na jakość jaj spożywczych. *ZYWN-NAUK TECHNOL JA*, 2009, 2(64), 64–74.
- [17] Xin H, Gates RS, Green AR, Mitloehner FM, Moore Jr PA, Wathes CM.: Environmental impacts and sustainability of egg production systems. *Poult Sci*. 2011, 90(1), 263-277.
- [18] Batkowska J, Brodacki A, Gryzińska M.: Effects of laying hen husbandry system and storage on egg quality. *Europ Poult Sci*. 2016, 80 doi: 10.1399/eps.2016.158
- [19] Parker C, Brunswick C, Kotey J.: The happy hen on your supermarket shelf. *J Bioeth Inq*, 2013, 10(2), 165-186.
- [20] Van Krimpen MM, Leenstra F, Maurer V, Bestman M.: How to fulfill EU requirements to feed organic laying hens 100% organic ingredients. *J Appl Poult Res*. 2015, 25(1), 129-138.
- [21] Yang HM, Wang ZY, Lu J.: Study on the relationship between eggshell colors and egg quality as well as shell ultrastructure in Yangzhou chicken. *AJB*. 2009, 8(12), 2898-2902.
- [22] Siró I, Kápolna E, Kápolna B, Lugasi A.: Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance. A review. *Appetite*. 2008, 51(3), 456-467.
- [23] Liu X, Zhang Y, Yan P, Shi T, Wei X.: Effects of conjugated linoleic acid on the performance of laying hens, lipid composition of egg yolk, egg flavor, and serum

- components. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2017, 30(3), 417-423.
- [24] Campo JL, Cabezas R, Torres O, González Briones I, Alonso C.: Egg quality and welfare of white-, tinted-, and brown-shell egg layers in three different non-cage housing systems. *Arch Geflügelk.* 2012, 77 (3): 179- 188
- [25] Sobczak J, Waligóra T.: Wpływ alternatywnej technologii chowu kur stad towarowych na ich wyniki produkcyjne. *Przegl Hod.* 1999, 45, 205-214.
- [26] Gadomska J, Sadowski T, Buczkowska M.: Ekologiczna żywność jako czynnik sprzyjający zdrowiu. *Probl Hig.* 2014, 95(3), 556-560.
- [27] IBM Corp. Released. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0.* Armonk, NY: IBM Corp., 2013.
- [28] Śmiechowska M.: *Studia nad produkcją, jakością i konsumpcją żywności ekologicznej.* Wydaw. Akad. Morskiej, 2002.
- [29] Dobrzański Z, Chojnacka K, Górecka H, Chojnacki A, Wiśniewski J.: Jaja drobiu wodnego jako indykator skażenia środowiska wiejskiego. *Acta Agrophys.* 2003, 1(3 [88]), 395-401.
- [30] Żmudzki J, Szkoda J.: Stężenie pierwiastków śladowych w tkankach kur przyzagrodowych i fermowych. *Med Weter.* 1995, 51(10), 611-613.
- [31] Kołacz R, Dobrzański Z, Górecka H, Moryl A, Grudnik T.: Zawartość metali ciężkich w tkankach kur utrzymywanych w rejonie Zagłębia Miedziowego. *Acta Agrophys.* 2003, 2(01), 263-269.
- [32] Cang L.: Heavy metals pollution in poultry and livestock feeds and manures under intensive farming in Jiangsu Province, China. *J Environ Sci (China)*, 2004, 16(3), 371-374.

# **RUCH TURYSTYCZNY W PARKACH NARODOWYCH WOJEWÓDZTWA LUBELSKIEGO W LATACH 2007-2016**

**Agata Kobyłka<sup>(1)</sup>, Katarzyna Bednarz<sup>(2)</sup>, Karolina Ochęduszko<sup>(2)</sup>, Sylwia Maciocha<sup>(2)</sup>,  
Helena Chmielewska<sup>(2)</sup>, Adam Miedziewicki<sup>(2)</sup>, Angelika Rudo<sup>(2)</sup>**

<sup>(1)</sup>*Katedra Turystyki i Rekreacji, Wydział Agrobiżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

<sup>(2)</sup>*Studenckie Koło Naukowe Turystyczno-Krajoznawcze, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

*agata.kobylka@gmail.com, skntk.up.lublin@gmail.com*

## **Streszczenie**

Parki narodowe są jednym z ważniejszych walorów turystycznych Polski. Ich zadaniem jest nie tylko ochrona unikatowych gatunków fauny i flory, czy też edukacja społeczeństwa w tym zakresie. Są one także cenną atrakcją turystyczną, przyciągającą rzeszę turystów. Celem niniejszego opracowania była analiza natężenia ruchu turystycznego w dwóch parkach narodowych województwa lubelskiego: Poleskim i Roztoczańskim. Badania przeprowadzono metodą desk research, wykorzystując dane udostępniane przez GUS oraz Dyрекcję Poleskiego Parku Narodowego. Wykazano, że oba parki narodowe na przestrzeni lat 2007-2016 odnotowały wzrost liczby turystów, pomimo znacznej różnicy w ogólnej liczbie ich odwiedzających. Pozytywnym zjawiskiem jest rozproszenie turystów na obszarze parków i coraz większe zainteresowanie terenami mniej popularnymi m.in. wodno-błotnymi i nizinnymi.

## **Wprowadzenie**

Przyrodniczy krajobraz Polskie jest bogaty w różnorodne gatunki roślin i zwierząt, które często stanowią unikat na skalę kraju, a nawet świata. W celu ochrony naturalnych ekosystemów już od 1932 r. tworzone są na obszarze kraju parki narodowe, których obecnie jest 23. Każdy z nich wyróżnia się w sposób szczególny charakterystycznymi walorami przyrodniczymi [1]. Podstawą prawną zakładania tego rodzaju form ochrony przyrody jest ustawa z dnia 16 kwietnia 2004 r. o ochronie przyrody, która wymienia wszystkie elementy środowiska, które mogą podlegać opiece, a także przedstawia cele i zasady funkcjonowania takich form. Specyfiką parków jest nie tylko ochrona cennej flory i fauny, lecz również udostępnianie i zarządzanie ich terenami oraz edukacja przyrodnicza i ekologiczna. Każdy park powstaje na powierzchni co najmniej 1 000 ha, zaś wokół tworzona jest otulina. Wielokrotnie

wewnątrz tworzone są specjalistyczne rezerваты, jak też biologiczne muzea. Nadzór nad działalnością obejmuje Ministerstwo Środowiska oraz poszczególne departamenty wyznaczone do kontroli [2]. Ponadto niepowtarzalny zespół przyrodniczy może zostać włączony do pierwszoplanowych zasobów przyrodniczych państwa, dlatego podlega również ustawie z dnia 6 lipca 2001 r. o zachowaniu narodowego charakteru strategicznych zasobów naturalnych kraju [3]. Do najważniejszych elementów środowiska naturalnego, podlegających ochronie należą: lasy, tereny górskie, jeziora, obszar nadmorski (np. wydmy), a przede wszystkim rzadko występująca roślinność i wyjątkowe gatunki zwierząt.

Ważną misją parków oprócz funkcji ochronnej jest udostępnianie turystyczne, dzięki któremu popularyzowane są unikatowe walory przyrodnicze, zwiększana świadomość społeczeństwa w zakresie ochrony przyrody oraz wiedza krajoznawcza i przyrodnicza [4]. Rosnący ruch odwiedzających zmusza do tworzenia oraz rozwijania zabezpieczających przyrodę szlaków turystycznych, oraz zwiększających wiedzę i świadomość ekologiczną ścieżek edukacyjnych oraz publicznych wydarzeń (impres) [5, 6]. Istnienie parku jest magnesem, który przyciąga turystów oraz przyczynia się do rozkwitu turystycznego regionu, a tym samym rozwoju gospodarczego i zwiększeniu korzyści ekonomicznych mieszkańców [7]. Aby zwrócić uwagę większej liczby odwiedzających, należy zadbać o odpowiednie zagospodarowanie oraz uzyskać wsparcie od lokalnych samorządów [8]. Od wielu lat obserwuje się ciągły wzrost liczby turystów, którzy odwiedzają polskie parki narodowe [5, 7, 9]. W 2007 r. było to ponad 10,9 mln osób [10], a w 2016 r. już ponad 12,9 mln osób [11].

## **Material i metody**

Celem opracowania była charakterystyka natężenia ruchu odwiedzających Poleski i Roztoczański Parku Narodowy w latach 2007-2016. W pracy wykorzystano metodę desk research. Obliczenia wykonano na podstawie danych wtórnych udostępnionych przez Dyрекcję Poleskiego Parku Narodowego i pozyskanych z GUS. Wyniki badań analizowano statystycznie wykorzystując program STATISTICA 12.

## **Charakterystyka obszaru badań**

Poleski Park Narodowy (PPN) położony jest w centralnej części Równiny Łęczyńsko-Włodawskiej, która stanowi południową część Polesia Lubelskiego [12]. Obszar ten ze względu na licznie występujące jeziora, które są także jedną z atrakcji Parku, nazywany jest również Pojezierzem Łęczyńsko-Włodawskim [13]. PPN utworzony został 1 maja 1990 r. w celu ochrony ekosystemów wodno-torfowiskowych dzięki zaangażowaniu przyrodników



i działaczy na rzecz ochrony przyrody. Wśród nich szczególnie wyróżnić można prof. dr hab. Dominika Fijałkowskiego, znanego badacza flory Lubelszczyzny. Był on pierwszym w Polsce parkiem narodowym o charakterze wodno-błotnym. Jego powierzchnia początkowo wynosiła jedynie 4 813 ha, a aktualnie jest to 9 759,88 ha, w tym ochroną krajobrazową objęte jest 85,2% powierzchni, czynna – 13,6%, natomiast ścisłą – 1,2%. Otulina Parku ma powierzchnię 14 041,90 ha [11]. PPN od 11 lipca 2012 r. stanowi część najmłodszego w Polsce rezerwatu biosfery<sup>1</sup>, czyli Transgenicznego Rezerwatu Biosfery „Polesie Zachodnie”, zlokalizowanego na białorusko-polsko-ukraińskim pograniczu [14].

Najważniejszymi spośród wielu walorów PPN są niewątpliwie bardzo cenne ekosystemy torfowiskowe. Występują tutaj w trzech typach: niskie, przejściowe i wysokie typu kontynentalnego, których nie można znaleźć nigdzie w Polsce poza Lubelszczyzną [15]. Znaczną część parku, bo aż 49,8% stanowią lasy, a 4,4% to wody [11]. Zróżnicowanie krajobrazu wpływa również na urozmaicenie gatunków flory i fauny [15]. W tej pierwszej grupie można wyróżnić m.in. brzozę omszoną, stanowiącą aż 39% składu całego drzewostanu lasów PPN [16]. Ponadto znaleźć tu można liczne relikty polodowcowe takie jak brzoza niska czy wierzba lapońska. Na terenie parku występują także trzy gatunki owadożernych rosiczek i aż 15 gatunków storczyków. To tylko nieliczne przykłady niezwykle atrakcyjnej flory występującej na tym obszarze. Biorąc pod uwagę najciekawsze gatunki zwierząt parku, niewątpliwie uwagę trzeba zwrócić na żółwia błotnego, który jako gatunek reliktowy w Polsce jest uznany za najbardziej zagrożonego gada. Szacuje się, że jego liczebność wynosi jedynie 350-450 dorosłych osobników. Ponadto na terenie parku występuje aż 48 gatunków ssaków, w tym liczne gatunki gryzoni (np. bóbr, nornica ruda), ssaków owadożernych (np. kret, ryjówka) i kopytnych (np. łoś, sarna, jelen). PPN to także obszar z najbogatszą awifauną, szczególnie z grupy ptaków wodno-błotnych takich jak bielik, orlik krzykliwy czy bardzo ważny żuraw, którego podobiznę znajdziemy w herbie parku [17].

Na obszarze PPN prowadzona jest działalność edukacyjna i turystyczna. Najpopularniejszymi formami turystyki są tutaj turystyka piesza i rowerowa, a także konna. Zwiedzając PPN należy pamiętać, że całość przyrody podlega ochronie, a ruch turystyczny może odbywać się od świtu do zmierzchu tylko po wyznaczonych szlakach i ścieżkach [18]. Obecnie długość szlaków na tym terenie wynosi 114 km [11]. Szlaki są bardzo dobrze

---

<sup>1</sup> Rezerwat biosfery to obszar, który został objęty międzynarodowym programem ochrony środowiska UNESCO „Man and Biosphere” (MaB – Człowiek i Środowisko), w celu równoważenia relacji pomiędzy przyrodą a człowiekiem, ochrony różnorodności biologicznej oraz obserwacji zmian jakie zachodzą w środowisku w skali całej planety [14].

wyposażone i oznakowane, co znacznie ułatwia zwiedzanie turystom. Na ich trasie ustawione zostały tablice informacyjne, odpowiednie mapy, ławki, zadaszenia czy też wieże widokowe. Na terenie Poleskiego PN znajduje się także wypożyczalnia rowerów.

Działalność edukacyjna jest możliwa dzięki dwóm ośrodkom dydaktycznym: Ośrodkowi Dydaktyczno-Administracyjnemu w Urszulinie oraz Ośrodkowi Dydaktyczno-Muzealnemu w Starym Załuczu. Prowadzony jest tutaj szeroki zakres edukacji zarówno ekologicznej jak i przyrodniczej, czy też środowiskowej. Na terenie znajduje się 5 pieszych ścieżek edukacyjnych oraz jedna rowerowa („Mietułka”). Ścieki piesze to ścieżki edukacji przyrodniczej „Dąb Dominik”, „Spławy”, „Perehod”, „Żółwik” (gł. dla najmłodszych dzieci) pozwalające na poznanie ekosystemów torfowiskowych i roślinności wodnej oraz ścieżka historyczno-przyrodniczą „Obóz Powstańczy”, związana z historią tych terenów w czasie Powstania Styczniowego [19]. Tylko na czterech z nich pobierane są opłaty za wstęp. Na terenie Parku turyści mogą bezpłatnie poruszać się po 6 trasach do obserwacji ptaków i 4 do realizacji questów, jak również po przebiegających przez niego szlakach turystycznych: 7 pieszych, 2 rowerowych i jednym konnym. Na terenie parku dopuszczalna jest turystyka pobytowa w czterech wyznaczonych miejscach biwakowania (pola wypoczynkowe: Babsk, Łomnica, Pieszczowola, Łowiszów) oraz amatorski połów ryb w 11 stawach w miejscowości Pieszczowola [18, 20].

Roztoczański Park Narodowy (RPN) został utworzony 10 maja 1974 r. na powierzchni 4 800,65 ha [21]. Został trzykrotnie powiększony [22] i obecnie jego obszar wynosi 8 482,83 ha, w tym ochroną ścisłą objętych jest 12,1% terenu, ochroną czynną – 85,4%, a krajobrazowa – 2,5%. Otulina Parku obejmuje powierzchnię 38 095,87 ha [11]. RPN położony jest na terenie dwóch mezoregionów: przeważająca część w obrębie Rostocza Środkowego (Tomaszowskiego), natomiast niewielka zachodnia wraz z otuliną na obszarze Rostocza Zachodniego (Szczepreszyńskiego) [7].

W skład parku weszły 3 wcześniej istniejące rezerваты florystyczne oraz 9 rezerwatów leśnych [23]. Jednym z inicjatorów utworzenia Parku był jak i w przypadku PPN prof. dr hab. Fijałkowski. Wraz z dwoma innymi profesorami z Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie Tadeuszem Wielgatem i Krystynem Izdebskim w 1959 r. zgłosili projekt utworzenia Parku [24]. Mimo przychylności wielu organizacji projekt został zrealizowany dopiero 15 lat później. Miały na to wpływ trudności, które wynikały ze względów społecznych i z interesów gospodarczych [21].

RPN swym zasięgiem obejmuje głównie pasma niewysokich (do 350 m n.p.m.) kredowych wzniesień pokrytych lessem [25, 26], które są porożcinane piaszczystymi,

szerokimi dolinami rzeki Wieprz i strumienia Świerszcz [27]. Sieć wód powierzchniowych na terenie Parku nie jest gęsta [24], a wody stanowią tylko 0,6% powierzchni. RPN to teren głównie leśny – lasy zajmują 95,6% powierzchni [11]). Zróżnicowane siedliskowo i drzewostanowo lasy w większości zachowały swój naturalny charakter. Na terenie parku wyróżnia się 19 zespołów roślinności leśnej i 2 zbiorowiska, jak również 28 zespołów roślinności nieleśnej i 12 zbiorowisk. Wśród zbiorowisk leśnych największą powierzchnie zajmują bory sosnowe (28%), oraz bardzo cenna buczyna karpacka (25%) i bór jodłowy (8%) [27]. We wschodniej części RPN usytuowane są głębokie i strome wąwozy lessowe [26], a deniwelacja tam sięga 100 m [27]. Park ma bogatą szatę roślinną. Prócz gatunków środkowoeuropejskich licznie występują gatunki górskie (np. porzecznica alpejska, narecznica szerokolistna) i relikty polodowcowe [22]. Najliczniejszą grupę zwierząt stanowią bezkręgowce (ok. 3 400 gatunków). W parku występuje 12 spośród 18 gatunków płazów, które występują w Polsce oraz 205 gatunków ptaków (niemal połowa gatunków występujących w Polsce). Ssaki to głównie bobry, sarny, rysie, wilki oraz symbol parku, czyli konik polski, który jest potomkiem tarpana [27]. W dolinie Świerszcz oraz nad stawami „Echo” utworzono jego ostoję [24]. Na terenie parku rośnie ponad 400 pomnikowych drzew, a wiekowe jodły i buki osiągają 50 m wysokości i 1,5 m obwodu [26].

Teren Parku udostępniany jest w celach edukacyjnych, filmowania, fotografowania, naukowych, rekreacyjnych, sportowych i turystycznych. Działalność edukacyjna prowadzona jest w Ośrodku Edukacyjno-Muzealnym w Zwierzyńcu i Roztoczańskim Centrum Naukowo-Edukacyjnym, ale też w terenowych bazach edukacyjnych: Izbie Leśnej we Floriance, gajówkach Komanówka, Krzywe i Wojda oraz w Ośrodku Hodowli Zachowawczej we Floriance, na stadionie Sokoła oraz przy Osadzie Rybakówka. Władze Parku pozwalają na zwiedzanie Parku i uprawianie na jego terenie turystyki pieszej, rowerowej, konnej i narciarstwa biegowego w porze dziennej, od wschodu do zachodu słońca w ciągu całego roku po wyznaczonych do tego celu i oznakowanych ścieżkach poznawczych i szlakach turystycznych. Dla turystów i odwiedzających udostępnianych jest 10 ścieżek przyrodniczych: na Piaseczną Górę, po wydmie do stawów „Echo”, do stawów „Echo”, aleją Aleksandry Wachniewskiej, dendrologiczna we Floriance, przyrodnicza na Bukową Górę, krajobrazowa we Floriance, widokowa na Białą Górę oraz historyczno-przyrodnicze do Wzgórza Polak i do Wojdy. Obszar Parku przecina 5 szlaków turystycznych pieszych: Centralny, Krawędziowy Roztocza, Roztoczański oraz im. Aleksandry Wachniewskiej oraz 4 rowerowe. Turystyka narciarska i konna może odbywać się po wyznaczonych do tego fragmentach szlaków lub ścieżek poznawczych. Odwiedzających zainteresować mogą również 4 obiekty kulturowe:

pomniki powstańców i cmentarze wojenne. W wyznaczonej części stawów „Echo” może odbywać się turystyka wypoczynkowo-rekreacyjna (w tym również kąpiele), a tereny stadionu „Sokoła” udostępniane są do celów rekreacyjnych [28]. Dobek i Kozieł uważają, że obszar Parku ma również duży potencjał do wykorzystania w geocachingu<sup>2</sup> [29].

## Wyniki

Na przestrzeni lat 2007-2016 odnotowano w PPN 272 047 odwiedzających. Największy wzrost ilości wizyt zarejestrowano w latach: 2008-2009 z 15 361 do 24 600 odwiedzających (wzrost o 56%) oraz 2014-2015, kiedy liczba zwiedzających wzrosła o 47% (z 27 795 na 40 967). Na przestrzeni ostatniej dekady liczba turystów wzrosła o 177% (2,8 razy). Prawdopodobną przyczyną zmian jest większe zainteresowanie turystyką aktywną wokół jezior Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego, skąd liczne wycieczki rowerowe podążają w kierunku Parku. Coraz liczniej odwiedzają go również rodziny z dziećmi, a nie tylko grupy przyrodników, głównie ze względu na to, że jest to jedno z ciekawszych miejsc w okolicy jezior Pojezierza. Pozytywnym faktem dla funkcji ochronnej Parku jest to, że zagęszczenie ruchu odwiedzających było niewielkie – średnia to prawie 3 odwiedzających na ha w ciągu roku, a maksymalna ilość ponad 4 osoby od 2015 roku.

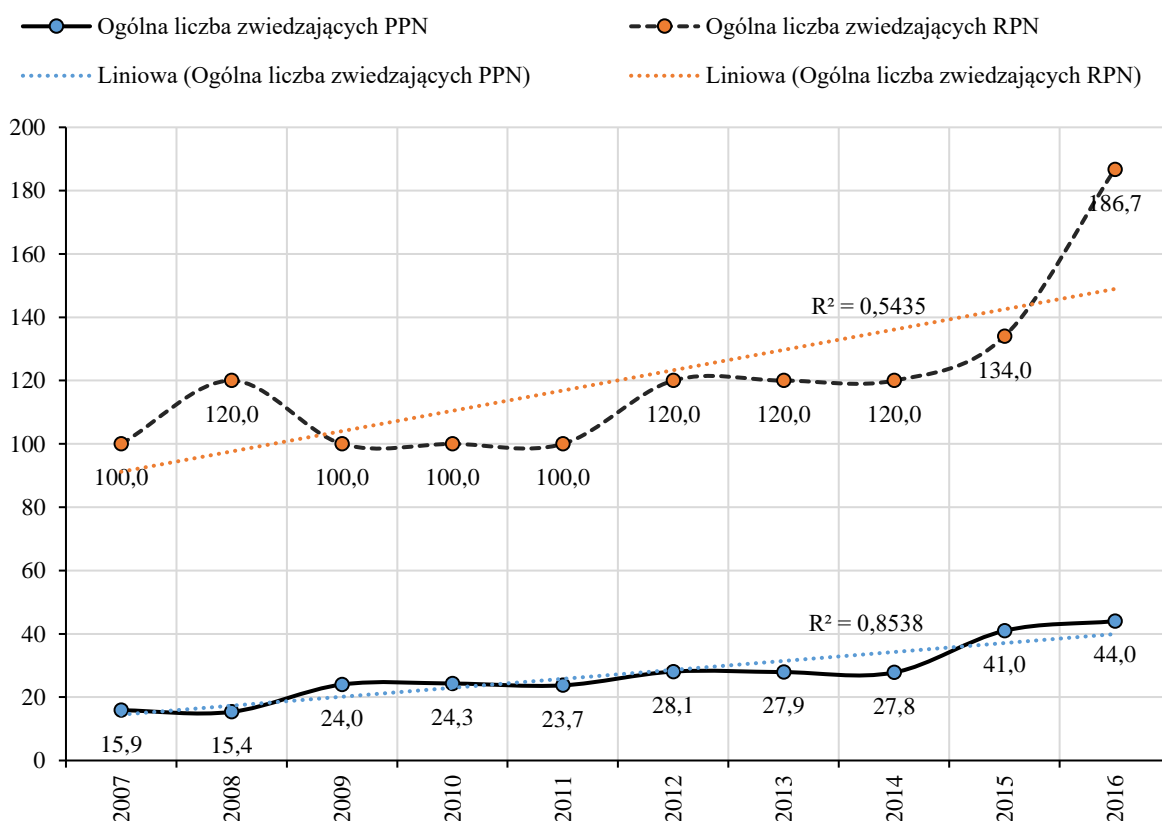
RPN zanotował na przestrzeni ostatniej dekady 1 200 700 zwiedzających. Największy ich przyrost nastąpił na przełomie lat 2015-2016 (o 52 700 turystów więcej – 39%), a od 2007 roku ich liczba wzrosła o 87% (1,9 razy). Ten skok może być spowodowany otworzeniem szlaku Green Velo, który przebiega przez Park i przyciągnięciem większej liczby turystów rowerowych. W Parku znajdują się dwie stacje MOR<sup>3</sup> (Rybakówka i Zwierzyniec), w których turyści mogą odpocząć, lub schronić się przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi [30]. Na 1 hektar obszaru Parku w ciągu ostatniego dziesięciolecia przypadało średnio 14 turystów, a w 2016 roku było ich aż 22 turystów, co świadczy o dużym zagęszczeniu ruchu turystycznego.

---

<sup>2</sup> Geocaching to rodzaj gry terenowej, który polega na odnajdywaniu skrytek (ang. cache), które zostały wcześniej umieszczone w terenie. Uczestnicy zabawy na podstawie opisów zamieszczonych w serwisie internetowym oraz współrzędnych geograficznych używając odbiorników GPS albo smartfonów, odnajdują przybliżone miejsce, gdzie ukryto tzw. „skarbu” [32]. W ukrytym pojemniku znajduje się dziennik odwiedzin tzw. logbook, w którym należy odnotować jego odnalezienie, a następnie potwierdzić ten fakt w specjalnym serwisie internetowym. Największym i najpopularniejszym jest geocaching.com. Skrytki mogą mieć różne rozmiary uzależnione od możliwości ukrycia ich w danym miejscu. W dużych skrzynkach oprócz logbooka zazwyczaj znajdują się drobne przedmioty – „skarby”. Najczęściej są to breloczki, maskotki, monety, nalepki, itp.) [33]. Aby skrytki nie pozostały puste regulamin nakazuje graczom pozostawić coś w zamian zabranego „skarbu” [29].

<sup>3</sup> Miejsce Obsługi Rowerzystów

Analizując natężenie ruchu odwiedzających w obu Parkach można zaobserwować pewne trendy. Lata 2009-2011 i 2012-2014 to stagnacja i tylko nieznaczne zmiany ilości odwiedzających. Natomiast w obu obiektach nastąpił znaczny skok w 2011 roku i utrzymujący się do chwili obecnej wzrost od 2014 roku. Znaczne różnice w liczbie odwiedzających oba Parki spowodowane są głównie różnicą w ich dostępności. Smoleński podzielił polskie parki narodowe według stopnia ich udostępniania na trzy grupy. RPN jest parkiem o utrudnionym dojeździe, ale za to położonym w regionie z szeroką ofertą turystyczną i rozbudowaną infrastrukturą turystyczną. Służy on turystyce masowej. Natomiast PPN został uznany jako trudno dostępny, mający ograniczoną ofertę dla turystyki masowej i służący głównie turystyce krajoznawczej [31]. Jednak w ostatnich latach jednym z podstawowych motywów wyjazdów turystów staje się obserwacja przyrody oraz odkrywanie i poznawanie flory i fauny [34], również tej trudniej dostępnej. W PPN obserwuje się nieco większy współczynnik zmienności liczby odwiedzających na przestrzeni lat (Rys. 1, Tab. 1).



**Rysunek. 1.** Liczba odwiedzających Poleski i Roztoczański Park Narodowy w latach 2007-2016.

Źródło: opracowanie własne na podstawie danych GUS i udostępnionych przez Dyрекcję PPN

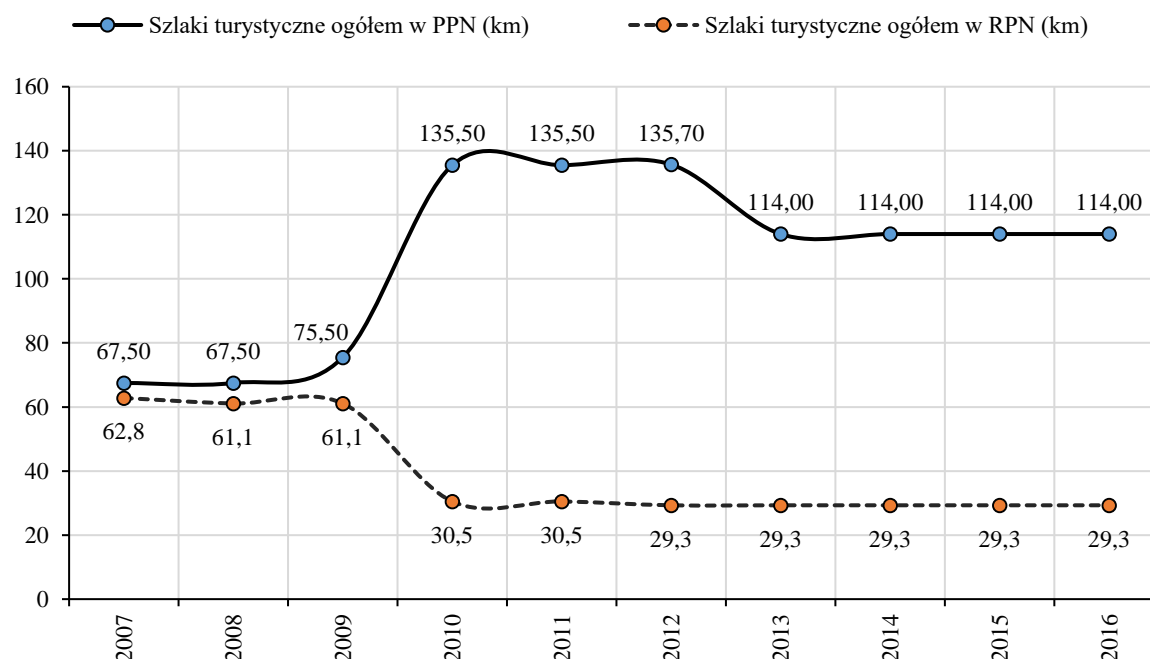
**Tabela 1.** Porównanie liczby odwiedzających Poleski i Roztoczański PN w latach 2007-2016

Miara	Odwiedzający PPN		Odwiedzający RPN	
	tys. os.	na 1 ha powierzchni Parku	tys. os.	na 1 ha powierzchni Parku
$\mu \pm S$	27,20 ± 34,05	2,80 ± 0,95	120,07 ± 21,94	14,19 ± 3,09
Me ± Q	26,05 ± 2,17	2,70 ± 0,25	120,00 ± 20,00	14,10 ± 1,12
V	34,05 %	33,88%	21,94	21,78%
min – max	15,36 – 44,00	1,60 – 4,50	100,00 – 186,70	11,80 – 22,00
R	28,64	2,90	86,70	10,20
Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	23,74 – 28,08	2,40 – 2,90	100,00 – 120,00	11,87 – 14,10
R <sub>Q</sub>	4,34	0,5	20,00	2,23
A	0,72	0,66	2,02	2,04

$\mu$  – średnia; S – odchylenie standardowe; Me – mediana; Q – odchylenie ćwiartkowe; V – współczynnik zmienności; R – rozstęp; Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub> – kwartyl dolny i górny; R<sub>Q</sub> – rozstęp kwartyłowy; A – współczynnik asymetrii

Źródło: opracowanie własne na podstawie danych GUS i udostępnionych przez Dyрекcję PPN

Badając długość szlaków turystycznych w ciągu 10 lat w obu parkach zauważalna jest widoczna zmiana. W 2010 r. dokonano wyraźnego pomniejszenia o ponad połowę (33,5 km) ilości szlaków przebiegających przez Park. Jako rekompensatę wyprowadzenia poza jego teren niektórych fragmentów szlaków do 2011 r. wytyczono 9 ścieżek poznawczych [35]. Inną strategię rozproszenia ruchu turystycznego obrał PPN. W 2010 r. wytyczył 60 km nowych szlaków (Rys. 2).


**Rysunek. 2.** Długość szlaków turystycznych w Poleskim i Roztoczańskim Parku Narodowym w latach 2007-2016

Źródło: opracowanie własne na podstawie danych GUS i udostępnionych przez Dyрекcję PPN

## Podsumowanie

Spośród parków narodowych w województwie lubelskim RPN jest bardziej rozpoznawalny i częściej odwiedzany niż PPN głównie ze względu na jego leśny charakter i dobrą dostępność – graniczy z miejscowością Zwierzyniec o rozbudowanej bazie noclegowej i gastronomicznej oraz łatwym dojeździe zarówno własnym samochodem jak i komunikacją autobusową. W niedalekiej odległości znajduje się również szereg atrakcyjnych pod względem turystycznym miejscowości, np. Krasnobród, Szczebrzeszyn. Region Roztocza jest dobrze promowany i lepiej zagospodarowany turystycznie niż Polesie.

PPN to teren podmokły, położony na obszarze wiejskim, a w jego okolicy jedyną większą miejscowością jest Urszulin. Utrudnia to w znacznym stopniu dojazd. Ośrodek Dydaktyczno-Muzealny z którego można wyruszyć na część szlaków znajduje się w niewielkiej miejscowości Stare Załucze, przez którą rzadko przejeżdża komunikacja autobusowa. Najłatwiej dostać się tam więc własnym samochodem, zająć przy okazji wycieczki rowerowej czy zorganizowanej dla uczniów wycieczki autokarowej. Mimo takich utrudnień PPN od kilku lat jest coraz liczniej odwiedzany. Powodem może być to, że w ostatnich latach ludzie szukają miejsc, gdzie nie będzie dużego natłoku turystów. PPN odwiedzają też rodziny, które odpoczywają nad jeziorami Pojezierza, jest to ciekawą odmianą od wyłącznie biernej turystyki wypoczynkowej. Zmienia się bowiem postrzeganie celów (motywów) wyjazdu turystycznego. Model „3S” (bierny wypoczynek), czyli sun, sand, sea (słońce, piasek, morze) jest wypierany przez model „3E”, czyli entertainment, excitement/emotion, education (rozrywka, ekscytacja/emocje, edukacja) [36].

Uogólniając pozytywnym zjawiskiem dla przyrody parków narodowych w ostatnich latach jest większe rozproszenie turystów wśród tych form ochrony przyrody i większe zainteresowanie mniej popularnymi obszarami – wodno-błotnymi czy nizinnymi, które są równie atrakcyjne przyrodniczo i krajobrazowo dla potencjalnych odwiedzających. Warto byłoby zadbać o zwiększenie dostępności komunikacyjnej do PPN (poprawę stanu infrastruktury drogowej i zwiększenie ilości połączeń autobusowych). Warto również promować zaproponowane przez PTTK kreatywne, twórcze i współuczestniczące krajoznawstwo, czyli takie, które nie będzie się ograniczało wyłącznie do biernej percepcji, ale będzie opierało się na przetwarzaniu, utrwalaniu, wzbogacaniu i przekazywaniu innym osobom nabytej wiedzy. Warto też poszukiwać nowych metod i form zdobywania, gromadzenia i przekazywania krajoznawczej wiedzy [37].

## Literatura

- [1] Smoleński M.: Turystyka w parkach narodowych Polski [w:] Ziółkowski R. (red.). Praktyczne aspekty rozwoju turystyki i rekreacji na obszarach przyrodniczo cennych, Wyd. Politechniki Białostockiej. Białystok 2006: 35-36.
- [2] Ustawa z dnia 16 kwietnia 2004 r. o ochronie przyrody (Dz. U.2004 Nr 92 poz. 880).
- [3] Ustawa z dnia 6 lipca 2001 r. o zachowaniu narodowego charakteru strategicznych zasobów naturalnych kraju (Dz.U. 2001 Nr 97 poz. 1051).
- [4] Olaczek R.: Między swobodą a zakazem – o turystycznym korzystaniu z obszarów chronionych [w:] Gotowt-Jeziorska A, Śledzińska J. (red.). Turystyka zrównoważona i ekoturystyka. Wyd. PTTK. Warszawa 2008: 15–23.
- [5] Partyka J.: Udostępnianie turystyczne parków narodowych w Polsce a krajobraz. Krajobraz a turystyka. Prace Komisji Krajobrazu Kulturowego Nr 14. Komisja Krajobrazu Kulturowego PTG. Sosnowiec 2010: 252-254.
- [6] Partyka 2002.: Turystyka w parkach narodowych [w:] Użytkowanie turystyczne parków narodowych. Instytut Ochrony Przyrody PAN. Ojcowski Park Narodowy. Ojców 2002: 143-154.
- [7] Kozieł E, Kozieł M.: Perspektywy rozwoju turystyki w Roztoczańskim Parku Narodowym w opinii mieszkańców najbliższej okolicy [w:] Świeca A, Kałamucki K. (red.). Turystyka aktywna i jej rozwój na Roztoczu – regionie pogranicza. Kartpol. Lublin 2006: 153-154.
- [8] Jalinik M, Bakier S.: Turystyka na obszarach przyrodniczo cennych. Wyd. Agencja Wydawnicza EkoPress. Białystok 2016: 21-22.
- [9] Liszewski S.: Przestrzeń turystyczna parków narodowych w Polsce [w:] Domański B, Kurek W. (red.). Gospodarka i przestrzeń. Kraków 2009: 187–201.
- [10] GUS. Ochrona środowiska 2008. Informacje i opracowania statystyczne. Departament Badań Regionalnych i Środowiska. Warszawa 2017: 287-290.
- [11] GUS. Ochrona środowiska 2017. Informacje i opracowania statystyczne. Departament Badań Regionalnych i Środowiska. Warszawa 2017: 267-269.
- [12] Regionalne Szlaki Rowerowe Lubelszczyzny. Mapy, profile terenu, opisy. Kartpol: 69.
- [13] Różycki A (red.): Edukacja na ścieżkach Poleskiego Parku Narodowego. PPN. Urszulin 2012: 5-8.
- [14] Transgraniczny Rezerwat Biosfery Polesie Zachodnie. Mapa turystyczno-przyrodnicza 1:110 000.



- [15] Fijałkowski D.: Szata Roślinna Poleskiego Parku Narodowego. Lubelskie Towarzystwo Naukowe. Lublin 2007.
- [16] WIOŚ. Raport o stanie środowiska woj. lubelskiego w 2010 r.: 86-88.
- [17] Strona internetowa PPN: <http://www.poleskipn.pl/index.php/historia-i-przyroda/fauna/94-gady-i-plazy>
- [18] Zarządzenie Nr 10/2017 z dnia 07.03.2017 r. Dyrektora Poleskiego Parku Narodowego w sprawie wstępu i udostępniania obszaru Parku.
- [19] Informator Krajoznawczy. Poleski Park Narodowy.
- [20] Regulamin Wstępu na niektóre obszary Parku w celach naukowych, edukacyjnych, turystycznych, rekreacyjnych i amatorskiego połowu ryb (Załącznik nr 1 do Zarządzenia Dyrektora Poleskiego Parku Narodowego Nr 10/2017 z dnia 07.03.2017 r.).
- [21] Bartoszewki S, Wilgat T.: Dlaczego park narodowy? [w:] Wilgat T. (red.). Roztoczański Park Narodowy – przyroda i człowiek. Roztoczański park Narodowy. Zwierzyniec 2004: 6-30.
- [22] Buraczyński J. (red.). Roztocze. Środowisko przyrodnicze. Wydawnictwo Lubelskie. Lublin 2002: 314-315.
- [23] Roztocze Środkowe. Mapa turystyczno-topograficzna. Skala 1:60 000. Wyd. turystyczne Paweł Wład. Rzeszów 2011.
- [24] Nasiadka M.: Turystyczne bramy Roztocza. Narol-Zwierzyniec. Przewodnik turystyczny. Narol-Zwierzyniec 2010: 14-18.
- [25] Wilgat T.: Wstępna prezentacja Parku. [w:] Wilgat T. (red.). Roztoczański Park Narodowy – przyroda i człowiek. Roztoczański Park Narodowy. Zwierzyniec 2004: 31-40.
- [26] Słoniewski E.: Praktyczny przewodnik po Roztoczu. Wydawnictwo Werset. Lublin 2006.
- [27] Pawłowski A.: Roztocze środkowe. Przewodnik nie tylko dla turystów. Wyd. Naukowe i Edukacyjne. Mielec 2006: 19-22.
- [28] Regulamin udostępniania Roztoczańskiego Parku Narodowego (Załącznik nr 1 do Zarządzenia nr 7/2016 Dyrektora Roztoczańskiego Parku Narodowego w Zwierzyńcu z dnia 29 kwietnia 2016 r. w sprawie zasad wstępu i udostępniania społeczeństwu Roztoczańskiego Parku Narodowego).
- [29] Dobek M., Kozieł M. Geocaching w Roztoczańskim Parku Narodowym. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio B: Geographia, Geologia, Mineralogia et Petrographia Vol 70 No 2 (2015): 191-193.

- [30] Atlas rowerowy 1:50 000. Województwo lubelskie. Green Velo. Wschodni Szlak Rowerowy.
- [31] Smoleński M.: Turystyka w parkach narodowych Polski [w:] Ziółkowski R. (red.). Praktyczne aspekty rozwoju turystyki i rekreacji na obszarach przyrodniczo cennych. Wyd. Politechniki Białostockiej. Białystok 2006: 40-41.
- [32] Pajer-Giełżys P.: Geocaching. Wigry 1, 2014: 22–23.
- [33] Samołyk M.: Geocaching – nowa forma turystyki kulturowej. Turystyka kulturowa 11. 2013: 17–31.
- [34] Batyk IM.: Zagospodarowanie turystyczne obszarów chronionych na przykładzie Biebrzańskiego Parku Narodowego. Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich 2/III/2012: 208.
- [35] Grabowski T, Kałamucka W, Kałamucki K.: Udostępniania Roztoczańskiego Parku Narodowego. Studia i Materiały CEPL w Rogowie. R. 13. Zeszyt 28 (3) 2011: 46.
- [36] Czerwiński J.: Podstawy turystyki. Stowarzyszenie na Rzecz Rozwoju Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej im. Witelona w Legnicy. Legnica 2007: 66.
- [37] Śledzińska J, Wielocha A.: Kreatywne poznawanie czyli poradnik nowoczesnego krajoznawcy. Wyd. PTTK „Kraj”. Warszawa 2016: 3.

# ROŚLINNE ANALOGI AHL JAKO NOWA STRATEGIA OCHRONY ROŚLIN I ZWIERZĄT PRZED PATOGENNYMI BAKTERIAMI<sup>4</sup>

Marta Koziel<sup>(1)</sup>, Paulina Lipa<sup>(1)</sup>, Magdalena Kopycińska<sup>(1)</sup>, Monika Janczarek<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

marta.koziel@outlook.com, paulina.lipa56@gmail.com, makopycinska@gmail.com,  
mon.jan@poczta.umcs.lublin.pl

## Streszczenie

Liczne cechy fenotypowe bakterii mające istotne znaczenie w procesie kolonizacji gospodarzy roślinnych i zwierzęcych, takie jak: ruchliwość, synteza egzopolisacharydów i czynników wirulencji czy tworzenie biofilmu, są regulowane przez systemy *Quorum Sensing* (QS). Systemy te umożliwiają komunikację między bakteriami w sposób zależny od zagęszczenia populacji bakteryjnej w danym środowisku, która przebiega z udziałem cząsteczek sygnałowych, takich jak np. N-acylowane laktony homoseryny (AHL) charakterystyczne dla Gram-ujemnych bakterii. Udział QS w patogenezie infekcji bakteryjnych był podstawą do poszukiwania skutecznych inhibitorów tych systemów (QSI), których źródłem są m.in. organizmy roślinne.

Liczne badania wykazały, że rośliny syntetyzują i wydzielają szereg związków o budowie podobnej do AHL, które posiadają zdolność oddziaływania z receptorami specyficznymi dla tych cząsteczek sygnałowych. Przykładem mogą być substancje obecne w grochu, soi, ryżu, pomidorach, wyce oraz lucernie. Wykazano, że związki zawarte w ekstraktach z siewek grochu indukują ruch bakterii *Serratia liquefaciens* typu „swarming”. Ponadto ustalono, że sadzonki ryżu oraz lucerny są źródłem związków o działaniu podobnym do autoinduktora typu 2 (AI-2), cząsteczki sygnałowej wykorzystywanej w komunikacji międzygatunkowej przez bakterie *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* i *Vibrio harveyi*. Związki te mogą mieć zastosowanie w ochronie, zarówno roślin, jak i organizmów zwierzęcych, przed patogennymi bakteriami. Hodowla roślin wytwarzających związki wykazujące podobieństwo pod względem budowy i/lub funkcji do bakteryjnych AHL, bądź otrzymywanie transgenicznych roślin syntetyzujących analogi autoinduktorów może przyczynić się do wcześniejszej indukcji bakteryjnych czynników wirulencji, co tym samym

<sup>4</sup> Wykaz skrótów: AI – autoinduktory; AHL – laktony N-acylo-L-homoseryny; QS – Quorum Sensing

prowadzi do wzmocnienia odpowiedzi obronnej gospodarza i skuteczniejszego zwalczania infekcji.

## Wprowadzenie

Przez dziesiątki lat sądzono, że bakterie, w odróżnieniu od zwierząt i człowieka, nie posiadają skutecznych mechanizmów umożliwiających im wzajemne porozumiewanie się. Jednakże pogląd ten został zweryfikowany już we wczesnych latach 70-tych XX wieku, kiedy to Nealson i współpracownicy [1] wykazali obecność u morskiego organizmu *Euprymna scolopes* Gram-ujemnych bakterii *Vibrio fischeri* zdolnych do emitowania światła. Sugerowali oni, że autoindukcja bioluminescencji zachodzi na poziomie transkrypcyjnym. Planktoniczne formy tych mikroorganizmów nie wykazywały zdolności do emitowania światła, dlatego badacze ci postawili hipotezę, iż cecha ta jest regulowana w sposób zależny od gęstości populacji bakteryjnej, a istotny udział w tym procesie mają cząsteczki sygnałowe, zwane autoinduktorami (AI), wydzielane na zewnątrz komórek. Wraz ze wzrostem liczby bakterii w danej populacji dochodzi do wzrostu stężenia AI w środowisku [1-3]. W momencie gdy cząsteczki te przekroczą pewną, określoną wartość progową dochodzi do aktywacji, bądź zahamowania ekspresji odpowiednich genów, a powstały efekt metaboliczny jest obserwowany we wszystkich komórkach bakteryjnych danej populacji [2, 3]. Ten proces chemicznego porozumiewania się komórek bakteryjnych obejmujący syntezę, wydzielanie oraz „wyczuwanie” stężenia odpowiednich, zewnątrzkomórkowych cząsteczek sygnałowych, określany jest jako QS. Termin ten został wprowadzony w 1994 roku przez Steven`a Winansa, który był autorem jednego z pierwszych artykułów przeglądowych dotyczących występowania autoindukcji u bakterii [2, 3]. System QS został również zidentyfikowany u Gram-dodatnich bakterii. Kilka lat wcześniej przed opublikowaniem pracy przez Nealson`a i współpracowników dotyczącej autoindukcji bioluminescencji u *V. fischeri* [1], inny uczony Alexander Tomasz wykazał, iż stan kompetencji u Gram-dodatniej bakterii *Streptococcus pneumoniae* może być indukowany przez substancję hormonopodobną obecną w pożywce hodowlanej [4]. Początkowo odkrycie to nie było definiowane jako proces regulowany przez system QS. Obecnie wiadomo, iż zjawisko QS wykorzystujące specyficzne oligopeptydy jako cząsteczki sygnałowe występuje również u bakterii Gram-dodatnich i zaangażowane jest m.in. w regulację stanu kompetencji [4]. System QS umożliwia nie tylko wewnątrzgatunkową komunikację, ale również pozwala na skuteczne porozumiewanie się pomiędzy mikroorganizmami należącymi do odrębnych gatunków, jak również między organizmami będącymi przedstawicielami różnych królestw [3, 5-7]. Zjawisko QS umożliwia regulację

aktywności wielu genów zaangażowanych w różne procesy fizjologiczne, takie jak: symbioza, bioluminescencja, synteza czynników wirulencji i antybiotyków, koniugacja, ruchliwość, sporulacja oraz tworzenie biofilmu [4, 8]. Wiele z tych procesów regulowanych przez system QS odgrywa istotną rolę w infekcjach wywołanych przez chorobotwórcze bakterie, przyczyniając się m.in. do wielolekooporności tych mikroorganizmów, co znacznie utrudnia skuteczną terapię zakażeń. Dlatego też wydaje się, że modulowanie aktywności systemów QS, np. poprzez zastosowanie analogów cząsteczek sygnałowych, może stanowić nową, potencjalnie skuteczną strategię w terapiach zwalczających infekcje bakteryjne [2, 9].

W niniejszej pracy opisano mechanizm działania systemu QS i strukturę chemiczną cząsteczek sygnałowych wytwarzanych przez Gram-ujemne bakterie oraz przedstawiono przykłady analogów cząsteczek sygnałowych umożliwiających regulację działania mechanizmu QS, które mogą być podstawą opracowania alternatywnych strategii ochrony roślin i zwierząt przed chorobotwórczymi patogenami.

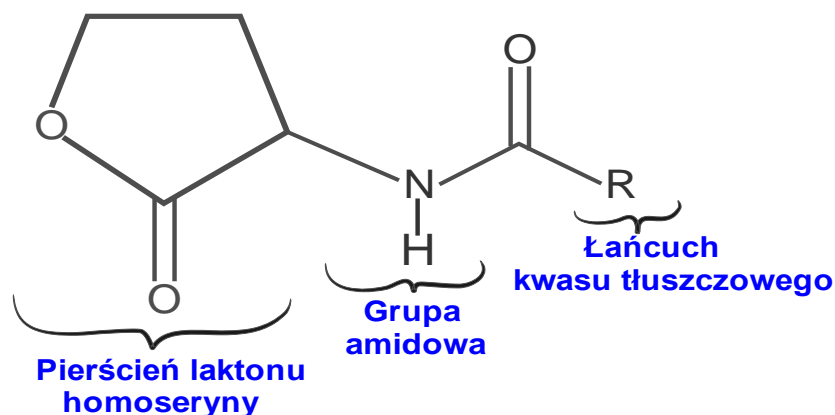
### **Charakterystyka zjawiska QS u Gram-ujemnych bakterii**

Bakteryjne systemy QS możemy podzielić na trzy główne klasy, przyjmując za kryterium podziału rodzaj cząsteczki sygnałowej oraz wewnątrzkomórkowy system przekazywania sygnałów. Do pierwszej klasy zaliczamy systemy typu LuxR/LuxI występujące u bakterii Gram-ujemnych. Kolejną grupę stanowią systemy QS występujące u bakterii Gram-dodatnich, które wykorzystują jako cząsteczki sygnałowe modyfikowane oligopeptydy. Natomiast przedstawicielem trzeciej klasy jest system „hybrydowy”, umożliwiający skuteczne porozumiewanie się pomiędzy komórkami bakteryjnymi różnych gatunków [10].

### **Synteza i struktura cząsteczek sygnałowych zjawiska QS wytwarzanych przez bakterie Gram-ujemne**

Cząsteczki sygnałowe syntetyzowane przez Gram-ujemne bakterie dzielimy na trzy klasy autoinduktorów (AI), określane jako: AI-1, AI-2 i AI-3. Najpowszechniej występującymi sygnałami chemicznymi są małe, obojętne cząsteczki lipidowe należące do grupy AI-1. Są to laktony N-acylo-L-homoseryny (ang. acyl-homoserine lactone, AHL) zbudowane z konserwatywnego rdzenia, tj. pierścienia laktonu homoseryny (ang. homoserine lactone, HSL) podstawionego w pozycji  $\alpha$  łańcuchem kwasu tłuszczowego [11]. Specyficzność danej cząsteczki AHL jest determinowana przez rodzaj kwasu tłuszczowego, którego długość wynosi od 4 (np. C<sub>4</sub>-HSL syntetyzowana przez *Pseudomonas aeruginosa*) do 18 atomów węgla (np. C<sub>18</sub>-HSL wytwarzana przez *Sinorhizobium meliloti*) [11, 12]. Ponadto, te AI różnią

się pod względem stopnia nasycenia i utlenienia acylowego łańcucha bocznego [12] (rys. 1).



**Rysunek 1.** Ogólny schemat struktury AHL

Źródło: opracowanie własne

Mikroorganizmy wytwarzające AHL zawierają geny kodujące enzymy należące do trzech rodzin: LuxI, LuxM/AinS i HdtS. Gen kodujący syntazę LuxI został jako pierwszy zidentyfikowany w genomie *Vibrio fischeri*. Enzym ten jest białkiem o długości około 200 aminokwasów, który katalizuje biosyntezę AHL. W pierwszym etapie syntezy dochodzi do utworzenia wiązania amidowego pomiędzy kompleksem AHL-S-adenozyl-L-metionina (ang. S-adenosylmethionine, SAM) a kwasem tłuszczowym (grupą acylową), której nośnikiem jest białko ACP (ang. acyl carrier protein, ACP). Następnie, w wyniku utworzenia wiązania estrowego w cząsteczce homoseryny dochodzi do laktonizacji, a w konsekwencji do powstania laktonu N-acylo-L-homoseryny [5, 7, 13, 14]. U bakterii *Vibrio* odkryto oprócz syntazy typu LuxI także klasę enzymów należących do rodziny LuxM/AinS. Mechanizm działania tych enzymów nie został jeszcze dokładnie poznany, a ich obecność wykazano jedynie u kilku gatunków bakteryjnych. Mimo braku podobieństwa do syntazy LuxI, enzymy te biorą również udział w syntezie AHL. Wydaje się, że syntaza LuxM wykorzystuje jako substraty SAM oraz acylo-koenzym A (ang. acyl-coenzyme A, acyl-CoA) [12, 15]. Ostatnią grupę syntaz zidentyfikowano u *Pseudomonas aeruginosa*. U tej bakterii gen *hdtS* koduje białko o masie 33 kDa, które odpowiada za syntezę m.in. C<sub>14-1</sub>-HSL, C<sub>10</sub>-HSL i C<sub>6</sub>-HSL. Badania wykazały podobieństwo syntazy HdtS do acylotransferazy kwasu lizofosfatydowego katalizującej reakcję, której produktem jest kwas fosfatydowy (produkt pośredni w biosyntezie błon komórkowych). Do tej pory nie przeprowadzono szczegółowych badań charakteryzujących mechanizm działania syntazy HdtS. Niektórzy badacze kwestionują rolę tego enzymu jako syntazy, biorącej udział w syntezie AHL [16].

Wykazano znaczące różnice pomiędzy gatunkami bakterii zarówno pod względem rodzaju syntetyzowanego AHL, jak i sposobu regulacji ich syntezy. Znane są zarówno szczepy bakteryjne wytwarzające tylko jeden, unikatowy rodzaj AHL (np. *Agrobacterium tumefaciens*), jak i gatunki syntetyzujące mieszaninę AI (np. *Burkholderia mallei*) [17-19]. Przeważnie mikroorganizmy produkujące kilka rodzajów cząsteczek sygnałowych posiadają także więcej niż jeden gen kodujący specyficzną dla danego autoinduktora syntazę AHL.

Zdolność do produkcji AHL wykazano u ponad 90 różnych gatunków bakteryjnych [11]. Ponadto, zidentyfikowano Gram-ujemne bakterie wykorzystujące jako cząsteczki sygnałowe związki inne niż AHL. Przykładem może być diester boranowy furanozylu należący do autoinduktorów klasy 2 (AI-2). Pierwotnie autoinduktor ten został zidentyfikowany u *V. harveyi* [20]. Liczne badania wykazały, iż gen *luxS* kodujący syntazę AI-2 jest szeroko rozpowszechniony w świecie bakterii. Jego obecność wykazano u ponad 55 różnych gatunków, będących przedstawicielami zarówno Gram-ujemnych (*Erwinia spp.*, *Salmonella spp.*, *Escherichia spp.*), jak i Gram-dodatnich bakterii (m.in. *Streptococcus spp.*) [21-23]. Sugeruje to rolę AI-2 jako cząsteczki sygnałowej biorącej udział w komunikacji międzygatunkowej [24]. Cząsteczką sygnałową u symbiotycznej bakterii *Bradyrhizobium japonicum* jest bradyoksetyna [25], zaś patogeny roślin, takie jak: *Ralstonia solanacearum* czy *Xanthomonas campestris* wykorzystują jako molekuly sygnałowe unikalne kwasy tłuszczowe i pochodne butyrolaktanu [26, 27]. Natomiast cząsteczki sygnałowe należące do autoinduktorów klasy 3 (AI-3) umożliwiają porozumiewanie się bakterii z ich gospodarzami. Ich obecność wykazano, m.in. u *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* oraz *Escherichia coli* [28].

### **Detekcja AHL**

Większość znanych AHL jest rozpoznawana i wiązana przez białka typu LuxR. Receptor LuxR został zidentyfikowany po raz pierwszy u *V. fischeri*. Białka tego typu to cytoplazmatyczne czynniki transkrypcyjne zawierające dwie funkcjonalne domeny: N-terminalną domenę wiążącą ligand oraz C-terminalną domenę wiążącą DNA, która zawiera konserwatywny motyw helisa-skręt-helisa [14, 29]. Większość receptorów typu LuxR pełni rolę aktywatorów transkrypcji, które są pozytywnie regulowane przez specyficzne dla nich AHL. Białko receptorowe po utworzeniu kompleksu z autoinduktorem ulega dimeryzacji, a następnie wiąże się do specyficznych sekwencji w DNA zwanych „lux-box”, które zlokalizowane są w regionach promotorowych docelowych genów [12].

Ostatnie publikacje wskazują na istnienie receptorów LuxR, które nie posiadają specyficznych dla nich syntaz LuxI [30, 31]. Przeprowadzona w 2008 roku analiza genomów

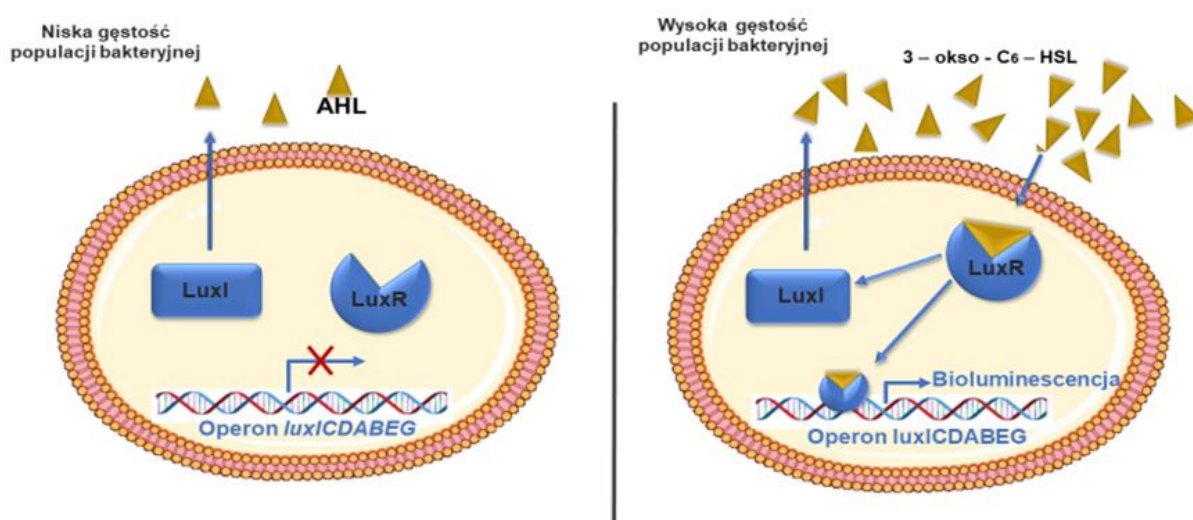
proteobakterii wykazała obecność systemu typu LuxI/LuxR u 68 gatunków, spośród których 45 gatunków zawiera więcej białek receptorowych LuxR niż syntaz LuxI. Sugeruje to istnienie autoinduktorów wytwarzanych przez enzymy inne niż syntazy typu LuxI lub możliwość rozpoznawania cząsteczek sygnałowych syntetyzowanych przez inne gatunki bakteryjne bądź organizmy eukariotyczne [14]. Białka typu LuxR nieposiadające specyficznej dla nich syntazy LuxI określa się angielskim terminem „orphan”, co w dosłownym tłumaczeniu oznacza „sierotę”. Białka te, podobnie jak typowe receptory LuxR, posiadają N-końcową domenę wiążącą AHL oraz C-końcową domenę oddziałującą z DNA [32]. Obecność takich receptorów wykazano u bakterii *P. aeruginosa*, która „reaguje” na endogenne AHL [32] oraz u *E. coli* i *S. enterica* rozpoznające AHL syntetyzowane przez inne gatunki bakterii [22, 28]. Ponadto wykazano, iż receptory te pełnią istotną rolę u bakterii, dla których naturalnym gospodarzem jest organizm roślinny. Białka te biorą udział w rozpoznawaniu i wiązaniu niskocząsteczkowych związków wytwarzanych przez rośliny. Różnica pomiędzy typowymi receptorami LuxR a omawianymi białkami dotyczy dwóch aminokwasów, tj. tryptofanu w pozycji 57 oraz tyrozyny w pozycji 61, które w przypadku receptorów typu „orphan” są zastąpione, odpowiednio, przez metioninę i tryptofan [32].

### **Molekularny mechanizm działania systemu QS u Gram-ujemnych bakterii**

Jak już wspomniano, zjawisko QS u bakterii Gram-ujemnych po raz pierwszy zostało opisane u morskiej bakterii *V. fischeri* wchodzącej w symbiozę z kałamarnicą *Euprymna scolopes* [33]. Zdolność tych mikroorganizmów do bioluminescencji jest wynikiem reakcji katalizowanej przez lucyferazę kodowaną przez geny luxICDABEG, których ekspresja jest regulowana przez system LuxR/LuxI. W zjawisku tym bierze udział syntaza AHL LuxI, która katalizuje syntezę AI, laktonu N-3-okso-heksanoilo-homoseryny (3-okso-C<sub>6</sub>-HSL) (rys. 2). Wytworzona cząsteczka sygnałowa swobodnie dyfunduje z komórki do środowiska, gdzie wraz ze wzrostem gęstości populacji bakteryjnej, dochodzi do jej akumulacji. Gdy stężenie AI osiągnie wartość progową, wnika on do wnętrza komórki, gdzie jest następnie rozpoznawany i wiązany przez białko LuxR [3, 33]. Powstały kompleks autoinduktor-LuxR wiąże się z promotorem docelowych genów, indukując ich ekspresję we wszystkich komórkach danej populacji bakteryjnej. W przypadku systemu QS występującego u *V. fischeri*, kompleks 3-okso-C<sub>6</sub>-HSL-LuxR oddziałuje z promotorem operonu luxICDABEG i aktywuje transkrypcję genów kodujących białka uczestniczące w syntezie kompleksu lucyferazy [3, 7, 33]. Większość znanych systemów QS występujących u pozostałych gatunków bakterii Gram-ujemnych wykazuje podobieństwo do systemu LuxR/LuxI. Systemy tego typu zidentyfikowano m.in.



u: *P. aeruginosa* [34], *A. tumefaciens* [35], *E. carotovora* [36], *S. liquefaciens* [37] i *Sinorhizobium meliloti* [38]. Poszczególne systemy QS, występujące u wyżej wymienionych gatunków bakterii, posiadają białko aktywatorowe typu LuxR charakteryzujące się wysoką specyficznością w rozpoznawaniu cząsteczek sygnałowych AHL, które są zróżnicowane pod względem długości acylowego łańcucha bocznego i jego chemicznych modyfikacji [4, 22]. Systemy typu LuxR/LuxI biorą udział głównie w komunikacji wewnątrzgatunkowej [7]. W tabeli 1 przedstawiono przykłady systemów QS typu LuxI/LuxR zidentyfikowanych u innych bakterii. Należy zauważyć, iż niektóre gatunki bakterii Gram-ujemnych posiadają inne systemy, które nie wykazują podobieństwa do systemów LuxR/LuxI. Przykładem może być występujący u *V. fischeri* system AinS/AinR [33, 39, 40].

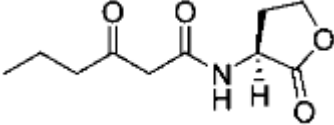
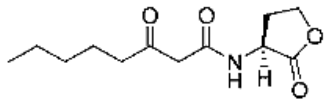
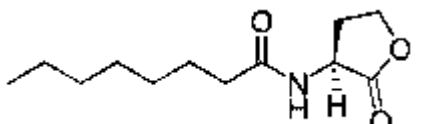
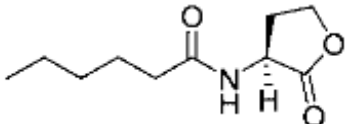
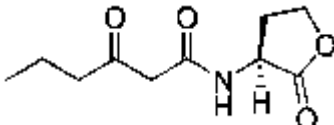
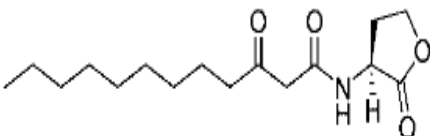
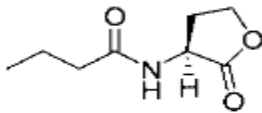


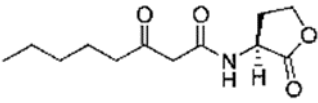
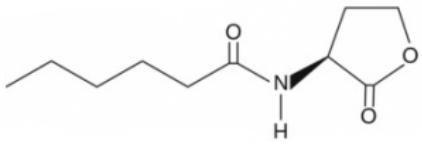
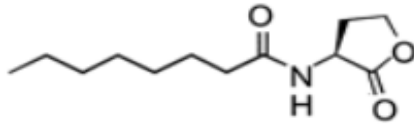
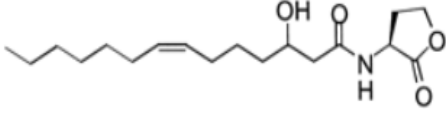
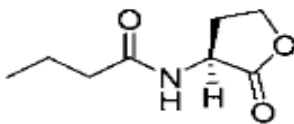
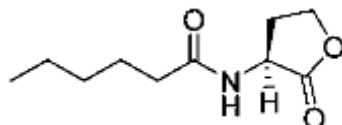
**Rysunek 2.** Schemat działania systemu QS LuxI/LuxR u *V. fischeri*.

Źródło: opracowano własne na podstawie [3, 31]

Niekiedy mechanizm QS wykazuje zdecydowanie większą złożoność działania w porównaniu do systemu QS przedstawionego na rysunku 2. Przykładem może być system QS u *P. aeruginosa* obejmujący skomplikowaną, hierarchiczną sieć komunikacji wewnątrzgatunkowej, w skład której wchodzi cztery różne systemy QS [7].

**Tabela 1.** Wybrane przykłady systemów QS występujące u różnych Gram-ujemnych bakterii

Bakteria	AHL	Homologi LuxI/LuxR	Przykłady regulowanych genów (cech fenotypowych)
<i>Vibrio fischeri</i>	 <p>3-okso-C<sub>6</sub>-HSL</p>	LuxI/LuxR	<i>luxICDABE</i> (Bioluminescencja)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	 <p>3-okso-C<sub>8</sub>-HSL</p>	TraI/TraR	<i>tra, trb</i> (Koniugacyjny transfer plazmidu Ti)
<i>Burkholderia cepacia</i>	 <p>C<sub>8</sub>-HSL</p>	CepI/CepR	(Synteza proteaz i sideroforów)
<i>Chromobacterium violaceum</i>	 <p>C<sub>6</sub>-HSL</p>	CviI/CviR	(Wytwarzanie pigmentu – wiołaceiny, cyjanowodoru, antybiotyków, egzoproteaz)
<i>Erwinia carotovora</i>	 <p>3-okso-C<sub>6</sub>-HSL</p>	ExpI/ExpR	(Synteza egzoenzymów)
		CarI/CarR	(Synteza karbapenemów)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	 <p>3-okso-C<sub>12</sub>-HSL</p>	LasI/LasR	<i>lasA, lasB, aprA, toxA</i> , (Tworzenie biofilmu)
	 <p>C<sub>4</sub>-HSL</p>	RhlI/RhlR	<i>lasB, rhlAB, rpoS</i> (Wytwarzanie elastazy, ramnozylotransferazy,

			alternatywnego czynnika sigma S)
<i>Rhizobium etli</i> RT1	 3-okso-C <sub>8</sub> -HSL	RaiI/RaiR	(Indukcja tworzenia brodawek na korzeniach fasoli)
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	 C <sub>6</sub> -HSL	RhiI/RhiR	<i>rhiABC</i> (Indukcja tworzenia brodawek na korzeniach grochu)
	 C <sub>8</sub> -HSL		
	 3-OH-C <sub>14:1</sub> -HSL	CinI/CinR	<i>rhiABC</i> (Indukcja tworzenia brodawek na korzeniach grochu)
<i>Serratia liquefaciens</i> MG1	 C <sub>4</sub> -HSL	SwrI/SwrR	(Synteza egzoproteaz, ruchliwość typu „swarming”)
	 C <sub>6</sub> -HSL		

Źródło: opracowane na podstawie [8, 41, 42, 43, 44]

### Rola systemów QS typu LuxI/LuxR w patogenezie infekcji bakteryjnych na przykładzie wybranych patogenów roślin i zwierząt

W dobie wzrastającej antybiotykooporności bakterii będących patogenami roślin i zwierząt coraz większą uwagę kieruje się na zjawisko QS jako jednego z najważniejszych mechanizmów przyczyniających się do zjadliwości tych mikroorganizmów. O tym świadczy m.in. istotny udział zjawiska QS w regulacji ekspresji genów kodujących czynniki wirulencji.

### ***Agrobacterium tumefaciens***

Guzowatość korzeni jest jednostką chorobową roślin, która ma negatywny wpływ na wysokość uzyskiwanych plonów roślin o dużym znaczeniu gospodarczym, takich jak: drzewa owocowe, krzewy ozdobne, czy winorośl. Choroba ta jest wywoływana przez Gram-ujemną bakterię *A. tumefaciens*. Zranione tkanki roślinne wytwarzają specyficzne sygnały, które są rozpoznawane przez tego patogena. W konsekwencji dochodzi do jednoczesnej aktywacji genów wirulencji tej bakterii znajdujących się na chromosomie (geny *chv*) oraz na plazmidzie Ti (geny *vir*). Powstawanie guzowatych narośli jest konsekwencją horyzontalnego transferu bakteryjnego plazmidu Ti umożliwiającego przenoszenie fragmentu DNA (tzw. T-DNA) i jego integracji z genomem rośliny. W obrębie T-DNA wyróżniamy geny odpowiedzialne za infekcje roślin, syntezę hormonów roślinnych (tj. kwasu indolilo-3-octowego i cytokinin odpowiedzialnych za podział i różnicowanie komórek) oraz geny odpowiedzialne za syntezę i metabolizm opin, które są wykorzystywane przez bakterie, zarówno jako źródło substancji odżywczych, jak również sygnały aktywujące system QS TraI/TraR [6, 45]. Białko TraI pełni rolę syntazy AHL i jest odpowiedzialne za wytwarzanie specyficznego dla tego szczepu AI, tj. 3-okso-C<sub>8</sub>-HSL, który jest rozpoznawany i wiązany przez receptor typu LuxR-białko TraR [6]. Kompleks 3-okso-C<sub>8</sub>-HSL-TraR aktywuje m.in. geny *tra/trb* kodujące system sekrecji typu 4, który bierze udział w koniugacyjnym transferze plazmidu Ti. Ponadto, kompleks ten pozytywnie wpływa na ekspresję operonu *repABC*, co przyczynia się do zwiększenia liczby kopii plazmidu Ti. Aktywacja ekspresji wszystkich wymienionych genów przez system QS TraI/TraR przyczynia się do zintensyfikowania infekcji gospodarza roślinnego przez patogena [6, 45].

### ***Erwinia carotovora* sp. *carotovora***

*E. carotovora* sp. *carotovora* (Ecc) jest głównym czynnikiem wywołującym tzw. mokrą zgniliznę u wielu roślin, stanowiących źródło pożywienia ludzi i zwierząt (m.in. u ziemniaka i marchwi). Wirulencja tej bakterii jest uwarunkowana wytwarzaniem enzymów degradujących ściany komórkowe roślin (pektynazy, celulazy, proteazy) oraz innych czynników, w tym białek Nip oraz Svx [36, 46]. Ponadto, charakterystyczną cechą bakterii należących do tego gatunku, jest zdolność syntetyzowania antybiotyków B-laktamowych (karbapenemów). Wszystkie wymienione powyżej cechy fenotypowe są kontrolowane przez dwa systemy QS. Synteza karbapenemów jest kontrolowana poprzez system QS CarI/CarR, natomiast regulacja aktywności czynników patogena zachodzi przy udziale systemu QS ExpI/ExpR [36]. Rolę AI dla obu wymienionych systemów pełni cząsteczka 3-okso-C<sub>6</sub>-HSL. W momencie gdy stężenie

tego AI osiągnie wartość progową jest on rozpoznawany przez białko receptorowe CarR, bądź ExpR, co prowadzi do powstania kompleksu aktywującego ekspresję docelowych genów. Uwalnianie przez roślinę różnych substancji odżywczych promuje wzrost konkurencyjnych gatunków bakteryjnych. Dlatego też wydaje się, iż *E. carotovora* poprzez biosyntezę antybiotyków oraz enzymów powodujących macerację tkanek skutecznie zwalcza inne mikroorganizmy zasiedlające ryzosferę, ryzoplanę i tkanki roślinne [47].

### ***Pseudomonas aeruginosa***

*P. aeruginosa* jest powszechnie występującym patogenem roślin i zwierząt. Wykazano udział tej bakterii w patogenezie infekcji układu oddechowego u osób chorych na mukowiscydozę. Ponadto, patogen ten często bywa przyczyną trudnych do wyleczenia zakażeń rozwijających się u organizmów eukariotycznych z obniżoną odpornością. Infekcje tym patogenem powodują u wielu roślin rozwój mokrej zgnilizny. W patogenezie tych infekcji udział biorą liczne czynniki wirulencji, których synteza i aktywność jest regulowana przez dwa systemy QS typu LuxI/LuxR, tj. LasI/LasR oraz RhlI/RhlR [6]. Systemy te kontrolują ekspresję blisko 10% genów obecnych w genomie *P. aeruginosa*. Wśród nich wyróżniamy szereg genów kodujących zewnątrzkomórkowe czynniki wirulencji, takich jak: egzotoksynę A, alkaliczną proteazę, elastazę, chitynazę, piocyjaninę, ramnolipidy, lektyny i cyjanowodór, które umożliwiają kolonizację roślin i zwierząt [6, 34].

### **Oddziaływania gospodarz-bakteria**

Bakterie współistniejące w wielogatunkowych społecznościach są zdolne do skutecznej komunikacji, zarówno w obrębie jednego gatunku, jak i pomiędzy mikroorganizmami należącymi do różnych gatunków. Wraz z rozwojem badań dotyczących mechanizmów porozumiewania się bakterii wykazano występowanie interakcji także pomiędzy bakteriami a ich gospodarzami eukariotycznymi [48]. Istotne znaczenie ma zwłaszcza komunikacja pomiędzy patogenami a komórkami eukariotycznymi zachodząca z udziałem cząsteczek sygnałowych syntetyzowanych, zarówno przez gospodarza, jak i mikroorganizm [5]. Doskonałym przykładem bakterii zdolnej do porozumiewania się z organizmem eukariotycznym jest patogen jelitowy człowieka *E. coli* O157:H7. Bansal i współpracownicy [49] wykazali, że chemotaksja, ruchliwość i ekspresja poszczególnych genów tej bakterii ulega zmianom pod wpływem hormonów eukariotycznych, tj. epinefryny i norepinefryny [49]. Sugeruje się, że hormony te mogą zastąpić bakteryjne cząsteczki sygnałowe typu AI-3 i wpływać na aktywację ekspresji bakteryjnych genów warunkujących wirulencję tego

mikroorganizmu [5]. Z drugiej strony cząsteczki sygnałowe syntetyzowane przez gospodarza mogą hamować bakteryjne systemy QS. Przykładem mogą być ludzkie komórki nabłonka oddechowego inaktywujące jeden z AI

*P. aeruginosa* (3-O-C<sub>12</sub>-HSL) [7], który charakteryzuje się m.in. immunomodulującą aktywnością wobec ludzkich makrofagów i limfocytów T pomocniczych [7, 50]. Potwierdzono także występowanie interakcji pomiędzy bakteriami a sygnałami pochodzenia roślinnego. Idealnym przykładem bakterii wchodzącej w interakcję z organizmem roślinnym są opisane powyżej bakterie z gatunku *Agrobacterium*, które migrują w kierunku sygnałów uwalnianych z ran roślinnych. Konsekwencją oddziaływania tych mikroorganizmów z roślinnymi opinami jest aktywacja białka TraR, będącego homologiem receptora LuxR, co prowadzi do transferu do komórek roślinnych plazmidu Ti zawierającego geny odpowiedzialne za powstawanie guzowatych narośli. Ponadto udowodniono, iż bakterie te wykorzystują jeden z hormonów roślinnych (kwas indolilo-3-octowy) jako źródło węgla, azotu i energii [5].

Przeprowadzone w ostatnich latach badania wykazały, że rośliny w trakcie ewolucji wykształciły zdolność do wyczuwania i reagowania na bakteryjne AHL. Mathesius i współpracownicy [50] wykazali, iż nanomolowe stężenia AHL syntetyzowane przez *P. aeruginosa* oraz *S. meliloti*, powodowały znaczące zmiany w ilości syntetyzowanych białek u *Medicago truncatula*, będącą rośliną modelową wykorzystywaną w badaniach roślin bobowatych. Ponadto, spośród ponad 100 zidentyfikowanych białek tej rośliny, dla których zaobserwowano zmienioną ekspresję w odpowiedzi na bakteryjne autoinduktory, około 25% pełniło istotne funkcje obronne. Białka te uczestniczyły m.in. w roślinnej odpowiedzi na stres, biosyntezie flawonoidów oraz metabolizmie i odpowiedzi hormonalnej [50, 51, 52]. Pierwsze dowody świadczące o istotnej roli AHL w wykształcaniu indukowanej odporności systemicznej roślin (ang. Induction of Systemic Resistance, IRS) dostarczyły badania dotyczące oddziaływań bakterii *Serratia liquefaciens* MG1 syntetyzującej C<sub>4</sub>-HSL i C<sub>6</sub>-HSL z pomidorami [52, 53]. Inokulacja korzeni pomidora szczepem *S. liquefaciens* MG1 wyraźnie zwiększyła ogólnoustrojową odporność na grzyba *Alternaria alternata* atakującego głównie liście pomidora i fasoli. Indukcja odporności tych roślin była prawdopodobnie uwarunkowana aktywacją ekspresji genów obronnych zależnych od kwasu salicylowego i etylenu przez AHL [52, 53]. Wykształcenie ISR w odpowiedzi na AHL wykazano także w przypadku *Arabidopsis thaliana*. Efektem ekspozycji tej rośliny na bakteryjne AI (głównie 3-okso-C<sub>14</sub>-HSL) była zwiększona odporność wobec grzyba *Golovinomyces* oraz patogenną bakterię *P. syringae* [32]. Przy czym, rodzaj wywoływanej reakcji odpornościowej zależy od długości acylowego łańcucha bocznego. Na przykład, AI syntetyzowany przez bakterie *Pseudomonas* spp. oraz

*Burkholderia* spp., które posiadają długołańcuchowe grupy acylowe (C<sub>12</sub>, bądź C<sub>14</sub>), indukują o wiele silniejszą odpowiedź systemiczną w porównaniu do krótkołańcuchowych (C<sub>4</sub> lub C<sub>6</sub>) AHL, wytwarzanych przez *S. liquefaciens* [52].

Oprócz modulowania odporności, bakteryjne AHL wywierają istotny wpływ na wzrost i rozwój roślin, głównie korzeni. Przy czym efekt ten jest zróżnicowany i podobnie jak reakcje odpornościowe zależy od struktury cząsteczek AI. Niektóre z nich stymulują wzrost korzeni, natomiast inne, m.in. C<sub>12</sub>-HSL, są odpowiedzialne za skracanie korzenia pierwotnego [52]. Doskonałym przykładem obrazującym to zjawisko są rośliny z gatunku *Arabidopsis*, u których zaobserwowano różne efekty rozwoju korzenia w zależności od długości acylowego łańcucha bocznego AHL. AI wykazującym największy wpływ na zmianę „architektury” korzenia okazał się C<sub>10</sub>-HSL, który w znaczący sposób wpływał negatywnie na wzrost korzenia poprzez zmianę ekspresji genów związanych z podziałami i różnicowaniem komórek. Natomiast obecność AI posiadających krótsze grupy acylowe (np. C<sub>6</sub>-HSL) stymulowała większy przyrost korzenia [54]. W większości przypadków powstałe efekty rozwojowe były wynikiem zmian ilości hormonów roślinnych, tj. auksyn i cytokinin obecnych w pędach i korzeniach roślin, spowodowanych przez działanie AHL, np. C<sub>6</sub>-HSL [53, 55].

Zmiany w ekspresji genów i ilości białek organizmu eukariotycznego oraz zróżnicowany rozwój organów roślinnych w zależności od stężenia i budowy chemicznej bakteryjnych AHL sugerują, iż rośliny mogą rozpoznawać i rozróżniać cząsteczki sygnałowe syntetyzowane przez poszczególne gatunki bakterii [16].

### **Roślinne analogi AHL jako alternatywna strategia ochrony roślin i zwierząt**

Rośliny w odpowiedzi na bakteryjne AI syntetyzują niskocząsteczkowe związki, które mają zdolność wpływania na funkcjonowanie systemów QS, zarówno patogennych, jak i symbiotycznych bakterii. Związki te mogą modulować działanie bakteryjnych systemów QS w dwojaki sposób. Ze względu na znaczne podobieństwo strukturalne do AHL mogą one funkcjonować jako antagoniści receptorów typu LuxR lub powodować ich degradację. Związki te są określane mianem inhibitorów systemów QS (ang. Quorum Sensing Inhibitors, QSI) [56] (rys. 3). Ich obecność wykazano w wielu ekstraktach roślinnych, m.in. w ekstrakcie z owoców (grejpfrut, pomarańcza, ananas), warzyw (czosnek, brokuł, kalafior), ziół (bazylia pospolita) i wielu innych roślin [56, 57].

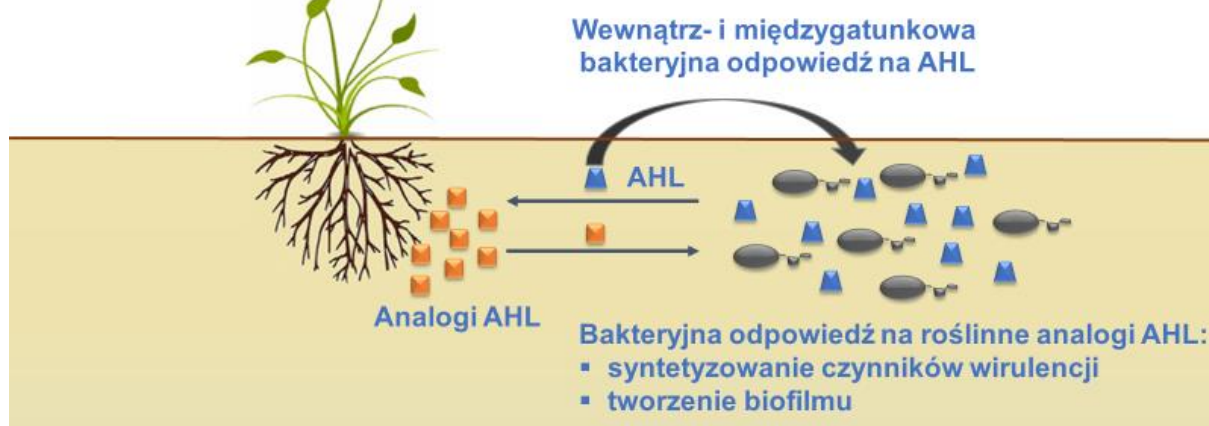
Drugą grupę związków wytwarzanych przez rośliny wyższe stanowią substancje wykazujące podobieństwo funkcjonalne do bakteryjnych AI i tym samym stymulujące systemy QS. Struktura większości związków roślinnych aktywujących bakteryjne systemy QS nie

została jeszcze dokładnie poznana [51]. Niektóre cząsteczki przypominające AHL mogą prawdopodobnie należeć do N-acylo-etanolamin i alkamidów, wykazujących strukturalne podobieństwo do bakteryjnych AI [54]. Zdolność do syntezy substancji naśladujących AHL stwierdzono u: kozieradki pospolitej, grochu zwyczajnego [21], koniczyny białej [58, 59], soi, ryżu, pomidora i lucerny [60]. Wykazano, iż sadzonki ryżu oraz lucerny (*M. truncatula*) wytwarzają substancje mające podobne działanie jak AI-2, tj. cząsteczka sygnałowa wykorzystywana przez np. *E. coli* [61]. Przy czym, rodzaj syntetyzowanych analogów AHL, w przypadku *M. truncatula* zależał od stadium rozwojowego sadzonki oraz wcześniejszej ekspozycji rośliny na bakterie [16]. Degrassi i współpracownicy [62] udowodnili, iż liście i łodygi ryżu są źródłem związków wykazujących analogiczne działania do AHL. Substancje te miały strukturę bardzo podobną do bakteryjnych AI, gdyż były wrażliwe na specyficzną wobec AHL laktonazę Aii, która katalizuje reakcję hydrolizy pierścienia laktonu homoseryny. Ponadto, wykazano obecność tych związków w zdrowych roślinach ryżu hodowanych w szklarni w warunkach sterylnych, co oznacza, że bakterie zakażające ryż w naturalnych warunkach prawdopodobnie mają kontakt z tymi substancjami. Ma to istotne znaczenie biologiczne, ponieważ patogeny ryżu (np. *Burkholderia glumae*) wykorzystują AHL do regulacji ekspresji genów czynników wirulencji [62]. Również sałata siewna syntetyzuje substancje imitujące sygnałowe cząsteczki Gram–ujemnych bakterii, które indukują system QS, co zostało wykazane na przykładzie szczepu *Chromobacterium violaceum* CV026 [58]. Podobnie orzech ziemny, wchodzący w symbiozę z bakteriami należącymi do gatunku *Bradyrhizobium* spp., jest źródłem substancji hamujących i aktywujących systemy QS. Nivas i współpracownicy [63] wykazali obecność cząsteczek o budowie podobnej do długołańcuchowych AHL (ang. Long Acyl Chains-AHL, lac-AHL) w ekstrakcie z siewek i korzeni oraz wydzielinach korzeniowych tej rośliny. Ponadto, zaobserwowali oni, iż roślina ta syntetyzuje inhibitory krótkołańcuchowych AHL (ang. Short Acyl Chains-AHL, sac-AHL), obecnych w ekstrakcie z siewek i korzenia. Wyniki te wskazują, iż orzech ziemny może regulować strukturę i fizjologię populacji bakteryjnej poprzez selekcję mikroorganizmów wykorzystujących, jako cząsteczki sygnałowe lac-AHL (np. symbionty z gatunku *Bradyrhizobium* spp.) oraz zakłócać prawidłowe funkcjonowanie systemów QS patogenów roślinnych, komunikujących się za pomocą sygnałów sac-AHL [61]. Można w pewnym uproszczeniu przyjąć, że interakcja roślina bakteria wynika z odpowiedzi rośliny na bakteryjny AHL oraz bakteryjnej odpowiedzi na roślinne analogi AHL (Rys. 3).



#### Odpowiedź gospodarza roślinnego na AHL:

- wytwarzanie substancji obronnych
- zmiany w akumulacji białek
- zmiana „architektury” korzenia
- zmiany w metabolizmie podstawowym
- odpowiedź hormonalna
- synteza flawonoidów

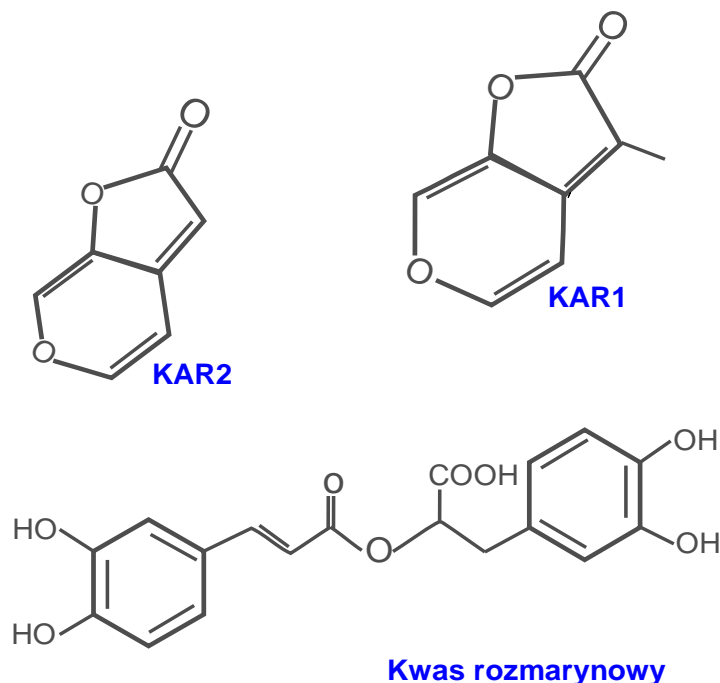


**Rysunek 3.** Schemat oddziaływań zachodzących między gospodarzem roślinnym a bakterią

Źródło: opracowano własne na podstawie [51, 16]

Należy zwrócić uwagę na fakt, iż niekiedy ten sam związek roślinny może działać w dwojaki sposób zależnie od szczepu bakteryjnego, tj. funkcjonować zarówno jako agonista, jak i antagonistą białka typu LuxR. Przykładem takiego związku jest m.in. kwas rozmarynowy (rys. 4), który konkuruje z bakteryjnym AI C<sub>4</sub>-HSL o wiązanie się z centrum aktywnym białka receptorowego RhIR. Natomiast w niektórych przypadkach infekcja bakteryjna powoduje, iż roślina syntetyzuje kwas rozmarynowy w celu wcześniejszej aktywacji bakteryjnego systemu QS [53, 64, 65]. Innym przykładem związków wykazujących odmienną aktywność w zależności od gatunku bakterii są karrikininy (pochodne butenolidu), substancje obecne w dymie ze spalonych roślin. Cząsteczki te wykazują strukturalne podobieństwo do niektórych krótkołańcuchowych AHL. Przedstawicielami karrikin są m.in. substancje określane jako karrikina 1 (butenolid) (KAR1) oraz karrikina 2 (KAR2). Mandabi i współpracownicy [66] potwierdzili aktywność tych związków wobec bakteryjnych systemów QS, występujących m.in. u bakterii, takich jak: *A. tumefaciens* i *P. aeruginosa*. Wykazali oni, iż dodanie KAR1/KAR2 do hodowli szczepu *P. aeruginosa* PAO1 w znaczący sposób obniżało wytwarzanie piocyjaniny, której synteza jest kontrolowana przez system QS RhIR/RhIL. Sugerowano, iż mechanizm działania tych substancji polega na konkurowaniu z cząsteczką sygnałową tego patogena (tj. C<sub>4</sub>-HSL) o wiązanie się z centrum aktywnym białka RhIR. Odmienny efekt został zaobserwowany w przypadku bakterii *A. tumefaciens* niezdolnej

do syntezy swoistej cząsteczki sygnałowej (3-okso-C<sub>8</sub>-HLS). Efektem wzrostu tego szczepu w obecności KAR1 oraz KAR2 była aktywacja systemu QS. Wykazano, że obie karrikiny funkcjonowały jako agoniści receptorów w sposób zależny od stężenia [66].



**Rysunek 4.** Struktura wybranych roślinnych analogów bakteryjnych cząsteczek AI

Źródło: opracowano na podstawie [64-66]

Związki zaklasyfikowane jako QSI mogą skutecznie zmniejszać stężenie AI w tkankach gospodarza poprzez konkutowanie z bakteryjnymi cząsteczkami sygnałowymi o miejsce aktywne w danym receptorze. Natomiast roślinne substancje aktywujące systemy QS mogą powodować przedwczesną indukcję ekspresji genów wirulencji danego patogena, co prowadzi do uruchomienia mechanizmów obronnych gospodarza we wczesnym etapie choroby, a tym samym szybszego i łatwiejszego zwalczania infekcji [61]. Hipoteza ta została poparta licznymi badaniami, m.in. z udziałem transgenicznych roślin tytoniu zawierających gen *yenI* *Yersinia enterocolitica*, który koduje syntazę AHL odpowiedzialną za syntezę 3-okso-C<sub>6</sub>-HSL oraz C<sub>6</sub>-HSL. Wykazano, iż rośliny te wytwarzały AHL w ilości wystarczającej do aktywacji genów regulowanych przez system QS u bakterii *E. carotovora* oraz *P. aerofaciens*, które zawierały mutacje w genie odpowiedzialnym za syntezę AI [67]. Ponadto, transgeniczny tytoń zawierający gen *expI* kodujący bakteryjną syntazę AHL, był bardziej odporny na infekcję dzikim szczepem *E. carotovora* w porównaniu do roślin niezawierających tego genu [68]. Cząsteczka sygnałowa syntetyzowana przez tego roślinnego patogena (3-okso-C<sub>6</sub>-HSL) bierze

udział m.in. w wytwarzaniu enzymów degradujących ściany komórkowe roślin. Enzymy te uwalniają odpowiednie fragmenty roślinnych ścian komórkowych, co powoduje uruchomienie odpowiedzi obronnej roślin. Dlatego też dla bakterii korzystna jest produkcja tych enzymatycznych białek tylko wtedy, gdy osiągną one odpowiednią gęstość populacji, która umożliwia im pokonanie mechanizmów obronnych organizmu roślinnego [21]. Dlatego zastosowanie transgenicznych roślin zdolnych do produkcji AHL bądź ich analogów wysyłających do patogennych bakterii „fałszywy” sygnał o odpowiedniej gęstości populacyjnej, prowadzi do aktywacji syntezy czynników wirulencji przez te mikroorganizmy. Obecność czynników wirulencji inicjuje odpowiedź obronną roślin skutecznie eliminującą bakterie, które nie zdążyły osiągnąć odpowiedniej liczebności [21, 52].

Rośliny wyższe poprzez syntetyzowanie związków hamujących bądź aktywujących bakteryjne systemy QS kontrolują bakterie obecne w otaczającym je środowisku. Dlatego też uprawa roślin wytwarzających analogi AHL bądź otrzymywanie transgenicznych organizmów zawierających bakteryjne geny odpowiedzialne za produkcję AHL, mogą stanowić jedną z najbardziej skutecznych strategii zwalczania patogenów roślin [61]. Naturalne związki o charakterze antagonistów bądź agonistów receptorów charakterystycznych dla zjawiska QS mogą być podstawą do opracowania syntetycznych i komercyjnie dostępnych substancji wchodzących w skład leków stosowanych w terapii bakteryjnych infekcji roślin i zwierząt.

## **Podsumowanie**

Wiele bakterii wchodzących zarówno w symbiotyczne, jak i patogenne oddziaływania ze swoim gospodarzem, wykorzystuje systemy QS do regulacji ekspresji genów, wpływających na ich różne cechy fenotypowe. Istnieje coraz więcej dowodów wskazujących, iż skuteczna komunikacja zachodzi nie tylko między mikroorganizmami bakteryjnymi, ale także pomiędzy bakteriami a ich gospodarzami. Syntetyzowanie przez organizmy eukariotyczne, zwłaszcza rośliny, związków wykazujących podobieństwo strukturalne i/lub funkcjonalne do bakteryjnych AHL sugeruje, iż systemy QS stanowią jeden z istotnych elementów oddziaływań bakteria-gospodarz [25].

Poznanie molekularnych podstaw działania systemów QS z uwzględnieniem struktury AI oraz cząsteczek biorących udział w oddziaływaniach pomiędzy bakteriami a ich eukariotycznymi gospodarzami może przyczynić się do opracowania innowacyjnych strategii przeciwbakteryjnych ukierunkowanych na regulowanie aktywności systemów QS. Zaletą zwalczania patogenów roślin i zwierząt, z wykorzystaniem terapii modulujących działanie systemów QS jest zmniejszenie ryzyka rozwoju lekooporności mikroorganizmów wynikające

z faktu, iż ta metoda leczenia nie ma na celu zabicia patogena, lecz powoduje zaburzenie mechanizmów warunkujących jego zjadliwość. Tym samym, obecność w organizmie eukariotycznym bakterii o osłabionym działaniu systemu QS sprzyja szybszemu wykształceniu naturalnej odpowiedzi obronnej gospodarza [52]. Obecnie najważniejszym zadaniem stawianym przed badaczami zajmującymi się tym zagadnieniem jest poznanie budowy chemicznej roślinnych związków stymulujących bakteryjne systemy QS oraz określenie roli poszczególnych analogów AHL w oddziaływaniach pomiędzy bakterią a jej gospodarzem.

### Literatura

- [1] Neelson KH, Platt T, Hastings JW.: Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J. Bacteriol.* 104(1), 1970 Oct.
- [2] Deep A, Chaudhary U, Gupta V.: Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease. *J. Lab. Phys.* 3(1), 2011 Jan. doi: 10.4103/0974-2727.78553.
- [3] Turovskiy Y, Kashtanov D, Paskhover B, Chikindas ML.: Quorum sensing: fact, fiction, and everything in between. *Adv. Appl. Microbiol.* 62, 2007. doi: 10.1016/S0065-2164(07)62007-3.
- [4] Hawver LA, Jung SA, Ng WL.: Specificity and complexity in bacterial quorum – sensing systems. *FEMS Microbiol. Rev.* 40(5), 2016 Sep 1. doi: 10.1093/femsre/fuw014.
- [5] Jayaraman A, Wood TK.: Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 10(1), 2008 Aug. doi: 10.1146/annurev.bioeng.10.061807.160536.
- [6] Von Bodman SB, Bauer WD, Coplin DL.: Quorum sensing in plant – pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41, 2003 Apr 29. doi: 10.1146/annurev.phyto.41.052002.095652.
- [7] Waters MW, Bassler BL.: Quorum sensing: cell–to–cell communication in bacteria. *Annu Rev. Cell Dev. Biol.* 21(1), 2005 Feb. doi: 10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001.
- [8] Miller MB, Bassler BL.: Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 2001 Oct. doi: 10.1146/annurev.micro.55.1.165.
- [9] Winzer K, Williams P.: Quorum sensing and the regulation of virulence gene expression in pathogenic bacteria. *Int. J. Med. Microbiol.* 291(2), 2001 May. doi: 10.1078/1438-4221-00110.
- [10] Henke JM, Bassler BL.: Bacterial social engagement. *Trends Cell Biol.* 14(11), 2004

Nov. doi: 10.1016/j.tcb.2004.09.012.

- [11] Churchill MEA, Chen L.: Structural basis of acyl-homoserine lactone – dependent signaling. *Chem. Rev.* 111(1), 2011 Jan 12. doi: 10.1021/cr1000817.
- [12] Li Z, Nair SK.: Quorum sensing: how bacteria can coordinate activity and synchronize their response to external signals? *Protein Sci.* 21(10), 2012 Oct. doi: 10.1002/pro.2132.
- [13] Guan R, Ho MC, Almo SC, Schramm VL.: Methylthioinosine phosphorylase from *Pseudomonas aeruginosa*. Structure and annotation of a novel enzyme in quorum sensing. *Biochemistry.* 50(7), 2011 Feb. doi: 10.1021/bi101642d.
- [14] Papenfort K, Bassler B.: Quorum-sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* 14(9), 2016 Aug 11. doi: 10.1038/nrmicro.2016.89.
- [15] Dixit S, Dubey RC, Maheshwari DK, Seth PK, Bajpai VK.: Roles of quorum sensing molecules from *Rhizobium etli* RT1 in bacterial motility and biofilm formation. *Braz. J. Microbiol.* 48(4), 2017 Oct-Dec. doi: 10.1016/j.bjm.2016.08.005.
- [16] Braeken K, Daniels R, Ndayizeye M, Vanderleyden J, Michiels J.: Quorum sensing in bacteria – plant interactions. In: *Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence.* Soil Biol. Nautiyal CS, Dion P. (eds), Springer, Berlin, Heidelberg, 2008 Jan. doi: 10.1007/978-3-540-75575-3.
- [17] Zhang L, Murphy PJ, Kerr A, Tate ME.: *Agrobacterium* conjugation and gene regulation by N-acyl-L-homoserine lactones. *Nature.* 362(6419), 1993 May. doi: 10.1038/362446a0.
- [18] Duerkop BA, Ulrich RL, Greenberg EP.: Octanoyl-homoserine lactone is the cognate signal for *Burkholderia mallei* BmaR1-BmaI1 quorum sensing. *J. Bacteriol.* 189(14), 2007 Jul. doi: 10.1128/JB.00317-07.
- [19] Duerkop BA, Herman JP, Ulrich RL, Churchil MEA, Greenberg EP.: The *Burkholderia mallei* BmaR3-BmaI3 quorum-sensing system produces and responds to N-3-hydroxy-octanoyl homoserine lactone. *J. Bacteriol.* 190(14), 2008 Jul. doi: 10.1128/JB.00246-08.
- [20] Surette MG, Miller MB, Bassler BL.: Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio harveyi*: a new family of genes responsible for autoinducer production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96(4), 1999 Mar. doi: 10.1073/pnas.96.4.1639.
- [21] Gonzalez JE, Keshavan ND.: Messing with bacterial quorum sensing. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70(4), 2006 Dec. doi: 10.1128/MMBR.00002-06.
- [22] Smith JL, Fratamico PM, Novak JS.: Quorum sensing: a primer for food microbiologists. *J. Food Protect.* 67(5), 2004 Jun. doi: 10.1002/9780470290118.
- [23] De Keersmaecker SC, Sonck K, Vanderleyden J.: Let LuxS speak up in AI-2 signaling.

- Trends Microbiol. 14(3), 2006 Mar. doi: 10.1016/j.tim.2006.01.003.
- [24] Federle MJ, Bassler BL.: Interspecies communication in bacteria. J. Clin. Invest. 112(9), 2003 Nov 1. doi: 10.1172/JCI200320195.
- [25] Loh J, Carlson RW, York WS, Stacey G.: Bradyoxetin, a unique chemical signal involved in symbiotic gene regulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 99(22), 2002 Oct 29. doi: 10.1073/pnas.222336799.
- [26] Barber CE, Tang JL, Feng JX, Pan MQ, Wilson TJ. et al.: A novel regulatory system required for pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is mediated by a small diffusible signal molecule. Mol. Microbiol. 24(3), 1997 May. doi: 10.1046/j.1365-2958.1997.3721736.x.
- [27] Flavier AB, Clough SJ, Schell MA, Denny TP.: Identification of 3-hydroxypalmitic acid methyl ester as a novel autoregulator controlling virulence in *Ralstonia solanacearum*. Mol. Microbiol. 26(2), 1997 Oct. doi: 10.1046/j.1365-2958.1997.5661945.x.
- [28] Reading NC, Sperandio V.: Quorum sensing: the many languages of bacteria. FEMS Microbiol. Lett. 254(1), 2006 Jan. doi: 10.1111/j.1574-6968.2005.00001.x.
- [29] Jaworski A, Serwecińska L, Stączek P.: Quorum sensing – komunikowanie się komórek w populacjach bakterii przy udziale chemicznych cząsteczek sygnałowych. Post. Biol. Kom. 32(2), 2005.
- [30] Patankar AV, González JE.: Orphan LuxR regulators of quorum sensing. FEMS Microbiol. Rev. 33(4), 2009 Jul. doi: 10.1111/j.1574-6976.2009.00163.x.
- [31] Subramoni S, Venturi V.: LuxR-family `solos`: bachelor sensors/regulators of signalling molecules. Microbiology. 155, 2009 May. doi: 10.1099/mic.0.026849-0.
- [32] Venturi V, Fuqua C.: Chemical signaling between plants and plant-pathogenic bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 51(1), 2013 Aug. doi: 10.1146/annurev-phyto-082712-102239.
- [33] Lupp C, Ruby EG.: *Vibrio fischeri* uses two quorum – sensing systems for the regulation of early and late colonization factors. J. Bacteriol. 187(11), 2005 Jul. doi: 10.1128/JB.187.11.3620-3629.2005.
- [34] Lee J, Zhang L.: The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. Protein Cell. 6(1), 2015 Jan. doi: 10.1007/s13238-014-0100-x.
- [35] Lang J, Faure D.: Functions and regulation of quorum-sensing in *Agrobacterium tumefaciens*. Front. Plant Sci. 5(14), 2014 Jan 31. doi: 10.3389/fpls.2014.00014.
- [36] Barnard AML, Bowden SD, Burr T, Coulthurst SJ, Monson RE. et al.: Quorum sensing, virulence and secondary metabolite production in plant soft-rotting bacteria. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 362(1483), 2007 Jul 29. doi: 10.1098/rstb.2007.2042.

- [37] Labbate M, Queck SY, Koh KS, Rice SA, Givskov M. et al.: Quorum sensing – controlled biofilm development in *Serratia liquefaciens* MG1. J. Bacteriol. 186(3), 2004 Feb. doi: 10.1128/JB.186.3.692-698.2004.
- [38] Marketon MM, González JE.: Identification of two quorum–sensing systems in *Sinorhizobium meliloti*. J. Bacteriol. 184(13), 2002 Jul. doi: 10.1128/JB.184.13.3466-3475.2002.
- [39] Lupp C, Urbanowski M, Greenberg EP, Ruby EG.: The *Vibrio fischeri* quorum-sensing systems ain and lux sequentially induce luminescence gene expression and are important for persistence in the squid host. Mol. Microbiol. 50(1), 2003 Oct. doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.t01-1-03585.x.
- [40] Bassler BL.: Small talk: cell–to–cell communication in bacteria. Cell. 109(4), 2002 May 17. doi: 10.1016/S0092-8674(02)00749-3.
- [41] Galloway WRJD, Hodgkinson JT, Bowden SD, Welch M, Spring DR.: Quorum sensing in Gram–negative bacteria: small – molecule modulation of AHL and AI–2 quorum sensing pathways. Chem. Rev. 111(1), 2011 Jan 12. doi: 10.1021/cr100109t.
- [42] Lithgow JK, Wilkinson A, Hardman A, Rodelas B, Wisniewski-Dye F. et al.: The regulatory locus *cinRI* in *Rhizobium leguminosarum* controls a network of quorum-sensing loci. Mol. Microbiol. 37(1), 2000 Jul. doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.01960.x.
- [43] Gonzalez JE, Marketon MM.: Quorum sensing in nitrogen–fixing rhizobia. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 67(4), 2003 Dec. doi: 10.1128/MMBR.67.4.574-592.2003.
- [44] Dixit S, Dubey RC, Maheshwari DK, Seth PK, Bajpai VK.: Roles of quorum sensing molecules from *Rhizobium etli* RT1 in bacterial motility and biofilm formation. Braz. J. Microbiol. 48(4), 2017 Oct-Dec. doi: 10.1016/j.bjm.2016.08.005.
- [45] Subramoni S, Nathoo N, Klimov E, Yuan Z.: *Agrobacterium tumefaciens* responses to plant–derived signaling molecules. Front. Plant Sci. 5, 2014 Jul 8. doi: 10.3389/fpls.2014.00322.
- [46] Burr T, Barnard AML, Corbett MJ, Pemberton CL, Simpson NJL. et al.: Identification of the central quorum sensing regulator of virulence in the enteric phytopathogen, *Erwinia carotovora*: the VirR repressor. Mol. Microbiol. 59(1), 2006 Jan. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04939.x.
- [47] De Kievit TR, Iglewski BH.: Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. Infect. Immun. 68(9), 2000 Sep. doi: 10.1128/IAI.68.9.4839-4849.2000.
- [48] Reuter K, Steinbach A, Helms V.: Interfering with bacterial quorum sensing. Perspect. Med. Chem. 8, 2016 Jan. doi: 10.4137/PMc.s13209.

- [49] Bansal T, Englert D, Lee J, Hegde M, Wood TK. et al.: Differential effects of epinephrine, norepinephrine, and indole on *Escherichia coli* O157:H7 chemotaxis, colonization, and gene expression. *Infect. Immun.* 75(9), 2007 Sep. doi: 10.1128/IAI.00630-07.
- [50] Mathesius U, Mulders S, Gao M, Teplitski M, Caetanp-Anolles G. et al.: Extensive and specific responses of a eukaryote to bacterial quorum-sensing signals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100(3), 2003 Feb 4. doi: 10.1073/pnas.262672599.
- [51] Bauer WD, Mathesius U.: Plant responses to bacterial quorum sensing signals. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7(4), 2004 Aug. doi: 10.1016/j.pbi.2004.05.008.
- [52] Hartmann A, Schikora A.: Quorum sensing of bacteria and trans-kingdom interactions of N-acyl homoserine lactones with eukaryotes. *J. Chem. Ecol.* 38(6), 2012 Jun. doi: 10.1007/s10886-012-0141-7.
- [53] Kan J, Fang R, Jia Y.: Interkingdom signaling in plant-microbe interactions. *Sci. China Life Sci.* 60(8), 2017 Aug. doi: 10.1007/s11427-017-9092-3.
- [54] Ortiz -Castro R, Contreras-Cornejo HA, Macias-Rodrigues L, López-Bucio J.: The role of microbial signals on plant growth and development. *Plant Sign. Behav.* 4(8), 2009 Aug. doi: 10.4161/psb.4.8.9047.
- [55] Teplitski M, Mathesius U, Rumbaugh KP.: Perception and degradation of N-acyl homoserine lactone quorum sensing signals by mammalian and plant cells. *Chem. Rev.* 111(1), 2011 Jan 12. doi: 10.1021/cr100045m.
- [56] Kalia VC.: Quorum sensing inhibitors: An overview. *Biotechn. Adv.* 31(2), 2013 Mar-Apr. doi: 10.1016/j.biotechadv.2012.10.004.
- [57] Delago A, Mandabi A, Meijler MM.: Natural Quorum sensing inhibitors – small molecules, big messages. *Isr. J. Chem.* 56(5), 2016 May. doi: 10.1002/ijch.201500052.
- [58] Mahmoudi E.: Signaling molecules from *Lactuca sativa* L. induced quorum sensing phenotypes in bacteria. *J. Plant Protect. Res.* 55(2), 2015 Apr 13. doi: 10.1515/jppr-2015-0022.
- [59] Mahmoudi E, Tarzaban S, Khodaygan P.: Dual Behaviour of plants against bacterial quorum sensing: inhibition or excitation. *J. Plant Path.* 96(2), 2014 Jul. doi: 10.4454/JPP.V96I2.041.
- [60] Teplitski M, Robinson JB, Bauer WD.: Plants secrete substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviors in associated bacteria. *Mol. Plant Microbe Interact.* 13(6), 2000 Jul. doi: 10.1094/MPMI.2000.13.6.637.
- [61] Bauer WD, Robinson JB.: Disruption of bacterial quorum sensing by other organisms.



- Curr. Opin. Biotechnol. 13(3), 2002 Jun 1. doi: 10.1016/S0958-1669(02)00310-5.
- [62] Degrassi G, Devescovi G, Solis R, Steindler L, Venturi V.: *Oryza sativa* rice plants contain molecules that activate different quorum-sensing N-acyl homoserine lactone biosensors and are sensitive to the specific AiiA lactonase. FEMS Microbiol. Lett. 269(2), 2007 Apr. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00624.x.
- [63] Nievas F, Vilchez L, Giordano W, Bogino P.: *Arachis hypogaea* L. produces mimic and inhibitory quorum sensing like molecules. Anton. van Leeuwen. 110(7), 2017 Jul. doi: 10.1007/s10482-017-0862-2.
- [64] Vatter DA, Mihalik K, Crixell SH, McLean RJC.: Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors. Fitoterapia. 78(4), 2007 Jun. doi: 10.1016/j.fitote.2007.03.009.
- [65] Corral-Lugo A, Daddaoua A, Ortega A, Espinosa-Urgel M, Krell T.: So different and still so similar: The plant compound rosmarinic acid mimics bacterial homoserine lactone quorum sensing signals. Commun. Integr. Biol. 9(2), 2016 Apr 14. doi: 10.1080/19420889.2016.1156832.
- [66] Mandabi A, Ganin H, Krief P, Rayo J, Meijler MM.: Karrikins from plant smoke modulate bacterial quorum sensing. Chem. Commun. 50(40), 2014 May 25. doi: 10.1039/c3cc47501h.
- [67] Fray RG, Throup JP, Daykin M, Wallace A, Williams P. et al.: Plants genetically modified to produce N-acylhomoserine lactones communicate with bacteria. Nat. Biotechnol. 17(10), 1999 Oct. doi: 10.1038/13717.
- [68] Mae A, Montesano M, Koiv V, Palva ET.: Transgenic plants producing the bacterial pheromone N-acyl-homoserine lactone exhibit enhanced resistance to the bacterial phytopathogen *Erwinia carotovora*. Mol. Plant Microbe Interact. 14(9), 2001 Sep. doi: 10.1094/MPMI.2001.14.9.1035.

## METODY ZAGOSPODAROWANIA BIOMASY Z SADÓW JABŁONIOWYCH W POLSCE

**Kamila Habiera<sup>(1)</sup>, Aldona Lach<sup>(1)</sup>, Arkadiusz Dyjakon<sup>(2)</sup>**

*<sup>(1)</sup>SKN BioEnergia, Wydział Przyrodniczo-Technologiczny, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

*<sup>(2)</sup>Zakład Niskoemisyjnych Źródeł Energii i Gospodarki Odpadami, Instytut Inżynierii Rolniczej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

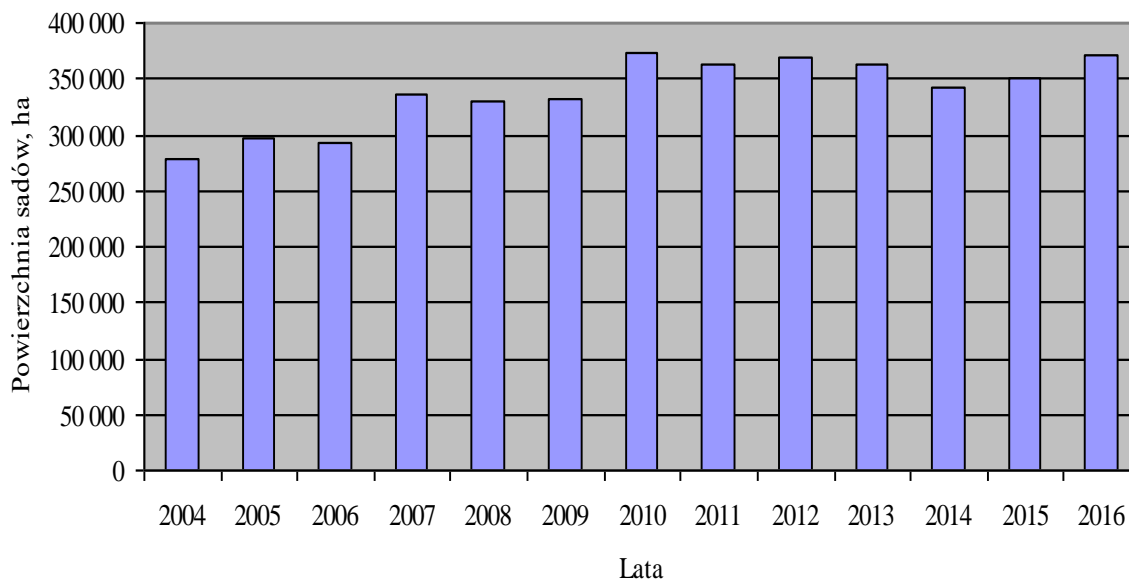
*kamila.habiera@gmail.com, aldona.lach.4@gmail.com, arkadiusz.dyjakon@upwr.edu.pl*

### **Streszczenie**

Biomasa pochodzenia rolniczego to ulegająca biodegradacji frakcja produktów, odpadów i pozostałości z produkcji rolnej. Jedną z takich pozostałości jest biomasa odpadowa powstała w czasie corocznych przycinek pielęgnacyjnych wykonywanych w sadach jabłoniowych. Jest to niedoceniane do tej pory źródło pozyskiwania biomasy z sektora rolniczego, zagospodarowywane głównie jako źródło próchnicy, ściółka dla drzew bądź spalane w pryzmach na granicy sadu ze stratą energii. W artykule przedstawiono możliwości zagospodarowania biomasy powstającej podczas sezonowej przycinki drzew jabłoniowych dla celów energetycznych. Rozwiązanie to umożliwia efektywne wykorzystanie biomasy na rynku lokalnym, która może zostać przeznaczona na produkcję ciepła do ogrzewania gospodarstw domowych czy procesów produkcyjnych. Co więcej, gałęzie po odpowiednim przygotowaniu mogą być współspalane w klasycznych elektrowniach i elektrociepłowniach lub spalane w specjalnie przystosowanych kotłach biomasowych. Rozdrobnione gałęzie jabłoni mogą być również zagęszczane do postaci brykietu lub pelletu, co zwiększa opłacalność ich przewozu i sprzedaży, jako paliwa alternatywnego. Dodatkowo, energetyczne wykorzystanie gałęzi sadowniczych to możliwość uzyskania dodatkowych dochodów dla sadownika oraz ograniczenie emisji CO<sub>2</sub> do atmosfery z tytułu zmniejszenia zużycia paliw kopalnych.

### **Wprowadzenie**

Obecnie, sady w Polsce zajmują powierzchnię ponad 370 000 ha (rys. 1) [1], z czego większość w ilości ponad 177 200 ha stanowią sady jabłoniowe [2]. W wyniku corocznej przycinki pielęgnacyjnej wykonywanej w sadach powstają duże zasoby biomasy sadowniczej, która wymaga zagospodarowania. W zależności od wieku drzewa, odmiany, liczby nasadzeń oraz sposobu prowadzenia sadu, z jednego hektara sadu jabłoniowego można uzyskać średnio 3,5 Mg·rok<sup>-1</sup> biomasy odpadowej o wilgotności 40-45% [3].



**Rysunek 1.** Powierzchnia sadów w Polsce w latach 2004-2016 [1]

Źródło: opracowanie własne

Zatem, z uprawianej powierzchni sadów jabłoniowych na obszarze Polski można uzyskać ponad 620 200 Mg biomasy sadowniczej. Zakładając, że z 1,5 tony biomasy sadowniczej o wilgotności 15-20% istnieje możliwość wyprodukowania energii równoważnej spalaniu 1 Mg węgla [4], to biomasa sadownicza wykorzystana na cele energetyczne pozwala zaoszczędzić rocznie około 270 000 Mg węgla. Niestety, w większości przypadków zagospodarowanie odpadów drzewnych z sadu nie ma komercyjnego ukierunkowania na odzysk energii zakumulowanej w biomase. Celem pracy jest przedstawienie możliwości postępowania z gałęziami z prześwietlania drzew owocowych w sadzie ze szczególnym zwróceniem uwagi na ekonomiczny aspekt energetycznego kierunku wykorzystania biomasy sadowniczej w odniesieniu do tradycyjnego jej rozdrabniania w sadzie.

### **Zagospodarowanie gałęzi w sadzie jabłoniowym**

Cięcie pielęgnacyjne to niezbędny zabieg towarzyszący uprawom sadowniczym, zwłaszcza takim, jak drzew jabłoni, czereśni czy wiśni. Cięcie to wykonywane jest zarówno na młodych, nowych nasadzeniach, jak również na starszych drzewach. W przypadku drzew jabłoniowych przycinanie gałęzi odbywa się w okresie zimowo-wiosennym (rys. 2).

a)



b)



**Rysunek 2.** Prycinanie gałęzi drzew jabłoniowych: a) jabłonie przed cięciem pielęgnacyjnym, b) jabłonie po cięciu pielęgnacyjnym (fot. A. Dyjakon)

W zależności od sposobów gospodarowania sadem [4], cięcie wykonuje się ręcznie, za pomocą sekatorów (rys. 3a) lub mechanicznie, za pomocą tarcz czy listw tnących (rys. 3b).



**Rysunek 3.** Rodzaje cięć pielęgnacyjnych: a) cięcie ręczne, b) cięcie mechaniczne [5] (fot. A. Lach)

W zależności od wieku sadu, masa zebranej biomasy odpadowej może znacznie się różnić. Jednak w każdym przypadku, ze względu na dalsze prace wykonywane maszynami w sadzie (opryskiwanie, przycinanie trawy, zbiór owoców), konieczne jest zagospodarowanie pozostawianych w międzyrzędziach gałęzi (rys. 4).



**Rysunek 4.** Gałęzie pozostawione w międzyrzędziach (fot. A. Dyjakon)

Najczęściej stosowanymi w Polsce kierunkami zagospodarowania gałęzi pozostających z cięć pielęgnacyjnych jest złożenie ich na pryzmach, a następnie spalenie lub rozdrobnienie ściętych gałęzi i pozostawienie ich jako źródła próchnicy sadzie (rys. 5). W przypadku spalania gałęzi w pryzmach jest to nieodwracalna strata energii oraz stwarzanie zagrożenia pożarowego. Zaletą wykorzystania rozdrobnionych gałęzi jako ściółki jest ograniczenie porostu chwastów oraz zatrzymanie części substancji odżywczych znajdujących się w zrębkach [6]. Wadą takiego zastosowania jest jednak możliwość powrotu chorób [7], które pojawiły się w poprzednim okresie wegetacyjnym roślin np. zgorzel kory.

a)



b)



**Rysunek 5.** Wykorzystanie gałęzi w sadzie jako źródła próchnicy: a) gałęzie przed rozdrobnieniem, b) gałęzie po rozdrobnieniu (fot. A. Dyjakon)

Inną metodą zagospodarowania gałęzi pochodzących z cięcia pielęgnacyjnego jest ich zbelowanie [8, 9], a następnie spalenie w odpowiednio przystosowanych do tego kotłach. Zastosowanie to może mieć zasięg lokalny, jak wykorzystanie w domowych kotłach małej mocy (rys. 6) lub zasięg przemysłowy poprzez wykorzystanie biomasy w osiedlowych kotłowniach czy instytucjach publicznych.

a)





**Rysunek 6.** Wykorzystanie biomasy sadowniczej: a) zbelowane gałęzie z przycinki ,b) kocioł malej mocy do spalania beli [10] (fot. A. Dyjakon)

Gałęzie pochodzące ze ścinki pielęgnacyjnej można również zagospodarować poprzez ich zbiór i rozdrobnienie do postaci zrębków [11, 12] (rys. 7a), a następnie spalenie w kotłach odpowiednio przystosowanych do tego typu formy paliwa (rys. 7b).





b)



**Rysunek 7.** Zbiór, rozdrabnianie i spalanie zrębki drzewnej: a) zbiór zrębki drzewnej [13], b) kocioł zasilany zrębkami drzewnymi [14]

Gałęzie mogą być również sprzedawane jako paliwo alternatywne i spalane w obiektach energetyki zawodowej (rys. 8). W Polsce, możliwe jest spalanie biomasy w kotłach w pełni przystosowanych do spalania biomasy (np.: kocioł fluidalny w Elektrowni Połaniec) bądź w konwencjonalnych elektrowniach na zasadzie współspalania z węglem (np.: kocioł fluidalny w Elektrowni Jaworzno III).

a)



b)



c)



d)



**Rysunek 8.** Wykorzystanie biomasy w postaci zrębków: a) gałęzie na przyzbie w sadzie, b) przyzma zrębków po rozdrobnieniu, c) transport zrębki drzewnej do zakładu energetycznego, d) blok Elektrowni Połaniec zasilanej biomasą [15] (fot. A. Dyjakon)

Zebrane gałęzie w trakcie sezonowej pielęgnacji sadów można również przetworzyć na brykiet lub pellet. Takie rozwiązanie pozwoli na podniesienie walorów użytkowych wytworzonego paliwa poprzez jej zagęszczenie, wskutek czego zmniejsza się gęstość nasypowa oraz wilgotność materiału. Wzrasta natomiast gęstość energetyczna oraz stopień ujednolicenia formy paliwa. W przypadku spalania brykietu i pelletu, w celu zwiększenia efektywności procesu, wykorzystuje się specjalnie przystosowane kotły ze spalaniem bezpośrednim (rys. 9a) oraz kotły zgazowujące (rys. 9b). Dodatkową zaletą przetworzenia biomasy sadowniczej do postaci pelletów jest możliwość jej spalania w kotłach automatycznych małej mocy z zachowaniem standardów emisyjnych [16].



**Rysunek 9.** Kotły do spalania biomasy: a) kocioł do spalania pelletu [17], b) kocioł zgazowujący brykiet [18]

### Aspekt ekonomiczny zagospodarowania biomasy sadowniczej

Z punktu widzenia sadownika ważny jest także aspekt ekonomiczny związany ze strategią energetycznego wykorzystania biomasy odpadowej z sadu. Zakładając dwie ścieżki postępowania:

- rozdrabnianie i pozostawienie w sadzie,
- zbelowanie gałęzi i sprzedaż do elektrociepłowni,

oraz przyjmując dodatkowe założenia:

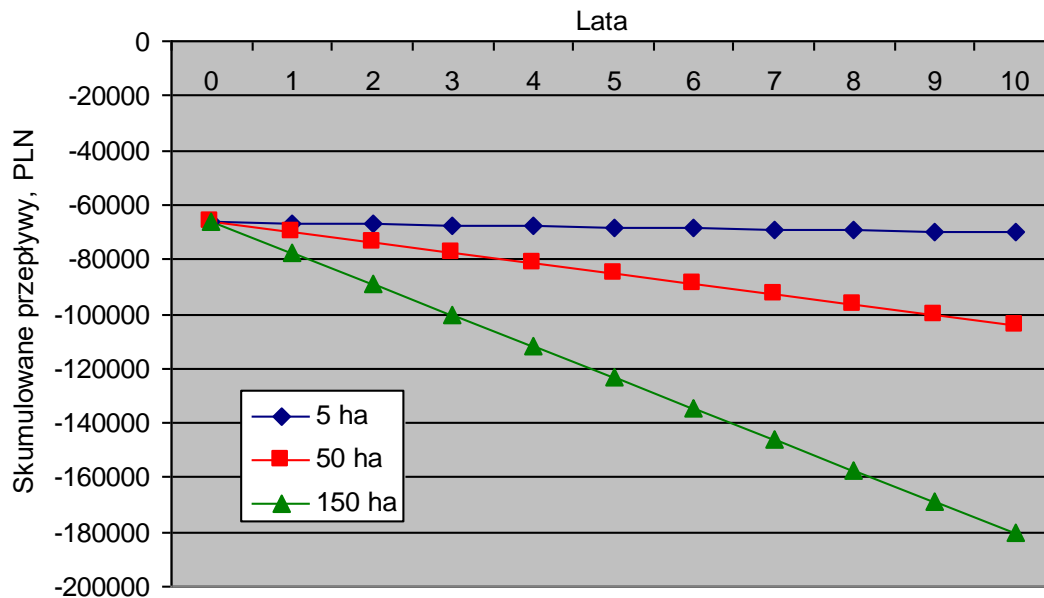
- sadownik posiada własny ciągnik rolniczy, którego spalanie oleju napędowego podczas wykonywanych prac sadowniczych wynosi  $6,0 \text{ dm}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ ,
- koszt pracy ciągnika rolniczego w sadzie:  $35 \text{ PLN} \cdot \text{h}^{-1}$ ,
- koszt paliwa wynosi:  $4,60 \text{ PLN} \cdot \text{dm}^{-3}$ ,
- koszt zakupu rozdrabniacza i maszyny balotującej wynosi odpowiednio 66500 PLN oraz 60000 PLN [11],
- wydajność maszyn podczas rozdrabniania/balotowania wynosi średnio  $1,0 \text{ ha} \cdot \text{h}^{-1}$ ,
- koszt pracy pracownika:  $16 \text{ PLN} \cdot \text{h}^{-1}$ ,
- cena sprzedaży zbelowanej biomasy sadowniczej (odbiór z sadu):  $200 \text{ PLN} \cdot \text{Mg}^{-1}$  [19],
- koszt innych czynności (np.: transport wewnętrzny balotów) związanych z kierunkiem energetycznego wykorzystania biomasy:  $15 \text{ PLN} \cdot \text{Mg}^{-1}$ ,

można określić potencjalne korzyści dla sadownika z poszczególnych sposobów zagospodarowania biomasy.

Z rysunku 10 wynika, że w przypadku rozdrabniania biomasy odpadowej w sadzie, sadownik poza zlikwidowaniem problemu leżących gałęzi nie ma żadnych korzyści finansowych. Co więcej, ponosi każdego roku koszty pracy pracownika i maszyny (bez kosztów serwisu) w wysokości  $79 \text{ PLN} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Dla sadu o wielkości 5 hektarów, skumulowane koszty związane z zakupem rozdrabniacza, kosztami eksploatacji oraz wynagrodzeniem pracownika wynoszą po 10 latach ponad 70 tys. PLN. W przypadku sadów o powierzchni 50 ha i 150 ha koszty skumulowane w okresie 10 lat wynoszą odpowiednio 104 tys. PLN i prawie 180 tys. PLN.

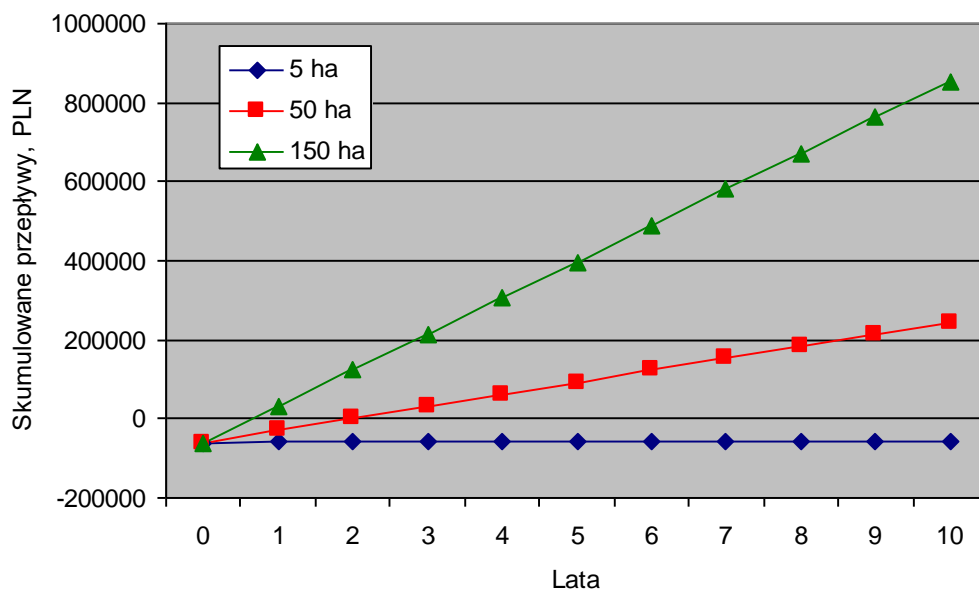
Z kolei, sprzedaż biomasy sadowniczej dla celów energetycznych generuje przychód w wysokości  $200 \text{ PLN} \cdot \text{Mg}^{-1}$  pozwalający w określonym czasie na zwrot nakładów inwestycyjnych i kosztów prac związanych z zagospodarowaniem biomasy. Po uwzględnieniu kosztów, zysk dla sadownika wynosi około  $105 \text{ PLN} \cdot \text{Mg}^{-1}$ .

Należy jednak zaznaczyć, że jednym z istotnych parametrów wpływającym na szybkość zwrotu nakładów inwestycyjnych jest wielkość gospodarstwa sadowniczego. Dla porównania, dla sadu o wielkości 150 ha i założonym potencjale biomasy odpadowej zwrot inwestycji nastąpi już w pierwszym roku użytkowania maszyny i sprzedaży zebranej biomasy (rys. 11), podczas gdy dla wielkości sadu 5 ha, zwrot poniesionych nakładów wyniesie kilkadziesiąt lat, co czyni inwestycję nieuzasadnioną ekonomicznie.



**Rysunek 10.** Skumulowane przepływy z tytułu rozdrabniania gałęzi w sadzie

Źródło: opracowanie własne



**Rysunek 11.** Skumulowane przepływy z tytułu energetycznego wykorzystania biomasy sadowniczej

Źródło: opracowanie własne

Zatem, sprzedaż biomasy jest opłacalna przede wszystkim dla sadów o dużej powierzchni. Dla małych sadowników, możliwość zysków ze sprzedaży biomasy sadowniczej jest tylko w przypadku zrzeszania się z innymi mniejszymi sadownikami we wspólnoty (np.: tworzenie konsorcjum czy spółdzielni). W efekcie, powoduje to rozłożenie się kosztów zakupu maszyn na większą liczbę jej potencjalnych użytkowników oraz stwarza możliwość zaangażowania się w energetyczne wykorzystanie gałęzi także mniejszych przedsiębiorstw sadowniczych w rejonie, co polepszy bilans lokalnego wytwarzania energii odnawialnej z własnego potencjału.

### **Podsumowanie**

Zagospodarowanie biomasy sadowniczej z sadów jabłoniowych w Polsce może przyjąć różny kierunek. Biomasa traktować można jako produkt uboczny, którego zagospodarowanie jest tylko dodatkowym problemem wymagającym nakładów finansowych, albo możliwością zwiększenia zysku dla sadownika, po dokonaniu pewnych inwestycji w park maszynowy i zmiany w sposobie postępowania ze ściętymi gałęziami.

W 10-cio letnim zestawieniu dwóch zabiegów: rozdrabniania w sadzie i balotowania, mających na celu zagospodarowanie biomasy sadowniczej na cele energetyczne, zyski przynosi zbiór i balotowanie gałęzi. Związane jest to ze sprzedażą biomasy sadowniczej dla celów grzewczych. W przypadku rozdrabniania gałęzi w sadzie nie przewiduje się zysków, tylko koszty dodatkowe związane z użytkowaniem maszyn oraz pracą pracowników.

Gałęzie z przycinki zimowo-wiosennej mogą być paliwem, które wpływa na zmniejszenie zużycia paliw kopalnych oraz ograniczenie emisji CO<sub>2</sub> do atmosfery. Wykorzystanie biomasy sadowniczej na cele energetyczne może mieć zasięg zarówno lokalny (w małych przydomowych kotłowniach) lub zasięg przemysłowy (zasilanie kotłów w elektrociepłowni). Biorąc pod uwagę krajową strategię do zwiększania udziału energii odnawialnej i lepszego zagospodarowywania odpadów organicznych, biomasa sadownicza i jej wykorzystanie dla celów energetycznych powinno zyskiwać na znaczeniu wyznaczając nowy kierunek dla sadowników, który na chwilę obecną jest nadal bardzo rzadko stosowany.

### **Literatura**

- [1] Bank Danych Lokalnych: Rolnictwo, leśnictwo i łowiectwo (grupa: uprawy rolnicze, podgrupa: sady), 2016
- [2] Główny Urząd Statystyczny: Produkcja upraw rolnych i ogrodnich w 2016 r.

Warszawa, maj 2017 (ISSN 1509-7099)

- [3] Dyjakon A., den Boer J., Bukowski P., Adamczyk F., Frąckowiak P.: Wooden biomass potential from apple orchards in Poland, *Wood*, 2016, Vol. 59, No. 198, s. 73-86
- [4] Romański L., Dyjakon A., Adamczyk F., Frąckowiak P.: Problems with deriving the fruit tree pruned biomass for energy use, *Agricultural Engineering*, 2014, Vol. 3(151), s. 157-167
- [5] Garcia-Galindo D., Gomez-Palmero M., Germer S., Pari L., Afano V., Dyjakon A., Sagarna J., Rivera S., Poutrin C.: Agricultural pruning as biomass resource: generation, potentials and current fates. An approach to its state in Europe, 24th European Biomass Conference and Exhibition (EUBCE), 6-9 June 2016, Amsterdam, The Netherlands
- [6] Youkhana A., Idol T.: Tree pruning mulch increases soil C and N in a shaded coffee agroecosystem in Hawaii, *Soil Biology & Biochemistry*, Vol. 41, 2009, s. 2527-2534
- [7] Sobiszewski P. (red.): *Metodyka integrowanej ochrony jabłoni*, Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice 2015
- [8] Frąckowiak P., Adamczyk F., Wąchalowski G., Szaroleta M., Dyjakon A., Pari L., Suardi A.: A prototype machine for harvesting and baling of pruning residues in orchards: first test on apple orchard (MALUS MILL.) in Poland. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. Vol. 61(3), 2016, s. 88-93
- [9] Grella M., Manzone M., Gioelli F., Balsari P.: Harvesting orchard pruning residues in southern piedmont: a first evaluation of biomass production and harvest loss, *Journal of Agricultural Engineering*, Vol. 44, No 3, 2013, s. 97-102
- [10] [www.agropartner.pl/produkt-173-prasa\\_belujaca\\_do\\_zbioru\\_galezi\\_caeb\\_quickpower.html](http://www.agropartner.pl/produkt-173-prasa_belujaca_do_zbioru_galezi_caeb_quickpower.html) (dostęp: 25.11.2017)
- [11] Magagnotti N., Pari L., Picchi G., Spinelli R.: Technology alternatives for tapping the pruning residue resource, *Bioresource Technology*, Vol. 128, 2013, s. 697-702
- [12] Spinelli R., Nati C., Pari L., Mescalchin E., Magagnotti N.: Production and quality of biomass fuels from mechanized collection and processing of vineyard pruning residues, *Applied Energy*, Vol. 89, 2012, s. 374–379
- [13] [www.kuhn.com.pl/internet/webpl.nsf/0/5C27F130186E57E3C1257440004DCB92?OpenDocument&p=23.7.1.4.2](http://www.kuhn.com.pl/internet/webpl.nsf/0/5C27F130186E57E3C1257440004DCB92?OpenDocument&p=23.7.1.4.2) (dostęp: 25.11.2017)
- [14] [www.cichewicz.pl/kociol-c-o-biowarmer-25-kw-1](http://www.cichewicz.pl/kociol-c-o-biowarmer-25-kw-1) (dostęp: 22.11.2017)
- [15] [www.serwisy.gazetaprawna.pl/energetyka/galerie/783796,duze-zdjecie,2,odnawialne-zrodla-energii-w-polsce-rodzaje-elektrowni-liczba-instalacji-oze-moc.html](http://www.serwisy.gazetaprawna.pl/energetyka/galerie/783796,duze-zdjecie,2,odnawialne-zrodla-energii-w-polsce-rodzaje-elektrowni-liczba-instalacji-oze-moc.html) (dostęp: 18.11.2017)

- [16] Carvalho L., Wopienka E., Pointner Ch., Lundgren J., Kumar Verma V., Haslinger W., Schmidl Ch.: Performance of a pellet boiler fired with agricultural fuels, Applied Energy, Vol. 104, 2013, s. 286–296
- [17] <http://muratordom.pl/galeria-artykulu/tanie-ogrzewanie-biomasa-pelety-kociol-na-biomase,10832/8553/34242/> (dostęp: 15.11.2017)
- [18] [www.tomiboks.pl/atmos-dc24rs-kociol-co-zgazowujacy-brykiet-p-8.html](http://www.tomiboks.pl/atmos-dc24rs-kociol-co-zgazowujacy-brykiet-p-8.html) (dostęp: 25.11.2017)
- [19] [http://www.bio-energia.pl/oferta\\_skup\\_biomasy\\_dla\\_energetyki.html](http://www.bio-energia.pl/oferta_skup_biomasy_dla_energetyki.html) (dostęp: 21.11.2017)





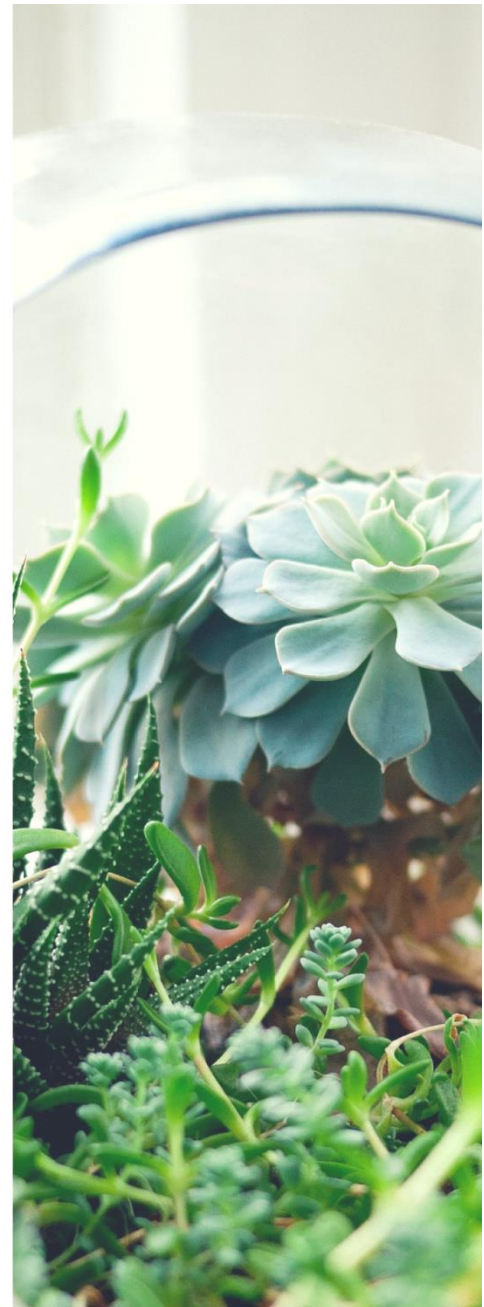


INSTYTUT PROMOCJI  
KULTURY I NAUKI

**Instytut zaprasza do współpracy przy:**

- przygotowaniu i publikacji monografii
- organizacji i obsłudze konferencji, warsztatów  
oraz szkoleń
- wykonywaniu tłumaczeń i korekt tekstów

[www.ipkn.edu.pl](http://www.ipkn.edu.pl)



**INSTYTUT PROMOCJI KULTURY I NAUKI DR JERZY BEDNARSKI**

*ul. Bohdana Dobrzańskiego 3, 20-262 Lublin*

*kontakt@ipkn.edu.pl*