



UNIWERSYTET  
PRZYRODNICZY  
WE WROCŁAWIU



Monografia naukowa pokonferencyjna  
XXV Międzynarodowa Konferencja Studenckich Kół Naukowych  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 19–20 listopada 2020 r.

---

---

## Problematyka nauk przyrodniczych i technicznych - Tom 4

---

---



**Problematyka nauk przyrodniczych i technicznych**

**Tom 4**



Monografia naukowa pokonferencyjna  
XXV Międzynarodowa Konferencja Studenckich Kół Naukowych  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 19–20 listopada 2020 r.

---

---

# **Problematyka nauk przyrodniczych i technicznych - Tom 4**

---

---





REDAKCJA NAUKOWA:

Przewodniczący – prof. dr hab. inż. Damian Knecht

Członkowie: prof. dr hab. inż. Grzegorz Janik  
dr hab. inż. Agnieszka Nawirska-Olszańska, prof. UPWr  
prof. dr hab. Artur Niedźwiedź  
dr inż. Przemysław Pokorny  
dr hab. inż. Janina Zawieja

Opracowanie redakcyjne i korekta  
Magdalena Kozińska

Łamanie  
Teresa Alicja Chmura

Okładka  
Paweł Wójcik

Wszystkie opublikowane rozdziały otrzymały pozytywne recenzje

Monografia zawiera zbiór tematycznych prac prezentowanych przez uczestników podczas XXV Międzynarodowej Konferencji Studenckich Kół Naukowych, która odbyła się w dniach 19–20 listopada 2020 roku na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu. Zawarte w niniejszej publikacji artykuły zostały zamieszczone na odpowiedzialność ich autorów, którzy przesłali ich treści Organizatorom konferencji oraz zatwierdzili poprawki recenzentów.

Monografia jest dostępna w systemie OPEN ACCES

ISBN 978-83-7717-347-3

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU

Redaktor naczelny – prof. dr hab. inż. Andrzej Kotecki  
ul. Sopotka 23, 50–344 Wrocław, tel. 71 328 12 77  
e-mail: [wydawnictwo@upwr.edu.pl](mailto:wydawnictwo@upwr.edu.pl)

---

Ark. wyd. 10,4 Ark. druk. 10,25

Ewelina Berbeć, Agata Kuklińska

<b>OCENA ZALEŻNOŚCI MIĘDZY WIELKOŚCIĄ DAWKI INFEKCYJNEJ A ROZWOJEM ZAKAŻENIA NOSEMOZĄ U PSZCZOŁY MIODNEJ APIS MELLIFERA L. – BADANIA WSTĘPNE.....</b>	<b>9</b>
---	----------

Krzysztof Rutana

<b>OSTEOPONTYNA – BIAŁKO O PODWÓJNYM ZNACZENIU W BIOLOGII TKANKI KOSTNEJ .....</b>	<b>19</b>
--	-----------

Michał Krawenda

<b>MIKROSKOPIA KORELACYJNA I JEJ ZNACZENIE W OBRAZOWANIU ELEMENTÓW ULTRASTRUKTURALNYCH KOMÓRKI.....</b>	<b>27</b>
---	-----------

Katarzyna Krajewska

<b>PROFIL EKSPRESJI WYBRANYCH MAŁYCH NIEKODUJĄCYCH RNA W KOMÓRKACH LINII HELA .....</b>	<b>37</b>
---	-----------

Anastasia Korenitska

<b>AGRESJA I USTALANIE HIERARCHII WILKÓW SZARYCH (<i>CANIS LUPUS</i>) UTRZYMYWANYCH W WARUNKACH OGRODU ZOOLOGICZNEGO WE WROCŁAWIU .....</b>	<b>47</b>
---	-----------

Adrianna Żelobowska, Klaudia Klepuszewska

<b>BANANY DESEROWE I WARZYWNE W OPINII STUDENTÓW .....</b>	<b>57</b>
--	-----------

Honorata Mederska, Joanna Więckowska

<b>ZMIANA JAKOŚCI PIECZYWA WZBOGACONEGO SZPINAKIEM W CZASIE PRZECHOWYWANIA .....</b>	<b>73</b>
--	-----------

Katarzyna Baran, Anna Domeracka, Justyna Janiszewska

<b>OCENA WYBRANYCH WYRÓŻNIKÓW JAKOŚCI RYNKOWYCH SOKÓW POMARAŃCZOWYCH.....</b>	<b>83</b>
---	-----------

Anna Sasin

<b>OCENA POZIOMU SATYSFAKCJI UCZESTNIKÓW TARGÓW OGRODNICTWA I ARCHITEKTURY KRAJOBRAZU GARDEN EXPO .....</b>	<b>93</b>
---	-----------

Mateusz Lipski, Aleksandra Łyjak, Joanna Barcińska, Alicja Krawczyk	
<b>REWITALIZACJA STAREGO MIASTA W IŁAWIE .....</b>	<b>107</b>
Katarzyna Greń, Paulina Misiorna, Emilia Rogowska	
<b>OCENA WARTOŚCI ODŻYWCZEJ KARM SUCHYCH EKSTRUROWANYCH DLA PSÓW DOROSŁYCH .....</b>	<b>125</b>
Hanna Biesiada	
<b>WYSTĘPOWANIE INTEGRONÓW OPORNOŚCI U SZCZEPÓW <i>E. COLI</i> OBECNYCH W PRODUKCJI DROBIU .....</b>	<b>137</b>
Oliwia Piętał	
<b>RACHUNEK ZYSKÓW I STRAT W SYSTEMIE INFORMACYJNYM UŻYTKOWNIKÓW .....</b>	<b>149</b>
Anna Kapłon	
<b>ORGANIZACJA RACHUNKOWOŚCI A POTRZEBY INFORMACYJNE PRZEDSIĘBIORSTWA .....</b>	<b>159</b>



# OCENA ZALEŻNOŚCI MIĘDZY WIELKOŚCIĄ DAWKI INFEKCYJNEJ A ROZWOJEM ZAKAŻENIA NOSEMOZĄ U PSZCZOŁY MIODNEJ *APIS MELLIFERA* L. – BADANIA WSTĘPNE

Ewelina Berbec\*, Agata Kuklińska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław  
Studenckie Koło Naukowe Pszczelarzy „Apis”

\*e-mail: ewelanina.nina@gmail.com

## Streszczenie

Nosemoza należy do najpowszechniejszych chorób pszczoły miodnej. Jako że wciąż brak jest skutecznego i bezpiecznego środka do walki z tą chorobą, obecnie wiele badań skupia się na poszukiwaniu leku i testowaniu różnorodnych substancji. Wciąż jednak niewiele wiadomo o samej biologii rozwoju choroby i czynnikach, które na nią wpływają.

Celem badań było sprawdzenie, czy wielkość dawki infekcyjnej sporami *Nosema* spp. wpływa bezpośrednio na rozwój nosemozy u robotnic pszczoły miodnej *Apis mellifera* L. Badania wykazały, że końcowa kontaminacja pszczół sporami *Nosema* spp. nie była ściśle zależna od dawki infekcyjnej. Zaobserwowana została duża zmienność poziomu zakażenia w obrębie grupy doświadczalnej. Wskazuje to na istotny wpływ innych czynników na rozwój zakażenia nosemozą, co jest interesującym kierunkiem dalszych badań.

**Słowa kluczowe:** pszczoła miodna, *Apis mellifera*, nosemoza, *Nosema*

## 1. Wprowadzenie

### 1.1. Pszczoła miodna

Pszczoła miodna *Apis mellifera* L., dzięki zdolności do magazynowania pokarmu na zimę w postaci miodu, jest atrakcyjnym obiektem chowu i hodowli w pasiekach na całym świecie. Obecnie występuje na wszystkich kontynentach, z wyjątkiem Antarktydy, i pełni nieocenioną rolę w zapyłaniu roślin dzikich i uprawnych. Jednak rozprzestrzenienie jednego gatunku na tak ogromnym obszarze oraz swobodny ogólnoswiatowy handel i transport mają swoją cenę. To doskonała okazja do dyspersji patogenów, z której skorzystały: *Nosema ceranae* – mikrosporidium wywołujące nosemozę i *Varroa destructor* – roztocznik wywołujący warrozę [7, 14].

Współczesny świat stawia przed populacją pszczoły miodnej wiele wyzwań: oprócz chorób zagrażają jej m.in. pestycydy, zanieczyszczenia środowiska, spadek bioróżnorodności, zmiany klimatu czy pole elektromagnetyczne [7, 8, 10].

## 1.2. Nosemoza

Nosemoza (*nosemosis apium*) jest jedną z najpowszechniejszych chorób pszczoły miodnej. Jest ona wywoływana przez patogeniczne mikrosporidia: *Nosema apis* i *Nosema ceranae*. *N. apis* jest patogenem od dawna wykrywanym u pszczoły; wywołuje nosemozę typu A, która charakteryzuje się widocznymi objawami (biegunka pszczół, osłabienie rodziny, osypy zimowe) i jej rozwój wykazuje sezonowość. Z kolei *N. ceranae* jest stosunkowo nowym patogenem dla pszczoły miodnej, wywołuje nosemozę typu C, która często ma przebieg utajony bez wyraźnych objawów, zaś rozwój infekcji nie wykazuje sezonowości, osłabia rodzinę pszczelą i często powoduje trudne do przewidzenia nagłe osypy [8, 15]. Wykazano, że infekcja *Nosema ceranae* wywołuje stres energetyczny, głód jest przyczyną podwyższonej śmiertelności pszczół. Ponadto odczuwające głód pszczoły są skłonne do bardziej ryzykownych działań w celu zdobycia pożywienia, w tym dalszych lotów, co także przyczynia się do zmniejszenia liczebności rodziny [9]. Nosemoza jest jednym z czynników wywołujących zespół masowego ginięcia pszczoły miodnej – CCD (ang. Colony Collapse Disorder) [5]. Poza tym zwiększa ryzyko zachorowania rodziny na inne choroby, m.in. grzybicę otorbielakową czerwii [4].

*Nosema apis* i *Nosema ceranae* to jednokomórkowe organizmy należące do mikrosporidiów – taksonu obecnie zaliczane do grzybów. Występują w dwóch formach: wegetatywnej – wyłącznie w komórkach organizmu żywiciela i zarodnikowej – w przewodzie pokarmowym pszczoły oraz na zewnątrz organizmu. Infekują głównie komórki nabłonka jelita środkowego. Spory w dużej mierze występują w jelicie pszczoły i są wydalane wraz z kałem, który jest słodki i przez to chętnie zlizywany przez inne pszczoły, przyczyniając się do ich zakażenia [8, 15]. W mniejszej ilości spory występują także w gruczołach gardzielowych – mogą przyczyniać się do zakażenia pszczół w rodzinie poprzez trofalaksję [14].

Badając poziom zakażenia pszczoły za pomocą mikroskopu optycznego metodą hemocytometryczną (z wykorzystaniem komory zliczeniowej), możemy wykryć jedynie postać zarodnikową nosemy, postać wegetatywna nie jest widoczna. Po samym kształcie i wymiarach spor trudno jest w wielu przypadkach jednoznacznie określić ich przynależność gatunkową. Zazwyczaj do badań wykorzystuje się same odwłoki pszczół, gdyż znajduje się tam najczęściej spor *Nosema* spp., a przy tym jest dużo mniej resztek ciała pszczoły. Poziom zakażenia można też badać, wykorzystując reakcję łańcuchowej polimerazy – PCR. Umożliwia ona identyfikację gatunkową oraz określenie poziomu zakażenia, przy czym wykrywana jest tutaj zarówno postać zarodnikowa, jak i wegetatywna. Z tego względu wyników nie można bezpośrednio porównywać z wynikami innych badań uzyskanych metodą mikroskopii optycznej [3]. W niektórych przypadkach, np. gdy badamy infekcyjność, bardziej przydatne będą badania mikroskopowe, ponieważ znana jest wtedy liczba spor, a to one są wektorem choroby [1].

## 2. Materiał i metody badawcze

### 2.1. Przygotowanie zawiesiny spor *Nosema* spp. do zakażenia

Zawiesinę spor *Nosema* spp. sporządzono poprzez rozgniecenie w móżdżerku kilku pszczoł w 0,6% roztworze soli fizjologicznej, w proporcji 1 ml na pszczołę. Sprawdzono pod mikroskopem, czy zawiesina zawiera spory. Następnie przesączona została przez gazę w celu pozbycia się elementów pancerza chitynowego pszczoł. Po umieszczeniu w próbkówkach typu Eppendorf zawiesina była wirowana przez 3 min pod 2000 g, aby zagęścić spory w zawieszynie i ją oczyścić. Powstały osad rozcieńczono w niewielkiej ilości 0,6% roztworu soli fizjologicznej i posługując się metodą hemocytometryczną zliczania ilości spor w komorze zliczeniowej Thoma, wyliczano odpowiednią objętości roztworu soli fizjologicznej, którą należy dodać, aby sporządzić zawiesinę spor *Nosema* spp. o koncentracji  $10^8$  spor/ml.

### 2.2. Doświadczenie klatkowe

Badania były prowadzone na przełomie sierpnia i września 2019 roku. Z niezakażonych nosemozą rodzin pszczelich (czyli takich, z których wcześniej pobrano próbki po 30 pszczoł i analiza metodą hemocytometryczną pod mikroskopem optycznym nie wykazała obecności spor *Nosema* spp.) pobrano do doświadczenia ramki z dojrzałym czerwem, które umieszczono w cieplarni. Po wygryzieniu pszczoły przeniesiono do klatek doświadczalnych po 60 na klatkę i karmiono 50% roztworem cukrowym. Klatki podzielono na cztery grupy badawcze obejmujące po 2 klatki oraz grupę kontrolną – 1 klatka. Siódmego dnia po wygryzieniu pszczoły w grupach badawczych zostały zakażone nosemozą grupowo poprzez podanie w klatkach doświadczalnych syropu cukrowego z dodatkiem spor *Nosema* spp. w następujących koncentracjach:

- $10^6$  spor/ml syropu – grupa A
- $10^5$  spor/ml syropu – grupa B
- $10^4$  spor/ml syropu – grupa C
- $10^3$  spor/ml syropu – grupa D

Syrop do zakażenia uzyskano poprzez rozpuszczenie opisanej w poprzednim podrozdziale świeżo sporządzonej zawiesiny spor w syropie cukrowym w odpowiednich proporcjach. Zakażający syrop był dostępny dla pszczoł przez dobę. Po tym czasie został zastąpiony czystym syropem cukrowym, który był podawany pszczołom do końca doświadczenia. Średnią dawkę spor na pszczołę w klatce obliczono na podstawie koncentracji spor w syropie, objętości spożytego zakażającego syropu na klatkę odczytanej z dokładnością 0,1 ml oraz liczby pszczoł w klatce. Grupa kontrolna karmiona była wyłącznie syropem cukrowym przez cały okres doświadczenia. Co 1–4 dni spisywano pobranie syropu i upadki, usuwano martwe osobniki oraz wymieniano syrop na świeży. Klatki podczas doświadczenia trzymane były w kontrolowanych warunkach (temperatura:  $28^{\circ}\text{C}$  i wilgotność:  $70\pm 5\%$ ).

Piętnastego dnia po zakażeniu (22. od wygryzienia pszczoł) doświadczenie zostało zakończone. Kontaminacja pszczoł sporami została zbadana metodą hemocytometryczną, wykorzystując komorę zliczeniową Thoma: rozcierano w móżdżerku 10 odwłoków pszczoł, dodawano 10 ml wody destylowanej; po wymieszaniu kroplę zawiesiny umieszczano na

złożonej komorze Thoma i po chwili, gdy spory osiadły na dnie komory, zliczano je z 16 dużych kwadratów. Z każdej grupy pobierano 3 razy po 10 pszczoł do badań, uzyskując trzy zawiesiny; każdą zawiesinę badano trzykrotnie.

### 2.3. Analiza statystyczna

Do analizy statystycznej wykorzystano pakiet R, wersja 3.4.4 oraz program RStudio. Analizę przeżycia przeprowadzono w wykorzystaniem krzywej Kaplana-Mayera.

## 3. Wyniki

Pobranie syropów zakażających o różnej koncentracji spor i czystego syropu w grupie kontrolnej nie różniło się istotnie pomiędzy grupami (test Kruskala-Wallisa:  $p \approx 0,105$ ). Szczegółowe dane na temat średniej pobranej dawki na pszczołę z podziałem na grupy doświadczalne przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Dane na temat dawek zakażających

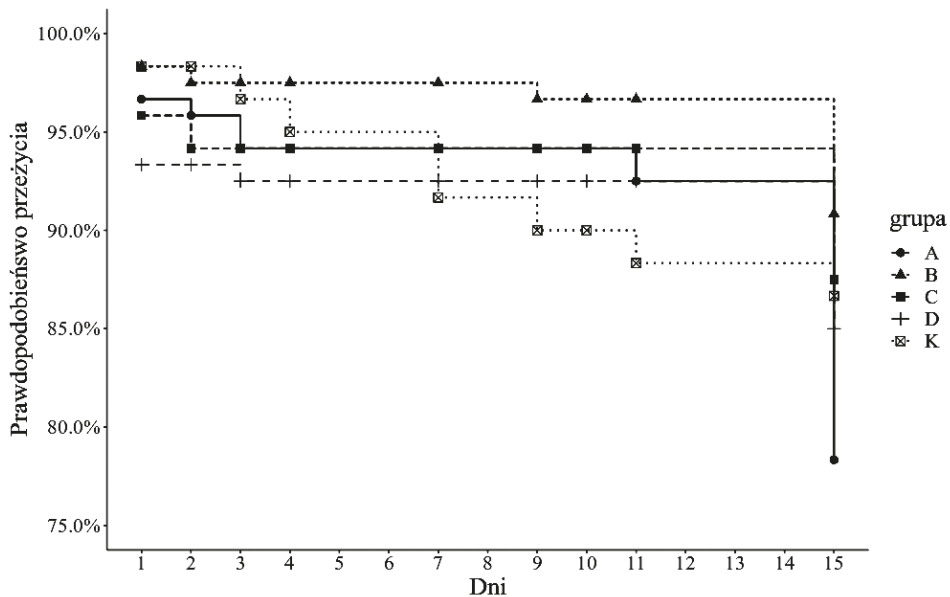
Grupa	Pobranie syropu zakażającego na klatkę	Koncentracja spor <i>Nosema</i> spp. w syropie	Dawka spor na pszczołę	Średnia dawka spor na pszczołę w grupie
A	1,6	$10^6$	26667	25000
	1,2		23333	
B	1,2	$10^5$	2000	2000
	1,2		2000	
C	1,8	$10^4$	300	300
	1,8		300	
D	1,8	$10^3$	30	32
	2,0		33	
K	2,2	0	0	0

Źródło: opracowanie własne

Wykres przeżywalności pszczoł podczas doświadczenia przedstawia rysunek 1. Przeżywalność nie różniła się istotnie między grupami (test log-rank:  $p = 0,1$ ).

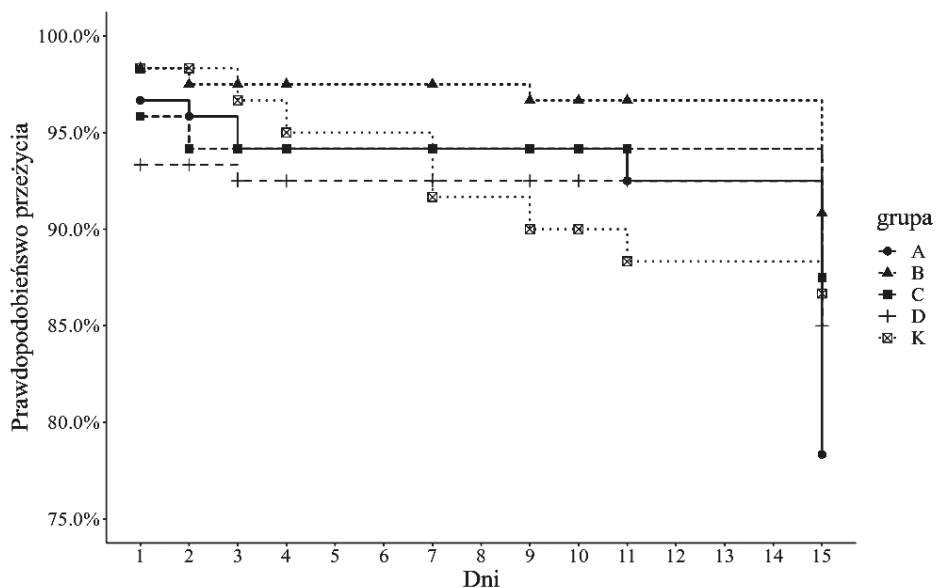
Pobranie syropu przez okres doświadczenia nie wykazało istotnych różnic (test Kruskala-Wallisa:  $p \approx 0,532$ ); średnie dzienne pobranie syropu na pszczołę wynosiło 17  $\mu$ l.

Kontaminacja pszczoł po 15 dniach od zakażenia została przedstawiona na rysunkach 2 i 3. Na rysunku 2 potraktowano dawki jako cechę jakościową, żeby porównać wyniki między grupami, analiza za pomocą testu Kruskala-Wallisa wykazała istotne różnice między nimi, jednak bez prostego związku większa dawka – wyższa kontaminacja. Natomiast na rysunku 3 dawkę potraktowano jako cechę ilościową, aby lepiej przedstawić rzeczywiste interakcje między dawką zaprezentowaną w odpowiedniej skali a poziomem infekcji. Test korelacji Spearmana nie wykazał istotnej zależności między dawką a poziomem infekcji ( $\rho \approx 0,475$ ,  $p \approx 0,07$ ). Analiza regresji liniowej wykazała słabą liniowość danych ( $R^2 \approx 0,415$ ,  $p \approx 0,0095$ ).



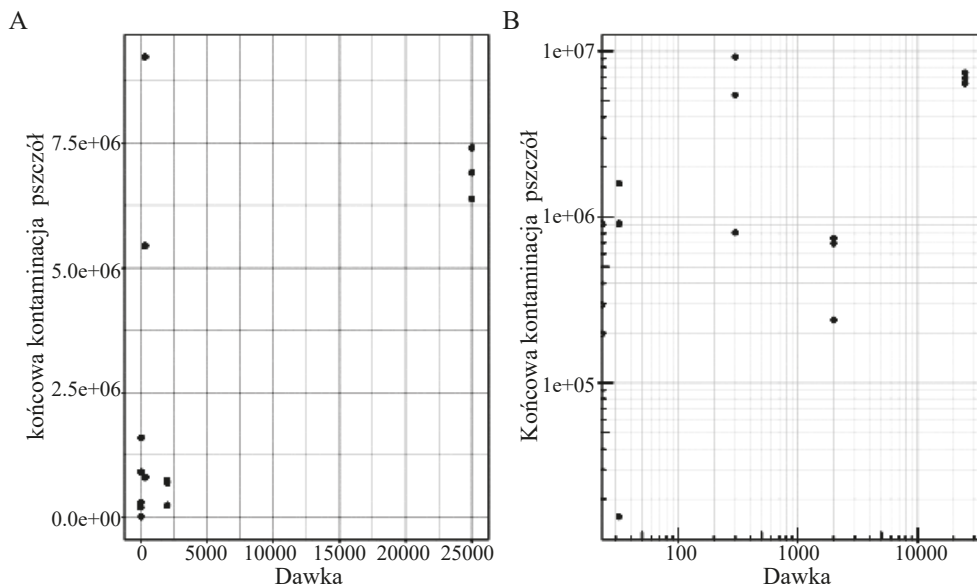
Źródło: opracowanie własne

Rys. 1. Przeżywalność pszczoł w trakcie doświadczenia z podziałem na grupy



Źródło: opracowanie własne

Rys. 2. Poziom zakażenia pod koniec doświadczenia. Literami a-c oznaczono wskazaną przez test Kruskalla-Wallisa istotność różnic między grupami ( $p < 0,05$ , natomiast dla testu  $\chi^2$   $p \approx 0,07$ )



Źródło: opracowanie własne

**Rys. 3.** Wyniki kontaminacji pszczoł po 12 dniach od zakażenia w zależności od podanej dawki; A – obie osie wykresu w skali liniowej, B – obie osie w skali logarytmicznej

## 4. Dyskusja

Wyniki nie wykazały silnej liniowej zależności między dawką a poziomem infekcji, jednak przy wyższych dawkach widać tendencję wyższego poziomu zakażenia. Możliwe, że gdyby doświadczenie było bardziej rozbudowane, trend byłby wyraźniejszy. Ciekawe wyniki uzyskali Eiri i wsp. [1] po podaniu dawki 10 000 i 40 000 spor 3-dniowym larwom pszczelim. Mniejsza dawka prowadziła do znacznie wyższego poziomu infekcji w stadium dojrzałym niż dawka wyższa. Zostało to wytłumaczone prawdopodobnym wpływem aktywacji układu immunologicznego – przy wyższej dawce uległ on wzmożonej aktywacji, co ograniczyło rozwój choroby; natomiast dawka niższa nie wywołała takiej reakcji i infekcja rozwinęła się z większym sukcesem.

W badaniach Porriniego i wsp. [13], gdzie pszczoły były zakażane dawką  $4,6 \times 10^4$ ,  $2,3 \times 10^5$  i  $1,15 \times 10^6$  sporami *N. ceranae*, była bardzo wysoka śmiertelność grupy karmionej samym syropem cukrowym, przez co nie zbadano poziomu zakażenia pszczoł pod koniec doświadczenia (po 12 dniach od zakażenia). Z danych na temat kontaminacji pszczoł po 9 dniach od zakażenia wyraźnie widać jego wyższy poziom po podaniu większej dawki zakażającej. W badaniach własnych śmiertelność we wszystkich grupach była niska, mimo że pszczoły dostawały ten sam pokarm. Różnica w przeżywalności może wynikać z wielkości dawki infekcyjnej, gatunku *Nosemy* i metody zakażenia: w badaniach własnych dawki były niższe, *Nosema* nie była rozróżniana gatunkowo, a zakażanie przeprowadzono grupowo, co daje generalnie niższy poziom zakażenia niż w przypadku zakażenia indywidualnego [16].

W badaniach własnych zakażano pszczoły w wieku 7 dni od wygryzienia. Wiek pszczoł w momencie zakażenia ma istotne znaczenie w rozwoju infekcji. W metodyce badań nosemozy u pszczoły miodnej zaleca się infekować pszczoły w wieku 2–5 dni, by uniknąć znacznej śmiertelności. Natomiast dawka, która ma zainfekować wszystkie osobniki, została określona w granicach 10 000–33 000 spor/pszczołę [3]. W badaniach Urbietta-Magro i wsp. [16] zakażano pszczoły sporami *Nosema ceranae* dawką 114 000 spor/pszczołę i po 7 dniach od zakażenia badano poziom infekcji metodami genetycznymi. W grupach zakażanych 0–1 dni od wygryzienia poziom infekcji był znacznie wyższy niż w pozostałych grupach; pszczoły zakażane w późniejszym momencie życia wykazywały niższy poziom infekcji, najniższy u najpóźniej zakażonych (ok. 10.–16. dnia). Również wartości  $ID_{50}$  i  $ID_{100}$  różniły się u pszczoł zakażanych w różnym wieku. W badaniach Huang i wsp. [6] u pszczoł zakażanych w wieku poniżej 1 doby wartości  $ID_{50}$  i  $ID_{100}$  były najwyższe, czyli w tej grupie potrzeba było dużo wyższej dawki spor do zakażenia odpowiednio 50 i 100% osobników niż w pozostałych grupach (zakażanych w wieku 5 i 14 dni). Duże różnice w wartościach  $ID_{50}$  i  $ID_{100}$  występują również między gatunkami patogennych mikrosporidiów: *Nosema ceranae* osiągała wyższe wartości tych współczynników niż *Nosema apis*, czyli trzeba było wyższej dawki spor do zainfekowania tej samej liczby osobników [6]. Badania Forsgren i Fries [2] także wskazują na różnice infekcyjności tych gatunków: *Nosema ceranae* wywoływała infekcję u większej ilości osobników w przypadku niskich dawek (10, 100 spor/pszczołę), po podaniu wyższych dawek spor (1000 i 10 000) poziom infekcji u obu gatunków nie różnił się.

Oprócz wieku pszczoł, dawki, gatunku *Nosemy* i diety istotnym czynnikiem wpływającym na wyniki okazała się różnica w infekcyjności spor pobranych od różnych podgatunków pszczoł [12]. W badaniach własnych wykorzystano wyłącznie spory pochodzące od *Apis mellifera carnica*, czyli pszczoły miodnej kraińskiej.

Co ciekawe, nie wykazano różnic w pobraniu syropów zakażających w grupach doświadczalnych i zwykłego syropu w grupie kontrolnej. Zazwyczaj w badaniach nad nosemozą, gdy pszczoły są zakażane grupowo, podaje im się niewielką ilość syropu zakażającego, tak by pobrały całość, i wtedy założona dawka zostaje pobrana na klatkę [3, 16]. Niesprawdzone jest, jaką ilość syropu pobrałyby, gdyby było go więcej. Rozszerzenie tego doświadczenia na więcej dawek i zbadanie liczby zainfekowanych pszczoł na klatkę oraz zmienności zakażenia w jej obrębie, a następnie porównanie wyników z zakażaniem grupowym, ale z ograniczoną dawką zakażającą może dać ciekawe wyniki.

Grupa kontrolna pod koniec doświadczenia także okazała się być zakażona, choć w stosunkowo niewielkim stopniu. Rodzina pszczela, z której pobrano ramki z dojrzałym czerwiem do doświadczenia, została wcześniej przebadana pod kątem obecności spor *Nosemy* i zakażenie nie zostało wykryte. Spośród wygryzionych pszczoł, które były przekładane do klatek doświadczalnych, zbadano również losowo wybrane pszczoły. Do badań wykorzystano mikroskop optyczny, który jest w stanie wykryć jedynie formę zarodnikową *Nosemy*, forma wegetatywna jest niewykrywalna tą metodą. Ponadto nie jest możliwe przyżyciowe sprawdzenie, czy wszystkie pszczoły brane do doświadczenia są wolne od nosemozy. Prawdopodobnie rodzina, z której pobrano pszczoły do doświadczenia, była zakażona. W niedużym stopniu i tylko niewielka część pszczoł była zakażona (bazując na opracowaniu statystycznym do badań na pszczołach [11], do wykrycia patogenu z 95% prawdopodobieństwem potrzebna jest próbka większa niż 30 pszczoł, gdy zakażonych jest mniej niż 1 na 10 osobników. Idąc tym tropem, można przypuszczać, że w każdej klatce doświadczalnej zakażonych było mniej niż 6/60 pszczoł. Biorąc pod uwagę, że do badania zakażenia rodziny wybierano

osobniki najstarsze, u których jest największe prawdopodobieństwo infekcji, ta liczba może być znacznie niższa. Możliwe, że pszczoły zostały zakażone już w okresie larwalnym [1].

## Podsumowanie

Celem badań było sprawdzenie, czy poziom zakażenia nosemozą u pszczoł robotnic zależy od podanej dawki zakażającej. Badania nie wykazały korelacji między dawką spor *Nosema* spp. a poziomem infekcji po 15 dniach od zakażenia. Rozszerzenie tego doświadczenia na więcej dawek zakażających i zbadanie ich wpływu na odpowiedź immunologiczną pszczoły oraz innych czynników wpływających na rozwój zakażenia może być ciekawym tematem dalszych badań.

## Literatura

- [1] Eiri D.M., Suwannapong G., Endler M., Nieh J.C., 2015. *Nosema ceranae* can infect honey bee larvae and reduces subsequent adult longevity. PLoS ONE, 10, e0126330.
- [2] Forsgren E., Fries I., 2010. Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. Veterinary Parasitology, 170, s. 212–217.
- [3] Fries I., Chauzat M.-P., Chen Y.-P., Doublet V., Genersch E., Gisder S., Higes M., McMahon D., Martín-Hernández R., Natsopoulou M., Paxton R. J., Tanner G., Webster T.C., Williams G.R., 2013. Standard methods for *Nosema* research. Journal of Apicultural Research, 52(1), s. 1–28.
- [4] Hedtke K., Jensen P.M., Jensen A.B., Genersch E., 2011. Evidence for emerging parasites and pathogens influencing outbreaks of stress-related diseases like chalkbrood. Journal of Invertebrate Pathology, 108(3), s. 167–173.
- [5] Higes M., Martín-Hernández R., Botías C., Bailón E.G., González-Porto A.V., Barrios L., del Nozal M.J., Palencia P.G., Meana, A., 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. Environmental Microbiology, 10(10), s. 2659–2669.
- [6] Huang W.F., Solter L., Aronstein K., Huang Z., 2015. Infectivity and virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in commercially available North American honey bees. Journal of Invertebrate Pathology, 124, s. 107–113.
- [7] Le Conte Y., Navajas M., 2008. Climate change: Impact on honey bee populations and diseases. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics), vol. 27(2), s. 499–510.
- [8] Martín-Hernández R., Bartolome C., Chejanovsky N., Le Conte Y., Dalmon A., Dusaubat C., García-Palencia P., Meana A., Pinto M., Soroker V., Higes M., 2018. *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years' post-detection perspective: *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*. Environmental Microbiology, vol. 20(4), s. 1302–1329.
- [9] Mayack C., Naug D., 2009. Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. Journal of Invertebrate Pathology, 100, s. 185–188.
- [10] Morawetz L., Köglberger H., Griesbacher A., Derakhshifar I., Crailsheim K., Brodschneider R., Moosbeckhofer R., 2019. Health status of honey bee colonies (*Apis mellifera*) and disease-related risk factors for colony losses in Austria. PLOS ONE, 14(7), e0219293.



- [11] Pirk C., de Miranda J., Kramer M., Murray T., Nazzi F., Shutler D., Van der Steen J., van Dooremalen C., 2013. Statistical guidelines for *Apis mellifera* research. *Journal of Apicultural Research*, 52 (4), s. 1–22.
- [12] Porrini L.P., Porrini M.P., Garrido M.P., Müller F., Arrascaeta L., Fernández Iriarte P.J., Eguaras M.J., 2020. Infectivity and virulence of *Nosema ceranae* (Microsporidia) isolates obtained from various *Apis mellifera* morphotypes. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 168, s. 286–294.
- [13] Porrini M., Sarlo E., Medici S., Garrido M., Porrini D., Damiani N., Eguaras M., 2011. *Nosema ceranae* development in *Apis mellifera*: Influence of diet and infective inoculum. *Journal of Apicultural Research*, 50, s. 35–41.
- [14] Ptaszyńska A., Borsuk G., Anusiewicz M., Mułenko W., 2012. Location of *Nosema spp.* spores within the body of the honey bee. *Medycyna Weterynaryjna*, vol. 68(10), s. 618–621.
- [15] Ptaszyńska A., Mułenko W., 2013. Wybrane aspekty budowy, taksonomii oraz biologii rozwoju mikrosporydiów z rodzaju *Nosema*. *Medycyna Weterynaryjna*, vol. 69(12), 716–725.
- [16] Urbietta-Magro A., Higes, M., Meana A., Barrios L., Martín-Hernández R., 2019. Age and method of inoculation influence the infection of worker honey bees (*Apis mellifera*) by *Nosema ceranae*. *Insects*, 10, 417.

## THE EVALUATION OF INFECTION DOSE ON NOSEMOSIS DEVELOPMENT IN HONEYBEE *APIS MELLIFERA* L. – PRELIMINARY STUDIES

### Abstract

Nosemosis is one of the most widespread honeybee disease. As still is lack of efficient and secure treat, actually many research are focusing on looking for drug and testing miscellaneous substances. But still the knowledge about biology of disease development and factors influencing on it.

The aim of this study was to evaluate the infection dose of *Nosema* sp. spores impact on disease development in honeybee *Apis mellifera* L. workerbees. Research showed the contamination of spores at the end of experiment was not strictly depend on infection dose. Big diversity in infection level within experimental group was observed. It indicates to significant impact of different factors on nosemosis infection development, what is interesting direction of further studies.

**Key words:** honeybee, *Apis mellifera*, nosemosis, *Nosema*

Opiekun naukowy: dr inż. Paweł Migdał

Recenzent: dr hab. inż. Adam Roman, prof. UPWr



# OSTEOPONTYNA – BIAŁKO O PODWÓJNYM ZNACZENIU W BIOLOGII TKANKI KOSTNEJ

Krzysztof Rutana

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, ul. Norwida 27B, 50-375 Wrocław

Interdyscyplinarne Koło Naukowe Biomedyków

e-mail: 110593@student.upwr.edu.pl

## Streszczenie

Osteopontyna (OPN) to wielofunkcyjne białko należące do rodziny małych wiążących integryn tzw. SIBLING. OPN bierze udział w procesach fizjologicznych, ale także patologicznych wielu komórek organizmu, w tym tkanki kostnej – osteoblastów i osteoklastów. Aktywnie uczestniczy w procesach kościotwórczych i kościogubnych, dlatego ma podwójne znaczenie w biologii tkanki kostnej. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem mysich preosteoblastów linii MC3T3 wykazały, że ekspresja OPN może być modulowana obecnością komórek kościotwórczych. Wykazano, że ko-hodowla komórek MC3T3 z mysimi preosteoklastami linii 4B12 skutkuje wzrostem ekspresji osteopontyny, zarówno na poziomie mRNA, jak i białka. Wynik ten wskazuje, że komórki kościotwórcze i kościogubne wpływają na ekspresję OPN oraz ekspresja ta jest wzajemnie hamowana przez preosteoblasty i preosteoklasty w ko-hodowli.

**Słowa kluczowe:** osteopontyna, tkanka kostna, preosteoblasty MC3T3, preosteoklasty 4B12

## 1. Wprowadzenie

Tkanka kostna (*textus osseus*) to rodzaj tkanki łącznej, której skład stanowi w około 95% istota międzykomórkowa: organiczna (osteoid) i nieorganiczna (sole mineralne) oraz w ok. 5% komórki (w tym osteoblasty, osteocyty i osteoklasty). Tkanka kostna tworzy kości, których rolą jest ochrona narządów wewnętrznych, lecz także spełnia rolę dźwigni, do których przyczepiają się mięśnie [14]. Matryca zewnątrzkomórkowa składa się głównie z włókien kolagenowych typu I oraz hydroksyapatytu. Zawiera jednak niekolagenowe białka, które znajdują się nie tylko na powierzchni komórek kostnych, ale również w macierzy pozakomórkowej. Przykładem takiego białka jest osteopontyna (OPN) [10].

### 1.1. Osteopontyna

Po raz pierwszy osteopontyna została opisana w 1979 roku, przez Sengera i wsp., jako potencjalny marker transformacji komórek nabłonkowych. Jednak swoją nazwę zawdzięcza odzwierciedleniu pełnionej funkcji w tkance kostnej jako cząsteczki pośredniczącej w mineralizacji kości (*osteo* – kość, *pontin* – most) [11]. OPN jest ufosforowaną kwaśną glikoproteiną należącą do rodziny małych wiążących integryn, tzw. SIBLING (ang. small integrin binding

ligand N-linked glycoprotein) [1]. Osteopontyna jest wszechstronnym białkiem znajdującym się nie tylko w tkance kostnej. Odkryto wiele form OPN, które różnią się drogą powstawania oraz wielkością cząsteczki [6, 20]. Białko to ulega ekspresji w komórkach tkanki kostnej (osteoblasty i osteoklasty), ale także w wielu innych komórkach organizmu, m.in. układu odpornościowego (limfocyty T, makrofagi, komórki NK oraz Kupffera), śródbłonna naczyń krwionośnych, nabłonkowych piersi, nerwowych, skóry, płuc oraz nerek [6, 11]. Ponadto znajduje się w płynach ustrojowych, a zwłaszcza w osoczu, żółci, mleku, nasieniu i moczu [8, 13].

Osteopontyna wchodzi w interakcję z receptorami integryn, w tym  $\alpha\beta1$ ,  $\alpha\beta3$ ,  $\alpha\beta5$ ,  $\alpha8\beta1$ ,  $\alpha4\beta1$ ,  $\alpha9\beta1$ , oraz ze specyficznymi receptorami CD44 [5]. Osteopontyna jest zaangażowana zarówno w procesy fizjologiczne, jak i patologiczne. Bierze aktywny udział w przebudowie kości, angiogenezie, gojeniu się ran i jest czynnikiem sprzyjającym akumulacji komórek zapalnych [19]. Badania donoszą, że ekspresja OPN jest ściśle związana z nowotworami, ich progresją, a przede wszystkim z przerzutami w kilku typach nowotworów złośliwych, do których można zaliczyć nowotwór piersi, prostaty, płuc, trzustki, żołądka, jelita grubego, czerniaka i glejaka [2, 6].

Masa cząsteczkowa osteopontyny waha się między 44–75 kDa, co jest zależne od modyfikacji potranslacyjnych. Modyfikacje te świadczą o różnicach w fizjologicznej funkcji, jakie OPN pełni w różnych tkankach. Poprzez swoją budowę osteopontyna jest wysoce ujemnie naładowanym białkiem. Zawarte 34 fosforylowane reszty seryny, a także dwie fosfotreoniny dają temu białku silny charakter anionowy [3, 8, 21]. Składa się z około 300 aminokwasów (314 u człowieka, 297 u myszy) [1]. Osteopontyna posiada specyficzny motyw trzech aminokwasów – arginina-glicyna-kwas asparaginianowy (RGD), umożliwiający wiązanie integryn, dzięki czemu pośredniczy w adhezji, migracji i aktywacji komórek [4, 7, 9]. W swojej strukturze ma również sekwencje wiążące wapń oraz hydroksyapatyt, niezależnie od domeny wiążącej receptory integrynowe [21].

## 1.2. Osteopontyna w biologii tkanki kostnej

Osteopontyna jako jedno z wielu białek macierzy zewnątrzkomórkowej kości jest fizjologicznym składnikiem tkanki kostnej i stanowi około 0,2% masy kości [9]. Synteza tego białka jest stymulowana przez kalcytriol, czyli aktywną biologicznie formę witaminy  $D_3$  (1-alfa-25-dihydroksycholekalcyferol) [12]. Rocznie w warunkach fizjologicznych około 15–30% tkanki kostnej gąbczastej i 10% tkanki kostnej zbitnej podlega wymianie. Wynika z tego, że składniki kośćca są wymieniane w 100% w ciągu 3–10 lat [17]. Przebudowa kości w trakcie życia ma kluczowe znaczenie w utrzymywaniu prawidłowej struktury szkieletu [15]. Polega na zachowaniu równowagi między resorpcją a tworzeniem macierzy pozakomórkowej tkanki kostnej [10]. Uważa się, że OPN ma podwójne znaczenie w biologii tkanki kostnej, ponieważ bierze równocześnie udział w tworzeniu, a co więcej także w resorpcji kości [15].

Przeprowadzone badania donoszą, że o ile większość innych białek niekolagenowych jest rozproszona jednakowo na całej powierzchni kości, o tyle osteopontyna najbardziej zebrana jest na liniach cementowych w przebudowanej kości oraz na powierzchni kostnych stykających się z komórkami zwanymi laminatami ograniczającymi. Wykazano, że OPN znajdująca się w tych miejscach pochodzi równocześnie od komórek kościogubnych (osteoklastów), jak i kościotwórczych (osteoblastów) [15, 16].

W procesach kościotwórczych osteoblasty syntetyzują strukturalne składniki istoty międzykomórkowej kości, takich jak: proteoglikany czy kolagen typu I, które są następnie odkładane w postaci organicznego osteoidu. Wytwarzana przez komórki kościotwórcze osteopontyna bierze aktywny udział w procesie wtórnej mineralizacji osteoidu. Jest to możliwe dzięki miejscu wiązania soli wapnia na OPN, które następnie są odkładane w macierzy kości w postaci hydroksyapatytów [9, 17].

Podczas resorpcji komórki kościogubne zostają związane w zatoce resorpcyjnej poprzez receptor integrynowy  $\alpha\beta3$ . Odbywa się to za pomocą sekwencji aminokwasowej RGD cząsteczki osteopontyny, która jest kluczowym ligandem dla receptorów w macierzy kostnej [9, 10].

Co więcej, wiązanie OPN z integryną  $\alpha\beta3$  odgrywa główną rolę w tworzeniu strefy uszczelnienia (izolacji) w aktywności osteoklastu. Strefa ta oddziela w osteoklaście przestrzeń resorpcji kości od pozostałej części komórki. Dodatkowo OPN- $\alpha\beta3$  moduluje wewnątrzkomórkowy  $\text{Ca}^{2+}$  poprzez uwalnianie  $\text{Ca}^{2+}$  z magazynów wewnątrzkomórkowych. Proces ten odbywa się przy udziale czynnika transkrypcyjnego NFATc1 (ang. nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1), który jednocześnie jest niezbędny podczas osteoklastogenezy, jak również warunkuje zwiększoną aktywność resorpcyjną dojrzałych osteoklastów [14, 15, 18].

Celem przeprowadzonych badań było porównanie wzrostu ekspresji osteopontyny na poziomie mRNA i białka w hodowli mysich preosteoblastów linii MC3T3 oraz w ko-hodowli mysich preosteoblastów linii MC3T3 z mysimi preosteoklastami linii 4B12.

## 2. Metodyka

### 2.1. Hodowla komórkowa

Hodowla komórkowa linii MC3T3 i bezpośrednia ko-hodowla komórek linii MC3T3 z 4B12 były prowadzona w stałych warunkach w inkubatorze w temperaturze 37°C i powietrzu wzbogaconym o 5%  $\text{CO}_2$  oraz wilgotności na poziomie 95%. Do hodowli komórkowej preosteoblastów linii MC3T3 zastosowano medium hodowlane tworzone przez pożywkę  $\alpha$ -MEM, z dodatkiem 10% bydlęcej surowicy płodowej (FBS). Przed rozpoczęciem ko-hodowli komórki preosteoklastów hodowano na kompletnym podłożu wzrostowym ( $\text{CGM}_{4B12}$ ), którego skład stanowi  $\alpha$ -MEM z dodatkiem 10% FBS oraz 30% CSCM.

W systemie ko-hodowli komórki linii MC3T3 wysiano w ilości  $3 \times 10^4$  na płytce 24-dółkowej. Po 24 godzinach od inokulacji wysiano komórki linii 4B12 w zagęszczeniu  $1 \times 10^4$ . Hodowle były utrzymywane w warunkach osteogennych w pożywce hodowlanej ( $\alpha$ -MEM) uzupełnionej czynnikami osteogennymi – 10 nM  $\beta$ -gliceryno sól disodowa fosforanu 5 hydratu oraz 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  kwasem askorbinowym. Pożywkę osteogenną wymieniano dwa razy w tygodniu.

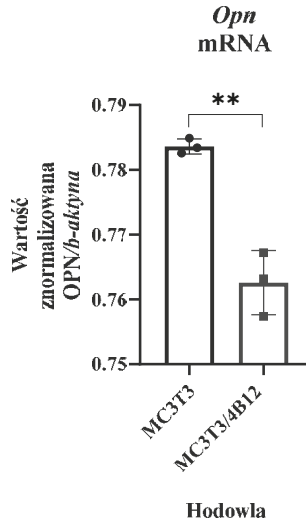
### 2.2. Ocena ekspresji osteopontyny

W celu określenia ekspresji osteopontyny na poziomie mRNA w hodowli preosteoblastów linii MC3T3 oraz ko-hodowli preosteoblastów linii MC3T3 z preosteoklastami linii 4B12 użyto metody qPCR. Na obu hodowlach określono również ekspresję osteopontyny na poziomie białka metodą Western Blotting.

### 3. Wyniki

#### 3.1. Wyniki ekspresji osteopontyny na poziomie mRNA

Analiza wyników qPCR przedstawiona na rysunku 1 wykazała ekspresję mRNA dla *Opn* zarówno w hodowli pre-osteoblastów linii MC3T3, jak i ko-hodowli linii preosteoblastów linii MC3T3 z preosteoklastami linii 4B12. Co więcej, ekspresja mRNA w hodowli komórek kościotwórczych MC3T3 jest znacząco wyższa względem ko-hodowli z komórkami kościogubnymi 4B12. Do normalizacji użyto białka  $\beta$ -aktyny.

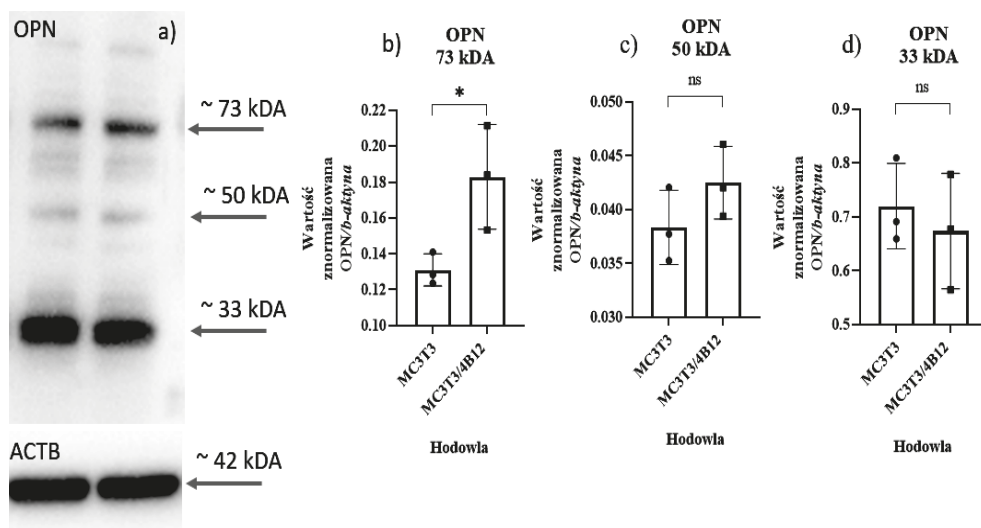


Źródło: opracowanie własne

**Rys. 1.** Profil ekspresji *Opn* mRNA w hodowli preosteoblastów linii MC3T3 oraz ko-hodowli preosteoblastów linii MC3T3 z preosteoklastami linii 4B12. Różnice istotnie statystycznie oznaczono gwiazdką (\*\*  $p < 0,01$ )

#### 3.2. Wyniki ekspresji osteopontyna poziomie białka

Analiza wyników uzyskana metodą Western blot przedstawiona na rysunku 2 wykazała obecność trzech pasm immunoreaktywnych dla OPN o różnych masach cząsteczkowych wynoszących około 73, 50 i 33 kDa (rys. 2a). Ekspresja osteopontyny o masie cząsteczkowej 73 kDa (rys. 2b) była istotnie większa w ko-hodowli komórek kościotwórczych z kościogubnymi niż samej hodowli komórek kościotwórczych. Ponadto, przy masie cząsteczkowej 50 kDa (rys. 2c), ekspresja OPN również była wyższa w ko-hodowli, lecz w tej sytuacji różnica między hodowlą MC3T3 a ko-hodowlą MC3T3/4B12 była widocznie mniejsza. Jedynie analiza ekspresji osteopontyny o masie cząsteczkowej 33 kDa (rys. 2d) wykazała większą ekspresję białka OPN w hodowli preosteoblastów linii MC3T3, niż w ko-hodowli preosteoblastów linii MC3T3 z preosteoklastami linii 4B12.



Źródło: opracowanie własne

**Rys. 2.** Profil ekspresji osteopontyny (OPN) na poziomie białka w hodowli preosteoblastów linii MC3T3 i ko-hodowli preosteoblastów linii MC3T3 z preosteoklastami linii 4B12. Do normalizacji użyto białka  $\beta$ -aktyny (ACTB). Reprezentowane prążki są przedstawione na wykresie (a), natomiast na wykresach (b–d) przedstawiono analizę statystyczną wykrytych ciężarów białek.

Różnice istotnie statystycznie oznaczono gwiazdką (\*  $p < 0,05$ ), a nieistotne statystycznie oznaczono jako ns

## 4. Podsumowanie

Badania wykazały ekspresję osteopontyny w monokulturach komórek prekursorowych osteoblastów linii MC3T3, jak również w ich ko-hodowli z preosteoklastami linii 4B12. Profil ekspresji osteopontyny może być regulowany obecnością komórek kościogubnych, co wykazano zarówno na poziomie mRNA, jak i białka (73, 50 i 30 kDa). Obniżony poziom ekspresji mRNA dla *Opn* w ko-hodowlach ( $p < 0,05$ ) koresponduje z obniżoną sekrecją białka o masie cząsteczkowej 33 kDa. Jednak w ko-hodowli komórek MC3T3 z preosteoklastami wzrasta produkcja OPN o masie cząsteczkowej 73 kDa, co potwierdza istotną rolę tego białka w regulacji aktywności komórek kościogubnych, jak również w regulacji interakcji osteoblast-osteoklast. Produkcja białka o różnej masie cząsteczkowej może być związana z modyfikacjami potranslacyjnymi, a co za tym idzie, może być znacząca w kontekście pełnionych funkcji biologicznych na różnych etapach rozwoju komórek układu kostnego. Cały proces przebudowy kości musi zachodzić w równowadze między komórkami kościotwórczymi a kościogubnymi. Równowagę tę widać także w profilu ekspresji osteopontyny, zarówno ze strony osteoblastów (gdzie OPN bierze udział w mineralizacji kości), jak i osteoklastów (gdzie OPN uczestniczy w migracji osteoklastów i ich wiązaniu w zatoce resorpcyjnej). Badania te potwierdziły podwójne znaczenie OPN w biologii tkanki kostnej.

## 5. Finansowanie

*Badania wykonane w ramach grantu pt. „Nowe, dwustopniowe rusztowania na bazie nanoapatytu wapnia (nHAP) inkorporowanego nanotlenkami żelaza (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) z funkcją kontrolowanego uwalniania miRNA w statycznym polu magnetycznym do regeneracji złamań kostnych u pacjentów osteoporotycznych” finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (UMO 2017/26/M/NZ5/01184), którego kierownikiem jest prof. Krzysztof Marycz.*

### Literatura

- [1] Cao H., Cao B., Heazlewood C.K., Domingues M., Sun X., Debele E., McGregor N.E., Sims N.A., Heazlewood S.Y., Nilsson S.K., 2019. Osteopontin is an important regulatory component of the fetal bone marrow hematopoietic stem cell niche. *Cells*, vol. 8 (9), 985, doi: 10.3390/cells8090985.
- [2] Castello L.M., Raineri D., Salmi L., Clemente N., Vaschetto R., Quaglia M., Garzaro M., Gentili S., Navalesi P., Cantaluppi V., Dianzani U., Aspesi A., Chiocchetti A., 2017. Osteopontin at the crossroads of inflammation and tumor progression. *Mediators of Inflammation*, vol. 2017: 4049098, doi: 10.1155/2017/4049098.
- [3] Clemente N., Raineri D., Cappellano G., Boggio E., Favero F., Soluri M.F., Dianzani C., Comi C., Dianzani U., Chiocchetti A., 2016. Osteopontin Bridging Innate and Adaptive Immunity in Autoimmune Diseases. *Journal Immunology Research*, vol. 2016: 7675437, doi: 10.1155/2016/7675437.
- [4] Courter D., Cao H., Kwok S., Kong C., Banh A., Kuo B., Vice C., Brustugun O.T., Denko N.C., Koong A.C., Giaccia A., 2010. The RGD domain of human osteopontin promotes tumor growth and metastasis through activation of survival pathways. *PLoS ONE*, vol. 5 (3): e9633, doi: 10.1371/journal.pone.0009633.
- [5] Danzaki K., Kanayama M., Alcazar O., Shinohara M.L., 2016. Osteopontin has a protective role in prostate tumor development in mice. *European Journal of Immunology*, vol. 46 (11), s. 2669–2678, doi: 10.1002/eji.201646391.
- [6] Hao C., Cui Y., Owen S., Li W., Cheng S., Jiang W.G., 2017. Human osteopontin: Potential clinical applications in cancer (Review). *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 39 (6), s. 1327–1337, doi: 10.3892/ijmm.2017.2964.
- [7] Kim I.D., Lee H., Jin Y.C., Lee J.K., 2017. Osteopontin peptide icosamer containing RGD and SLAYGLR motifs enhances the motility and phagocytic activity of microglia. *Experimental Neurobiology*, vol. 26 (6), s. 339–349, doi: 10.5607/en.2017.26.6.339.
- [8] Lis J., Orczyk-Pawłłowicz M., Kątnik-Prastowska I., 2013. Białka mleka ludzkiego zaangażowane w procesy immunologiczne. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, vol. 67, s. 529–547, doi: 10.5604/17322693.1051648.
- [9] Lis K., 2008. Rola osteopontyny w patogenezie zapalenia stawów. *Reumatologia*, vol. 46 (4), s. 240–244.
- [10] Luukkonen J., Hilli M., Nakamura M., Ritamo I., Valmu L., Kauppinen K., Tuukkanen J., Lehenkari P., 2019. Osteoclasts secrete osteopontin into resorption lacunae during bone resorption. *Histochemistry and Cell Biology*, vol. 151 (5), s. 475–487, doi: 10.1007/s00418-019-01770-y.



- [11] Mrochem J., Bartnik W., 2008. Osteopontyna – nowy marker w chorobach nowotworowych. *Współczesna Onkologia*, vol. 12 (8), s. 349–353.
- [12] Reinholt F.P., Hulthén K., Oldberg A., Heinegård., 1990. Osteopontin – a possible anchor of osteoclasts to bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 87 (12), s. 4473–4475, doi: 10.1073/pnas.87.12.4473.
- [13] Ritting S.R., Matsumoto H.N., Mickee M.D., Nanci A., An X.R., Novick K.E., Kowalski A.J., Noda M., Denhardt D.T., 1998. Mice lacking osteopontin show normal development and bone structure but display altered osteoclast formation *in vitro*. *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 13 (7), doi: 10.1359/jbmr.1998.13.7.1101.
- [14] Sawicki W., Malejczyk J., 2017. *Histologia*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa s. 191–196.
- [15] Singh A., Gill G., Kaur H., Amhmed M., Jakhu H., 2018. Role of osteopontin in bone remodeling and orthodontic tooth movement: a review. *Progress in orthodontics*, vol. 19 (1): 18, doi: 10.1186/s40510-018-0216-2.
- [16] Sodek J., Ganss B., McKee M.D., 2000. Osteopontin. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, vol. 11 (3), s. 279–303.
- [17] Stawińska N., Ziętek M., Kochanowska I., 2005. Molekularne procesy resorpcji kości i ich potencjał terapeutyczny w leczeniu chorób przyzębia i osteoporozy. *Dental and Medical Problems*, vol. 42 (4), s. 627–635.
- [18] Tanabe N., Wheal B.D., Kwon J., Chen H.H., Shugg R.P.P., Sims S.M., Goldberg H.A., Dixon S.J., 2011. Osteopontin signals through calcium and nuclear factor of activated T cells (NFAT) in osteoclasts. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 286 (46), s. 39871–39881, doi: 10.1074/jbc.M111.295048.
- [19] Wang J., Cheng X., Lu S., Fan W., 2019. Osteopontin expression is associated with progression and adverse prognosis in patients with resectable gastrointestinal stromal tumor. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, vol. 12 (4), s. 1385–1390.
- [20] Weber G.F., 2018. The phylogeny of osteopontin-analysis of the protein sequence. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19 (9), 2557, doi: 10.3390/ijms19092557.
- [21] Witkiewicz W., Czyżewska-Buczyńska A., Bałasz S., Gnus J., 2010. The role of osteopontin in cardiovascular diseases. *Polski Merkuriusz Lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, vol. 29 (170), s. 79–83.

## **OSTEOPONTIN – A PROTEIN WITH DUAL MEANING IN BIOLOGY OF BONE TISSUE**

### **Abstract**

Osteopontin (OPN) is a multifunctional protein belonging to the family of small binding integrins called SIBLING. OPN takes part in physiological, but also pathological processes of many cells of body, including bone tissue – osteoblasts and osteoclasts. It actively participates in the process of bone formation as well as in the process of bone resorption, therefore it has a double significance in bone tissue biology. Studies carried out using pre-osteoblasts of MC3T3 line showed that OPN expression can be modulated by the presence of bone forming cells. It has been show that co-culturing of MC3T3

cells with 4B12 line pre-osteoclasts results in increased expression of osteopontin, both at mRNA and protein levels. This result indicates that both pre-osteoblasts and pre-osteoclasts, affect the expression of osteopontin and this expression isn't mutually inhibited in co-cultures.

**Key words:** osteopontin, bone tissue, pre-osteoblasts MC3T3, pre-osteoclasts 4B12

Opiekun naukowy: dr Agnieszka Śmieszek

Recenzent: prof. dr hab. Krzysztof Marycz

# MIKROSKOPIA KORELACYJNA I JEJ ZNACZENIE W OBRAZOWANIU ELEMENTÓW ULTRASTRUKTURALNYCH KOMÓRKI

Michał Krawenda

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, C.K. Norwida 25, 50-375 Wrocław  
Interdyscyplinarne Koło Naukowe Biomedyków

e-mail: [michal.krawenda@gmail.com](mailto:michal.krawenda@gmail.com)

## Streszczenie

Mikroskopia jest istotną częścią nauk biologicznych. Ich ciągły rozwój implikuje presję rozwoju i doskonalenia technik mikroskopowych. Doprowadziło to do osiągnięcia momentu, w którym dalszy rozwój jest niemożliwy lub bardzo trudny ze względu na np. fizyczne bariery. Dlatego podjęto próbę łączenia poszczególnych technik, uzyskując dotąd nieosiągalne rezultaty. Celem pracy jest przedstawienie wybranych połączeń technik mikroskopowych i wskazanie ich możliwego zastosowania. Zaprezentowano 4 obiecujące techniki, z czego 3 opierają się na połączeniu mikroskopii świetlnej z elektronową oraz przykład połączenia mikroskopii świetlnej, z mikroskopią sił atomowych.

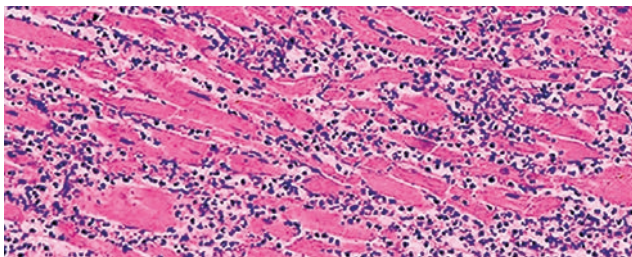
**Słowa kluczowe:** mikroskopia, mikroskopia korelacyjna, CLEM

## 1. Wprowadzenie

Wynalezienie mikroskopu było milowym krokiem w rozwoju nauk biologicznych. Możliwość zaobserwowania tego, co do tej pory było niemożliwe bez użycia dodatkowego sprzętu, pozwoliło spojrzeć na działanie organizmów, jak i ich budowę w nowy sposób [13]. Za wynalazcę mikroskopii uważa się Antoniego Philipsa van Leeuwenhoeka, który w drugiej połowie XVII wieku skonstruował pierwszy mikroskop. Ówczesne mikroskopy wyposażone były wyłącznie w jedną soczewkę. Leeuwenhoek stworzył ich około 566, gdzie niektóre potrafiły osiągnąć powiększenie ponad 250 razy [17]. Praca Leeuwenhoeka była także początkiem jednej z najpowszechniej stosowanych technik w mikroskopii, jaką jest mikroskopia świetlna. Ze względu na źródło światła dzieli się ją na dwie kategorie. Pierwszą z nich jest mikroskopia optyczna, w której wykorzystuje się promieniowanie świetlne pochodzące z różnego rodzaju lamp. Drugą zaś jest mikroskopia fluorescencyjna korzystająca ze zdolności do absorpcji i emisji światła o niższej energii na skutek wzbudzenia przez niektóre związki chemiczne (fluorofory) [16].

## 2. Techniki mikroskopii świetlnej

Obserwacja w jasnym polu (ang. bright field) jest powszechną i podstawową techniką. Obraz powstaje na skutek przejścia światła przez preparat. Kontrast powstaje w wyniku różnicy w absorpcji światła przez różne struktury. Otrzymujemy w ten sposób ciemny obraz na jasnym tle [10]. Niestety, struktury biologiczne często są przezroczyste, przez co uzyskiwany kontrast nie jest wystarczający do rozróżnienia poszczególnych ultrastruktur. Rozwiązaniem tego problemu jest stosowanie wszelkiego rodzaju barwników takich jak eozyna czy hematoksylina. Przykładowe barwienie komórek mięśnia sercowego za pomocą eozyny i hematoksyliny zostało przedstawione na fotografii 1. Wymagają one jednak odpowiednich procedur przygotowania preparatów oraz częstej pracy z martwym materiałem. Trzeba również brać pod uwagę możliwe oddziaływanie barwnika na preparat [13].



Źródło: [http://www.kryminalistyka.fr.pl/praktyka\\_apop\\_02.php](http://www.kryminalistyka.fr.pl/praktyka_apop_02.php)

**Fot. 1.** Barwienie komórek mięśnia sercowego za pomocą eozyny i hematoksyliny

Ciekawą alternatywą jest przeprowadzenie obserwacji w ciemnym polu (ang. dark field). Efekt ten spowodowany jest zastosowaniem kondensatora, który sprawia, że promienie świetlne nie padają prostopadle na próbkę, lecz pod skosem. W ten sposób do obiektu dociera tylko światło, które zostało rozproszone przez preparat, a fale, które nie uległy ugięciu, są usuwane całkowicie. Technika ta jest bardzo pomocna, gdy badany materiał ma podobny współczynnik refrakcji do jego otoczenia. Jak widać na fotografii 2 przedstawiającym dafnię zobrazowaną za pomocą mikroskopu z ciemnym polem, zaletami tej metody są wysoki kontrast i brak wymogu stosowania dodatkowych znaczników, co umożliwia prowadzenie przyżyciowych obserwacji [7, 12, 15].



Źródło: <https://www.microscopeworld.com/p-3297-how-to-obtain-darkfield-in-microscopy.aspx>

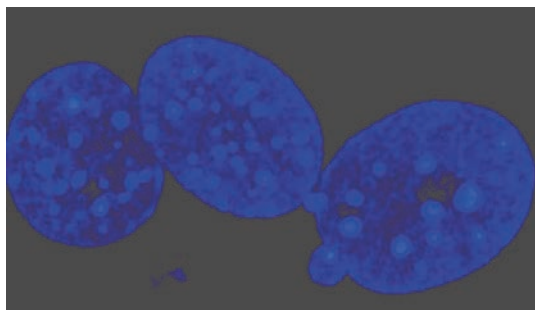
**Fot. 2.** Dafnia (*Daphnia* sp.) widziana przy użyciu techniki mikroskopii ciemnego pola

Preparaty, które są przezroczyste i ich zabarwienie nie jest możliwe lub go nie wymagają, można również obserwować przy wykorzystaniu techniki opierającej się na kontraście fazowym (ang. phase contrast). Metoda ta korzysta z drobnych zmian w fazach fal i przekształca je w zmiany amplitudy. Jest to możliwe przez zastosowanie odpowiednio dopasowanych przesłon szczelinowych. Dzięki temu jesteśmy w stanie uwidocznić kontrast pomiędzy różnymi strukturami preparatu. Tak jak w przypadku mikroskopii w ciemnym polu kontrast fazowy pozwala na przyżyciową obserwację przy wysokim kontraście [3, 12].

## 2.1. Mikroskopia fluorescencyjna

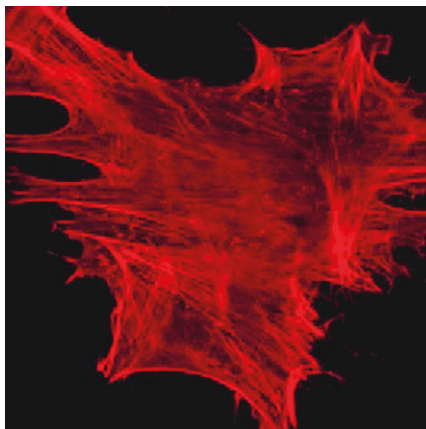
Zastosowanie znaczników fluorescencyjnych umożliwiło powstanie nowego rodzaju mikroskopii świetlnej, jaką jest mikroskopia fluorescencyjna. Wykorzystuje ona zjawisko fluorescencji wykazywane przez fluorofory. Związki te posiadają grupy funkcyjne odpowiedzialne za absorpcję promieniowania świetlnego o konkretnej długości fali. W efekcie ulegają wzbudzeniu, a następnie, wracając do stanu podstawowego, emitują kwant zaabsorbowanej energii w postaci światła o dłuższej fali i mniejszej energii. Znaczniki fluorescencyjne często wykazują zdolność do specyficznego wiązania się z różnymi elementami strukturalnymi badanych materiałów, co umożliwia wizualizację konkretnych struktur. Jako przykład może posłużyć tutaj DAPI (fot. 3), które stosowane jest do znakowania jądrowego DNA ze względu na specyficzną interkalację w regiony A-T. Powszechną metodą jest także koniugacja fluoroforu ze związkiem wykazującym silne powinowactwo do interesującej nas struktury. Przykładowym związkiem jest falloidyna (fot. 4), która przyłącza się do mikrofilamentów aktynowych, lecz nie wykazuje właściwości fluorescencyjnych. Dlatego wymagane jest przyłączenie fluoroforu, którym najczęściej jest rodamina lub izotiocyjaninian fluoresceiny (FITC) [12, 16]. Fotografie 3 i 4 zostały wykonane przy użyciu Leica TCS-SP8 laser scanning confocal microscope. Poza technikami bazującymi na wprowadzaniu chemicznych znaczników stosuje się także znakowanie immunofluorescencyjne. Polega ono na wprowadzaniu przeciwciał pierwszorzędowych wykazujących specyficzną do białka docelowego, a następnie dodaje się przeciwciała drugorzędowe posiadające fluorofor i charakteryzujące się specyficznością na poziomie gatunkowym. Stosuje się także przeciwciała pierwszorzędowe, które są od razu wyposażone w znacznik fluorescencyjny, lecz to rozwiązanie jest dużo bardziej kosztowne, przez co zazwyczaj stosuje się pierwszą opcję barwienia. Metodą cieszącą się dużą popularnością i pozwalającą na badanie transportu i lokalizacji danych protein w komórkach jest zastosowanie genetycznie wprowadzanych białek fluorescencyjnych. Gen takiego białka ulega ekspresji razem z badaną cząsteczką, przez co możliwe jest prowadzenie przyżyciowych obserwacji [16].

Ze względu na metodę detekcji fluorescencji możemy wyróżnić dwa rodzaje. Pierwszym z nich jest mikroskopia epifluorescencyjna. Polega ona na tym, że światło pochodzące z lampy przechodzi przez filtr, który przepuszcza tylko wiązkę o pożądanej długości fali. Fala ta pada na preparat, wzbudzając go, i dochodzi do emisji promieniowania o większej długości fali.



Źródło: opracowanie własne

**Fot. 3.** Jądra komórkowe mysich komórek BALB 3T3 wybarwionych przy użyciu DAPI



Źródło: opracowanie własne

**Fot. 4.** Włókna aktynowe mysich komórek MC3T3 wybarwione za pomocą falooidyny sprzężonej z rodaminą

W celu eliminacji światła wzbudającego stosuje się specjalne dichroniczne zwierciadło ustawione pod kątem 45 stopni. Efektem tego jest obraz będący sumą fluorescencji z całego preparatu, co negatywnie wpływa na jego rozdzielczość i kontrast [11]. Drugim rodzajem jest mikroskopia konfokalna. Główną różnicą jest zastosowanie laserów jako źródła światła, które zdolne są do emisji promieniowania o pożądanej długości fali. Kolejną różnicą jest zastosowanie otworów (ang. pinhole) przez które przechodzi światło tylko z płaszczyzny ogniskowej, co umożliwiłoby detekcję sygnału pochodzącego wyłącznie z jednej płaszczyzny. Pozwala to na otrzymanie bardzo ostrego obrazu o wysokiej rozdzielczości. Umożliwia to także tworzenie trójwymiarowych obrazów [13, 16].

Oprócz klasycznej detekcji fluorescencji stosuje się także bardziej skomplikowane techniki. Jedną z nich jest FRET (ang. Förster Resonance Energy Transfer) polegający na wzbudzeniu sondy przyłączonej do związku A, emisji energii na sondę związku B i jej wzbudzenie. W tym przypadku fluorescencja występuje tylko po wzbudzeniu sondy związku B, a transfer energii odbywa się bez emisji widzialnego promieniowania. Transfer energii może zajść tylko w przypadku, gdy oba związki znajdują się od siebie w odległości nie większej

niż 10 nanometrów. Technika ta jest pomocna w badaniach nad kolokalizacją i dynamiką makrocząsteczek biologicznych. Drugą metodą jest FRAP (ang. Fluorescence Recovery after Photobleaching). Początkowym etapem jest wprowadzenie sond fluorescencyjnych, a następnie zniszczenie ich zdolności do fluorescencji przy użyciu światła lasera o dużej intensywności. Jeżeli w badanym miejscu pojawi się sygnał fluorescencji, świadczy to o zdolności do migracji przez badaną cząsteczkę [15].

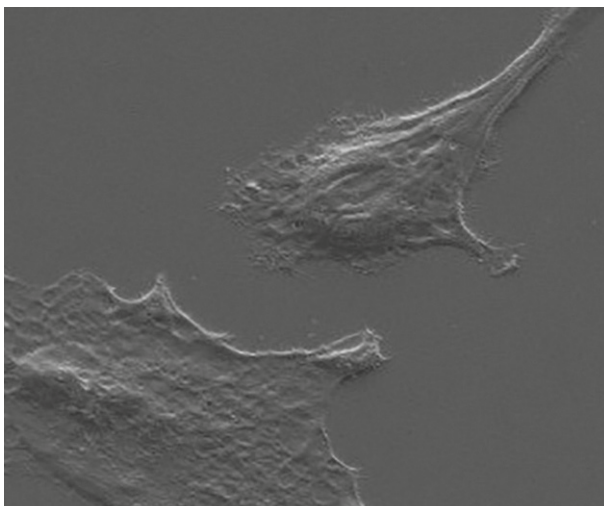
Pomimo szerokiego zastosowania mikroskopia świetlna ma wiele ograniczeń. Głównym z nich jest brak możliwości obserwacji obiektów mniejszych niż połowa długości fali światła, które oświetla preparat. Zastosowanie wiązki elektronów, stosowanej w mikroskopii elektronowej, zamiast wiązki światła pozwoliło obejść te ograniczenia i umożliwiło obserwację obiektów o rozmiarach kilku nanometrów [13].

### 3. Mikroskopia elektronowa

Uzyskanie powiększeń i rozdzielczości będącej poza zasięgiem mikroskopii świetlnej uzyskano poprzez zmianę źródła światła na źródło elektronów. Ponieważ długość fali elektronów może być znacznie krótsza niż światła, jesteśmy w stanie uzyskać rozdzielczość pojedynczego atomu [6, 14].

W mikroskopii elektronowej można wyróżnić dwie różne metody obrazowania. Pierwszą z nich jest mikroskopia elektronowa transmisyjna (TEM, ang. transmission electron microscopy). Polega ona na bombardowaniu skupioną wiązką elektronów bardzo cienkiego preparatu (5–100 nm), w wyniku czego niektóre elektrony przechodzą przez nią, a pozostałe zostają częściowo rozproszone. Elektrony następnie trafiają na ekran. Miejsca, gdzie mniejsza część elektronów uległa rozproszeniu, są jaśniejsze, a tam, gdzie doszło do ugięcia większej ilości elektronów, są ciemniejsze. W taki sposób otrzymujemy kontrast na zdjęciu. Niestety, do uzyskania bardzo cienkich skrawków potrzebnych do obrazowania w TEM wymagane jest odpowiednie utrwalenie próbki na przykład w różnego rodzaju syntetycznych żywicach lub jej zamrożenie, a później jej pokrojenie.

W przeciwieństwie do mikroskopii transmisyjnej skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM, ang. scanning electron microscopy) umożliwia obrazowanie wyłącznie powierzchni preparatu. Skaningowa mikroskopia elektronowa nie ma tak dużych ograniczeń dotyczących grubości próbki, co pozwala na badanie całych obiektów bez konieczności ich krojenia. Pomimo podobieństwa w zasadzie działania do transmisyjnej mikroskopii elektronowej SEM wykorzystuje elektrony, które ulegają całkowitemu odbiciu lub wtórnej emisji. Obraz powstaje na drodze analizy energii elektronów docierających do scyntylatora. Dzięki temu uzyskujemy obraz uwzględniający topografię powierzchni. Fotografia 5 przedstawia przykładowy obraz uzyskany za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego Zeiss EVO LS 15. Próbkę wykorzystywaną w SEM wymagają pokrycia cienką warstwą przewodnika pozwalającego na odprowadzenie nadmiaru elektronów z jej powierzchni [9, 14]. Do tego celu najczęściej wykorzystywane są złoto, srebro lub węgiel. Powstające podczas naświetlania wiązką elektronów charakterystyczne promieniowanie rentgenowskie wykorzystywane jest w spektroskopii energii promieniowania rentgenowskiego (EDS/EDX, ang. Energy Dispersive X-ray Spectrometry / Energy Dispersive X-ray Analysis) pozwalającej na analizę składu pierwiastkowego.



Źródło: opracowanie własne

**Fot. 5.** Zdjęcia komórek ludzkiej linii HepG2. Obserwacja SEM

Istnieje również możliwość dołączenia dodatkowego detektora do skaningowego mikroskopu elektronowego analizującego przechodzące elektrony, w wyniku czego otrzymujemy skaningowo-transmisyjny mikroskop elektronowy (STEM, ang. scanning transmission electron microscopy). Takie rozwiązanie pozwala na pozyskanie większej ilości informacji oraz zastosowanie grubszych preparatów [14].

## 4. Mikroskopia korelacyjna

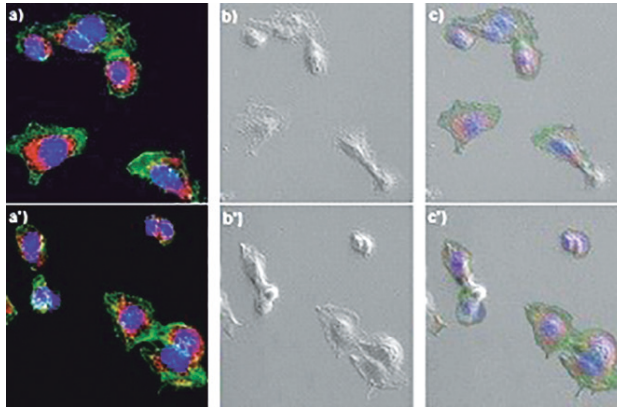
Pomimo zalet posiadanych przez mikroskopię świetlną i elektronową nie można pominąć tego, że są w istotny sposób ograniczone i nie pozwalają pozyskać wszystkich informacji. Mikroskopia świetlna pozwala na zastosowanie specyficznych znaczników umożliwiających wykrywanie interesujących nas struktur. Z drugiej strony, istotny problem stanowi uzyskanie bardzo dużych powiększeń i odpowiedniej rozdzielczości. Mikroskopia elektronowa zaś pozwala na otrzymanie satysfakcjonujących powiększeń, lecz obraz jest często trudny do analizy ze względu na paletę barw opartą na odcieniach szarości. Obecnie coraz większym uznaniem cieszy się mikroskopia korelacyjna bazująca na łączeniu innych technik mikroskopowych i w efekcie pozyskiwania większej ilości informacji z jednego preparatu. Wiąże się to jednak często z bardzo skomplikowanymi protokołami do przygotowaniu materiału. Jednak ciągły rozwój technologii sprzyja optymalizacji tych metod.

Podstawową techniką wykorzystywaną w mikroskopii korelacyjnej jest korelacyjna mikroskopia świetlna-elektronowa (CLEM, ang. correlative light and electron microscopy). Znajdująca się w nazwie mikroskopia świetlna odnosi się zazwyczaj do mikroskopii fluorescencyjnej. Technikę CLEM możemy zastosować na dwa sposoby. Pierwszym z nich jest oddzielne wykonanie obrazowania, gdzie zazwyczaj jako pierwszą stosuje się mikroskopię świetlną (LM, ang. light microscopy) ze względu na obecność delikatnych znaczników,



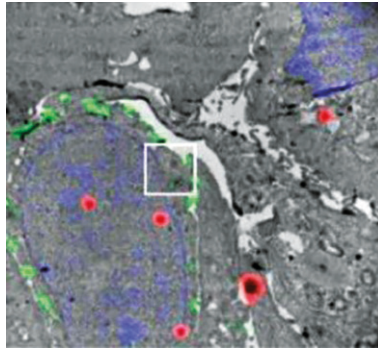
które mogą ulec zniszczeniu lub przestać działać podczas przygotowania próbki, bądź promieniowanie stosowane w mikroskopii elektronowej (EM, ang. electron microscopy). Po wykonaniu obrazowania zdjęcia zostają poddane obróbce w odpowiednim oprogramowaniu umożliwiającemu nałożenie ich na siebie. Proces przygotowania preparatów musi jednak uwzględniać zastosowanie odpowiednich znaczników pozwalających na obrazowanie tego samego regionu w obu technikach. Fotografia 6 przedstawia poszczególne etapy oraz efekt uzyskany za pomocą powyższego sposobu. Zdjęcia a i a' zostały wykonane przy użyciu mikroskopu konfokalnego oraz zastosowaniu 3 różnych znaczników. Jądra komórkowe zostały wybarwione na niebiesko za pomocą DAPI. Kolor zielony pochodzi od falooidyny sprzężonej z FITC przylączającej się do włókien aktynowych. Czerwona barwa pochodzi od MitoRed, który wykorzystywany jest do oznaczania mitochondrium. Zdjęcia b i b' ukazuje ten sam region widziany w mikroskopie skaningowym. Ostatnie dwa obrazy przedstawiają efekt końcowy otrzymany po nałożeniu na siebie wcześniej omawianych zdjęć w programie ImageJ. Porównując zdjęcia wykonane przy użyciu mikroskopu konfokalnego i skaningowego, można łatwo dostrzec ich ograniczenia. W przypadku pierwszego rodzaju mikroskopii widzimy tylko wybrane struktury. Kolejnymi utrudnieniami są ich ilość i odpowiednie dopasowanie barw. Zastosowanie zbyt wielu znaczników sprawia, że obraz staje się nieczytelny. W przypadku gdy wykorzystane fluorofory emitują światło w zbliżonym lub takim samym zakresie fal, dojdzie do nałożenia się na siebie sygnałów, przez co nie będziemy w stanie odróżnić interesujących nas składowych komórki. Problem może stanowić także odróżnienie, czy obserwowane struktury należą do jednej, czy większej liczby komórek. Mikroskopia elektronowa skaningowa umożliwia nam obserwację jedynie zewnętrznych warstw badanych preparatów. Pomimo dużo lepszej rozdzielczości i większej ilości szczegółów analiza struktur i ultrastruktur jest utrudniona ze względu na słaby kontrast i o wiele bardziej uciążliwą identyfikację interesujących nas komponentów. Zastosowanie CLEM pozwala na łatwiejsze odnalezienie ważnych dla nas składowych komórki oraz ich analizę w wysokiej rozdzielczości. Korelacja mikroskopii świetlnej i skaningowej pozwala na badanie budowy i procesów zachodzących w komórkach w znacznie szerszym spektrum niż każda z osobna.

Drugi sposób opiera się na zastosowaniu odpowiednich mikroskopów, umożliwiających przeprowadzenie obrazowania w tym samym czasie lub wymagających jedynie zmiany lokalizacji preparatu w mikroskopie. W przypadku pierwszego rodzaju mikroskopu znakowanie punktów odniesienia nie jest wymagane. Przykładowy obraz uzyskany przy zastosowaniu zintegrowanego mikroskopu przedstawia fotografia 7. Widzimy na niej obraz z mikroskopu elektronowego transmisyjnego z nałożonym zdjęciem z mikroskopu fluorescencyjnego. Kolorem niebieskim zaznaczone są jądra komórkowe, zielonym – regiony bogate w białko LAMP-1 oraz czerwonym – znaczniki składające się z cząsteczek złota pokrytego krzemionką. W drugim zaś możemy zastosować znaczniki katodoluminescencji, które pomagają w określeniu punktu odniesienia z wyjątkową dokładnością. W obu wariantach trzeba jednak pamiętać o odpowiednim przygotowaniu próbki, tak aby zachować właściwości fluorescencji i odpowiednio utwalić preparat. Dużą popularnością cieszy się przygotowanie materiału w warunkach zamrożenia (cryo-CLEM), dzięki czemu możliwe są utrwalenie bez użycia żywic czy innych utralaczy oraz ochrona znaczników fluorescencyjnych.



Źródło: opracowanie własne

**Fot. 6.** Zdjęcia komórek ludzkiej linii HepG2 wykonane przy użyciu mikroskopii konfokalnej, skaningowej i korelacyjnej



Źródło: Ando et al., 2018

**Fot. 7.** Zdjęcie komórek linii HeLa po transfekcji LAMP-1-GFP zrobione w mikroskopie ze zintegrowaną fluorescencją w TEM

CLEM jest świetną techniką pozwalającą na precyzyjną lokalizację interesujących nas cząsteczek biologicznych w obrębie ultrastruktur komórkowych. Umożliwia to prowadzenie badań między innymi nad ich transportem w tkankach czy komórkach, jak i obrazowanie innych procesów zachodzących na poziomie komórkowym [1, 4, 8].

Łącząc ze sobą specyficzne znakowanie fluorescencyjne i mikroskopię elektronową skaningowo-transmisyjną w fazie ciekłej, jesteśmy w stanie badać różnego rodzaju białka błonowe, jak i samą błonę komórkową. Zaletą tego rozwiązania jest zastosowanie chipów, na których hoduje się pojedyncze komórki, przez co nie ma potrzeby oznaczania ich lokalizacji. W pierwszym etapie znajdujemy interesujący nas region dzięki sondom fluorescencyjnym, a następnie obrazujemy dany region za pomocą STEM. Wykorzystanie nanocząsteczek sprzężonych z barwnikiem lub półprzewodzących nanokryształów dodatkowo ułatwia przebieg procesu ze względu na możliwość zaobserwowania ich zarówno w mikroskopie fluorescencyjnym, jak i elektronowym [5].

Duże nadzieje pokłada się w połączeniu mikroskopii świetlnej wraz z serial faceblock SEM. Integracja standardowego mikroskopu SEM z ultramikrotomem umożliwia tworzenie obiektów w trójwymiarze. Dzięki zastosowaniu mikroskopii fluorescencyjnej możliwe jest oznaczenie regionu zainteresowania, co znacznie ułatwia dalszą analizę danych pozyskanych przez serial faceblock SEM. Technika ta jednak boryka się z wieloma problemami, takimi jak niska precyzja korelacji pomiędzy wynikami pozyskiwanymi z mikroskopii świetlnej i SEM. Spowodowane jest to trudnościami w utrzymaniu fluorescencji przez znaczniki. Przygotowanie preparatów wymaga specjalnie przygotowywanych protokołów. Kolejnymi problemami są bardzo duża ilość surowych danych uzyskiwanych i niedostateczna przepustowość ich analizy. Wszystko to sprawia, że korelacja tych technik jest czasochłonna i niewygodna w użyciu [1].

Poza CLEM stosuje się wiele innych połączeń. Doskonałym przykładem jest korelacja mikroskopii świetlnej z szybką mikroskopią sił atomowych (HS-AFM, ang. high-speed atomic force microscopy). Podobnie jak w innych przypadkach mikroskopia świetlna wykorzystywana jest do rozpoznawania i lokalizacji interesujących nas cząsteczek, takich jak na przykład białka. Zaletą HS-AFM jest rejestracja nie tylko struktury statycznej, ale i dynamicznej. Pozwala na to brak zakłócania funkcji tych cząsteczek oraz możliwość bezpośredniej obserwacji w 10–20 klatkach na sekundę (fps, ang. frame per second). Zastosowanie mikroskopii świetlnej pozwala na lokalizację cząstek w dużych preparatach takich jak całe komórki eukariotyczne, obserwację interakcji z cząsteczkami niemożliwymi do zobrazowania dla HS-AFM czy też wykrywanie drobnych zmian w molekułach [1, 2].

## 5. Podsumowanie

Mikroskopia znajduje szerokie zastosowanie w dziedzinie badań nad budową i ultrastrukturą komórek. Podstawowe techniki takie jak mikroskopia świetlna i elektronowa mają jednak wiele ograniczeń, które nie pozwalają na pozyskanie cennych informacji z posiadanego materiału. Rozwiązaniem jest mikroskopia korelacyjna, która stara się łączyć i optymalizować podstawowe techniki mikroskopowe, co prowadzi do pełniejszego wykorzystania preparatów. Dzięki niej jesteśmy też w stanie otrzymać informacje niemożliwe do uzyskania przy zastosowaniu pojedynczej metody. Dalszy rozwój tej techniki będzie prowadził do coraz to nowych połączeń, jak i optymalizacji już istniejących oraz związany jest z rozwojem pozostałych technik mikroskopowych.

## Literatura

- [1] Ando T. et al., 2018. The 2018 correlative microscopy techniques roadmap. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 51(44), s. 4–43.
- [2] Ando T., Uchihashi T., Scheuring S., 2014. Filming Biomolecular processes by high-speed atomic force microscopy. *Chemical Reviews*, vol. 114(6), s. 3120–3188.
- [3] Burch C.R., Stock J.P.P., 1942. Phase-Contrast Microscopy. *Journal of Scientific Instruments*, vol. 19(5), s. 71–75.
- [4] De Boer P., Hoogenboom J.P., Giepmans B.N.G., 2015. Correlated light and electron microscopy: ultrastructure lights up! *Nature Methods*, vol. 12(6), s. 503–513.
- [5] Dukes M.J., Peckys D.B., de Jonge N., 2010. Correlative fluorescence microscopy and scanning transmission electron microscopy of quantum-dot-labeled proteins in whole cells in liquid. *ACS Nano*, vol. 4(7), s. 4110–4116.

- [6] Gilewska G., 2010. Przydatność różnych technik obrazowania struktur biologicznych wykorzystujących elektronowy mikroskop skaningowy. *Prace Instytutu Elektrotechniki*, s. 161–169.
- [7] Houdong H., Changbao M., Yhaowei L., 2010. Plasmonic dark field microscopy. *Applied Physics Letters*, vol. 96(11).
- [8] Joosten B. et al, 2018. Super-resolution correlative light and electron microscopy (SR-CLEM) reveals novel ultrastructural in-sights into dendritic cell podosomes. *Frontiers in Immunology*, vol. 9.
- [9] Kalab M., 1983. Electron microscopy of foods. *Physical Properties of Foods*, s. 43–103.
- [10] Lacey A. J., *Light microscopy in biology – a practical approach*, second edition. Oxford University Press, Oxford, 1999, s. 16–26.
- [11] Lichtman J.W., Conchello J.A., 2005. Fluorescence microscopy. *Nature Methods*, vol. 2(12), s. 910–919.
- [12] Murphy B. M., Davidson W.M., 2012. *Fundamentals of light microscopy and electronic imaging*. Second Edition, John Wiley and Sons, s. 115–135, s. 199–231.
- [13] Pomorski P., 1992. W poszukiwaniu mikroskopu idealnego – rzecz o mikroskopii konfokalnej. *Kosmos*, vol. 40 (1), s. 123–140.
- [14] Słowik G., 2012. Podstawy mikroskopii elektronowej i jej wybrane zastosowania w charakterystyce katalizatorów nośnikowych. Uniwersytet Rzeszowski.
- [15] Snopiński, P., Jarka P., Bielewicz M., 2017. *Mikroskopia świetlna i konfokalna*. LAB Laboratoria, Aparatura, Badania, vol. 22, s. 18–22.
- [16] Thorn K., 2016. A quick guide to light microscopy in cell biology. *Molecular Biology of the Cell*, vol. 27 (2), s. 219–222.
- [17] Zuylen J., 1981. The microscopes of Antoni van Leeuwenhoek. *Journal of Microscopy*, vol. 121(3), s. 309–328.

## **CORRELATION MICROSCOPY AND ITS ROLE IN IMAGING THE ULTRASTRUCTURAL ELEMENTS OF THE CELL**

### **Abstract**

Microscopy is an essential part of biological sciences. Their continuous development implies pressure to develop and improve microscopic techniques. This led to the moment when further development is impossible or very difficult due to e.g. physical barriers. Therefore, an attempt was made to combine individual techniques to achieve previously unattainable results. The aim of the study is to present the selected calls microscopic techniques indication of their possible use. Four promising techniques were presented, 3 of which are based on the combination of light and electron microscopy and an example of combining light microscopy with atomic force microscopy.

**Key words:** microscopy, correlation microscopy, CLEM

Opiekun naukowy: dr Agnieszka Śmieszek

Recenzenci: dr Katarzyna Kornicka-Garbowska  
prof. dr hab. Krzysztof Marycz

# PROFIL EKSPRESJI WYBRANYCH MAŁYCH NIEKODUJĄCYCH RNA W KOMÓRKACH LINII HELA

Katarzyna Krajewska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, ul. Norwida 27B, 50-375 Wrocław

Interdyscyplinarne Koło Naukowe Biomedyków

e-mail: 110656@student.upwr.edu.pl

## Streszczenie

Celem doświadczenia było stworzenie profilu ekspresji małych niekodujących RNA (mikroRNA) w komórkach linii HeLa. MikroRNA (miRNA) są to małe cząsteczki RNA regulujące ekspresję wielu genów na poziomie posttranskrypcyjnym. Badania wskazują, że cząsteczki miRNA mogą być potencjalnie stosowane jako biomarkery kościotworzenia oraz onkogenezy.

Linia HeLa użyta w eksperymencie jest linią wywodzącą się z komórek raka szyjki macicy. Z uwagi na nadekspresję białek morfogenetycznych kości (BMP) linia ta może indukować powstawanie ektopowej tkanki kostnej. W celu ustalenia ekspresji cząsteczek miRNA zaangażowanych w regulację kluczowych markerów kościotworzenia, w komórkach linii HeLa oznaczono poziomy miR-21-5p, miR-124-3p, miR-223-3p i miR-320-3p. Do izolacji całkowitego RNA użyto metody fenolowo-chloroformowej, które oczyszczono i wykorzystano do syntezy cDNA (ang. complementary DNA) w reakcji odwrotnej transkrypcji. Profil ekspresji miRNA został zbadany przy użyciu ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (qPCR).

Wyniki analiz dowiodły, że linia HeLa wykazuje ekspresję wszystkich badanych cząsteczek miRNA. Najwyższy poziom transkryptów odnotowano dla miRNA-21-5p oraz miR-320-3p, czyli cząsteczek silnie zaangażowanych w różnicowanie komórek kostnych. Poziom ekspresji miR-223-3p był najniższy, co związane jest z wysokim potencjałem komórek HeLa do tworzenia przerzutów.

Poznanie profilu miRNA w linii komórkowej HeLa pozwoliło połączyć poziom ich ekspresji z regulowanymi przez nie markerami osteogennymi.

**Słowa kluczowe:** mikroRNA, HeLa, kościotworzenie, onkogeneza

## 1. Wprowadzenie

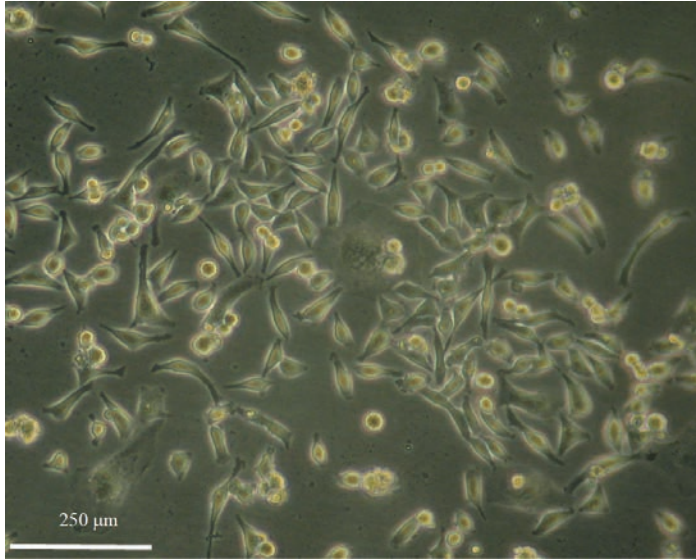
Profilowanie ekspresji genów jest ważną częścią poznawania mechanizmów molekularnych kontrolujących funkcjonowanie komórki. Dzięki ustaleniu profilu ekspresji małych niekodujących RNA (mikroRNA, miRNA) w linii komórkowej HeLa możliwe będą lepsze zrozumienie ich funkcji w komórce oraz działania mechanizmów, które są zaangażowane

w procesy kluczowe dla komórek, takie jak różnicowanie czy podział oraz w przyszłości ich skuteczne zastosowanie jako biomarkerów onkogenezy i kościotworzenia.

## 1.1. Linia komórkowa HeLa

Linia komórkowa HeLa (fot. 1), wywodząca się z komórek raka szyjki macicy, jest szeroko stosowana w badaniach naukowych. Hodowla tej linii jest stosunkowo prosta, nie sprawia trudności w utrzymaniu, a jej komórki dzielą się bardzo intensywnie, co pozwala szybko uzyskać materiał badawczy. Niewątpliwą zaletą linii HeLa jest fakt, że jest ona bardzo dobrze opisana w literaturze, dzięki czemu badacze mają bezproblemowy dostęp do szczegółowej metodologii i protokołów użytych w eksperymentach z tą linią. Duża dostępność literatury umożliwia porównanie wyników między badaniami i sprzyja wyciąganiu bardziej precyzyjnych wniosków. Dzięki wielu zaletom linia komórkowa HeLa doskonale sprawdza się jako model badawczy w eksperymentach.

W lutym 1951 roku do kliniki ginekologicznej w Baltimore zgłosiła się 30-letnia Henrietta Lacks. Powodem wizyty były krwawienia i plamienia, które nie były spowodowane menstruacją. Badanie ujawniło obecność guza o wielkości ok. 2–3 cm na obszarze szyjki macicy, z którego została pobrana próbka do analizy. Biopsja pozwoliła na zdiagnozowanie u kobiety raka szyjki macicy [17]. Próbka została dostarczona również Georgowi Geyowi, naukowcowi z Tissue Culture Laboratory zajmującego się w tym czasie udoskonalaniem metod hodowli komórkowych i utrzymywania ich w warunkach *in vitro*. W latach 50. XX wieku obszar ten nie był jeszcze dostatecznie rozwinięty, ale budził duże zainteresowanie naukowców. Jednym z problemów, z jakim mierzyły się wczesne hodowle komórkowe, było szybkie obumieranie komórek, które przeżywały maksymalnie kilka dni. Dodatkowe trudności przysparzały częste zanieczyszczenia hodowli. George Gey zaobserwował, że komórki pobrane od Henrietty Lacks wykazują niezwykłą zdolność do nieograniczonych podziałów. Komórki namnażały się szybko i w sprzyjających warunkach mogły dzielić się praktycznie w nieskończoność. Fakt ten znajdował też potwierdzenie w danych medycznych Henrietty Lacks. Trzy miesiące przed diagnozą nowotworu kobieta miała wykonywane badanie szyjki macicy z powodu niedawnego porodu. Badanie to nie wykazało żadnych nieprawidłowości, tak więc guz o wielkości 2–3 cm musiał się rozwinąć w przeciągu 3 miesięcy. Z powodu bardzo dużej agresywności komórek nowotworu zastosowane leczenie nie przyniosło pożądanego skutku, a kobieta zmarła niedługo po diagnozie, w październiku 1951 roku [17]. Komórki pobrane od Henrietty Lacks dały początek pierwszej stabilnej ludzkiej linii komórkowej nazwanej HeLa. Dodatkowo George Gey podzielił się swoim odkryciem z wieloma przedstawicielami świata nauki, dzięki czemu linia komórkowa HeLa stała się niezwykle popularna, a obecnie jest najbardziej znaną linią komórkową, która posłużyła jako model badawczy w ponad 70 000 artykułach [13]. Warty uwagi jest fakt, że wykazano osteoinduktywne właściwości linii komórkowej HeLa, a mechanizm ten został wyjaśniony udziałem wydzielanych przez komórki tej linii białek morfogenetycznych kości (ang. bone morphogenetic proteins, BMPs) [11, 12]. Badania własne również potwierdzają nadekspresję BMP i ich receptorów w linii HeLa, co dowodzi o jej osteoinduktywnym potencjale.



Źródło: zdjęcie z kolekcji Katedry Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Fot. 1. Komórki linii HeLa

## 1.2. MikroRNA – charakterystyka i mechanizm działania

Ekspresja genomu komórki jest procesem złożonym, na który wpływ ma wiele czynników. Podlega ona kontroli i regulacji na wielu etapach drogi od genu do produktu. MikroRNA (miRNA) są grupą krótkich (ok. 22 par zasad) [1], jednonicowych, niekodujących cząsteczek wytwarzanych przez polimerazę RNA II [15, 1], które uczestniczą w regulacji ekspresji genów eukariontów na poziomie postranskrypcyjnym. MiRNA są pierwotnie syntetyzowane jako prekursorowe cząsteczki nazywane sfałdowanym RNA (lub pri-miRNA) [1, 2]. W skład sfałdowanego RNA może wchodzić jedna lub kilka struktur spinki do włosów (ang. stem-loop) [2]. Zanim miRNA będzie gotowe do regulacji ekspresji genów, następuje jego dojrzewanie. Pierwszy etap dojrzewania miRNA rozpoczyna się w jądrze komórkowym i polega na cięciu cząsteczki prekursorowej, przez enzym Drosha, na poszczególne spinki. Skutkiem cięcia jest powstanie cząsteczek o długości ok. 60–70 par zasad [1], o strukturze spinki do włosów, nazywanych pre-miRNA. Pre-miRNA są transportowane do cytoplazmy. W transport pre-miRNA zaangażowane są eksportyna 5 oraz białko Ran i odbywa się on przy przemianie GTP do GDP [1, 2]. W cytoplazmie następuje kolejny etap obróbki podczas którego enzym Dicer tnie cząsteczkę na dwuniciowe miRNA o długości ok. 22 nukleotydów. W ten sposób powstają dupлекsy miRNA-miRNA\* składające się z nici wiodącej i nici pasażerskiej (symbol \* oznacza nić wiodącą) [7]. Regulacja ekspresji genów poprzez miRNA opiera się na jego interakcji z mRNA. Wyciszenie mRNA odbywa się poprzez kompleks mikrorybonukleoproteiny (miRNP), pełniącego funkcję identyczną do RISC, w którego skład wchodzi dojrzały miRNA komplementarne do sekwencji docelowej i zestaw białek [2]. Komplementarność między miRNA oraz mRNA powoduje przyłączenie się kompleksu do danej sekwencji i zahamowanie jej translacji. Badacze podają dwa możliwe sposoby degradacji transkryptomu przez miRNA, pełna komplementarność miRNA do mRNA prowadzić

może do całkowitej degradacji mRNA, natomiast niepełna komplementarność blokuje możliwość translacji poprzez przyłączenie się do mRNA [7]. Należy również zaznaczyć fakt, że pojedynczy miRNA może wyciszać wiele genów. Dzięki temu miRNA może wpływać na szereg procesów kluczowych w organizmie m.in. apoptozę, różnicowanie komórek czy embriogenezę [7].

Z powodu udziału miRNA we wzroście i różnicowaniu komórek, wielu badaczy zwróciło uwagę na potencjał tych cząsteczek w kontekście nowotworów. Wczesne wykrycie choroby jest kluczowe w skutecznym leczeniu choroby. Badania wskazują, że miRNA mogą być z powodzeniem stosowane jako biomarkery umożliwiające wykrycie nowotworów we wczesnym stadium. Ustalenie profilu ekspresji tych cząsteczek może więc znaleźć zastosowanie jako narzędzie diagnostyczne, pozwalające na ocenę stopnia zaawansowania choroby, prognozowanie jej rozwoju i wspomagające tworzenie skutecznych i bardziej zindywidualizowanych terapii. Dodatkowo rozważana jest możliwość zastosowania leczenia z udziałem cząsteczek będących antagonistami miRNA (antagomiry), które będą mogły wyciszać nadaktywne, onkogenne miRNA [3].

### **1.3. Charakterystyka miRNA-21-5p, miRNA-124-3p, miRNA-223-3p, miRNA-320-3p**

Rola microRNA-21-5p (miR-21) w onkogenezie staje się coraz bardziej jasna i poznana. Wielu badaczy potwierdza zwiększoną ekspresję miR-21-5p w różnych typach nowotworów, m.in. wątroby, piersi, prostaty, płuc i żołądka [19, 24, 10]. Ponadto wykazano związek poziomu miR-21 z procesami takimi jak proliferacja, apoptoza, migracja oraz wzrost nowotworu w komórkach raka piersi [21, 19].

Związek miR-21-5p z onkogenezą może być spowodowany faktem, że jest ono zaangażowane w kontrolę ekspresji PDCD4 [27]. Białko programowej śmierci komórki 4 (PDCD4; ang. programmed cell death protein 4) wykazuje działanie tłumiące rozwój nowotworu. Badacze wskazują na jego udział w apoptozie oraz negatywnej regulacji ekspresji MAP4K1 [27]. Gen PDCD4 jest więc uznawany za anty-onkogen. Ekspresja PDCD4 może być kontrolowana na wielu poziomach: epigenetycznym, transkrypcyjnym, posttranskrypcyjnym oraz posttranslacyjnym. MiR-21-5p jest zaangażowane za kontrolę ekspresji PDCD4 na poziomie posttranskrypcyjnym [27]. Nadekspresja miR-21-5p może być więc związana z ograniczeniem supresorowych funkcji PDCD4, a co z tym idzie, promowaniem rozwoju nowotworu. MiR-21-5p reguluje również poziom mRNA dla supresorowego genu PTEN (ang. phosphatase and tensin homolog) [19]. Białko PTEN pośredniczy w szlaku sygnalizacyjnym zaangażowanym w proces apoptozy i zatrzymanie podziału komórki [4]. Badania Meng i wsp. wykazały, że zahamowanie działania miR-21 w linii komórkowej ludzkiego raka wątrobo-komórkowego prowadzi do znaczącego wzrostu ekspresji białka PTEN oraz zmniejszenia proliferacji komórek guza ich migracji i inwazji [19]. Udział miRNA-21 w regulacji ekspresji licznych genów supresorowych pokazuje, że cząsteczka ta może być użyteczna do diagnostyki i prognozowania w wielu typach nowotworów [8].

Nadekspresja wielu miRNA często wpływa promująco na proces onkogenezy, jednak jest to bardzo obszerna grupa cząsteczek i część z nich wykazuje działanie supresorowe względem nowotworów. Badania Wang i wsp. udowodniły zmniejszony poziom miR-124-3p w tkankach raka piersi oraz hamujący wpływ tej cząsteczki na proliferację i inwazję komórek nowotworu. Ustalono, że mechanizmem molekularnym odpowiedzialnym za supresorowe



działanie miR-124-3p jest regulacja ekspresji protoonkogenu CBL [25]. Dodatkowo zostało udowodnione, że miR-124 może pełnić znaczącą rolę w rozwoju kostniakomięśaka poprzez modulowanie ekspresji B7-H3 (B7 homolog 3). Wykazano, że poziom miR-124 w komórkach kostniakomięśaka jest znacząco obniżony w porównaniu z normalnymi tkankami sąsiadującymi (ang. normal adjacent tissues, NATs). Zmniejszony poziom ekspresji miR-124 był powiązany z częstymi przerzutami do płuc i niższym współczynnikiem przeżywalności w ciągu 5 lat [26].

MicroRNA-223-3p jest kolejną cząsteczką, którą badacze charakteryzują jako „onko-miRNA”, a jej obniżoną ekspresję łączą z procesami nowotworzenia. Wykazano, że nadekspresja tej cząsteczki jest obserwowana w komórkach pochodzących z węzłów chłonnych, będących przerzutami z nowotworu z mniejszą skłonnością do proliferacji oraz przerzutów na inne narządy. Udowodniono, że miR-223-3p może zwiększać poziom białka p63 w komórce, zaś niski poziom ekspresji p63 jest skorelowany z głębszą inwazją guza [20].

Wpływ na proces nowotworzenia został również udowodniony w przypadku miR-320. Zaburzenie ekspresji tej cząsteczki wpływa na rozwój nowotworu. Badania wskazują, że poziom ekspresji miR-320 jest znacząco obniżony w nowotworze piersi. Lou i wsp. wykazali, że zredukowana ekspresja miR-320 i zwiększona liczba transkryptów dla akwaporyny I (AQP1) są związane z gorszymi rokowaniami. Wskazują również na możliwość negatywnej regulacji AQP1 przez miR-320 oraz fakt, że nadekspresja miR-320 hamuje proliferację, migrację i inwazję komórek raka piersi [18]. Wu i wsp. w swoich badaniach z 2016 roku zaprezentowali również profil ekspresji miR-320 w liniach komórkowych kostniakomięśaka – MG63, Saos2 oraz U2OS. Badania te wykazały zmniejszony poziom miR-320 w stosunku do linii komórkowej osteoblastów – hFOB1.19. Wykazano, że badana cząsteczka może wpływać hamująco na proliferację komórek i indukować zatrzymanie cyklu komórkowego poprzez regulację ekspresję E2F1 w komórkach U2OS [28].

#### **1.4. Rola miR-21-5p, miR-124-5p, miR-223-3p i miR-320-3p w procesach związanych z metabolizmem kostnym**

Badania wskazują, że prócz możliwości regulacji ekspresji genów kluczowych dla onkogenezy miR-21-5p, miR-124-3p, miR-223-3p i miR-320-3p biorą udział w procesach związanych z kościotworzeniem. Zhao i wsp. porównali poziom transkryptów dla miR-21 w zdrowych tkankach i próbkach pobranych od pacjentów chorych na osteoporozę (OP) i wykazali, że poziom ekspresji miR-21 jest niższy u pacjentów OP. Dodatkowo wskazali, że badana cząsteczka może promować osteogenne różnicowanie mezenchymatycznych komórek macierzystych szpiku kostnego (ang. bone marrow mesenchymal stem cells; BMMSCs) [29]. Ciekawym faktem jest również możliwość bezpośredniej regulacji ekspresji Smad7, białka zaangażowanego w sygnalizację TGF- $\beta$  (ang. TGF beta signaling pathway) przez miR-21. Sygnalizacja TGF- $\beta$  jest ważnym szlakiem w rozwoju organizmu, zaangażowanym w procesy takie jak proliferacja komórek, apoptoza, różnicowanie czy migracja. Białko Smad7, którego ekspresja jest kontrolowana przez miR-21-5p, działa hamująco na sygnalizację TGF- $\beta$  [6]. Zgodne z tymi wynikami są badania Xiaoyan i wsp. Badacze wykazali, że w komórkach BMMSC miR-21 promuje procesy osteoinduktywne oraz stwierdzili, że częściowo proces ten jest regulowany przez mechanizm Smad7-Smad1/5/8-Runx2 [16]. Badania przeprowadzone na mysich preosteoblastach linii MC3T3 wskazują na udział miR-21 w metabolizmie kostnym. Inhibicja miR-21-5p w tych komórkach wiązała się z obniżeniem ich zdolności do

formowania kości, niższą ekspresją markerów kościotworzenia (*Ocl*, *Opn*, *Coll-1*, *Runx2*) i słabszą mineralizacją macierzy pozakomórkowej [22]. Została również udowodniona rola miR-124 w osteogenicznym różnicowaniu BMSC. Odnotowano, że zmniejszenie poziomu ekspresji miR-124 prowadzi do wzrostu aktywności fosfatazy alkalicznej (ALP), poziomu osteocalcyny, białka osteriksu (Sp7) oraz czynnika transkrypcyjnego Runx2 [23]. Guan i wsp. dowiedli, że miR-233 hamuje różnicowanie osteoblastów z mezenchymalnych komórek macierzystych poprzez regulatorowe sprzężenie zwrotne C/EBPs/miR-223/FGFR2 [9]. Badania Laxman i wsp. pokazują, że zwiększona ekspresja miR-320 koreluje ze zmniejszonym poziomem *DLX5*, *RUNX2* i *OSX* oraz, na podstawie przeprowadzonych eksperymentów, sugerują, że miR-320b poprzez supresję *DLX5* może brać udział w negatywnej regulacji indukowanego przez BMP różnicowania osteogenicznego [14].

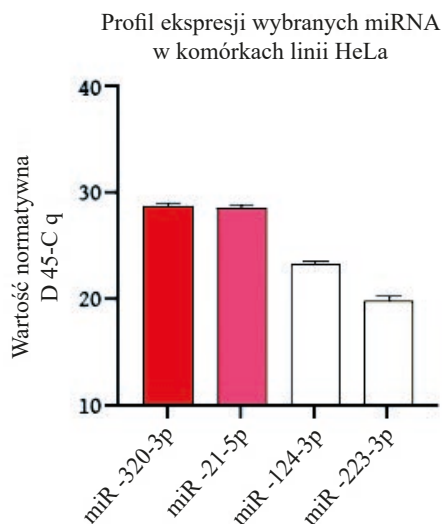
Dane literaturowe nie pokazują jednoznacznego profilu ekspresji omawianych miRNA w komórkach HeLa. Badania własne potwierdziły doniesienia o nadekspresji białek morfogenetycznych kości i ich receptorów w linii komórkowej HeLa (co związane jest z ich osteoindukcyjnym potencjałem). Zbadanie i ustalenie profilu ekspresji miRNA w linii komórkowej HeLa pozwoli na skorelowanie ich poziomu z ekspresją regulowanych przez nie kluczowych markerów osteogenicznych (mRNA). Z tego powodu praca skupiła się na stworzeniu profilu ekspresji miRNA miR-21-5p, miR-123-3p, miR-223p i miR-320-3p, cząsteczek zaangażowanych w procesy związane z metabolizmem kostnym oraz onkogenezę.

## 2. Materiał i metody

Do eksperymentu użyto linii komórkowej HeLa, która została zakupiona z ECACC (ang. The European Collection of Authenticated Cell Cultures). Hodowla komórek była prowadzona w temperaturze 37°C, przy wilgotności 95% i 5% zawartości CO<sub>2</sub>. Izolacja całkowitego RNA została przeprowadzona metodą fenolowo-chloroformową [5]. Do określenia profilu ekspresji miRNA użyto metody RT-qPCR. Do analizy statystycznej i wizualizacji danych użyto programu GraphPad Prism 8.

## 3. Wyniki i wnioski

Badanie przeprowadzone techniką RT-qPCR wykazało ekspresję wszystkich badanych miRNA w linii komórkowej HeLa. Najwyższy poziom ekspresji odnotowano dla miR-21-5p i miR-320-3p (wykres 1). Ekspresja miR-21-5p oraz miR-320-3p może być związana z osteoindukcyjnymi właściwościami linii HeLa i skłonnością komórek tej linii do migracji i inwazji.



**Wykres 1.** Profil ekspresji miRNA w linii komórkowej HeLa

## 4. Podsumowanie

Przeprowadzony eksperyment pozwolił ustalić profil ekspresji wybranych małych niekodujących RNA w linii komórkowej HeLa i dostarczył danych potrzebnych do skorelowania poziomu ekspresji miRNA z regulowanymi przez nie markerami osteogennymi. Dzięki temu będzie możliwe dalsze prowadzenie badań w celu jeszcze lepszego zrozumienia mechanizmów molekularnych kontrolowanych przez miRNA. Dodatkowo liczne badania wskazują na możliwość zastosowania miRNA jako biomarkerów onkogenezy i kościotworzenia. Poznanie profili ekspresji miR-21-5p, miR-124-3p, miR-223-3p oraz miR-320-3p w linii komórkowej HeLa pozwoli włączyć do tej dyskusji nowe informacje.

*Badania wykonane w ramach grantu pt. „Nowe, dwustopniowe rusztowania na bazie nanopatyty wapnia (nHAP) inkorporowanego nanotlenkami żelaza (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) z funkcją kontrolowanego uwalniania miRNA w statycznym polu magnetycznym do regeneracji złamań kostnych u pacjentów osteoporotycznych” finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (UMO 2017/26/M/NZ5/01184), którego kierownikiem jest prof. Krzysztof Marycz.*

## Literatura

- [1] Bartel D.P., 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, vol. 116, s. 281–297.
- [2] Brown T.A., 2018. *Genomy*. PWN, Warszawa, s. 374–375.
- [3] Budzyński M., Grenda A., Filip A.A., 2014. Cząsteczki mikroRNA jako istotny składnik mechanizmów regulacji ekspresji genów związanych z nowotworami. *Nowotwory. Journal of Oncology*, vol. 64, s. 48–60.

- [4] Chen C.Y., Chen J., He L., Stiles B.L., 2018. PTEN: Tumor suppressor and metabolic regulator. *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 9.
- [5] Chomoczynski P., Sacchi N., 1987. Single-Step Method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.*, vol. 162(1), s. 156–159.
- [6] Dubiel M., Lasota J., Tylko G., Osyczka A.M., 2015. Rola ścieżek sygnalizacji BMP w procesach osteogenezy. *Postępy Biologii Komórki*, vol. 42(4), s. 645–665.
- [7] Esquela-Kerscher A., Slack F.J., 2006. Oncomirs – microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*, vol. 6(4), s. 259–269.
- [8] Feng Y.H., Tsao C.J., 2016. Emerging role of microRNA-21 in cancer (Review). *Biomed Rep.*, vol. 5(4), s. 395–402.
- [9] Guan X., Gao Y., Zhou J., Wang J., Zheng F., Gou F., Chang A., Li X., Wang B., 2015. miR-223 regulates adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells through a C/EBPs/miR-223/FGFR2 Regulatory Feedback Loop. *Stem Cells*, vol. 33 (5), s. 1589–1600.
- [10] Iorio M.V., Ferracin M., Liu C.G., Veronese A., Spizzo R., Sabbioni S., Magri E., Pedriali M., Fabbri M., Campiglio M., Ménard S., Palazzo P.J., Rosenberg A., Musiani P., Volinia S., Nenci I., Calin G.A., Querzoli P., Negrini M., Croce C.M., 2005. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res.*, vol. 65(16), s. 7065–7070.
- [11] Kochanowska I.E., Wlodarski K., Wojtowicz A., Kinsner A., Ostrowski K., 2002. BMP-4 and BMP-6 involvement in the osteogenic properties of the HeLa cell line. *Exp Biol Med (Maywood)*, vol. 227(1), s. 57–62.
- [12] Kochanowska I.E., Wlodarski K., Wojtowicz A., Niemira K., Ostrowski K., 2002. Osteogenic properties of various HeLa cell lines and the BMP family genes expression. *Annals of Transplantation*, vol. 7(4), s. 58–62.
- [13] Landry J.J.M., Pyl P.T., Rausch T., Zichner T., Tekkedil M.M., Stütz A.M., Jauch A., Aiyar R.S., Pau G., Delhomme N., Gagneur J., Korbel J.O., Huber W., Steinmetz L.M., 2013. The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *G3-Genes Genome Genetics*, vol. 3(8), s. 1213–1224.
- [14] Laxman N., Mallmin H., Nilsson O., Kindmark A., 2016. miR-203 and miR-320 regulate bone morphogenetic protein-2-induced osteoblast differentiation by targeting distal-less homeobox 5 (*Dlx5*). *Genes (Basel)*, vol. 8(1).
- [15] Lee Y., Kim M., Han J., Yeom K.H., Lee S., Baek S.H., Kim V.N., 2004. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J.*, vol. 23, s. 4051–4060.
- [16] Li X., L.G., Liu Y., Su Y., Xie Y., Du J., Zhou J., Ding G., Wang H., Bai Y., Liu Y., 2017. MicroRNA-21 promotes osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells via the Smad7-Smad1/5/8-Runx2 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 493(2), s. 928–933.
- [17] Lucey B.P., Nelson-Rees W.A., Hutchins G.M., Henrietta Lacks, 2009. HeLa cells, and cell culture contamination. *Arch Pathol Lab Med.*, vol. 133(9), s. 1463–1467.
- [18] Luo L., Yang R., Zhao S., Chen Y., Hong S., Wang K., Wang T., Cheng J., Zhang T., 2018. Chen D., Decreased miR-320 expression is associated with breast cancer progression, cell migration, and invasiveness via targeting Aquaporin 1. *Acta Biochim Biophys Sin*, vol. 50(5), s. 473–480.

- [19] Meng F., Henson R., Wehbe-Janek H., Ghoshal K., Jacob S.T., Patel T., 2007. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology*, vol. 133(2), s. 647–658.
- [20] de Melo Maia B., Rodrigues I.S., Akagi E.M., do Amaral N.S., Ling H., Monroig P., Soares F.A., Calin G.A., Rocha R.M., 2016. MiR-223-5p works as an oncomiR in vulvar carcinoma by *TP63* suppression, *Oncotarget*, vol. 7(31), s. 49217–49231.
- [21] Si M.L., Zhu S., Wu H., Lu Z., Wu F., Mo Y.Y., 2007. miR-21-mediated tumor growth. *Oncogene*, vol. 26, s. 2799–2803.
- [22] Śmieszek A., Marcinkowska K., Pielok A., Sikora M., Valihrach L., Marycz K., 2020. The role of miR-21 in osteoblasts–osteoclasts coupling *in vitro*. *Cells*, vol. 9(2), 479.
- [23] Tang J.Z., Lin X., Zhong J.Y., Xu F., Wu F., Liao X.B., Cui R.R., Li F., Yuan L.Q., 2019. miR-124 regulates the osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by targeting Sp7. *Mol. Rep. Med.* vol. 19, s. 3807–3814.
- [24] Volinia S., Calin G.A., Liu C.G., Ambs S., Cimmino A., Petrocca F., Visone R., Iorio M., Roldo C., Ferracin M., Prueitt R. L., Yanaihara N., Lanza G., Scarpa A., Andrea Vecchione A., Negrini M., Harris C.C., Croce C.M., 2005. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 103(7), s. 2257–2261.
- [25] Wang Y., Chen L., Wu Z., Wang M., Jin F., Wang N., Hu X., Liu Z., Zhang C.Y., Zen K., Chen J., Liang J., Zhang Y., Chen X., 2016. MiR-124-3p functions as a tumor suppressor in breast cancer by targeting CBL. *BMC Cancer*, vol. 16, s. 826
- [26] Wang L., Kang F.B., Sun N., Wang J., Chen W., Li D., Shan B.E., 2016. The tumor suppressor miR-124 inhibits cell proliferation and invasion by targeting B7-H3 in osteosarcoma, *Tumor Biol.*, vol. 37, s. 14939–14947.
- [27] Wang Q., Yang H.S., 2019. The role of PDCD4 in tumor suppression and protein translation. *Biol Cell.*, vol. 110(8), s. 169–177.
- [28] Wu H., Li W., Zhang M., Zhu S., Zhang D., Wang X., 2016. Inhibitory roles of miR-320 in osteosarcoma via regulating E2F1. *J Cancer Res Ther.* vol. 12, s. 68–71.
- [29] Zhao Z., Li X., Zou D., Lian Y., Tian S., Dou Z., 2019. Expression of microRNA-21 in osteoporotic patients and its involvement in the regulation of osteogenic differentiation. *Exp Ther Med.* vol. 17(1), s. 709–714.

## **EXPRESSION PROFILE OF SELECTED NON-CODING RNA IN HELA LINE CELLS**

### **Abstract**

The aim of this experiment is the creation of an expression profile of small non-coding RNA (miRNA) in the HeLa cell line. MicroRNA (miRNA) are small RNA molecules that regulate the expression of many genes on a post-transcriptional level. Research indicates that miRNA molecules might potentially be used as biomarkers of osteogenesis and oncogenesis.

HeLa cell line used in this experiment has been derived from cervical cancer cells. Due to their overexpression of bone morphogenetic proteins (BMP) his line may induce

ectopic bone tissue. In order to determine the expression of miRNA molecules engaged in the regulation of the key markers of osteogenesis, miR-21-5p, miR-124-3p, miR-223-3p, and miR-320-3p levels have been marked.

In order to isolate total RNA, phenol-chloroform extraction has been used. RNA was purified and used for cDNA (complementary DNA) synthesis in the reverse transcription reaction. The expression profile of miRNA has been examined using real-time polymerase chain reaction (qPCR). The results of the analysis proved that the HeLa cell line shows expression of all researched miRNA molecules. The highest transcripts levels have been observed for miRNA-21-5p and miRNA-320-3p, that is, molecules engaged in the process of bone cells differentiation. The expression level of miR-223 was the lowest, which is associated with the high potential of HeLa cells to metastasize.

Understanding the miRNA profile in the HeLa cell line allowed for connection between expression level and the osteogenesis markers to be made.

**Key words:** microRNA, HeLa, osteogenesis, oncogenesis

Opiekun naukowy: dr Agnieszka Śmieszek

Recenzenci: dr Katarzyna Kornicka Garbowska  
prof. dr hab. Krzysztof Marycz

# AGRESJA I USTALANIE HIERARCHII WILKÓW SZARYCH (*CANIS LUPUS*) UTRZYMYWANYCH W WARUNKACH OGRODU ZOOLOGICZNEGO WE WROCŁAWIU

Anastasia Korenitska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław

Studenckie Koło Naukowe Zoologów i Ekologów

e-mail: nkorenit@gmail.com

## Streszczenie

W środowisku naturalnym, jak i w niewoli u wilków mogą występować zachowania agresywne, powiązane z ustaleniem hierarchii wynikającej z wzorca gatunkowego. Celem pracy była próba oszacowania częstotliwości występowania takich zachowań u wilków utrzymywanych w warunkach Ogrodu Zoologicznego we Wrocławiu. Obserwacje stada składającego się z 4 osobników (2 osobniki dorosłe, 2 osobniki młode: 1 samiec i 3 samice) prowadzono metodą próbek czasowych. Wszystkie formy behawioru rejestrowano podczas pięciominutowych sesji od 7.00 do 19.00 w okresie od 26 kwietnia do 5 maja 2019 roku. Rejestrowano występowanie, czas trwania oraz formę zachowań agresywnych wyodrębnionych na podstawie badań pilotażowych (warczenie, gryzienie, próby dominacji oraz walki). Po przeanalizowaniu zgromadzonego materiału stwierdzono, że zachowania agresywne występowały wyłącznie u samic. Samice prezentowały zachowania agresywne w formie warczenia, gryzienia i prób dominacji – stanowiły one prawie 7% obserwowanych form behawioru społecznego. Próby ustalania hierarchii wykazywały wszystkie samice na przemian. Najwięcej takich zachowań wykazywała jedna z młodych samic, co mogło być powiązane z pojawieniem się nowego osobnika (samca) w stadzie, gdyż po wprowadzeniu samca struktura społeczna stada zmieniła się.

**Słowa kluczowe:** wilk szary, behawior, agresja, ustalenie hierarchii, ogród zoologiczny, dobrostan

## 1. Wprowadzenie

Warunki, w jakich są utrzymywane wilki we współczesnych ogrodach zoologicznych, są sukcesywnie optymalizowane w kontekście poprawy poziomu dobrostanu. Dotyczy to głównie wprowadzania rozwiązań, które poprzez analogie do elementów środowiska naturalnego dają możliwość zaspokajania potrzeb wynikających z przynależności gatunkowej [2].

Warunki niezbędne do zapewnienia dobrostanu polegają głównie na zapewnieniu odpowiedniego pożywienia, miejsca schronienia i odpoczynku, ochrony przed chorobami i stresem (a w razie potrzeby leczenia) oraz możliwości realizacji normalnych zachowań. Wydaje się jednak, że wysoki poziom dobrostanu to nie tylko zaspokojenie podstawowych potrzeb biologicznych, ale także odpowiednia jakość życia zależna znacząco od statusu emocjonalnego zwierzęcia. Dlatego też zapewnienie wysokiego poziomu dobrostanu jest szczególnie trudne w przypadku dzikich zwierząt stadnych utrzymywanych w warunkach ograniczenia wolności [3].

Zwierzęta urodzone i żyjące w warunkach ograniczenia wolności nigdy nie będą zachowywać się identycznie jak osobniki funkcjonujące w środowisku naturalnym. Jednak poprzez zapewnienie warunków umożliwiających pełną ekspresję wrodzonych form zachowania, nawet takich jak agresja, można znacząco podnieść ich poziom dobrostanu i przybliżyć ich behavior do charakterystycznego dla osobników żyjących na wolności [13].

Agresja jest zjawiskiem spotykanym zarówno w komunikacji wewnątrzgatunkowej, jak i międzygatunkowej. Zjawisko to należy do tzw. czterech wielkich popędów, do których także zaliczane są zachowania łowieckie i zdobywanie pokarmu, ucieczka oraz rozmnażanie. Zachowania agresywne są zjawiskiem dość skomplikowanym, zależącym również od czynników środowiskowych i genetycznych [18].

Zachowania w wyniku których osobnik jest zmuszony do utrzymania dystansu (fizycznego, psychicznego oraz społecznego), można oznaczyć jako zachowania agresywne, nawet pomimo tego że zachowania nie powodują szkód fizycznych. Zachowania agresywne mają charakter adaptacyjny i mogą być odpowiedzią na bodziec stresowy. Dzieje się tak zarówno w środowisku naturalnym, jaki i u osobników utrzymywanych w niewoli. Różnica polega na tym, że w środowisku naturalnym „nieadaptacyjne” zachowania agresywne są eliminowane za pomocą doboru naturalnego, a osobniki wykazujące takie zachowania są izolowane od grupy społecznej, żyją oddzielnie i nie mają możliwości przekazania swoich niekorzystnych genów potomstwu. W odróżnieniu od zwierząt dzikich zwierzęta urodzone w niewoli nie podlegają naturalnej selekcji, stąd zdarza się, że brak czynnika eliminującego powoduje występowanie nadmiernie agresywnych zachowań [7, 8].

W warunkach ogrodu zoologicznego poznanie mechanizmów wyzwalających agresję, jej naturalnych form oraz form patologicznych jest istotnym elementem współpracy człowieka ze zwierzęciem [19].

## 2. Agresja i dominacja

Wilki są zwierzętami stadnymi, mającymi dość rozbudowany system rang społecznych, który wyrażany jest przez zbiór zachowań, świadczących o pozycji danego osobnika w stadzie. W celu utrzymania porządku i jedności w grupie niezbędne jest wytworzenie odpowiedniej hierarchii, będącej szeregiem mechanizmów dominacji i submisji. Dominacja wyrażana jest poprzez charakterystyczne zachowania objawiające się podczas grożenia, natomiast submisja to zespół zachowań wykazujących uległość i podporządkowanie jednego osobnika w stosunku do drugiego [12].

U zwierząt dzikich proces ten jest bardzo zróżnicowany i uzależniony przede wszystkim od gatunku. Najczęściej młode wilki po odchowaniu przez matki albo odchodzą od stada, albo integrują się z grupą, zajmując dalekie od dominanta miejsce, i dopiero po osiągnięciu



pełnej dojrzałości fizycznej i płciowej zwykle zaczynają próbować zmieniać swój status socjalny [5, 11].

System hierarchiczny wilczych watah w niewoli opiera się głównie na stosunkach rodzinnych, w których dwa osobniki tworzą parę alfa, a ich potomstwo nie było włączane do systemu hierarchii. Kiedy szczenięta stają się dorosłe, struktura stada zwykle zmienia się w taki sposób, że rolę basiora (przywódcy) przejmują dorastający samiec – potomek pary alfa [20].

Zjawisko dominacji występuje u niemal wszystkich wyżej zorganizowanych zwierząt. Obejmuje zarówno zwierzęta wolno żyjące, jak i gospodarskie, bytujące w stadach lub mniejszych grupach. Zjawisko to polega na nadrzędności (dominacji) najsilniejszego osobnika, zwykle samca, chociaż zależy to od gatunku i warunków bytowania. Taki osobnik posiada odpowiednio wysoko wykształcone cechy, składające się na tzw. siłę biologiczną organizmu w postaci odporności, inteligencji, stabilności psychicznej i siły fizycznej [16, 21].

W hierarchii socjalnej oprócz dominanta zajmującego najwyższą pozycję wyróżnia się osobniki podległe, które w zależności od sposobu podporządkowania tworzą różne klasy socjalne – zwykle od trzech do pięciu w grupie lub stadzie. W zdecydowanej większości przypadków wilki na wolności tworzą tzw. hierarchię liniową, polegającą na prostych zależnościach dominacji wyżej postawionej grupy osobników nad plasującymi się o stopień niżej. W przypadku hierarchii liniowej samiec alfa, który wygrywa w walce z innymi osobnikami, prowadzi całe stado. Tuż po nim jest osobnik beta, który przegrywa z samcem alfa, ale wygrywa z resztą grupy. Zwykle osobniki alfa i beta kooperują, tworząc zgrany zespół [15].

Zachowania agresywne można podzielić na trzy podstawowe rodzaje: zachowania ofensywne, defensywne oraz nietypowe. W kategorii agresji ofensywnej można wyróżnić zachowania hierarchiczne, dystansujące, z frustracji, łowne, instrumentalne (tzn. wtórne) i konkurencję o pokarm. Do agresji defensywnej (obronnej) można zaliczyć: agresję ze strachu (lękową), z rozdrażnienia i bólu, agresję macierzyńską oraz terytorialną. Przykładem agresji nietypowej może być autoagresja. W naturze, gdy hierarchia w stadzie jest ustabilizowana, w interakcjach z innymi osobnikami zwierzęta posługują się pozami groźącymi i uległymi. Jeżeli osobnik podporządkowany nie ma możliwości ucieczki, wówczas będzie stosował agresję defensywną [10, 23].

Zmysły odgrywają szczególną rolę w odbiorze bodźca wywołującego agresję, która występuje zazwyczaj w uzasadnionych przypadkach (np. walka o dominację, brak możliwości ucieczki). Na poziom agresji wpływają różne czynniki środowiskowe. U wielu gatunków zwierząt głównym powodem agresji jest ograniczony dostęp do pokarmu, spowodowany nadmiernym zagęszczeniem zwierząt na danym terenie [9].

W rozwoju agresji bardzo ważną rolę odgrywa uczenie się. Jeżeli wilk nauczy się, w jakiej sytuacji dane zachowania agresywne działają skutecznie (np. powodują oddalenie się innego osobnika lub człowieka), prawdopodobnie będą się one powtarzać. Najintensywniejsze zachowania agresywne obserwuje się przy tworzeniu nowych grup socjalnych, gdzie jeszcze nie jest ustalony system hierarchii, a w warunkach niewoli przy pobieraniu pokarmu, gdy osobniki mają niedostateczną przestrzeń wybiegu lub nie są karmione do syta [6].

### 3. Zachowania agresywne i próby ustalania hierarchii wilków w warunkach ograniczenia wolności

W badaniach własnych oceniano zachowanie wilków szarych utrzymywanych w warunkach ogrodu zoologicznego we Wrocławiu. Celem obserwacji były próba oszacowania częstotliwości występowania zachowań agresywnych, powiązanych z ustalaniem hierarchii u wilków utrzymywanych w warunkach ogrodu zoologicznego oraz analiza innych form aktywności. Stado wilków w Ogrodzie Zoologicznym we Wrocławiu utrzymywane było w południowej części obiektu w sekcji „Zwierzęta Europy” na obszarze 3452 m<sup>2</sup>. Tworzyły je cztery wilki (dwa osobniki dorosłe i dwa młodociane, w tym jeden samiec (Maks) i trzy samice (Luna, Mika i Auris)). Obserwacje prowadzono w okresie od 26 kwietnia do 5 maja 2019 r. metodą próbek czasowych [Altmann 1974]. Wszystkie formy behawioru rejestrowano podczas pięciominutowych sesji, w godzinach 7.00–19.00. Rejestrowano występowanie, czas trwania i formę zachowań agresywnych oraz podporządkowania wyodrębnionych na podstawie badań pilotażowych (tab. 1). Zwierzęta miały do dyspozycji wybieg wewnętrzny i zewnętrzny, pomiędzy którymi mogły swobodnie się przemieszczać. Charakter wybiegu odzwierciedlał środowisko naturalne wilków. Na środku wybiegu znajdowała się grotą, w której wilki mogły ukrywać się przed deszczem czy zbyt silnym słońcem. Wybieg przypominał fragment lasu o charakterze grądu. Zawierał ponadto zbiornik wodny o powierzchni 116 m<sup>2</sup>, do którego wilki miały nieograniczony dostęp. Zwiedzający mieli do dyspozycji trzy punkty obserwacyjne na różnych poziomach: wiatę na poziomie gruntu, ziemiankę z grotą pośrodku wybiegu i ambonę widokową o wysokości 3 metrów.

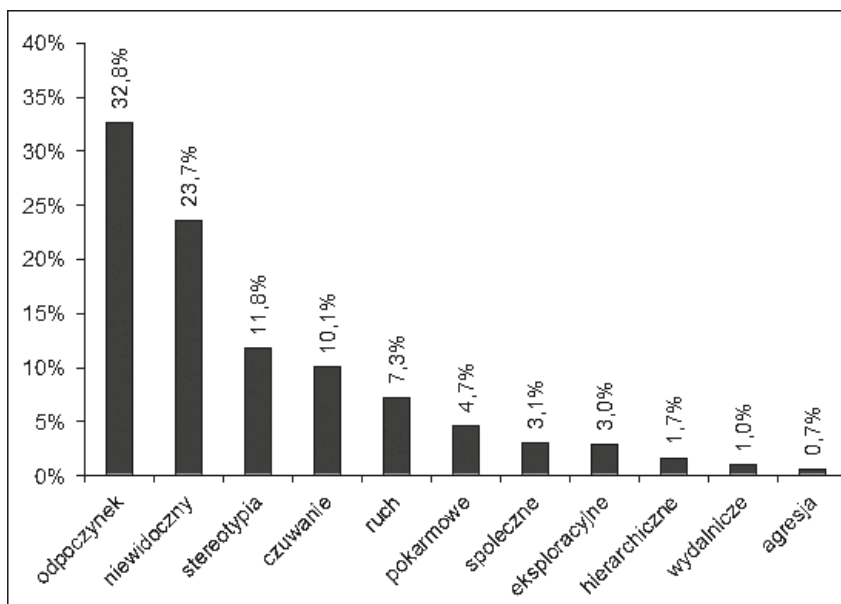
Na podstawie badań pilotażowych zestawiono procentowy udział obserwowanych form zachowań agresywnych oraz zachowań submisywnych stada wilków (rys. 1). Prezentowana aktywność jest dość typowa dla osobników tego gatunku utrzymywanych w warunkach niewoli.

Podczas pierwszych dni obserwacji aktywność wszystkich osobników była bardzo niska. Być może było to spowodowane wysoką temperaturą, zwłaszcza w godzinach południowych. Samiec Maks większość czasu spędzał w grocie na środku wybiegu, samice leżały osobno w różnych zacienionych miejscach.

Tabela 1. Etogram zachowań agresywnych oraz zachowań podporządkowania związanych z ustalaniem hierarchii obserwowanego stada opracowany na podstawie własnych obserwacji

Zachowania agresywne	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Wpatrywanie się – pysk otwarty, uszy położone do tyłu, osobnik ustawiony na wprost do drugiego osobnika, skóra zmarszczona na czole</li> <li>2. Jeżenie sierści (piloreksja)</li> <li>3. Chodzenie ze sztywnymi nogami, głowa noszona wysoko, często poruszanie się równoległe do drugiego osobnika, ogon wysoko uniesiony, w bezruchu lub lekko drżący (występuje w pozie zagrożenia oraz ostrzegawczej)</li> <li>4. Warczenie</li> <li>5. Próba gryzienia</li> </ol>
Zachowania podporządkowane	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Submisywne kulenie się – ciało jest całkiem skulone, ustawione bokiem do innego osobnika, głowa odchylna na bok, częste mruganie. Submisywne kulenie się występuje przy demonstrowaniu uległości, język odsłonięty (akt lizania), ogon noszony nisko między nogami, machający</li> </ol>

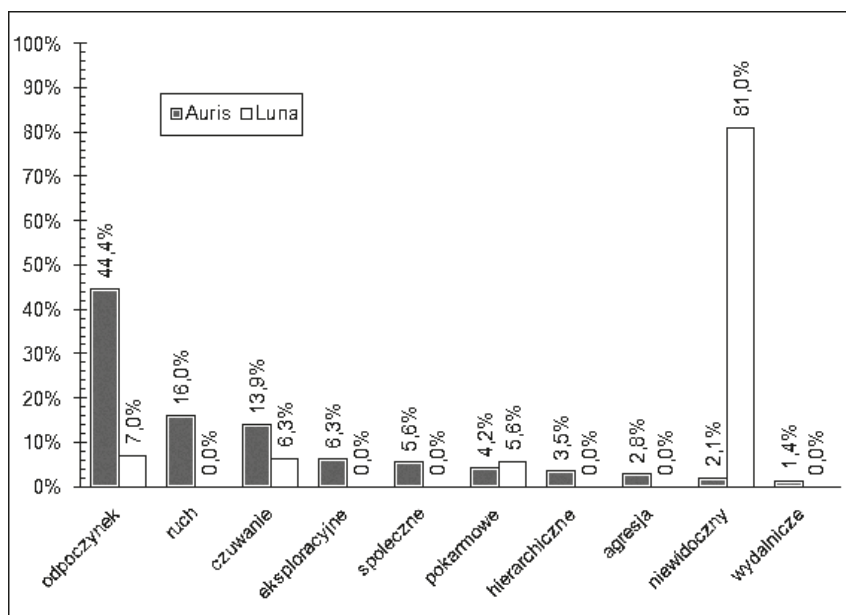
Oceniając udział procentowy poszczególnych zachowań w całkowitym czasie obserwacji wszystkich osobników, można zauważyć, że obserwowane wilki najwięcej czasu poświęcają na odpoczynek i czas spędzony w ukryciu. Najmniej czasu obserwowane osobniki poświęcały na zachowania hierarchiczne, wydalnicze i agresję. Dorosłe osobniki różniły się także pod względem zachowań hierarchicznych, które w trakcie badań wykazywała jedynie samica Auris, oraz czasu spędzonego w ukryciu, co dotyczyło tylko dorosłego samca. Udział pozostałych zachowań nie różnił się istotnie pomiędzy porównywanymi osobnikami.



**Rys. 1.** Procentowy udział poszczególnych zachowań w całkowitym czasie obserwacji wszystkich osobników

Do momentu przywiezienia samca Maksa w ogrodzie znajdowała się Mika z dwoma córkami: Luną i Auris. Między samicami zachowania agresywne i próby ustalania hierarchii występowały na zmianę. Starsza samica Mika stała zawsze najwyżej w hierarchii jako samica alfa (wadera, przewodząca wszystkim samicom). Reszta samic zachowywała się wobec niej ulegle, okazując podporządkowanie, ale jedna z córek dominowała nad drugą (rys. 2). Zwykle Auris nad Luną, zanim Luna dała odpór Auris. Rok wcześniej Luna została odseparowana. Po odseparowaniu Luny Auris przebywając z matką, zaczęła wykazywać wobec niej zachowania agresywne i próby dominacji, dlatego Mika również została odseparowana do czasu uruchomienia nowego, obecnego wybiegu. W wyniku agresji między osobnikami co jakiś czas któraś z samic miała rany od pogryzień. Matka w wyniku jednego z takich urazów miała złamanie otwarte prawej kości śródreczą, które wymagało interwencji chirurgicznej.

Pomiędzy Auris a Miką przez większość czasu występowały zachowania agresywne oraz próby ustawienia hierarchii ze strony Auris, na które druga samica odpowiadała. Obserwowano przede wszystkim: wpatrywanie się z otwartym pyskiem i uszami skierowanymi do tyłu, ustawienie osobników naprzeciw siebie, jeżenie sierści, chodzenie ze sztywnymi nogami, trzymając nisko głowę, oraz warczenie przy pozie grożenia.



**Rys. 2.** Porównanie procentowego udziału poszczególnych zachowań w całkowitym czasie obserwacji pomiędzy młodymi samicami (test dla proporcji, wartość krytyczna  $z_{0,05} = 1,96$ )

Porównując młode samice, wykazano znaczne zróżnicowanie w procentowym udziale poszczególnych zachowań. Samica Luna większość czasu spędziła w ukryciu i w porównaniu z samicą Auris różnica ta była statystycznie istotna ( $Z = 7,22$ ;  $z_{0,05} = 1,96$ ;  $p = 0,0001$ ). Obserwacje wykazały, że samica Auris spędziła istotnie więcej czasu na odpoczynku niż samica Luna ( $Z = -13,55$ ;  $z_{0,05} = 1,96$ ;  $p = 0,0001$ ). Samica Auris ponad 44% czasu poświęcała na odpoczynek, leżąc na brzuchu, chowając łapy lub leżąc na boku w pozycji rozluźnionej. Także dużo czasu spędzała w ruchu albo czuwając. Samica Luna ponad 81% czasu była niewidoczna, bo w trakcie obserwacji znajdowała się na wewnętrznym wybiegu na jednej z zadaszonych działek. Możliwość jej obserwacji występowała tylko podczas karmienia i kilka razy w godzinach porannych.

Stwierdzono, że pozycja Miki w hierarchii zmieniła się, a przywództwo przejęła Auris. Podczas badań regularnie obserwowano, jak Auris stara się udowodnić swoją wyższą pozycję w hierarchii jako nowa wadera wobec matki, warcząc i grożąc. Obserwowano również ostrożność, uległość i zachowania podporządkowania w zachowaniu matki (Miki) wobec córki (Auris). Można to było stwierdzić po podkulonej postawie ciała i noszonej nisko głowie. W kontaktach z innymi wilkami zazwyczaj miała ona ogon ułożony pod siebie, położone płasko uszy, sierść przylegającą do ciała, by pokazać poddańczość, i stosowała mechanizmy submisyjne, które występują przy demonstrowaniu uległości [4].

Pojawienie się samca zmieniło strukturę społeczną i pozycję hierarchiczną samic. Samice z różną częstotliwością oraz w różny sposób komunikowały się z samcem. Pomiedzy samicą Auris a samcem Maksem najwięcej zachowań społecznych dotyczyło sygnałów zapachowych (powiązane z zachowaniem wydalniczym), pielęgnacją (wylizywanie drugiego osobnika) oraz komunikacją. W komunikacji pomiędzy samicą Auris a samcem Maksem nie zauważono agresji oraz zachowań hierarchicznych. Pomiedzy tymi osobnikami obserwowano

no wokalizację, która występowała bardzo rzadko i zarejestrowano ją tylko we wschodniej części wybiegu.

Pomiędzy samcem a samicą Miką najwięcej zachowań społecznych zauważono także poprzez sygnały zapachowe (powiązane z zachowaniem wydalniczym). Zachowania pielęgnacyjne oraz wokalizacja nie występowały. W komunikacji pomiędzy samcem a samicą Miką także nie stwierdzono agresji oraz zachowań hierarchicznych.

### 3. Podsumowanie

Życie w społeczności zwierząt dzikich, szczególnie w przypadku gatunków tworzących złożone grupy, czasami wydaje się uciążliwe zarówno dla osobników podporządkowanych, jak i dominujących. Trudności te mogą się nasilać u zwierząt utrzymywanych przez człowieka w ogrodach zoologicznych, gdzie ograniczona przestrzeń klatki czy wybiegu uniemożliwia uniknięcie wzajemnego kontaktu, a często go wręcz wymusza.

Po przeanalizowaniu zgromadzonego materiału stwierdzono, że zachowania agresywne występowały wyłącznie u samic w stosunku do innych samic. Prezentowały one zachowania agresywne w formie warczenia, gryzienia i prób dominacji. Zachowania te stanowiły prawie 7% wszystkich obserwowanych form behawioru społecznego. Próby ustalania hierarchii wykazywały wszystkie samice na przemian. Najwięcej takich zachowań wykazywała jedna z młodych samic – Auris, która z czasem zdobyła pozycję samicy alfa. Pojawienie się samca zmieniło strukturę społeczną i pozycję hierarchiczną samic.

### Literatura

- [1] Bereszyński A., Pietruszczynska M., Jindra I., Wieckowski J., Skrobala D., 1999. Badania porównawcze behawioru wilka (*Canis lupus*) i psa domowego (*Canis familiaris*) w warunkach hodowlanych. Rocz. Akad. Rol. w Poznaniu Zoot., 5, s. 27–53.
- [2] Bereszyński A., Skrzypczak A., 2002. Wilk w Polsce w warunkach hodowlanych. Wyd. AR w Poznaniu, 5–23, s. 31–44.
- [3] Bernacka H., Nowacka M., Zawiślak J., 2014. Zachowania wilka szarego w niewoli. Przegląd Hodowlany, 82 (5), 41–45.
- [4] Cordon G., Palagi E., 2016. Aggression and hierarchical steepness inhibit social play in adult wolves. Behaviour, vol. 153, Issue 6–7, s. 749–766, DOI 10.1163/1568539X-00003326.
- [5] Cubaynes S., MacNulty D.R., Stahler D.R., Quimby K.A., Smith D.W., Coulson T., 2014. Density-dependent intraspecific aggression regulates survival in northern Yellowstone wolves (*Canis lupus*). Journal of Animal Ecology, 83, s. 1344–1356, DOI 10.1111/1365-2656.12238.
- [6] Cummings D., Brown J.L., Rodden M.D., Songsasen N., 2007. Behavioral and physiologic responses to environmental enrichment in the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). Zoo Biol. 0, s. 1–13, DOI 10.1002/zoo.
- [7] Fox M.W., 1973. Social dynamics of three captive wolf packs. Behaviour, Volume 47: Issue 3–4, s. 290–301, DOI 10.1163/156853973X00139.
- [8] Fraser D., Weary D.M., Pajor E.A., Milligan B.N., 1997. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. Anim. Welf. 6, s. 187–205.

- [9] Frezard A., Le Pape G., 2003. Contribution to the welfare of captive wolves (*Canis lupus lupus*): A behavioral comparison of six wolf packs. *Zoo Biology*, 22 (1), s. 33–44.
- [10] Habel A., Wójcik A., 2011. Ocena dobrostanu wilka (*Canis lupus*) w Ogrodzie Fauny Polskiej w Bydgoszczy. *Ekol. Tech.*, XIX (4), s. 186–192.
- [11] Kaleta T., 2009. Stres i zachowanie się zwierząt dzikich – badania i interpretacje. *Życie Weterynaryjne*, 84(1), s. 21–25.
- [12] Kowalski A., 2000. Zjawisko dominacji i jego fizjologiczne implikacje u zwierząt. *Medycyna Wet.*, 56 (9), s. 543–546.
- [13] Kuźniewicz J., Gulda D., 2014. Behawioryzm psowatych. *Wyd. Uniw. Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy*, s. 3–12.
- [14] Mech L.D., 1999. Alpha status, dominance, and division of labor in wolf packs. *Canadian Journal of Zoology*, 77(8): s. 1196–1203, DOI 10.1139/z99-099.
- [15] Mech L.D., Boitani L., 2003. *Wolves: Behavior, ecology, and conservation*. University of Chicago Press, Chicago.
- [16] Mirecka A., 2013. Standardy prawne a rzeczywisty poziom dobrostanu zwierząt w ogrodach zoologicznych Unii Europejskiej w świetle Dyrektywy Rady 1999/22/WE z dnia 29 marca 1999 r., SWPS, Warszawa, 19–20 listopada 2012. *Stud. Ecol. Bioet.*, 11 (2), s. 177–193.
- [17] Morris J.S., Brandt E.K., 2014. Specialization for aggression in sexually dimorphic skeletal morphology in grey wolves (*Canis lupus*). *Journal of Anatomy*, 225, s. 1–11, DOI 10.1111/joa.12191.
- [18] Okarma H., 1992. Wilk – monografia przyrodniczo-łowiecka. Białowieża, s. 1–168.
- [19] Paquet P.C., Darimon C.T., 2010. Wildlife conservation and animal welfare: two sides of the same coin? *Anim. Welf.* 19, s. 177–190.
- [20] Peterson R.O., Jacobs A.K., Drummer T.D., Mech L.D., Smith D.W., 2002. Leadership behavior in relation to dominance and reproductive status in gray wolves, *Canis lupus*. *Canadian Journal of Zoology*, 80 (8): s. 1405–1412, DOI 10.1139/z02-124.
- [21] Petrynka M., Olczak K., Klocek C., 2014. Zachowania agresywne zwierząt. *Przegląd Hodowlany*, nr 4, s. 30–32.
- [22] Rabb G.B., Woolpy J.H., Benson E., Ginsburg B.E., 1967. Social relationships in a group of captive wolves. *American Zoologist*, Volume 7, Issue 2, s. 305–311, DOI 10.1093/icb/7.2.305
- [23] Sands J., Creel S., 2004. Social dominance, aggression and fecal glucocorticoid levels in a wild population of wolves, *Canis lupus*. *Animal Behaviour*, Volume, 67, Issue 3, s. 387–396, DOI 10.1016/j.anbehav.2003.03.019.

## **AGGRESSION AND HIERARCHY OF GRAY WOLVES (*CANIS LUPUS*) KEPT IN THE CONDITIONS OF THE WROCLAW ZOOLOGICAL GARDEN**

### **Abstract**

In captivity, as well as in the wild, wolves may exhibit aggressive behavior associated with hierarchy determination based on species pattern. The aim of the study was to estimate the frequency of aggressive behavior associated with determining the hierarchy

of wolves kept in the conditions of the zoo in Wrocław. Observations of the behavior of the herd consisting of 4 individuals (2 adults, 2 juveniles: one male and three females) were carried out by the method of time samples. All forms of behavior presented by the observed individuals were recorded during five-minute sessions from 7:00 to 19:00 in the period from April 26 to May 5, 2019. The occurrence, duration and form of aggressive behavior identified on the basis of pilot studies (growling, biting, domination and combat attempts) were recorded. After analyzing the collected material, it was found that aggressive behavior occurred only in females. Females presented aggressive behaviors in the form of growling, biting and attempts to dominate, they constituted almost 7% of all observed forms of social behavior. Attempts to establish a hierarchy showed all females alternately. One of the young female females showed the most such behavior, which was probably related to the appearance of a new individual (male) in the herd, because after the introduction of the male the social structure of the herd changed.

**Key words:** gray wolves, behavior, aggression, hierarchy, zoo, welfare

Opiekun naukowy: dr Dariusz Łupicki

Recenzent: dr hab. inż. Magdalena Zatoń-Dobrowolska





# BANANY DESEROWE I WARZYWNE W OPINII STUDENTÓW

Adrianna Żelobowska\*, Klaudia Klepuszewska

Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, al. Aleja Niepodległości 10, 61-875 Poznań  
SKNTŻ Spectrum

\* e-mail: adriannazelobowska@gmail.com

## Streszczenie

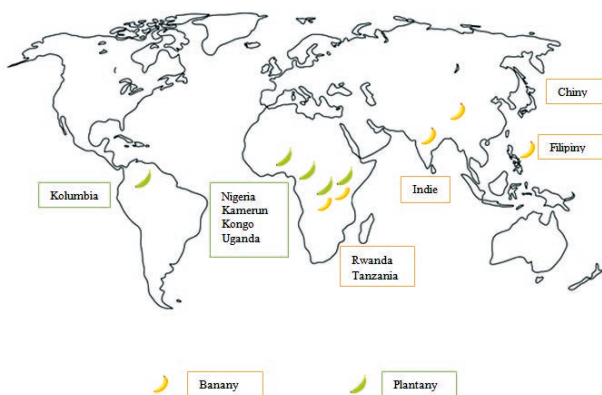
Banan zwyczajny oraz warzywny należą do rodziny bananowatych. Pochodzą z krajów o tropikalnym klimacie. Plantan jest zarówno owocem, jak i warzywem, w zależności od stopnia dojrzałości.

Celem pracy było określenie wiedzy studentów na temat bananów i plantanów. Wywiad pośredni został przeprowadzony w lutym 2020 r. z wykorzystaniem kwestionariusza ankietowego. W artykule zaprezentowano wyniki dotyczące wiedzy na temat różnic, sposobów przygotowania, przechowywania oraz zastosowania plantanów i bananów.

**Słowa kluczowe:** banan, plantan, uprawa, spożycie

## 1. Wprowadzenie

Owoce oraz warzywa są cennymi składnikami żywienia człowieka. Należą do grup produktów spożywczych charakteryzujących się niską wartością energetyczną, bogactwem węglowodanów, składników mineralnych i witamin. W Polsce dostępne są różnego rodzaju owoce cytrusowe i egzotyczne, np. pomarańcze, pitaja, liczi, papaja czy kiwi, które są importowane z różnych części świata. Do tej grupy należą również banany i plantany, które z zewnątrz wyglądają podobnie, natomiast smak oraz właściwości mają zróżnicowane. Należą do rodziny bananowatych i pochodzą z krajów o tropikalnym klimacie (rys. 1).



Rys. 1. Najczęstsze miejsca występowania bananów i plantanów

## 2. Charakterystyka i porównanie banana deserowego i warzywnego

### 2.1. Botaniczna charakterystyka banana

Banan zwyczajny (rys. 2) jest hybrydą dwóch dzikich gatunków *Musaacuminata* oraz *Musa-babisiana* [14]. Liście osadzone są na długich, mięsistych ogonkach liściowych, które tworzą nibypień. Osiągają długość do 3–4 metrów, występują pojedynczo z grubym nektarem środkowym. Bananowiec posiada kłącze mocujące je w podłożu, dlatego też zaliczany jest do bylin. Kwiatostan, na którym powstaje do 400 owoców, osiąga około 3 metrów długości. Miąższ owoców banana zwyczajnego jest słodki, mączysty i kremowy [12].



Źródło: [https://pl.wikipedia.org/wiki/Banan\\_zwyczajny](https://pl.wikipedia.org/wiki/Banan_zwyczajny)

Rys. 2. Banan zwyczajny

Owoce banana zwyczajnego są z botanicznego punktu widzenia jagodami, osiągającymi średnią długość od 10 do 15 cm. Owoce poszczególnych gatunków różnią się między sobą stopniem mączystości czy zawartością skrobi [13]. Banan nie występuje w stanie dzikim.

### 2.2. Botaniczna charakterystyka plantana

Plantan jest jedną ze skrobiowych odmian banana zwyczajnego, która jest zdatna do spożycia wyłącznie po wcześniejszej obróbce termicznej [8, 11]. Ich głównymi cechami są podłużny kształt oraz zielona skórka (fot. 1), która zmienia się w żółtą (fot. 2). Zmiana barwy skórki zachodzi podczas procesu dojrzewania.



Źródło: [magasin-africain.fr](https://magasin-africain.fr)

Fot. 1. Niedojrzały plantan



shutterstock.com • 132307025

Źródło: [fondation-louisbouduelle.org](http://fondation-louisbouduelle.org)

**Fot. 2.** Dojrzały plantan

Wyróżnia się dwie główne odmiany plantanów, w których znajdują się dodatkowe podkategorie. Pierwszą z nich jest odmiana French, charakteryzująca się bardzo długim cyklem wegetacyjnym oraz podatnością na uszkodzenia mechaniczne (fot. 3). Natomiast odmiana Horn wytwarza bardzo małe ilości owoców (fot. 4).



Źródło: <http://www.promusa.org/preview2351>

**Fot. 3.** Odmiana French



Źródło: <http://www.promusa.org/preview2351>

**Fot. 4.** Odmiana Horn

## 2.3. Wybrane różnice pomiędzy bananem deserowym a warzywnym

### 2.3.1. Wartość odżywcza i składniki mineralne

Plantany i banany pomimo bardzo podobnego wyglądu zewnętrznego różnią się między sobą wartością odżywczą (tab. 1). Banan warzywny w porównaniu z deserowym charakteryzuje się wyższą wartością energetyczną oraz zawartością węglowodanów. Banan deserowy zawiera też więcej błonnika niż plantan, mimo to żadnego z nich nie można uznać za wysoko-białkowe oraz wysokobłonnikowe produkty spożywcze, ponieważ wartości te są niższe niż 12 g/100 g.

Tabela 1. Porównanie wartości odżywczej 100 g plantana oraz banana

Wartość odżywcza w 100 g	Plantan	Banan
Wartość energetyczna (kJ/kcal)	506/121	373/89
Tłuszcz (g) w tym kwasy tłuszczowe nasycone (g)	0,4 0,1	0,3 0,1
Węglowodany (g) w tym cukry (g)	32 15	23 12
Błonnik (g)	1,3	1
Białko (g)	1	1
Sól (g)	0,004	0,001

Źródło: USDA National Nutrient Database for Standard Reference

Banany deserowe oraz warzywne to owoce, które zawierają wiele składników mineralnych, a w szczególności są dobrym źródłem potasu (tab. 2). Badania przeprowadzone wśród grona ludzi cierpiących na depresję dowodzą, iż codzienne spożycie bananów znacznie redukuje jej objawy. Powodem tego jest zawarty w bananie tryptofan – aminokwas, który organizm przetwarza w serotoninę zwaną hormonem szczęścia [4]. Zawierają również witaminy takie jak A, E, K oraz z grupy B. Plantany charakteryzują się wyższą zawartością witaminy C w 100 gramach, gdyż zawierają 18 mg, natomiast w 100 g bananów jest 8,7 mg.

Tabela 2. Zawartość wybranych składników mineralnych w plantanie i bananie

Składniki mineralne	Plantany (mg/100 g)	Banany (mg/100 g)
Potas	499	358
Magnez	37	27
Fosfor	34	22
Wapń	4,7	5,0
Sód	4	1
Żelazo	0,60	0,26
Cynk	0,14	0,15
Miedź	0,08	0,08

Źródło: [www.ile-kalorii.pl](http://www.ile-kalorii.pl)

### 2.3.2. Sposób przygotowania

Banany wykorzystuje się zarówno do deserów, jak i dań wytrawnych. Można z nich przygotować chleb, lody, dodać do owsianki lub babeczek. Spożywane są nie tylko na surowo, ale także w postaci suszonej, wędzonej i smażonej w cieście naleśnikowym lub głębokim tłuszczu (fot. 5). Można je wykorzystać jako składnik koktajli mlecznych. Banany w formie chipsów są składnikiem musli.



Źródło: [www.przepisy.pl](http://www.przepisy.pl)

Fot. 5. Smażone banany w cieście

Plantany można kupić w niewielu sklepach. Cena za kilogram wynosi około 14 zł. Są nieco większe od zwykłych bananów i przybierają kolory od zielonego po czarny. Z zielonego plantana możemy przygotować chipsy i krakersy, a z żółtego naleśniki i ciasta. Czarny plantan jest najbardziej słodki i miękki, więc idealnie pasuje do lodów czy deserów. Jedną z najbardziej znanych potraw są patacones, czyli smażone cząstki obranego plantana z dodatkiem soli lub cukru (fot. 6). Plantany można spożywać jedynie po obróbce termicznej.



shutterstock.com • 609847928

Źródło: [www.shutterstock.com](http://www.shutterstock.com)

Fot. 6. Patacones z plantanów

## 3. Uprawa i produkcja bananów deserowych oraz warzywnych

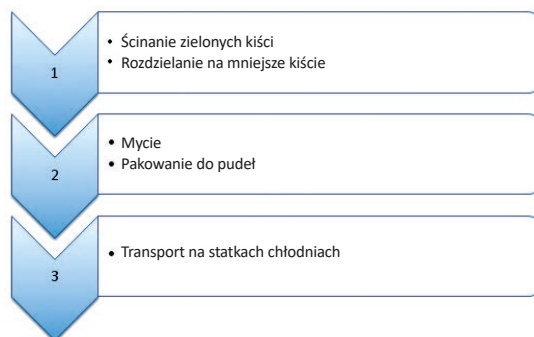
Wymagania co do upraw bananów deserowych obejmują między innymi wilgotny klimat, temperaturę od 15 do 35°C, a także dostęp do wody. Obecnie uprawia się je w około 120 krajach, m.in. są to Indie, Tanzania, Filipiny, Rwanda oraz Chiny (tab. 3). Największą powierzchnią upraw, która wynosi 884 000 ha, charakteryzują się Indie.

Tabela 3. Największe miejsca upraw bananów deserowych w 2018 r.

Państwo	Wielkość uprawy (ha)
Indie	884 000
Tanzania	490 701
Filipiny	484 321
Rwanda	464 321
Chiny	367 768

Źródło: opracowanie własne na podstawie danych FAO

W większości banany deserowe uprawiane są na dużych, nizinnych plantacjach, gdzie rosną w tzw. gniazdach, które zawierają od 3 do 5 pędów [2]. Po 2 latach od posadzenia rośliny można rozpocząć zbiór owoców. Zielone kiście ścinane są z drzew i mogą ważyć nawet 80 kg. Transportowane są do specjalnych miejsc, gdzie następuje rozdzielanie na mniejsze kiście owoców. W kolejnych etapach są myte i pakowane do pudeł [7]. Banany transportowane są na statkach chłodniach w stanie niedojrzałym, mają ciemnozieloną barwę oraz określony stopień rozwoju (rys. 3). Dzięki temu wyładowywane są w stanie świeżym, są twarde i zielone [9].



Źródło: <https://www.fairtrade.org.pl/aktualnosc/ciemna-strona-banana/>

**Rys. 3.** Schemat postępowania z bananami

Używane do uprawy pestycydy i nawozy są szkodliwe dla środowiska oraz powodują zanieczyszczenia gleby i wyjałowienie wody. Koncerny zajmujące się uprawą bananów przyczyniają się do deforestacji, która jest wynikiem pozyskiwania ziemi pod uprawę. Intensywne uprawy przyczyniają się również do erozji ziemi, a także do wytwarzania odpadów. Wiele kontrowersji budzi wykorzystanie lokalnej ludności na plantacjach bananów. Pracownicy, którymi najczęściej są mężczyźni i dzieci, dostają bardzo niskie pensje, które są niewspółmierne do poświęconego czasu oraz warunków, w jakich muszą pracować. Część z nich jest narażona na bezpośredni kontakt z toksycznymi środkami i nie jest wyposażona w odpowiednie środki ochrony osobistej.

Szkodnikami bananów są między innymi mszyce, nicienie, a także bakterie, wirusy oraz grzyby. Najpowszechniejszą chorobą owoców jest grzybica bananów tzw. choroba panamska (fot. 7) wywołwana przez *Fusariumoxysporum* [15]. Przenosi się ona wraz z wodą lub ziemią. Wnika do rośliny poprzez system korzeniowy i prowadzi do więdnienia liści i całkowitego obumarcia drzew.



Źródło: <http://jurisdynamics.blogspot.com/2008/06/banana-twilight.html>

**Fot. 7.** Objawy choroby panamskiej

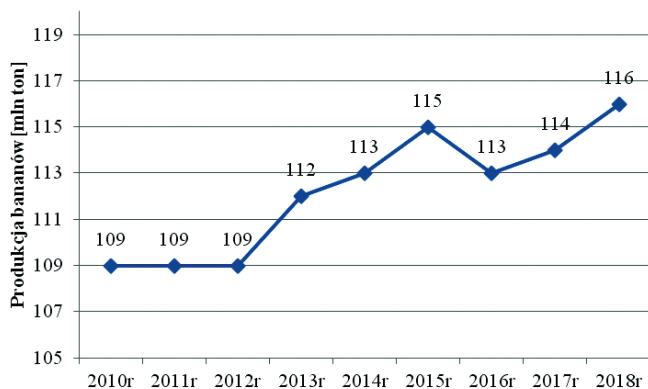
Uprawa plantanów wymaga ciepłego i wilgotnego klimatu, bez oscylacji powietrza. Szkodliwa jest dla nich pora sucha, która trwa dłużej niż trzy miesiące, a temperatura wynosi poniżej 10°C [5]. Uprawa odbywa się na terenach Kongo, Ugandy, Nigerii, Kolumbii oraz Kamerunu. Uprawy w Kongo charakteryzują się najwyższą powierzchnią, która wynosi 1 087 894 ha.

Tabela 4. Największe miejsca upraw bananów warzywnych w 2018 r.

Kraj	Wielkość upraw (ha)
Kongo	1 087 894
Uganda	885 567
Nigeria	502 087
Kolumbia	406 639
Kamerun	303 036

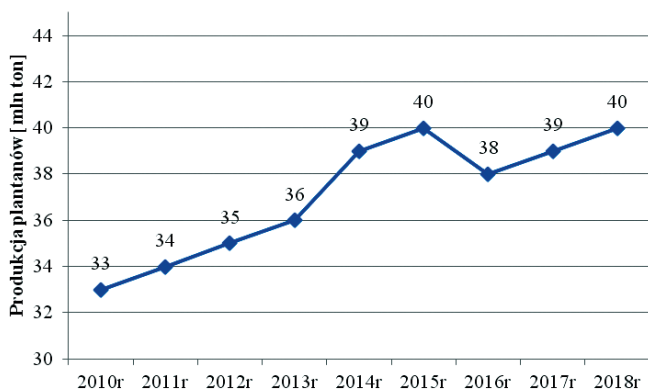
Źródło: opracowanie własne na podstawie danych FAO

Światowa produkcja bananów według danych FAO w 2018 r. wynosiła 116 milionów ton i była to najwyższa wartość w latach 2010–2018 (wykres 1). Natomiast plantan w 2016 r. był szóstym pod względem wielkości produkcji owocem na świecie na poziomie 38 milionów ton. W przypadku plantanów najwyższą wartość odnotowano w 2015 i 2018 r., która wynosiła 40 milionów ton (wykres 2). Produkcja bananów i plantanów od 2010 r. wzrosła o 7 milionów ton [3].



Źródło: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

**Wykres 1.** Światowa produkcja bananów w latach 2010–2018



Źródło: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

**Wykres 2.** Światowa produkcja plantanów w latach 2010–2018

## 4. Proces dojrzewania bananów

Owoce banana przechodzą przez trzy fazy dojrzewania. Pierwszą z nich jest preklimate-ryczna, która polega na początkowym gwałtownym spadku dojrzewania, a następnie stabilizacji. Zależna jest od temperatury oraz stopnia dojrzałości bananów w momencie zerwania. Podczas drugiego etapu zwanego klimakterycznym zmienia się wygląd banana, zwiększa się wydzielanie dwutlenku węgla, etylenu i ciepła. Jest to właściwy okres dojrzewania, a długość fazy zależy od temperatury. Ostatnią jest postklimakteryczna, która stanowi pełen okres dojrzałości konsumpcyjnej banana. Dojrzały owoc powinien charakteryzować się żółtą barwą, połyskiem skórki, zwartym i miękkim miąższem oraz właściwym smakiem i aromatem [1].



W celu przyspieszenia procesu dojrzewania i uzyskania pożądaných cech organoleptycznych stosuje się opryski etylenem. Stwarza się warunki klimatyczne przypominające naturalne miejsca upraw o podwyższonej temperaturze i wilgotności. Proces oprysków trwa przez 24 godziny. Temperatura ma duży wpływ na proces dojrzewania bananów. Optymalne warunki temperaturowe to 17–19°C. Niebezpieczeństwo schłodzenia bananów występuje przy 10°C, co uniemożliwia ich dalsze dojrzewanie. Wraz ze wzrostem temperatury powyżej 24°C może dochodzić do zaparzenia oraz spalenia bananów, przez co nie będą zdatne do spożycia [10].

## 5. Cel pracy i metodyka badawcza

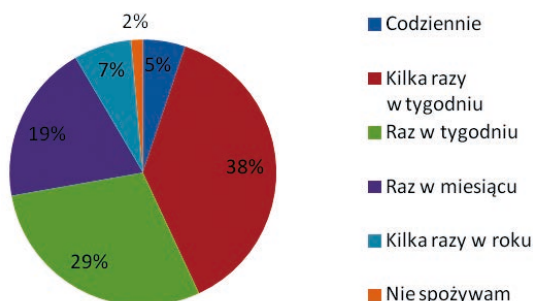
Celem badania było określenie poziomu wiedzy studentów w zakresie bananów deserowych oraz warzywnych. Badanie przeprowadzono na terenie Polski w lutym 2020 r. za pomocą internetowego kwestionariusza ankietowego, w którym zostały zadane pytania otwarte i zamknięte dotyczące między innymi spożycia, kupna, przechowywania oraz ogólnej wiedzy na temat bananów.

W badaniu wzięło udział 425 osób, z czego kobiety stanowiły 79,3% a mężczyźni 20,7%. Wśród respondentów znaczną część, bo aż 71,1%, stanowili studenci studiów I stopnia, natomiast 22,8% ankietowanych to studenci studiów drugiego stopnia. Doktoranci stanowili zaledwie 6,1% badanych. Wśród badanych większość osób to studenci kierunków niezwiązanych z żywieniem człowieka lub towaroznawstwem (79,3%).

## 6. Wyniki i dyskusja

### 6.1. Wiedza i świadomość studentów w zakresie banana deserowego

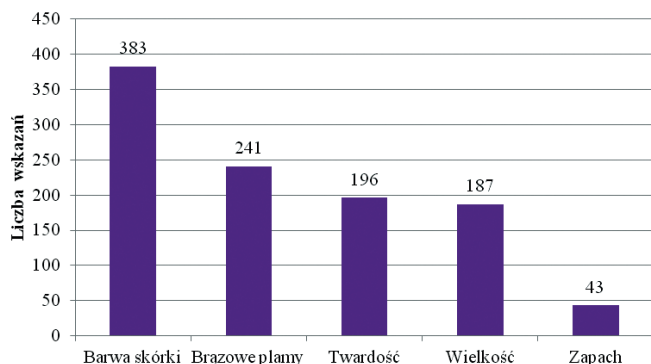
Banany zwyczajne są dużo bardziej znane oraz dostępne w sklepach, dlatego też ich spożycie jest wyższe względem plantanów. Wśród badanych częściej niż co trzeci konsumuje banany deserowe kilka razy w tygodniu. Zaledwie niewielka część ankietowanych nie spożywa ich wcale (wykres 3).



Źródło: badanie własne

Wykres 3. Częstotliwość spożycia bananów przez respondentów (n = 425)

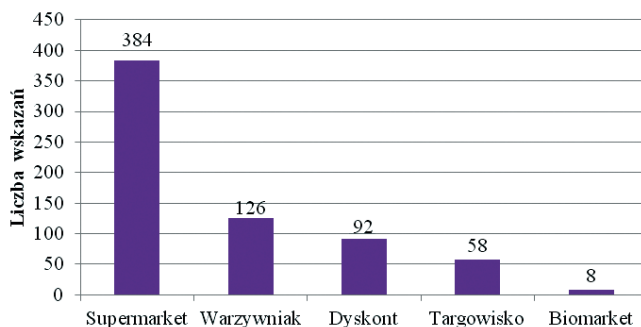
Konsumenci przy zakupie bananów zwracają największą uwagę na barwę skórki. Liczba brązowych plam również w wysokim stopniu determinuje podjęcie decyzji o zakupie, co zostało wskazane przez co drugiego respondenta. Oceniane są także twardość, wielkość oraz w dużo mniejszym stopniu zapach produktu (wykres 4).



Źródło: badanie własne

**Wykres 4.** Determinanty zakupu bananów deserowych

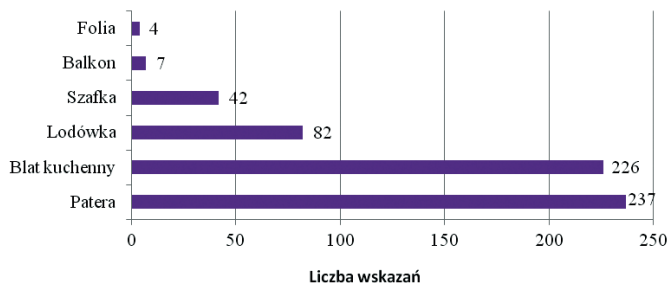
Znaczna większość respondentów, bo aż dziewięciu na dziesięciu, wskazała, że najczęściej dokonuje zakupu bananów w supermarketach. Drugim najbardziej popularnym miejscem jest warzywniak, gdzie banany kupuje blisko co trzecia osoba. Najmniej osób nabywa je w biomarkecie (wykres 5). Fakt ten może być spowodowany wyższą ceną, która wynosi około 10 zł/kg, a w supermarkecie oscyluje wokół kwoty 4–5 zł/kg [13]. Średnio konsumenci kupują jednorazowo 5 sztuk bananów.



Źródło: badanie własne

**Wykres 5.** Miejsca zakupu bananów

Przechowywanie bananów bywa problematyczne, gdyż w temperaturze pokojowej szybko stają się miękkie, a z kolei trzymane w lodówce zmieniają smak i konsystencję. Co drugi ankietowany przechowuje banany na paterze z innymi owocami (np. z jabłkami) i na blacie kuchennym. Co piąty ankietowany pozostawia je w lodówce. Nieliczni respondenci przechowują banany na balkonie oraz w opakowaniu foliowym (wykres 6).



Źródło: badanie własne

**Wykres 6.** Preferowane miejsca przechowywania bananów

Marnowanie żywności, zwłaszcza tej samotnej czy nieidealnej, stanowi istotny problem w dzisiejszych czasach. Przeprowadzone badanie pozwoliło stwierdzić, że blisko jednej czwartej ankietowanych zdarza się wyrzucać banany. Walcząc z tym problemem, w 2018 roku Banki Żywności rozpoczęły kampanię „Samotny Banan”. Celem akcji było zachęcenie konsumentów do kupna pojedynczych bananów, które charakteryzują się pożądanymi cechami organoleptycznymi pomimo nieidealnego wyglądu zewnętrznego. Na rysunku 4 zaprezentowano grafikę akcji umieszczanej przy stoiskach owocowo-warzywnych wielu sieci handlowych.

Poprzez dość popularną kampanię ponad połowa respondentów (58%) wiedziała, czego dotyczy akcja. Niestety, spora grupa ankietowanych o niej nie słyszała. Poza tym ponad połowa badanych kupuje banany w kiściach (54%), natomiast jedynie co czwarty konsument wybiera pojedyncze banany. Co piąty respondent nie zwraca uwagi na formę, w jakiej znajdują się banany w sklepie. Aby ograniczyć marnowanie bananów, można by powtórzyć akcję lub zachęcić konsumentów do przetwarzania bananów zgodnie z ideą zero waste.

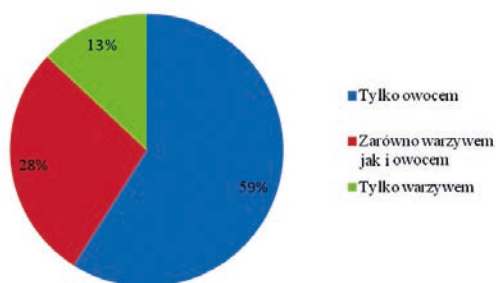


Źródło: [www.nowymarketing.pl](http://www.nowymarketing.pl)

**Rys. 4.** Grafika akcji „Samotny Banan”

## 6.2. Wiedza i świadomość studentów w zakresie banana warzywnego

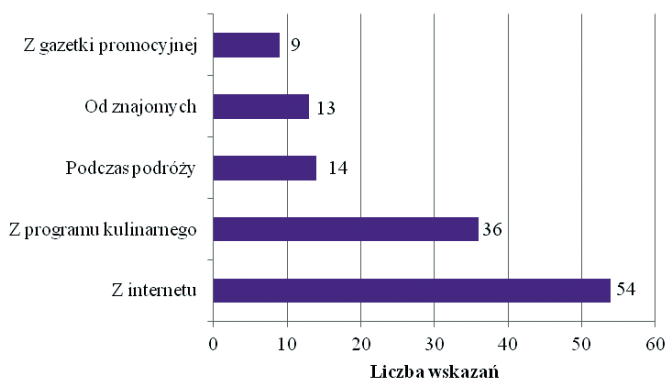
Zaledwie jedna czwarta badanych (96 osób) zadeklarowała, że wie, czym są plantany, i to do nich skierowano kolejne pytania. Chcąc sprawdzić wiedzę respondentów, zapytano, czy plantany to owoce, warzywa, czy zarówno owoce, jak i warzywa. Plantan jest jednocześnie owocem i warzywem. Poprawnej odpowiedzi udzielił blisko co trzeci respondent (27 osób) (wykres 7).



Źródło: badanie własne

**Wykres 7.** Wiedza respondentów na temat zakwalifikowania plantanów jako owoce lub warzywa (n = 96)

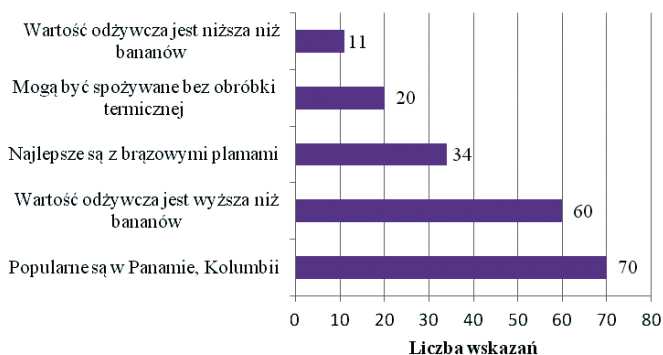
Połowa badanych, która zadeklarowała, że wie, czym są plantany, swoją wiedzę pozyskała z Internetu. Innym źródłem informacji, wskazanym przez co trzeciego ankietowanego, był program kulinarny (wykres 8). W mniejszym stopniu wiedzę na temat bananów warzywnych badani zdobyli podczas podróży, od znajomych oraz z informacji zawartych w gazetce promocyjnej sklepu spożywczego. W tym pytaniu respondenci mogli wskazać więcej niż jedno źródło wiedzy.



Źródło: badanie własne

**Wykres 8.** Źródła informacji na temat plantanów

Respondenci mieli za zadanie wskazanie prawidłowych odpowiedzi dotyczących właściwości plantanów. Faktem jest, że plantany charakteryzują się wyższą wartością odżywczą niż banany. Takiej odpowiedzi udzieliło 62,5% badanych. Poprawną odpowiedź dotyczącą upraw w tropikalnych klimatach (Panamie, Kolumbii) wskazało niemal trzy czwarte respondentów (72,9%). Banany warzywne nie mogą być spożywane bez wcześniejszej obróbki cieplnej, o czym nie wiedział co piąty student (wykres 9). Plantany mogą być spożywane w każdym stopniu dojrzałości, a zabarwienie skórki świadczy jedynie o zawartości skrobi, a nie o przydatności do spożycia.

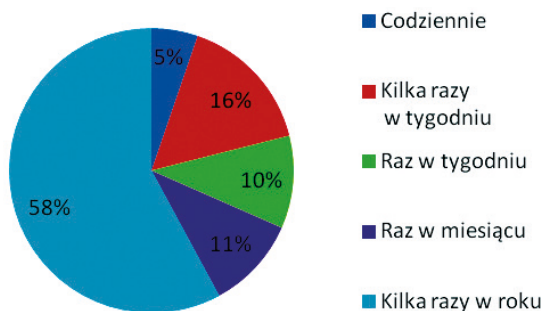


Źródło: badanie własne

**Wykres 9.** Wiedza respondentów na temat właściwości plantanów

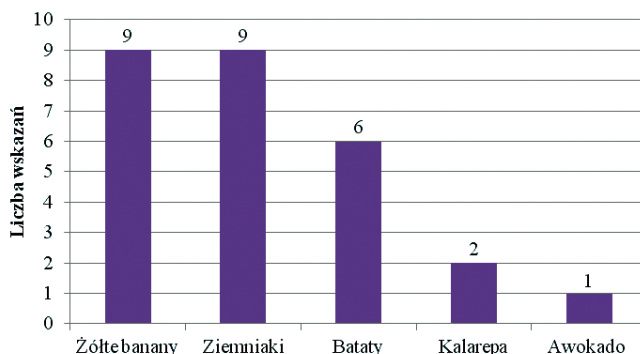
Znaczna część respondentów nie spożywa plantanów. Zaledwie 19 osób spośród wszystkich badanych deklaruje ich spożycie. Najczęściej konsumują je kilka razy w roku (wykres 10).

Smak plantanów jest zbliżony do smaku ziemniaka, co potwierdziło 9 osób spośród 19 ankietowanych spożywających plantany. Tyle samo osób uważało, że plantany są w smaku podobne do banana zwyczajnego. Respondenci wskazali także takie odpowiedzi jak batat, kalarepa i awokado (wykres 11).



Źródło: badanie własne

**Wykres 10.** Częstotliwość spożycia plantanów przez respondentów (n = 19)

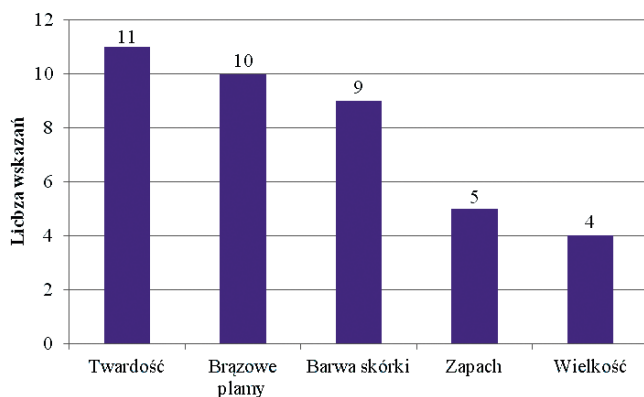


Źródło: badanie własne

**Wykres 11.** Smak plantana według ankietowanych

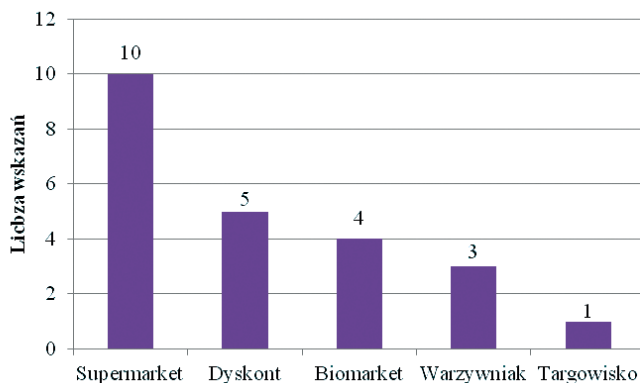
Przy zakupie plantanów badani kierują się przede wszystkim twardością, co potwierdziła ponad połowa osób konsumujących plantany. Ważne są dla nich także liczba brązowych plam, barwa skórki, zapach oraz wielkość produktu (wykres 12).

Plantany są trudniej dostępne na rynku niż banany. Ponad połowa respondentów jako najczęstsze miejsce ich zakupu wskazała supermarket. Badani nabywają banany warzywne w mniejszym stopniu w dyskoncie, biomarkecie, warzywniaku oraz na targowisku (wykres 13).



Źródło: opracowanie własne

**Wykres 12.** Determinanty zakupu plantanów



Źródło: badanie własne

Wykres 13. Miejsce zakupu plantanów

## 7. Podsumowanie

Na rynku warzywno-owocowym znajduje się szeroka gama produktów egzotycznych. Jednym z popularniejszych oraz często kupowanych owoców jest banan deserowy. Przy jego zakupie konsumenci zwracają szczególną uwagę na skórkę – jej barwę oraz ilość brązowych plam. Pomimo coraz większej globalizacji jedynie niewielka część konsumentów wiedziała, czym jest banan warzywny, który charakteryzuje się wyższą zawartością składników mineralnych oraz wartością odżywczą w porównaniu z bananem deserowym. Z kwestionariusza ankietowego wynika, iż niewielka część respondentów miała okazję spożywać plantany. Ze względu na możliwości wykorzystania w przemyśle spożywczym oraz kuchni wskazane byłoby rozpowszechnianie wiedzy na temat tych egzotycznych owoców wśród konsumentów poprzez popularyzację ich właściwości.

## Literatura

- [1] Adi D., Oduroa I., Tortoe Ch., 2019. Physicochemical changes in plantain during normal storage ripening. *Scientific African*, vol 6.
- [2] Gawłowska A., 2015. 500 owoców i warzyw. Charakterystyka, wymagania, porady. Wydawnictwo SBM.
- [3] <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (dostęp 2.03.2020).
- [4] <http://www.odzywianie.info.pl/przydatne-informacje/artykuly/art,Banany-ciekawostki-i-wartosci-odzywcz.html> (dostęp 27.03.2020).
- [5] <http://www.promusa.org/Plantain+subgroup#Horn> (dostęp 3.03.2020).
- [6] <https://www.dlahandlu.pl/tgi/banany,1272.html> (dostęp 10.03.2020).
- [7] <https://www.fairtrade.org.pl/aktualnosc/ciemna-strona-banana/> (dostęp 3.03.2020).
- [8] Kotwica A., 2015. Śmiertelna choroba bananów zagrożeniem dla rynku. *Rynek Owoców Warzyw*.
- [9] Kwiatkowski M., 2005. *Technologia transportu i przechowywania bananów*. Gdańsk.

- [10] Lescot T., 2000. Banana: production, trade and varieties. *Tropical Fruits*, vol. 63, s. 13–61.
- [11] Lisowski S., 1998. Świat roślinny tropików: przewodnik do Wystawy Botanicznej w Palmiarni Poznańskiej. Wydawnictwo Sorus.
- [12] Łach P., 2019. Rozmnażanie wegetatywne bananowców (łac. *Musa*) w warunkach klimatu umiarkowanego. *Acta Juvenum*, vol. 4, s. 85–90.
- [13] Morton J., 1987. *Fruits of warm climate*. Miami, s. 29–46.
- [14] Padam B., 2014. Banana by-products: an under-utilized renewable food biomass with great potential. *Journal of Food Science and Technology*, vol. 51, s. 3527–3545.
- [15] Zalewska-Lamer E., 1996. *Owoce egzotyczne*. Wydawnictwo Astrum.

## DESSERT AND VEGETABLES BANANAS IN THE STUDENTS OPINION

### Abstract

Dessert and vegetables banana belong to the banana's family. They come from countries with a tropical climate. Plantain is both fruit and vegetable, depending on the degree of ripeness. The aim of the work was to determine the student's knowledge of bananas and plantains. An indirect interview was conducted in February 2020 using a questionnaire. This work presents the results of knowledge about difference, methods of preparation, storage and use of plantains and bananas.

**Key words:** banana, plantain, cultivation, consumption

Opiekun naukowy: dr inż. Maria Sielicka-Różyńska

Recenzenci: dr hab. inż. Paulina Nowicka, prof. UPWr  
dr hab. inż. Agnieszka Nawirska-Olszańska, prof. UPWr



# ZMIANA JAKOŚCI PIECZYWA WZBOGAZONEGO SZPINAKIEM W CZASIE PRZECHOWYWANIA

Honorata Mederska, Joanna Więckowska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauki o Żywności, pl. Cieszyński 1,  
10-726 Olsztyn

Studenckie Koło Naukowe Towaroznawczej Oceny Sensorycznej

e-mail: h.mederska97@gmail.com

e-mail: aska.wieckowska1@gmail.com

## Streszczenie

Rynek żywności wzbogaconej jest jednym z najprężniej rozwijających się rynków żywności w Europie. Przykładem produktu wzbogaconego jest pieczywo z dodatkiem świeżego szpinaku, naturalnego źródła wielu substancji bioaktywnych. Celem pracy była ocena jakości sensorycznej pieczywa pełnoziarnistego wzbogaconego świeżym szpinakiem w czasie przechowywania. Wyniki oceny wskazują, że jakość świeżego pieczywa bez dodatku i z 20% dodatkiem szpinaku były podobne i nie uległy znaczącemu pogorszeniu podczas przechowywania. Pieczywo z 40% dodatkiem wsadu roślinnego charakteryzowało się gorszą jakością sensoryczną, która jednak polepszyła się podczas przechowywania.

**Słowa kluczowe:** żywność wzbogacona, analiza sensoryczna, foliany, szpinak

## 1. Wprowadzenie

### 1.1. Podstawy prawidłowego żywienia

Odpowiednio zbilansowana dieta jest jednym z istotnych czynników wpływających na prawidłowy rozwój i funkcjonowanie organizmu. Opiera się ona na pokryciu całkowitego zapotrzebowania człowieka na składniki odżywcze, które należy dostarczać wraz z pożywieniem. Główne źródło wiedzy na temat żywności i żywienia stanowią zalecenia Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), przedstawione w formie graficznej jako Piramida Zdrowego Żywienia i Aktywności Fizycznej. Prawidłowa dieta zapewnia nie tylko zdrowie fizyczne, ale również psychiczne i emocjonalne. Pomimo tego szacuje się, że zaledwie 10–15% populacji stosuje się do zaleceń Światowej Organizacji Zdrowia [8]. Niedobory witamin, składników mineralnych oraz błonnika prowadzą do powstawania chorób związanych z układem krążenia, wzrasta liczba zachorowań na cukrzycę oraz nowotwory [2]. Wiąże się to ściśle z trybem życia społeczeństwa. Dodatkowo szybsze tempo życia powoduje wzrost produkcji żywności wysoko przetworzonej, która zwykle zawiera duże ilości soli i konserwantów.

## 1.2. Wzbogacanie żywności

Wzbogacanie żywności (zwane również fortyfikacją) zgodnie z definicją FAO/WHO z roku 1994 r. definiuje się jako dodanie jednego lub kilku składników odżywczych do produktów powszechnego spożycia bez względu na to, czy występują naturalnie w tych produktach, czy nie [7]. Wyróżnia się następujące typy wzbogacania żywności: interwencyjne, wyrównawcze oraz polepszające. Fortyfikacja interwencyjna opiera się głównie na zapobieganiu i zwalczaniu niedoborów. Składniki odżywcze zostają dodane do produktu, niezależnie od tego, czy występują w nim naturalnie. Fortyfikacja wyrównawcza ma na celu podnoszenie wartości odżywczych produktu gotowego, które utracił w wyniku procesu przetwórczego lub przechowywania. Ostatnim rodzajem jest fortyfikacja polepszająca, która ukierunkowana jest na nadanie produktom pożądanych cech. Dodatek składników odżywczych do żywności jest regulowany przez rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1925/2006 z 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz innych substancji [5]. W celu ochrony konsumenta podstawy prawne regulują zasady wzbogacania i ilość dodawanych związków. Dawki są uzależnione od prowadzonych badań dotyczących wpływu ilości dodatku na zdrowie człowieka [6, 9].

Głównym założeniem wzbogacania żywności jest systematyczne spożywanie nośnika przez całą populację. Z technologicznego punktu widzenia ważne jest, aby dodatek łatwo dał się wprowadzić do żywności podczas jej produkcji. Przykładem żywności wzbogaconej na rynku polskim są: sól kuchenna, przetwory mleczne, napoje i soki owocowe i warzywne, płatki śniadaniowe oraz pieczywo.

Istotne jest również użycie do wzbogacania substancji stabilnych dobrze przyswajalnych, a jednocześnie niezbyt drogich. Polityka fortyfikacji żywności powinna uwzględniać jedynie rzeczywiste potrzeby związane z niedoborem składników odżywczych, bez ryzyka nadmiernego spożycia tych substancji. Dodatek nie powinien również wprowadzać znaczących zmian sensorycznych produktu oraz wpływać na podwyższenie ceny produktu w stosunku do produktu naturalnego pochodzenia [7].

Produkty wzbogacone o dodatek różnego rodzaju substancji takich jak witaminy czy błonnik zaliczane są do sektora żywności funkcjonalnej. Coraz częściej producenci ulepszają swoje produkty, co jest silnie powiązane z panującymi trendami oraz rozwojem technologicznym. Społeczeństwo staje się coraz bardziej świadome wpływu sposobu odżywiania na funkcjonowanie organizmu. Stąd konsumenci chętniej sięgają po produkty wzbogacone w różnego rodzaju składniki odżywcze, jednocześnie zwracając uwagę, czy są to składniki pochodzenia naturalnego. Szacuje się, że w przyszłości sektor żywności funkcjonalnej może stanowić nawet 30% całej branży spożywczej [7].

## 1.3. Rynek żywności wzbogaconej

Największy wzrost produkcji żywności funkcjonalnej można zauważyć w grupie napojów bezalkoholowych, produktów mlecznych, zbożowych i żywności dla dzieci. Producenci starają się spełnić oczekiwania wymagających konsumentów, w sposób szczególny dotyczy to sektora produktów zbożowych. W ostatnich latach obserwuje się znaczący spadek spożycia pieczywa. Wiąże się to ze zmianą stylu życia, preferencji oraz wprowadzania diet eliminujących, m.in. diety bezglutenowej. Zaobserwowana zmniejszona sprzedaż pieczywa wynika także z pogarszającej się jakości wyrobów gotowych oraz częstszego wypieku chleba we

własnym zakresie w domu. Współcześni konsumenci są coraz bardziej świadomi tego, co spożywają i jaki ma to wpływ na rozwój i funkcjonowanie organizmu. Chcą kontrolować to, co spożywają, dlatego też decydują się na wyrób własnych produktów. Jak pokazują wyniki badań, konsumenci wykazują chęć spożycia pieczywa wzbogaconego, lecz przy jego wyborze kierują się głównie walorami sensorycznymi [5]. Wyniki badań Borowskiej i Rejman z 2011 r. potwierdzają, że są oni zainteresowani produktami zawierającymi funkcjonalne dodatki, co jest szczególnie istotne przy produkcji innowacyjnych produktów w branży piekarskiej [1]. Innowacyjne dodatki zwiększają walory sensoryczne oraz zdrowotne przez zawartość mikro- i makroelementów, błonnika, polifenoli czy witamin. W pieczywie wzbogaconym dostępnym na rynku najczęściej stosowanymi dodatkami są nasiona zbóż, nasiona słonecznika, pestki dyni, nasiona chia, siemię lniane czy suszone owoce. Przykładem dodatku owocu jest żurawina odporna na parametry wypieku procesu technologicznego oraz wykazująca trwałość. Dodatkowo charakteryzuje się lekko kwaśnym smakiem, który odpowiednio komponuje się z produktami zbożowymi. Mało dostępne są innowacyjne produkty piekarnicze z dodatkiem warzyw. Przykładem dodatku warzyw do pieczywa są cebula, burak, marchew. Jak dotąd rzadko spotykanym dodatkiem, mimo wysokiej zawartości związków bioaktywnych oraz podatności na rozdrobnienie i niedużej trudności wprowadzenia do ciasta, jest szpinak.

#### **1.4. Właściwości prozdrowotne szpinaku**

Szpinak jest niskokalorycznym warzywem, które jest źródłem m.in. folianów, witamin z grupy B, witaminy C, żelaza, potasu i magnezu. Posiada wiele właściwości prozdrowotnych, wspomaga proces widzenia, wykazuje korzystne działanie na układ sercowo-naczyniowy, wspomaga kontrolę masy ciała [3]. Pomimo dużej zawartości wody w surowcu (do 90%) szpinak zawiera wiele substancji odżywczych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Jest bogatym źródłem błonnika. Spożycie 100 g tego surowca może pokryć aż 64% zalecanego dziennego spożycia witaminy K, 188% witaminy A oraz blisko 50% folianów, naturalnie występujących w żywności pochodnych kwasu foliowego. Regularne spożycie szpinaku znacznie łagodzi dolegliwości zdrowotne, ale również zapobiega pojawianiu się ich w przyszłości. Ze względu na wysoką zawartość folianów zalecany jest w diecie kobiet w ciąży. Warto jest go wprowadzić do codziennej diety jako sposób profilaktyki wielu schorzeń [3].

## **2. Cel pracy**

Celem pracy była ocena jakości sensorycznej pieczywa pełnoziarnistego wzbogaconego świeżym szpinakiem. Badania obejmowały pieczywo świeże oraz po przechowywaniu w temperaturze pokojowej i zamrażalniczej. Do oceny wykorzystano metodę 5-punktową i skal graficznych.

### 3. Metodyka

Materiał badany stanowiło pieczywo pełnoziarniste bez dodatku szpinaku, a także pieczywo z 20% i 40% dodatkiem świeżego szpinaku (fot. 1–3). Szpinak przed wprowadzeniem do ciasta został umyty, a następnie zblendowany przy użyciu ręcznego blendera firmy Braun. Chleby wypiekano w automatycznym urządzeniu do wypieku pieczywa firmy Tefal (program wypieku został odpowiednio dobrany do pieczywa pełnoziarnistego). Ostatecznie do oceny jakości sensorycznej pieczywa wzbogaconego przygotowano 6 bochenków o masie 1 kg (2 chleby pełnoziarniste bez dodatku szpinaku, 2 chleby pełnoziarniste z 20% dodatkiem szpinaku i 2 chleby pełnoziarniste z 40% dodatkiem szpinaku). Ocenie poddano próbki pieczywa po upieczeniu oraz próbki po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej i po 8 dniach zamrażalniczego przechowywania w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$ . Zespół oceniający składał się z 5 przeszkolonych osób. Ocenę prowadzono w pracowni analizy sensorycznej spełniającej wymagania normy PN-EN ISO 8589:2010 [9]. Jakość sensoryczną próbek pieczywa oceniono metodą 5-punktową, gdzie 1 punkt oznacza złą jakość pieczywa oraz niezdatność do wprowadzenia na rynek, natomiast 5 punktów oznacza jakość bardzo dobrą. Oceniano następujące wyróżniki jakości, którym przyznano odpowiednie współczynniki ważkości: objętość i kształt (0,1); skórka: zapach (0,02), barwa (0,06), wygląd i połączenie z mięksiszem (0,08), grubość (0,04); mięksisz: wygląd (0,06), barwa (0,05), porowatość (0,05), elastyczność (0,04); zapach (0,15); smak (0,25); podatność na żucie (0,1). Jakość ogólną produktu liczone, sumując iloczyny średnich ocen poszczególnych wyróżników jakości i odpowiadających im współczynników ważkości. Dodatkowo zastosowano metodę skal graficznych strukturuowanych, w której oceniono intensywność wybranych cech charakterystycznych dla wprowadzonego wsadu roślinnego od niewyczuwalnej (1) do silnie wyczuwalnej (5). Oceniono intensywność barwy zielonej i nietypowej, zapach i smak szpinakowy oraz nietypowy pieczywa wzbogaconego.



Źródło: opracowanie własne

**Fot. 1.** Chleb pełnoziarnisty z 20% dodatkiem szpinaku



Źródło: Opracowanie własne

**Fot. 2.** Chleb pełnoziarnisty z 20% dodatkiem szpinaku



Źródło: Opracowanie własne

**Fot. 3.** Chleb pełnoziarnisty z 40% dodatkiem szpinaku

## 4. Omówienie i dyskusja

Średnie wyniki oceny wybranych wyróżników jakości pieczywa pełnoziarnistego bez dodatku, z 20% i 40% dodatkiem świeżego szpinaku metodą 5-punktową w czasie przechowywania przedstawiono w tabeli 1.

Objętość i kształt pieczywa świeżego bez dodatku i z 20% dodatkiem oceniono bardzo dobrze. W przypadku świeżego chleba z 40% dodatkiem szpinaku ta cecha została oceniona dobrze, z uwagi na nieznaczne zmiany w kształcie produktu (mniejszy stopień wyrośnięcia). Podczas gdy barwa skórki i miększu świeżego pieczywa bez dodatku i z 20% dodatkiem szpinaku zostały ocenione odpowiednio dobrze i bardzo dobrze, to barwę skórki i miększu pieczywa z 40% udziałem warzywa oceniono jako dostateczną z powodu licznych przebarwień i niejednorodności barwy. Wygląd i połączenie z miększem oraz grubość skórki, jak również wygląd samego miększu pieczywa bez dodatku i z 20% dodatkiem materiału roślinnego były prawidłowe i zostały bardzo dobrze ocenione. Z kolei

połączenie skórki z mięksizem w pieczywie z 40% dodatkiem szpinaku było nierównomierne, pojawiały się nieliczne odkształcenia. Ta cecha uzyskała ocenę 3,5, podobnie jak wygląd samego mięksizu ze względu na obecność odkształceń i przebarwień. Jeżeli chodzi o ocenę porowatości, to najniżej została oceniona w pieczywie z 40% dodatkiem szpinaku (ocena dobra), z uwagi na nieregularny kształt i nierównomierne rozłożenie porów. W żadnej z ocenianych próbek pieczywa nie zaobserwowano znaczących zmian w zakresie wymienionych cech, tj., objętości i kształtu, barwy, wyglądu, połączenia z mięksizem oraz grubości skórki czy porowatości w czasie przechowywania zarówno w temp. pokojowej, jak i zamrażalniczej.

Tabela 1. Wyniki oceny wyróżników jakości pieczywa pełnoziarnistego bez dodatku, z 20% i 40% dodatkiem świeżego szpinaku metodą 5-punktową w czasie przechowywania

Wyróżnik jakości (współczynnik ważkości)	Chleb 0%			Chleb 20%			Chleb 40%		
	Pieczywo po upieczeniu	Pieczywo po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej	Pieczywo po 8 dniach przechowywania w temp. -18° C	Pieczywo po upieczeniu	Pieczywo po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej	Pieczywo po 8 dniach przechowywania w temp. -18° C	Pieczywo po upieczeniu	Pieczywo po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej	Pieczywo po 8 dniach przechowywania w temp. -18° C
Objętość i kształt (0,1)	5*	5	5	5	5	5	4	4	4
<b>Skórka</b>									
Zapach (0,02)	4,5	4	3,5	4,5	4	3	4	3	3
Barwa (0,06)	4	4	4	4,5	4,5	4,5	3	3	3
Wygląd i połączenie z mięksizem (0,08)	5	5	5	5	5	5	3,5	3,5	3,5
Grubość (0,04)	5	5	5	5	5	5	4	4	4
<b>Mięksiz</b>									
Wygląd (0,06)	5	4,5	4,5	5	4,5	4,5	3,5	3,5	3,5
Barwa (0,05)	5	5	5	5	4,5	5	3,5	3,5	3,5
Porowatość (0,05)	4,5	4,5	4,5	5	5	4,5	4	4	4,5
Elastyczność (0,04)	5	4,5	4	5	4	4	4	4,5	4
Zapach (0,15)	5	4,5	3,5	4,5	4,5	3,5	3,5	4	3
Smak (0,25)	5	4,5	4,5	5	4,5	4,5	3	4	3,5
Podatność na żucie (0,1)	5	3,5	4,5	4	4	4,5	3	4,5	4
Jakość ogólna	4,905	4,95	4,415	4,785	4,555	4,415	3,42	3,895	3,575

\*średnia ocen zespołu oceniającego

Źródło: opracowanie własne

Jeżeli chodzi o zmiany jakości pieczywa bez dodatku szpinaku w czasie przechowywania, to zaobserwowano spadek intensywności zapachu. Zapach po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej nie był już intensywny, a po 8 dniach przechowywania w warunkach zamrażalniczych był słaby, prawie niewyczuwalny. Po 2 dniach przechowywania w temp.

pokojoyej miękisz był suchy a podczas żucia słabo łączył się ze śliną, podatność na żucie nie zmieniła się podczas przechowywania zamrażalniczego. Pieczywo po przechowywaniu było też mniej elastyczne. Zachowało jednak bardzo dobry smak.

Podobnie pieczywo z 20% zawartością świeżego szpinaku – po wypieczeniu miało niezbyt mocno wyczuwalny, przyjemny zapach, który tracił intensywność w czasie przechowywania. Najmniej intensywny zapach miała skórka tego pieczywa po 8 dniach przechowywania zamrażalniczego. Po przechowywaniu zmienił się nieznacznie smak pieczywa, po dłuższym żuciu pojawiała się bardzo lekko wyczuwalna goryczka. Podczas żucia pieczywo dość dobrze łączyło się ze śliną, pomimo lekko wysuszonego miękiszu. Podczas przechowywania miękisz stał się mniej elastyczny. Jednak zaobserwowano, że podczas przechowywania zamrażalniczego poprawiła się podatność na żucie tego rodzaju pieczywa.

Chleb z 40% dodatkiem świeżego szpinaku zarówno świeży, jak i przechowywany cechował się obniżoną elastycznością. Nie powracał od razu do kształtu po nacisku. Chleb był jednak prawidłowo wyrośnięty.

Miękisz pieczywa był gumowaty, lekko twardy i klejący, lecz podatność pieczywa na żucie poprawiła się w czasie przechowywania. Po 8 dniach przechowywania zamrażalniczego została oceniona jako dobra zapewne z powodu lekkiego wysuszenia miękiszu. Z kolei po dwóch dniach przechowywania w temp. pokojowej elastyczność miękiszu poprawiła się tylko nieznacznie. Zapach skórki świeżego pieczywa był przyjemny, intensywny, jednak w czasie przechowywania stał się mało przyjemny, nietypowy. Bardzo nisko został oceniony także zapach samego miękiszu pieczywa świeżego i po 8 dniach przechowywania zamrażalniczego z uwagi na zbyt silny, nietypowy zapach, określany jako roślinny i trawiasty. Podobnie smak pieczywa świeżego i po rozmrożeniu został nisko oceniony, odpowiednio 3 i 3,5. Powodem był zbyt intensywny nietypowy smak. Jedynie smak pieczywa po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej był łagodniejszy i uzyskał ocenę dobrą.

Na podstawie ocen poszczególnych wyróżników jakości i odpowiadających im współczynnikom ważkości obliczono jakość ogólną każdego pieczywa, zarówno świeżego, jak i po przechowywaniu. Najwyższą jakością ogólną odznaczało się świeże pieczywo bez dodatku (4,9), a najniższą świeże pieczywo z 40% zawartością szpinaku (3,4).

## Ocena pieczywa metodą skal graficznych

W tabeli 2 przedstawiono wyniki oceny wybranych cech pieczywa pełnoziarnistego bez dodatku, z 20% i 40% dodatkiem świeżego szpinaku przy użyciu skal graficznych w czasie przechowywania.

Najintensywniejszym zapachem szpinaku charakteryzował się chleb z 40% dodatkiem szpinaku, zarówno świeży, jak i po przechowywaniu w temp. pokojowej przez dwa dni. Zapach był jedynie słabszy w wersji tego pieczywa przechowywanego w temp. -18°C. Ponadto oceniający uznali, że świeże pieczywo z 40% dodatkiem wsadu roślinnego ma bardzo nietypowy zapach. Jeżeli chodzi o posmak szpinaku, to był tak samo intensywny w świeżym pieczywie z 20% i 40% udziałem warzywa, przy czym w wersji pieczywa z 20% dodatkiem nieznacznie zmniejszyła się jego intensywność w czasie przechowywania. Pieczywo z największym dodatkiem szpinaku odznaczało się najbardziej intensywnym nietypowym posmakiem. Smak ten był łagodniejszy w pieczywie po przechowywaniu. Najbardziej intensywną barwę zieloną miało pieczywo z 40% dodatkiem szpinaku, warunki przechowywania nie wpłynęły na zmniejszenie intensywności koloru zielonego. Pieczywo z mniejszym udziałem

łem wsadu roślinnego miało nieco mniej intensywnej, ale za to przyjemną zieloną barwę. Tak samo oceniono nietypową barwę pieczywa wzbogaconego. Z tabeli można wywnioskować, że najintensywniejszą barwą charakteryzowały się wszystkie chleby z zawartością 40% szpinaku. Tego samego dnia po wypieczeniu pieczywo z 40% zawartością szpinaku miało najbardziej intensywny posmak oraz nietypowy roślinny i trawiasty zapach. Warto dodać, że intensywność tych cech zmniejszyła się wyraźnie w trakcie przechowywania.

Tabela 2. Wyniki oceny wybranych cech pieczywa pełnoziarnistego bez dodatku, z 20% i 40% dodatkiem świeżego szpinaku przy użyciu skal graficznych w czasie przechowywania

Wyróżnik jakości	Chleb 0%			Chleb 20%			Chleb 40%		
	Pieczywo po upieczeniu	Pieczywo po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej	Pieczywo po 8 dniach przechowywania w temp. -18°C	Pieczywo po upieczeniu	Pieczywo po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej	Pieczywo po 8 dniach przechowywania w temp. -18°C	Pieczywo po upieczeniu	Pieczywo po 2 dniach przechowywania w temp. pokojowej	Pieczywo po 8 dniach przechowywania w temp. -18°C
Zapach szpinaku	1	1	1	2	2	2	3	3	1,5
Zapach nietypowy	1	1	1	2	1,5	2	5	2	1
Posmak szpinaku	1	1	1	2	1,5	2	2	2	2
Posmak nietypowy	1	1	1	2	1,5	2	4	3	2
Natężenie barwy zielonej	1	1	1	3	3	3	5	5	5
Barwa nietypowa	1	1	1	3	3	3	5	5	5

Źródło: Opracowanie własne

## 5. Podsumowanie

Jakość ogólna pieczywa z 20% dodatkiem szpinaku (4,8) była wyższa od jakości ogólnej pieczywa z 40% dodatkiem tego warzywa (4,4). Świeże pieczywo z mniejszym procentowym udziałem wsadu roślinnego było lepiej wyrośnięte, posiadało regularne pory oraz charakteryzowało się większą elastycznością. Pieczywo to miało również przyjemny, lekko szpinakowy smak i zapach, a skórka była dobrze połączona z mięksiszem. Największym atutem tego produktu wydaje się być jednak jego przyjemna, niezbyt intensywna zielona barwa.

Pieczywo z 40% dodatkiem szpinaku w ocenianej wersji z uwagi na zbyt intensywny, nietypowy roślinny smak i zapach oraz silnie zieloną barwę mogłoby nie zyskać akceptacji konsumentów.

Pieczywo z dodatkiem szpinaku wydaje się być ciekawą propozycją na rynku żywności wzbogaconej, w tym piekarniczym. Pieczywo z odpowiednio dobranym procentowym udziałem szpinaku oprócz walorów sensorycznych może zapewnić także bardzo dobre uzupełnienie codziennej diety w deficytowe składniki bioaktywne występujące w szpinaku.



## Literatura

- [1] Borowska A., Rejman K., 2011. Spożycie pieczywa i preferencje konsumentów wobec innowacyjności produktowej branży piekarskiej. *Studies & Proceedings of Polish Association for Knowledge Management*, Nr 52, s. 309–322.
- [2] Jarosz M., 2019. Piramida Zdrowego Żywienia i Aktywności Fizycznej dla osób w wieku starszym. *Narodowe Centrum Edukacji Żywieniowej IŻŻ*.
- [3] Majchrzak W., Gurbierz J., Bula K., Hradzki S., Zdrojewicz Z., 2019. Szpinak – zdrowa, nieco zapomniana roślina. *Medycyna Rodzinna* 22(3), s. 142–145.
- [4] PN-ISO 8589:2010 Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.
- [5] Rozporządzenie (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji. *Dziennik Urzędowy UE*, L 404 z dnia 30.12.2006.
- [6] Śmigielska H., Białas W., Lewandowicz G., 2008. Wpływ fortyfikacji skrobi jonami żelaza na właściwości sosów pomidorowych. *Towaroznawcze Problemy Jakości. Polskie Towarzystwo Towaroznawcze*, nr 4, s. 54–62.
- [7] Tarko T., Duda-Chodak A., Wajda D., 2012. Wzbogacanie żywności w związki polifenolowe. *Przemysł spożywczy*, T. 66, nr 10, s. 16–19.
- [8] Wawer I., 2017. Dietetyczne niedobory mikrośladników i suplementacja w chorobach neurologicznych, *Neurologia Praktyczna*, 6, s. 5–8
- [9] Żakowska-Biemans S., Sajdakowska M., Jeżewska-Zychowicz M., 2018. Konsumentów wobec zmian na rynku pieczywa: ich zróżnicowanie i uwarunkowania wyboru. *Handel Wewnętrzny*, 3(374), s. 424–437.

## CHANGES IN QUALITY OF BREAD ENRICHED WITH SPINACH DURING STORAGE

### Abstract

The enriched food market is one of the fastest growing food markets in Europe. An example of an enriched product is bread with fresh spinach, a natural source of many bioactive substances. The aim of the study was to evaluate the sensory quality of whole-grain bread enriched with fresh spinach during storage. The results of the evaluation indicate that the quality of fresh bread without and with 20% spinach was similar and did not significantly deteriorate during storage. Bakery products with 40% addition of plant-based feed were characterized by lower sensory quality, which, however, improved during storage.

**Key words:** fortified food, sensory analysis, folates, spinach

Opiekun naukowy ?????

Recenzent: dr hab. inż. Agnieszka Nawirska-Olszańska, prof. UPWr



# OCENA WYBRANYCH WYRÓŻNIKÓW JAKOŚCI RYNKOWYCH SOKÓW POMARAŃCZOWYCH

Katarzyna Baran\*, Anna Domeracka, Justyna Janiszewska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 51-630 Wrocław  
SKN Q Jakości Żywności, ul. Chełmońskiego 37/41

\* e-mail: 109480@student.upwr.edu.pl

## Streszczenie

Soki pomarańczowe należą do najchętniej spożywanych wśród Polaków. Stanowią one źródło wielu składników aktywnych biologicznie, w tym witamin i składników mineralnych. Cel pracy stanowiła ocena wybranych wyróżników jakości soków pomarańczowych dostępnych na rynku. Analizie poddano następujące wyróżniki fizykochemiczne: pH, zawartość ekstraktu, stabilność zmętnienia i zawartość witaminy C. Przeprowadzono także aparaturowy pomiar barwy, ocenę cech sensorycznych oraz zgodność w oznakowaniu opakowań z obowiązującymi przepisami prawa żywnościowego. Wykazano nieprawidłowości pod względem zawartości witaminy C i ekstraktu refraktometrycznego względem norm AIJN. Odnotowane różnice w pomiarach barwy w skali CIE  $L^*a^*b^*$  znalazły potwierdzenie w wynikach uzyskanych z oceny sensorycznej badanych soków.

**Słowa kluczowe:** barwa, jakość, sok pomarańczowy, pożądalność konsumenta

## 1. Wprowadzenie

Atrybutami produktów żywnościowych, które mają istotny wpływ na decyzje zakupowe nabywców, są cechy wewnętrzne produktu, wśród których wyróżnia się barwę, smak, zapach, konsystencję oraz cechy zewnętrzne, takie jak np. cena, marka, wygląd opakowania, informacje zamieszczone na etykiecie i reklama [1].

W gronie konsumentów najliczniejszą grupę stanowią osoby zainteresowane praktyczną stroną zakupów, w głównej mierze zwracające uwagę na stosunek ceny do jakości oraz na dostępność produktów na rynku. Jednak stale rosnący poziom wiedzy konsumentów sprawił, że spotyka się coraz więcej entuzjastów zdrowej żywności, przywiązujących dużą wagę do informacji zamieszczonych na etykietach oraz wybierających produkty wykazujące korzystny wpływ na zdrowie, o wysokiej zawartości składników odżywczych i niskim stopniu przetworzenia [15].

Do doskonałych przykładów prozdrowotnych produktów stanowią soki, których popularność wzrosła w ostatnich latach na polskim rynku. Picie soków może być jednym ze sposobów na zwiększenie dawki dostarczanych organizmowi mikroelementów, soli mineralnych, witamin, antyoksydantów oraz błonnika – w przypadku soków mętnych [9]. Badania dowodzą, że substancje zawarte w sokach są dużo łatwiej przyswajalne przez ludzki organizm niż dostarczane poprzez suplementację w postaci tabletek i płynnych preparatów. Ich dodatkową

zaletą jest to, że nie obciążają wątroby ani układu trawiennego i w niezwykle szybkim czasie są rozprowadzane po organizmie [10].

Przedsiębiorcy, wychodząc naprzeciw oczekiwaniom konsumentów, oferują coraz to szerszą gamę soków, otrzymywanych nie tylko z krajowych surowców, ale także z tych naturalnie występujących jedynie w krajach o cieplejszym klimacie. Wśród Polaków najbardziej preferowanym smakiem jest pomarańczowy, którego poziom sprzedaży wynosi 35% [11]. Zatem warto postawić pytanie: czy szeroka oferta oraz odtwarzanie soków z koncentratów wpływają na ich cechy jakościowe?

Obecnie istnieje wiele metod oceny i analizy żywności, są to między innymi badania fizyczne, chemiczne czy mikrobiologiczne, jednak na szczególną uwagę, w odniesieniu do oczekiwań konsumenta, zasługują analiza sensoryczna i ocena konsumencka [6]. Analiza sensoryczna polega na ocenie i pomiarze właściwości danego produktu spożywczego, w którym aparat pomiarowy stanowi jeden lub kilka zmysłów człowieka, dodatkowo badanie przeprowadzane jest w określonych warunkach przez osoby spełniające odpowiednie wymagania. Ocena sensoryczna stanowi natomiast łatwy i szybki sposób analizy danego produktu spożywczego, jednak jest metodą niepowtarzalną, a na jej wyniki ma wpływ szereg czynników, takich jak: stan fizjologiczny i psychologiczny oceniającego, wrażliwość sensoryczna, a także samo otoczenie, w którym przeprowadzane jest badanie [14]. Ocena hedonistyczna – inaczej konsumencka, wciąż jest powszechnie stosowana, ponieważ daje ważną informację o stosunku do żywności i żywienia przez zróżnicowaną grupę konsumencką [7].

Celem badań była kompleksowa ocena jakości dostępnych na rynku soków pomarańczowych z wykorzystaniem metod instrumentalnych, chemicznych oraz analizy sensorycznej.

## 2.1. Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiło dziesięć soków pomarańczowych pochodzących od sześciu producentów, cieszących się dużą dostępnością w sieciach handlowych oraz chętnie wybieranych przez konsumentów. Próby zostały zakodowane pierwszymi literami od nazwy danego soku i opakowania, w którym się znajdowały, w celu eliminacji błędu oczekiwania. Selekcji dokonano na podstawie dostępnych danych marketingowych. Badaniom poddano soki w opakowaniach jednostkowych o pojemności 1 litra, które stanowiły butelki szklane, butelki plastikowe PET oraz pudełka z laminatu wielowarstwowego typu Tetra Pak.

Prezentowane badania obejmowały oznaczenia fizykochemiczne: pomiar stopnia zmętnienia soków metodą wirówkową, zawartość ekstraktu ogólnego metodą refraktometryczną, kwasowość czynną (pH), zawartość witaminy C metodą Tillmansa [2] oraz pomiar barwy za pomocą kolorymetru odbiciowego (na podstawie modelu CIE  $L^*a^*b^*$ ). Parametr  $L^*$  wyraża jasność próbki w skali od 0 do 100, parametr  $a^*$  opisuje barwę od zielonej (-100) do czerwonej (+100), natomiast parametr  $b^*$  opisuje barwę od niebieskiej (-100) do żółtej (+100) [3]. Ponadto przeprowadzono ocenę sensoryczną metodą hedonistyczną, inaczej zwaną konsumencką, której celem była analiza następujących determinantów jakości: wyglądu, barwy, smaku i zapachu. W badaniu brało udział 50 osób, oceniających poszczególne wyróżniki według pięciopunktowej skali hedonicznej. Soki zostały poddane ocenie sensorycznej bezpośrednio po otwarciu ich opakowań jednostkowych.

## 2.2. Wyniki i dyskusja

### 2.2.1. Wyróżniki fizykochemiczne

Wszystkie soki dostępne na rynku muszą spełniać wymagania zawarte w przepisach prawa żywnościowego. Wskaźniki, którym powinny odpowiadać soki owocowe, zebrano w Kodeksie Praktyki opracowanym przez European Fruit Juice Association – AIJN [3]. Kodeks ten może służyć do oceny autentyczności i jakości soków owocowych. Wymagania zawarte w kodeksie dla soku pomarańczowego warunkują m.in. minimalną zawartość rozpuszczalnych substancji stałych według skali Brix, której wartość powinna wynosić 11,2% oraz zawartość kwasu L-askorbinowego (witaminy C) na koniec okresu przydatności do spożycia na poziomie minimum 200 mg/l [5]. Ponadto, zgodnie z Rozporządzeniem (WE) nr 1924/2006 (DZ. U. UE L 404), witamina C należy do grupy substancji, którymi można wzbogacać produkty spożywcze [13].

W tabeli 1 przedstawiono wyniki badań własnych dotyczących wybranych wyróżników jakości soków pomarańczowych. Analiza zawartości witaminy C w wybranych sokach pomarańczowych wykazała, że próby 5. MW, 6. SO oraz 7. FP zawierały dużo mniej niż 200 mg/l tej witaminy, mimo długiego terminu przydatności w chwili wykonywania badania. Najniższą zawartość wit. C uzyskano w przypadku soku SO (120,7 mg/l), który statystycznie różnił się istotnie od pozostałych analizowanych próbek produktu. Niska zawartość tego składnika w wyrobie prawdopodobnie miała związek z zastosowaniem surowca wyjściowego ubogiego w tę witaminę lub nieodpowiednią obróbką termiczną podczas produkcji soków. Nadtlenek wodoru stosowany podczas procesu sterylizacji i zamykania opakowań, celem przedłużenia trwałości produktów, może powodować utlenianie kwasu askorbinowego, a tym samym jego rozkład [8]. Pozostałe siedem prób nie wykazało odchylenia od parametrów przedstawionych w normach. Zawartość witaminy C w tych sokach wynosiła od 203 mg/l (FK) do 430 mg/l (HP) i różniła się statystycznie istotnie od pozostałych grup soków. W produktach o najwyższej wartości zastosowano dodatek syntetycznej witaminy C, jednak zgodnie z obowiązującym prawem ta praktyka nie budzi zastrzeżeń natury prawnej.

Istotna w ocenie wartości odżywczej soków jest zawartość ekstraktu. Zmierzona zawartość ekstraktu refraktometrycznego w skali Brix w badanych próbach soków wynosiła od 11,0 do 11,4%. Zbyt niska, istotnie niższa ( $p < 0,05$ ) zawartość ekstraktu, którą odnotowano w przypadku czterech prób (konkretnie), może być spowodowana użyciem nadmiernej ilości wody do odtwarzania soku z koncentratu pomarańczowego. W przypadku nieuczciwych przedsiębiorców taka praktyka może skutkować obniżeniem kosztów produkcji i wprowadzeniem konsumenta w błąd, ponieważ zawartość ekstraktu nie powinna być niższa niż ustalona w normach.

Pozostałe oznaczenia fizykochemiczne nie wykazały nieprawidłowości w odniesieniu do omawianych wytycznych. Kwasowość czynna badanych soków wynosiła średnio 4,14. Oznaczony stopień zmętnienia odpowiadał klarowności analizowanych próbek i zawierał się w przedziale od 17,7 do 51,0%. Średnia wartość wszystkich pomiarów to 11,19%. Analiza statystyczna wyników koordynatów barwy ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) wykazała znaczące różnice w jasności ( $L^*$ ) soków. Najniższą jasnością, w zakresie od 47,80 do 48,48, odznaczały się soki HP, HK i HZ (tab. 1). Istotnie ( $p < 0,05$ ) jaśniejsze okazały się soki FK (49,56), a najwyższymi wartościami parametru  $L^*$  charakteryzowały się soki DW, FP, MW, TK i TP, u których średnia wartość  $L^*$  wynosiła 50,77. Analiza parametru  $a^*$  określającego natężenie barwy czerwonej wykazała w przypadku badanych soków przesunięcie w kierunku zieloności, przyjmując wartości ujemne  $a^*$ . Soki TK i TP odznaczały się najwyższym natężeniem barwy zielonej,

podczas gdy soki DW, FK, HK i SO charakteryzowały się statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) wyższymi wartościami parametru  $a^*$  (max.  $-0,16$ ), wykazując barwę w zakresie szarości. Wszystkie analizowane soki uzyskały dodatnie wartości parametru  $b^*$  wyrażającego natężenie barwy żółtej. Najniższą żółtością odznaczały się soki HK, HZ i HP, co korespondowało także z ich najniższą jasnością ( $L^*$ ). Istotnie bardziej żółte były soki DW, FP, SO, TK i TP (średnio dla tej grupy  $b^* 9,98$ ).

Tabela 1. Wybrane wskaźniki jakości badanych soków pomarańczowych

Nr próby soku	Brix (%)	pH (-)	Wit C (mg/100 ml)	Parametry barwy		
				$L^*$	$a^*$	$b^*$
1. HP	11,1±0,1 <sup>ab</sup>	4,03±0,1 <sup>a</sup>	430,7±0,6 <sup>j</sup>	48,5±0,23 <sup>ab</sup>	-0,52±0,14 <sup>bc</sup>	7,6±0,34 <sup>a</sup>
2. HZ	11,3±0,1 <sup>cd</sup>	4,04±0,1 <sup>ab</sup>	367,7±1,2 <sup>i</sup>	47,8±0,20 <sup>a</sup>	-0,52±0,05 <sup>bc</sup>	8,1±0,66 <sup>ab</sup>
3. HK	11,4±0,1 <sup>d</sup>	4,05±0,1 <sup>b</sup>	336,0±3,6 <sup>h</sup>	48,4±0,42 <sup>ab</sup>	-0,16±0,05 <sup>f</sup>	7,5±0,32 <sup>a</sup>
4. DW	11,2±0,1 <sup>ab</sup>	4,1±0,1 <sup>c</sup>	319,0±0,6 <sup>g</sup>	49,6±0,20 <sup>c</sup>	-0,16±0,01 <sup>f</sup>	8,6±0,10 <sup>bc</sup>
5. MW	11±0,1 <sup>a</sup>	4,18±0,1 <sup>c</sup>	155,7±0,1 <sup>c</sup>	50,7±0,37 <sup>d</sup>	-0,44±0,02 <sup>cd</sup>	9,8±0,06 <sup>d</sup>
6. SO	11,1±0,1 <sup>ab</sup>	4,32±0,1 <sup>g</sup>	120,7±0,5 <sup>a</sup>	50,8±0,25 <sup>d</sup>	-0,69±0,04 <sup>a</sup>	10,1±0,34 <sup>d</sup>
7. FP	11,2±0,1 <sup>bc</sup>	4,23±0,1 <sup>f</sup>	143,1±0,0 <sup>b</sup>	50,6±0,30 <sup>d</sup>	-0,59±0,06 <sup>ab</sup>	9,9±0,14 <sup>d</sup>
8. FK	11,1±0,1 <sup>ab</sup>	4,2±0,1 <sup>f</sup>	203,5±3,1 <sup>d</sup>	50,6±0,97 <sup>d</sup>	-0,29±0,15 <sup>cf</sup>	10,0±0,32 <sup>d</sup>
9. TK	11,3±0,1 <sup>cd</sup>	4,16±0,1 <sup>d</sup>	214,5±0,5 <sup>c</sup>	51,2±0,19 <sup>d</sup>	-0,37±0,05 <sup>dc</sup>	10,0±0,65 <sup>d</sup>
10. TP	11,2±0,1 <sup>bc</sup>	4,11±0,1 <sup>c</sup>	311,5±0,5 <sup>f</sup>	49,1±0,21 <sup>bc</sup>	-0,18±0,04 <sup>f</sup>	9,0±0,25 <sup>c</sup>
ŚREDNIA	11,19	4,14	260,0	49,72	-0,39	9,07
ODCHYLENIE STANDARDOWE	0,12	0,09	10,64	1,20	0,19	1,04
P	<b>0,003</b>	0,000	0,00	0,00	0,00	0,00
SEM	0,026	0,017	1,874	0,220	0,035	0,192

Źródło: opracowanie własne

Badane wskaźniki fizykochemiczne mogły mieć wpływ na postrzeganie wyróżników jakości podczas konsumenckiej oceny sensorycznej soków pomarańczowych.

### 2.2.2. Ocena sensoryczna

Soki sześciu znanych marek w 10 wariantach zostały poddane ocenie sensorycznej bezpośrednio po otwarciu ich opakowań jednostkowych. Na podstawie uzyskanych średnich ocen dla poszczególnych wyróżników jakościowych została obliczona ogólna ocena dla każdego soku. Wyniki zostały przedstawione w tabeli 2.

Pod względem wyglądu najwyżej została oceniona próba 2. HZ – 4,3 punktów, taką samą wartość uzyskała także próba 9. TK, bardzo zbliżoną natomiast próba 4. DW – 4,2 punktów. Pozostałe soki uzyskały nieco mniej punktów, jednak ich wartość oscylowała od 3,5 do nieco ponad 4 punktów. W ocenie barwy najwyższą liczbę punktów otrzymały próby soku 9. TK – 4,3 i 4. DW – 4,2, a najmniejszą próba 1. HP – 3,4 punktów (tab. 2). Opakowanie jednostkowe prób stanowiła plastikowa butelka PET, co może świadczyć o wpływie rodzaju opakowania na zmiany barwy zachodzące podczas przechowywania. W badaniach

największe rozbieżności odnotowano w ocenie zapachu, gdzie najwyższą akceptowalnością cechowała się próba 2. HZ, tj. pożądaný zapach „świeżej pomarańczy” był najbardziej wyczuwalny i uzyskał on 4,3 punktów, podobny wynik uzyskała także próba 10. TP – 4,1 punktów (tab. 2). Wyróżnik ten został dużo niżej oceniony w pozostałych próbach, nie osiągając nawet 4 punktów. W tym przypadku najmniejszą liczbę punktów – 2,3 otrzymał sok zawarty w próbie 6. SO, gdzie zapach był najslabiej wyczuwalny. Ostatnim ocenianym i jednym z najważniejszych dla konsumentów wyróżnikiem jakościowym był smak badanych soków, w którego przypadku pożądaną cechą był wyraźnie wyczuwalny, intensywny i harmonijny smak pomarańczy. Pod tym względem ponownie najlepiej została oceniona próba soku 2. HZ, uzyskując aż 4,7 punktów, na drugim miejscu znalazł się sok z próby 4. DW – 4,0 punktów, a najmniejszą liczbę punktów uzyskały sok marki własnej sieci hipermarketów w próbie 5. MW – 3,2 oraz próba 6. SO z wynikiem 3,1 punktów (tab. 2). Pozostałe soki pod względem tej cechy przeciętnie uzyskały podobną liczbę punktów. Ogólna ocena wszystkich poddanych badaniu soków mieściła się w granicach od 3,4 do 4,4 punktów. Najwyższą ogólną ocenę otrzymał sok zakodowany jako próba 2. HZ – 4,4 punktów, natomiast na drugim miejscu znalazł się sok DW (próba 4. – 4,1 punktów). Na kolejnych miejscach znalazły się odpowiednio próby: 9. TK i 3. HK – 3,9 punktów oraz 10. TP i 7. FP – 3,8 punktów (tab. 2), między którymi różnica w ogólnej ocenie była niewielka. W ostatecznej ocenie najniższą wartość uzyskał sok marki własnej hipermarketów (próba 5. MW – 3,4 punktów).

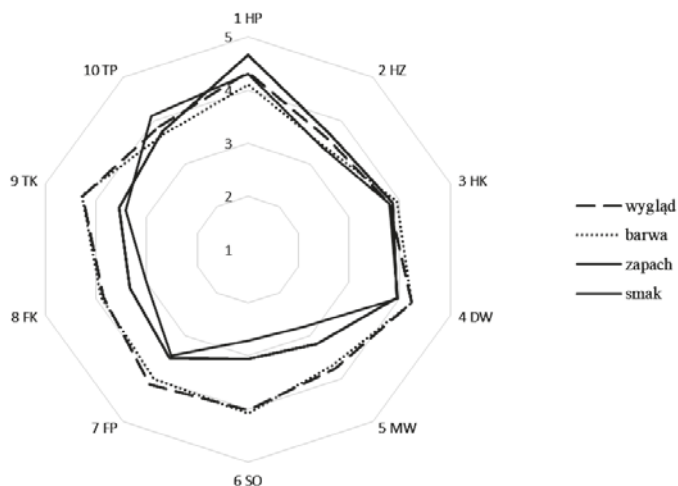
Podsumowując ogólną ocenę jakości sensorycznej badanych soków, jedynie dwóm próbom spośród dziesięciu udało się uzyskać ocenę powyżej 4 punktów, w pozostałych przypadkach wyniki między poszczególnymi próbami były niewielkie, jednak niektóre, takie jak sok 6. SO i sok marki własnej 5. MW, odbiegały wyraźnie od pozostałych, szczególnie w przypadku oceny smaku i zapachu.

Tabela 2. Wyniki analizy etykiet w odniesieniu do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) NR 1169/2011 z dn. 25 października 2011 r

Nr próby soku	Podpunkt rozporządzenia											
	a)	b)	c)	d)	e)	f)	g)	h)	i)	j)	k)	l)
1. HP	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	nd	+
2. HZ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	+
3. HK	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	nd	+
4. DW	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	nd	+
5. MW	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	nd	+
6. SO	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	nd	+
7. FP	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	nd	+
8. FK	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	nd	+
9. TK	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	nd	+
10. TP	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	nd	+

Legenda: „+” zgodne z ww. podpunktem rozporządzenia; „-”, wykrzyta niezgodność; „nd” nie dotyczy

Źródło: opracowanie własne



Źródło: opracowanie własne

Wykres 1. Ocena sensoryczna soków pomarańczowych

### 2.2.3. Analiza etykiet

Etykiety stanowią jedną z ważniejszych części opakowania. Pełnią one przede wszystkim funkcję informacyjną i jednocześnie marketingową. Na nich zostają zawarte konkretne treści m.in. nazwa produktu oraz producenta, wartość odżywcza, składniki, ilość zawartego materiału w opakowaniu, termin przydatności, alergeny. Pozwalają one zapoznać się klientowi z danym wyrobem oraz dokonać świadomego wyboru. Wzrasta liczba konsumentów, którzy czytają składy produktów czy zwracają uwagę na termin ważności. Producenci żywności zobowiązani są do prawidłowego etykietowania swoich towarów [12].

W Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności [14] podane są obowiązkowe dane, które muszą zostać udostępnione potencjalnemu klientowi:

- a) nazwa żywności;
- b) wykaz składników;
- c) alergeny;
- d) ilość określonych składników lub kategorii składników;
- e) ilość netto żywności;
- f) data minimalnej trwałości lub termin przydatności do spożycia;
- g) wszelkie specjalne warunki przechowywania lub warunki użycia;
- h) nazwa lub firma i adres podmiotu działającego na rynku spożywczym, o którym mowa w art. 8 ust. 1;
- i) kraj lub miejsce pochodzenia w przypadku przewidzianym w art. 26;
- j) instrukcja użycia, w przypadku gdy w razie braku takiej instrukcji odpowiednie użycie danego środka spożywczego byłoby utrudnione;
- k) w odniesieniu do napojów o zawartości alkoholu większej niż 1,2% objętościowo, rzeczywista zawartość objętościowa alkoholu;
- l) informacja o wartości odżywczej.



Informacje muszą być jasne, czytelne i zrozumiałe dla każdego klienta. Dzięki nim może on dokonać świadomego wyboru produktu, porównując m.in. jego skład lub wartość odżywczą. Oprócz obowiązkowych danych na etykiecie mogą pojawić się dodatkowe deklaracje od producenta, np. o kwasach tłuszczowych wielonienasyconych, jednonienasyconych lub witaminach pojawiających się w znaczących ilościach. Zabronione jest natomiast wprowadzanie konsumenta w błąd w jakimkolwiek punkcie.

W badaniu zostały wzięte pod uwagę różne warianty soków pomarańczowych sześciu różnych producentów. W analizie dotyczącej zgodności etykiet wybranych wyrobów z Rozporządzeniem (UE) nr 1169/2011 [12] sprawdzono obowiązkowe informacje, które według wyżej wymienionego rozporządzenia powinny być zawarte na opakowaniu danej żywności. Wyniki przedstawiono w tabeli 3.

Zdecydowana większość producentów umieściła wszystkie obowiązkowe informacje na etykietach, jednak w przypadku kilku prób wykryto brak obowiązkowych deklaracji warunkowanych zapisami rozporządzenia. Pierwsza nieścisłość dotyczyła próby soku zakodowanej numerem 5. MW i odnosiła się do braku odpowiedniej deklaracji na temat składu produktu. W przypadku soku odtwarzanego z zagęszczonego soku pomarańczowego producent powinien umieścić w sposób czytelny taką informację. W przypadku pozostałych prób rzetelnie poinformowano o zawartości wody oraz soku z zagęszczonego soku pomarańczowego. Zaobserwowano także zatajenie informacji na temat dodatku witaminy C w próbie 9. TK, mimo że dopuszcza się ją jako substancję dodatkową do soków. Obydwie praktyki stanowią naruszenie w stosunku do podpunktu b Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011. Kolejna odnotowana nieścisłość dotyczyła opakowania soku 9. TK i wiązała się z brakiem informacji o możliwych alergenach. Owoce cytrusowe są jednym z najczęściej uczulających pokarmów, zalicza się do nich m.in. pomarańcze, z których produkowane są soki stanowiące przedmiot badań. Alergie mogą objawiać się zarówno ze strony układu pokarmowego, jak i oddechowego, w zależności od uczulenia, ale także pojawić się mogą zmiany skórne [4]. Taka deklaracja powinna zostać zawarta na etykiecie. Zabrakło również informacji dotyczącej ilości konkretnych składników w soku na opakowaniu (ppkt d rozporządzenia) na opakowaniu próby 6. i 7. Nie stwierdzono niezgodności w stosunku do deklaracji dotyczącej nazwy produktu, ilości netto, nazwy lub firmy i adresu producenta oraz wartości odżywczej soków (kolejno: pkt. a, e, h, l rozporządzenia) – każdy z producentów umieścił na opakowaniach jednostkowych te informacje. Wszystkie analizowane produkty posiadały również zapis o konieczności wstrząśnięcia opakowania przed spożyciem, co odnosi się do podpunktu j) rozporządzenia. Podpunkt k) rozporządzenia odnosi się jedynie do napojów alkoholowych, więc nie dotyczy badanego asortymentu, co zaznaczono w tabeli 3. Kolejny wymóg, który nie jest konieczny do spełnienia w przypadku soków, to informacja o kraju pochodzenia, aczkolwiek jeden z producentów (próba 2.) podał kraj pochodzenia pomarańczy dobrowolnie.

## 4. Podsumowanie

Na podstawie wyników oceny wybranych wyróżników jakości soków pomarańczowych dostępnych na rynku za pomocą analizy fizykochemicznej i oceny sensorycznej metodą hedonistyczną można wnioskować, że większość dostępnych na rynku soków spełnia wymagania jakościowe regulowane przez odpowiednie akty prawne i normatywne.

Niedopełnienie obowiązku przestrzegania norm AIJN odnotowano w przypadku oznaczenia zawartości ekstraktu refraktometrycznego według skali Brix w czterech spośród dziesięciu badanych prób. Nieścisłość w stosunku do powyższej normy wykazała także analiza wyników określających zawartość witaminy C – trzy spośród dziesięciu badanych prób zawierały zbyt niską ilość kwasu askorbinowego (poniżej 200 mg/litr). Pozostałe ocenione wskaźniki fizykochemiczne mogły mieć istotny wpływ na postrzeganie wyróżników jakości podczas konsumenckiej oceny sensorycznej soków pomarańczowych.

Podsumowując ogólną ocenę jakości sensorycznej badanych soków, jedynie dwóm próbom spośród dziesięciu udało się uzyskać ocenę powyżej 4 punktów. W pozostałych przypadkach różnice w wynikach między poszczególnymi próbami były niewielkie, jednak ocena soku marki własnej sieci hipermarketów próba 5. MW i próba 6. SO różniły się znacząco od pozostałych, szczególnie w przypadku wyróżnika smaku i zapachu, uzyskując dużo mniej punktów.

Zdecydowana większość producentów umieściła wszystkie obowiązkowe informacje na etykietach, w przypadku kilku prób wykryto brak obowiązkowych deklaracji warunkowanych zapisami Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) NR 1169/2011 z dn. 25 października 2011 r. Wykryte zaniechania dotyczyły braku odpowiedniej deklaracji na temat składu produktu, braku informacji o możliwych alergenach i ilości konkretnych składników.

## Literatura

- [1] Barska A., 2018. Atrybuty produktu żywnościowego a decyzje konsumentów. *Handel wewnętrzny*, vol. 3 (374), s. 37–47.
- [2] Czerwiecki L., Wilczyńska G., 1999. Oznaczanie witaminy C w wybranych produktach owocowo-warzywnych. *Roczn. PZH*, 50, s. 77–87.
- [3] Kalisz S., Ścibisz I., Mitek M., 2016. Wybrane wyróżniki jakościowe soków mieszanych. *BROMAT. CHEM. TOKSYKOL.* 3 (44), s. 296–301.
- [4] Karczewska J., Ukleja-Sokołowska N., Bartuzi Z., 2018. Alergia na cytrusy. *Alergia Astma Immunologia*, 23 (3), s. 215–220.
- [5] Kodeks Praktyki AIJN, 2001. KUPSiNB Warszawa.
- [6] Łysoniewska E., Kalisz S., Mitek M., 2011. Jakość sensoryczna nektarów i napojów z czarnej porzeczki wzbogaconych ekstraktami z jeżówki purpurowej oraz zielonej herbaty. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, vol. 6 (79), s. 167–177.
- [7] Malinowska E., Wiśniewska M.Z., Szymańska-Brałkowska M., 2014. Ocena sensoryczna jakości produktów żywnościowych. *Zakład Zarządzania Jakością i Środowiskiem, Wydział Zarządzania, Uniwersytet Gdański, Sopot*.
- [8] Ozkan M., Kirca A., Cemeroglu B., 2004. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. *Food Chem.*, 88, s. 591–597.
- [9] Przygoda B., Matczuk E., Stoś K., 2019. Sok pomarańczowy odtworzony z soku zagęszczonego. *Produkcja, właściwości, wartość odżywcza*. Broszura edukacyjna Instytutu Żywności i Żywienia, Warszawa.
- [10] Pyryt B., Karpińska P., 2013. Jakość soków warzywnych w opinii konsumentów, *BROMAT. CHEM. TOKSYKOL.*, vol. 3 (46), s. 337–343.
- [11] Pyryt B., Witkowska D., 2012. Ocena jakości wybranych soków pomarańczowych, *BROMAT. CHEM. TOKSYKOL.*, vol. 3 (45), s. 248–253.

- [12] Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności.
- [13] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) NR 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności.
- [14] Szwedziak K., Polańczyk E., Wolf A., 2015. Ocena soków naturalnych z owoców uprawianych w technologii zintegrowanej z EM. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, vol. 2, s. 34–37.
- [15] Włodarska K., Pawlak-Lemańska K., Górecki T., Sikorska E., 2015. Motywy wyboru żywności przez konsumentów soków – badania pilotażowe. *Journal of Agribusiness and Rural Development*, vol. 4 (38), s. 839–847.

## ASSESSMENT OF QUALITY FEATURES OF MARKETS ORANGE JUICES

### Abstract

Orange juice is one of the most popularly consumed in Poland. They are the source of many biologically active ingredients, including vitamins and minerals. The aim of the study was to assess selected quality attributes of orange juice available on the market. The following physicochemical characteristics were analyzed: pH, extract content, turbidity, vitamin C content. An apparatus color measurement and sensory characteristics assessment was carried out. The content of the total extract was similar for all samples and averaged 11.2 wt. There were no significant differences in pH values. The juices selected for the study differed in terms of vitamin C content (from 15.6 mg / 100 g to 43 mg / 100 g) and the color measured on the L \* a \* b \* scale, which was confirmed by the results obtained from the sensory evaluation of the subjects juices.

**Key words:** quality of juices, orange juice

Opiekun naukowy: dr inż. Anna M. Salejda

Recenzent: dr hab. inż. Maciej Oziębłowski, prof. UPWr



# OCENA POZIOMU SATYSFAKCJI UCZESTNIKÓW TARGÓW OGRODNICTWA I ARCHITEKTURY KRAJOBRAZU GARDEN EXPO

Anna Sasin

Uniwersytet Rzeszowski, Kolegium Nauk Przyrodniczych, ul. M. Ćwiklińskiej 1a, 35-601 Rzeszów  
SKN Rolników „Włóścianin”

e-mail: am\_s@wp.pl

## Streszczenie

Celem opracowania było przybliżenie problematyki targów wystawienniczych na podstawie Targów Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Garden Expo (największych tego typu targów na Podkarpaciu), przedstawienie poziomu satysfakcji zwiedzających oraz wystawców, a także wskazanie kierunku działań podczas kolejnych edycji tego wydarzenia. Badania prowadzono przy użyciu autorskiej ankiety przystosowanej do rodzaju i tematyki tego wydarzenia. Dodatkowo wykonano szereg analiz, m.in. SWOT. Przeprowadzone badania ankietowe oraz analizy były podstawą do wyróżnienia kierunków zainteresowań zwiedzających targi, a tym samym opracowania katalogu preferowanych wystawców i wydarzeń towarzyszących mających na celu uatrakcyjnienie tego przedsięwzięcia.

**Słowa kluczowe:** targi ogrodnictwa, architektura krajobrazu, targi wystawiennicze

## 1. Wprowadzenie

Rzeszów to największe miasto w południowo-wschodniej Polsce, będące stolicą województwa podkarpackiego. Mieszkańcy uważają Rzeszów za miasto estetyczne, zadbane i rozwijające się. Stale zwiększająca się liczba mieszkańców, rozwój przemysłu informatycznego, a także lotniczego (Port Lotniczy Rzeszów-Jesionka) sprawiły, że miasto zyskało miano stolicy innowacji [5].

Od 2018 roku w G2A Arenie, w Centrum Wystawienniczo-Kongresowym, w miejscowości Jasionka oddalonej od centrum Rzeszowa o około 14 km, co roku odbywają się Targi Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Garden Expo, reklamujące się jako „najbardziej zielone targi”. Aktualnie jest to największe tego typu wydarzenie na Podkarpaciu. Dotychczas sfera ogrodnictwa i architektury krajobrazu była jedynie dodatkiem do Targów Budownictwa odbywających się w Rzeszowie, w hali „Podpromie”. Oprócz tego cyklicznie odbywają się różnorakie jarmarki i giełdy ogrodnicze, np. Jesienna Giełda Ogrodnicza w Boguchwale, jednak żadne z tych wydarzeń nie ma takiej skali zasięgu jak Targi Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Garden Expo [7].

## 1.2. Cel targów wystawienniczych

Targi to miejsce spotkań branżowych, są unikalnym instrumentem komunikacji marketingowej. Istotną zaletą tego sposobu promocji danych usług i towarów jest forma "face to face" pozwalająca na bezpośredni kontakt producenta z obecnymi, jak i potencjalnymi klientami. O skuteczności tej formy świadczy fakt, iż firmy, które raz postanowiły wybrać ten sposób budowania wizerunku, w większości chętnie uczestniczą w tych wydarzeniach w kolejnych latach. Korzyści z uczestnictwa na takich imprezach są obopólne – wystawcy zdobywają nowych klientów, często także umacniają swoją pozycję na rynku, natomiast zwiedzający w jednym miejscu i czasie mają możliwość porównania całej gamy ofert [1].

Istotą targów branżowych jest przybliżenie danych usług, towarów, nowinek technologicznych o określonej tematyce, połączonych z jedną bądź kilkoma gałęziami gospodarki. Należy jednak pamiętać, że nie zawsze tak wyglądała forma tego wydarzenia [6, 12].

## 1.3. Zarys historyczny targów wystawienniczych

Pierwsze targi wystawiennicze o zbliżonej postaci do tych obecnych odbyły się w Lipsku, w 1894 roku. Ówczesni wystawcy zaprzestali wtedy przedstawiania całego asortymentu, a skupili się na prezentowaniu jedynie wzorców i próbek towarów – dlatego też wydarzenia tego typu nazywane były „targami wzorców”. Nowa forma zyskała powszechną aprobatę, gdyż pozwalała znacznie zmniejszyć powierzchnie do ekspozycji towarów. Wraz z intensywnym rozwojem przemysłu zwiększyły się specjalizacja produkcji oraz rozwój międzynarodowego podziału produkcji. Elementy te wpłynęły na istotę targów – wzorców. Zmieniły one swój charakter na bardziej branżowy o ściśle określonej tematyce. Pierwsze targi branżowe odbyły się w Parmie, w 1939 roku. Zawężono tematykę targów do jednej lub kilku pokrewnych dziedzin gospodarki, przez co targi utraciły swój uniwersalizm [3]. Z biegiem lat oczekiwania wystawców, jak i odwiedzających stale wzrastają. Podczas takich wydarzeń, oprócz standardowych atrakcji w postaci stoisk wystawców z nowinkami branżowymi, organizowane są również warsztaty, szkolenia, konferencje i konkursy [2].

Obecnie w Polsce największą sławą cieszą się Międzynarodowe Targi Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Gardenia oraz Zieleń to Życie & Flower Expo Polska. Pierwsze z nich odbywają się w Poznaniu. Targi te to jedna z wiodących imprez tego typu w Europie, która okryta jest zasłużoną renomą. Warto zaznaczyć, iż jest to największa ekspozycja halowa w Polsce. Ekspozycje odbywają się corocznie w lutym i symbolicznie zwiastują początek nowego sezonu ogrodniczego [7]. Targi Zieleń to Życie & Flower Expo Polska to również ważne wydarzenie, jako jedyne tego typu wydarzenie w Polsce rekomendowane jest przez AIPH (International Association of Horticultural Producers). Podobnie jak Gardenia, targi te zrzeszają ze sobą setki wystawców z Polski i z zagranicy. Oferują liczne wykłady oraz warsztaty branżowe, które co roku cieszą się ogromnym zainteresowaniem [10].

W tabeli 1 przedstawiono zestawienie głównych wystaw krajowych o tematyce ogrodniczej. Oprócz wspomnianych sztandarowych targów długoletnią tradycję mają także Dom, Ogród i Ty oraz Wiosenne Targi Ogrodnicze i Targi Pszczelarckie, które cieszą się również dużą popularnością wśród odwiedzających.

Tabela 1. Główne krajowe wystawy o tematyce ogrodniczej w roku 2019

Lp.	Targi				Liczba	
	nazwa	miejsce	termin	edycja	wy- stawców	odwiedzają- cych targi
1.	Międzynarodowe Targi Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Gardenia	Poznań	21–23.02	13.	340	23 700
2.	Targi Ogrodnicze Garden Expo	Jasionka	16–17.03	2.	53	9 000
3.	Międzynarodowe Dni Zieleni GreenDays	Ptak Warsaw Expo, Nadarzyn	22–24.03	3.	203	18 753
4.	Zielona Arena	Ostróda	23–34.03	11.	80	12 000
6.	Dom, Ogród i Ty	Kielce	05–07.04	26.	200	20 000
7.	Wiosenne Targi Ogrodnicze i Targi Pszczelarskie	Podlaski Ośrodek Doradztwa Rolniczego, Szepietewo	13–14.04	23.	150	20 000
8.	Zieleń to Życie	Warszawa	05–07.09	27.	300	15 000

Źródło: opracowanie własne na podstawie: [6–9, 11]

## 2. Cel i metody badań

Celem niniejszego artykułu było przybliżenie problematyki istotnego instrumentu komunikacji marketingowej, jakim są targi wystawiennicze, a także ukazanie opinii zwiedzających oraz ich poziomu satysfakcji z udziału w największych Targach Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, wraz ze wskazaniem kierunku działań podczas kolejnych edycji tego wydarzenia.

Badania podzielono na prace kameralne (analizy) oraz terenowe (ankietyzacja zwiedzających i wystawców w latach 2018–2019) poszerzone o wywiad kierowany. Prace badawcze wykonano przy użyciu autorskiej ankiety zawierającej 9 pytań. Respondenci mieli możliwość wyboru jednej lub kilku odpowiedzi.

Przeprowadzone analizy oraz poznanie tematu od strony uczestników tego wydarzenia było podstawą do opracowania założeń mających na celu uatrakcyjnienie tego przedsięwzięcia.

## 3. Wyniki badań

### 3.1. Analiza oferty wystawców

Na podstawie danych przedstawionych przez organizatorów Garden Expo opracowano zestawienie wystawców wszystkich edycji tych targów (tab. 2). Zakwalifikowano ich do 15 branż, z jakimi są związani, a następnie dokonano analizy udziałów każdej z branż oraz powtarzalności wystawców w kolejnych latach.

Tabela 2. Targi Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Garden Expo

Nazwa wystawcy	Branża	Edycja targów		
		I	II	III
1	2	3	4	5
Akarpol	maszyny i narzędzia	–	+	+
Alina Wójcicka – Rękodzieła	rękodzieło	–	+	–
Antoja	pszczelarstwo	+	–	–
Archi Home and Garden	architektura wnętrz, architektura krajobrazu	+	–	–
Architektura Ogrodowa Wood Design	mała architektura	–	–	+
Aurora Garden	mała architektura	+	+	+
Becla	rolnictwo	+	+	–
Bednarz	gastronomia	+	–	–
Belchim	ogrodnictwo	+	–	–
Browar Koreb	gastronomia	–	+	+
bzyki.com	pszczelarstwo	+	–	–
Centrum Ogrodnicze „Zielony Klomb”	ogrodnictwo	+	+	+
Centrum Zieleni Sp. z o.o.	ogrodnictwo	–	+	+
DeckHouse	mała architektura	–	–	+
Delis	mała architektura	–	+	–
Derek Mariusz Cebulowy Raj	ogrodnictwo	–	+	+
Dobre Ule-Nord Dariusz Więcek	mała architektura	+	+	+
domekogrodnika.pl	ogrodnictwo	+	–	+
Drew-dach	mała architektura, przemysł	–	–	+
Eko-Pasieka Barzyk	pszczelarstwo	–	+	–
Elena	gastronomia	+	–	–
ERPIX Karcher Center	maszyny i narzędzia	+	–	+
Erpox Sp. z o.o. sp. k.	maszyny i narzędzia	–	+	–
Fig-Mar Figurski Mariusz	mała architektura, jubilerstwo	–	+	+
Firma Usługowa Krzysztof Łukasik	mała architektura	–	–	+
Flytrap Factory	ogrodnictwo	–	+	+
Fudali	mała architektura	+	+	–
Gamart	budownictwo	–	–	+
Garden Home	ogrodnictwo	+	–	–
GardenPlus+	ogrodnictwo	+	–	+
Gospodarstwo Szkółkarskie Jan Lato	ogrodnictwo	–	+	–
Góraleks	mała architektura	–	+	–
Green Construction	architektura krajobrazu	–	+	–
Hammerland	mała architektura	+	+	+
Handel Obwoźny Paweł Długopolski	gastronomia	–	+	+
JAAR	ogrodnictwo	–	–	+
KER Producent Galanterii Ogrodowej	mała architektury	–	–	+
Koppert	ogrodnictwo, rolnictwo	+	–	–
Kosydar	florystyka	+	–	–
Kuvings	przemysł	–	–	+
Kwiaciarnia Lazurowa	florystyka	+	–	–



Tabela 2. cd

1	2	3	4	5
Las i ogród Joanna Wojciechowska	maszyny i narzędzia	-	+	+
Lemar	mała architektura	-	+	-
Leroy Merlin	ogrodnictwo	-	+	-
Łucjanek Marek	ogrodnictwo	-	+	+
Manufaktura Kamienia	mała architektura	-	+	-
Mikroogrody	florystyka	-	-	+
Miody Domańskich	pszczelarstwo	+	+	+
MistAway	ogrodnictwo	+	-	-
Nesling	mała architektura	-	+	-
Newkom	ogrodnictwo	-	+	-
NTCE Andrzej Owczar	ogrodnictwo	-	+	-
ogrodczylublin.pl	architektura krajobrazu, ogrodnictwo	-	-	+
Opal Szlifiernia Kamieni Jubilerskich i Mineralów	jubilerstwo	-	-	+
Paweł Ignaciuk	ogrodnictwo	-	+	+
Polan	ogrodnictwo	+	-	-
Polgrass	ogrodnictwo	-	-	+
Pracownia kamieniarska Tomasz Kukielka	mała architektura	-	+	-
Przetwory z Krasiczyna	gastronomia	+	+	-
PSONI Koło w Jarosławiu	psychologia	-	+	-
pszczelinka.pl	pszczelarstwo	+	+	+
Puczyński	mała architektura	+	-	-
Rea's Garden	mała architektura	+	+	-
Respower	maszyny i narzędzia	-	+	-
Saba Gardens Projektowanie Ogrodów	architektura krajobrazu	+	-	-
Sama Dobroć	gastronomia, rękodzieło	+	+	-
Satina Folk	moda	-	-	+
Sery górskie	gastronomia	-	+	-
Stal Implex Sp. z o. o.	ogrodnictwo, mała architektura	+	-	-
Stihl	maszyny i narzędzia	-	-	+
stowarzyszeniesos.org.pl	ogrodnictwo, psychologia	-	-	+
Strefa Zieleni	architektura krajobrazu	-	-	+
Studio Zieleni A&Ł Sułek	ogrodnictwo	-	+	+
Styrobud	mała architektura	+	+	+
Szkółka Drzew i Krzewów Ozdobnych Krajewscy	ogrodnictwo	+	+	-
Szkółka Drzew i Krzewów Ozdobnych Teresa i Grzegorz Miłoś	ogrodnictwo	+	-	-
Szkółka Roślin Ozdobnych Dąbek	ogrodnictwo	+	+	+
Techmark	maszyny i narzędzia	+	+	-
TiM Kominki	budownictwo	-	-	+
Traffka	maszyny i narzędzia	+	+	+
traktor.com.pl	maszyny i narzędzia	+	+	+

Tabela 2. cd

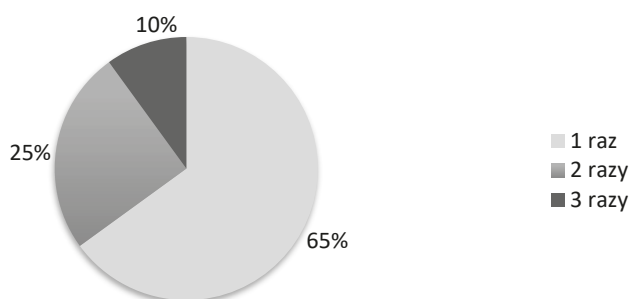
1	2	3	4	5
Tratto	architektura krajobrazu	+	-	-
Vectorworks Landmark	architektura krajobrazu	-	+	-
Vena Baligowski	maszyny i narzędzia	+	-	-
Victorius Witold Deręgowski	gastronomia	-	+	-
Virdi Pracowania Architektury Krajobrazu	architektura krajobrazu	+	-	-
W dereniowym drzewie siła drzemie	gastronomia	-	+	-
Water Engineering	architektura krajobrazu	+	-	-
Waterks	architektura krajobrazu	-	+	-
Westland	ogrodnictwo	+	+	-
Wild Lilly	ogrodnictwo	-	+	+
Wrzos	ogrodnictwo	-	+	+
Wyroby z wikliny i drewna Elwik Paweł Kida	mała architektura	-	+	-
Zielona Forma	architektura krajobrazu	+	-	-
Zielona Oaza	ogrodnictwo	+	-	-
Zielone Kąty Szkoła Roślin Ozdobnych	ogrodnictwo	+	-	-

Źródło: opracowanie własne na podstawie [www.garden-expo.pl](http://www.garden-expo.pl)

Z przeprowadzonej analizy wynika, że na 96 wystawców, którzy uczestniczyli w targach Garden Expo w latach 2018–2020, aż 62 pojawiło się na nich tylko raz, stanowi to 65% wszystkich wystawców (rys. 1). W 2020 roku 17 firm pojawi się po raz pierwszy, jednak mimo wszystko pozostaje 45 wystawców, którzy nie chcieli uczestniczyć w kolejnych edycjach tego wydarzenia. Biorąc pod uwagę średnią liczbę wystawców na rok (47), stanowi to dosyć duży odsetek.

Z analizy udziału poszczególnych branż w targach wynika, że na przestrzeni lat dominuje ogrodnictwo – 30% (fot. 1).

Obecność danego wystawcy na targach:



Źródło: opracowanie własne na podstawie [www.garden-expo.pl](http://www.garden-expo.pl)

**Rys. 1.** Powtarzalność wystawców targów Garden Expo w latach 2018–2020

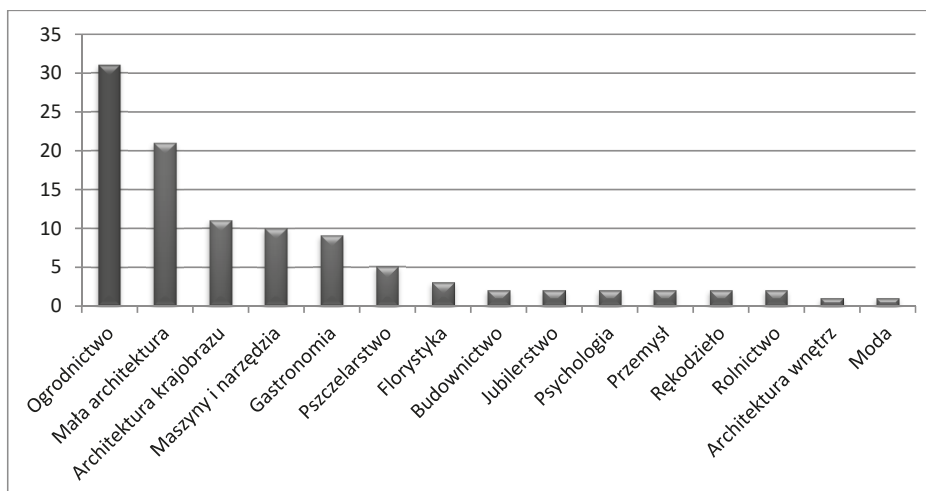


Źródło: fot. A. Sasin

**Fot. 1.** Stoisko wystawiennicze, Garden Expo 2018

Zważywszy, że architektura krajobrazu to drugi kluczowy temat targów, powinna mieć ona niewiele mniejszy udział w tym wydarzeniu niż ogrodnictwo. Niestety, tak się nie dzieje, stanowi ona nieco ponad 10,5% udziału wszystkich branż podczas trzech edycji targów. Zauważyć można również tendencję spadkową (rys. 2), gdyż z roku na rok wystawców tej dziedziny jest coraz mniej. Swoją obecność podczas Garden Expo 2020 zadeklarowało jedynie 2 wystawców z branży architektury krajobrazu.

Drugim wiodącym tematem jest mała architektura. Nieco niżej klasyfikują się branże takie jak maszyny i narzędzia, gastronomia oraz pszczelarstwo. Zaskakująco nisko znajduje się florystyka, która przecież jest nieodzownym towarzyszem tego typu wydarzeń (rys. 2).



Źródło: opracowanie własne

**Rys. 2.** Tematyka targów Garden Expo w latach 2018–2020

## 3.2. Analiza wyników badań ankietowych

Przeprowadzone badania ankietowe wykazały, że zwiedzający najbardziej zainteresowani są ogrodnictwem oraz architekturą krajobrazu (tab. 3). Tu pojawia się pytanie, czy liczba wystaw związanych z architekturą krajobrazu jest wystarczająca? Organizatorzy zapowiadający targi ogrodnictwa i architektury krajobrazu powinni zadbać, by obie te dziedziny były reprezentowane przez licznych wystawców. Ankietowani jako tematy dodatkowe wymieniali również florystykę, ekologię oraz przetwórstwo owoców. Pod względem estetycznym ankietowani ocenili targi Garden Expo w 2018 i 2019 r. w większości jako przygotowane bardzo dobrze i dobrze (tab. 3). Sporadycznie ocenione zostały jako dostatecznie, a w jeszcze mniejszym stopniu źle. Co ciekawe, bardziej krytyczne opinie pochodziły od zwiedzających, którzy bywali na innych wydarzeniach tego typu.

Dwudniowy program targów również w większości oceniany został jako bardzo dobry oraz dobry, głosy te łącznie uzyskały 88% za rok 2018 oraz 78% za rok 2019. Druga edycja w porównaniu z pierwszą wypadła tutaj nieco gorzej. Głównie ze względu na powielanie tego samego schematu, który pojawił się w 2018 roku. Zwiedzających niewiele zaskoczyło, większość negatywnych opinii udzielały osoby, które uczestniczyły w pierwszej edycji targów i mogły je ze sobą porównać. Popularność wykładów i warsztatów branżowych również nieco zmalała w 2019 roku. W pierwszej edycji udział w takich spotkaniach deklarowało 56%, zaś w drugiej tylko 40%.

Zdumiewająco dobrze zapowiadała się frekwencja podczas drugiej edycji Garden Expo, aż 82% ankietowanych w 2018 r. zadeklarowało, że odwiedzi te targi za rok, 18% nie było pewnych swojej odpowiedzi, a nikt nie odrzucił tej propozycji. W 2019 roku liczba chętnych do odwiedzenia kolejnej edycji targów zmalała do 68%, a 16% zadeklarowało, że nie skorzysta z takiej możliwości. Głównym powodem, dla którego ankietowani chcieli uczestniczyć w następnych edycjach Garden Expo, była ciekawość, a dalej chęć pozyskania ogrodowych inspiracji. Natomiast brak chęci uczestnictwa ankietowani motywowali przede wszystkim niezadowoleniem z oferty wystawców oraz powtarzalnością wystaw w porównaniu z pierwszą edycją. Jako dodatkowe powody zwiedzający targi podawali brak organizacji parkowania, długie kolejki oraz cenę biletów.

Podczas obydwu edycji 46% ankietowanych deklarowało, że uczestniczyło już w wydarzeniach tego typu, m.in. w targach ogrodniczych w Poznaniu, Warszawie i Kielcach, a także lokalnych wystawach ogrodniczych w Boguchwale k. Rzeszowa. Głównym źródłem informacji o targach według ankietowanych były media społecznościowe oraz znajomi (tab. 3). Najliczniejszą grupę ankietowanych w 2018 i 2019 r. stanowiły osoby do 26. roku życia. Kobiety znacznie częściej odwiedzały targi niż mężczyźni. W 2018 roku dominowali respondenci zamieszkujący miasto, odwrotna sytuacja miała miejsce w 2019 r., gdzie ankietowani wskazywali częściej wieś jako miejsce zamieszkania.

Tabela 3. Wyniki przeprowadzonych badań ankietowych w 2018 i w 2019 roku

Rok Nr pytania	2018	2019
	2	3
1.	Jaka branża interesuje Państwa najbardziej?*	
	Budowlana: 26% Architektura wnętrz: 18% Ogrodnictwo: 80% Architektura krajobrazu: 44% Inna: 6%	Budowlana: 10% Architektura wnętrz: 34% Ogrodnictwo: 60% Architektura krajobrazu: 56% Inna: 14%
2.	Jak oceniają Państwo estetykę i wystrój targów?	
	Bardzo dobrze: 32% Dobrze: 54% Dostatecznie: 12% Źle: 2% Bardzo źle: 0% Nie wiem: 0%	Bardzo dobrze: 40% Dobrze: 38% Dostatecznie: 18% Źle: 2% Bardzo źle: 0% Nie wiem: 2%
3.	Jak oceniają Państwo program targów: dwudniowa ekspozycja wystawców, dodatkowe atrakcje, branżowe wykłady itp.?	
	Bardzo dobrze: 34% Dobrze: 50% Dostatecznie: 12% Źle: 4% Bardzo źle: 0% Nie wiem: 0%	Bardzo dobrze: 30% Dobrze: 32% Dostatecznie: 22% Źle: 14% Bardzo źle: 0% Nie wiem: 2%
4.	Czy brali Państwo udział w wykładach i warsztatach oferowanych podczas targów garden Expo?	
	Tak: 46% Nie: 44% Jeszcze nie: 10%	Tak: 18% Nie: 60% Jeszcze nie: 22%
5.	Czy w następnym roku odwiedzą Państwo Garden Expo?	
	Tak: 82% Nie: 0% Nie wiem: 18%	Tak: 68% Nie: 16% Nie wiem: 16%
6.	Jeśli tak, to dlaczego?*	
	Bogata oferta: 18,2% Ciekawość: 62,5% Inspiracje: 20,8% Inne: 4,2%	Bogata oferta: 21,2% Ciekawość: 45,5% Inspiracje: 51,2% Inne: 9,1%
7.	Jeśli nie, to dlaczego?*	
	Mało interesująca oferta wystawców: 33,3% Niedogodny dojazd: 33,3% Niedogodny termin: 33,3% Brak ciekawych wydarzeń dla profesjonalistów: 0% Inne: 33,3%	Mało interesująca oferta wystawców: 80% Niedogodny dojazd: 6,7% Niedogodny termin: 0% Brak ciekawych wydarzeń dla profesjonalistów: 0% Inne: 46,6%

1	2	3
8.	Czy brali Państwo udział w innych imprezach targowych o tematyce ogrodniczej w Polsce:	
	Nie: 54% Tak: 46%	Nie: 54% Tak: 46%
9.	W jaki sposób dowiedzieli się Państwo o Garden Expo w Rzeszowie?	
	Znajomi: 38% Media społecznościowe: 42% Reklamy, bilbordy: 12% Inny sposób: 4% Nie pamiętam: 0%	Znajomi: 36% Media społecznościowe: 40% Reklamy, bilbordy: 16% Inny sposób: 6% Nie pamiętam: 2%

\*pytanie wielokrotnego wyboru

Źródło: opracowanie własne

### 3.2. Analiza ogólnego odbioru targów Garden Expo przez zwiedzających

W celu klarownej oceny stanu targów ogrodnictwa i architektury krajobrazu opracowano analizę SWOT. Tabela 4 to zestawienie dobrych oraz złych stron targów Garden Expo, a także szans i zagrożeń, które mogą się pojawić w kolejnych latach.

Tabela 4. Analiza SWOT Targów Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Garden Expo

ANALIZA SWOT	
DOBRE STRONY	ZŁE STRONY
1	2
Bliskość pętli autobusowej, MPK linia 51 z centrum Rzeszowa:	Niewystarczająca liczba miejsc parkingowych
Duża powierzchnia G2A Areny (ponad 16 tys. m <sup>2</sup> powierzchni wystawienniczej)	Słaba komunikacja piesza i rowerowa
Dogodny dojazd samochodem	Niewystarczająca liczba wystawców z branży architektury krajobrazu
Atrakcyjna lokalizacja (14 km od centrum Rzeszowa)	Stosunkowo niewielka liczba wystawców
G2A Arena to obecnie najnowocześniejszy obiekt biznesowy na Podkarpaciu	Powtarzająca się oferta wystawców
Największe wydarzenie o tematyce ogrodniczej na Podkarpaciu	Niewielki udział promocji innowacyjnych rozwiązań z branży ogrodnictwa i architektury krajobrazu
Bogata oferta wykładów branżowych	Cena biletów
Skuteczna reklama targów (Internet, radio, bilbordy)	Uboga oferta szkoleń i warsztatów branżowych
Współpraca z Uniwersytetem Rzeszowskim oraz z PWSZ Krosno	Brak organizacji parkowania

Tabela 4. cd

1	2
Promocja lokalnych firm	Niewiele atrakcji dla dzieci
Bliskość lotniska	Stosunkowo wysokie ceny stoisk wystawienniczych
Złoty liść Garden Expo – nagroda za najciekawsze stanowisko	Niewystarczająca wiedza dotycząca stosowania technik marketingu wystawienniczego
Pokazy florystyczne	Ograniczona wysokość środków finansowych przeznaczanych na udział w targach
–	Monotonność aranżowanych stoisk
<b>SZANSE</b>	<b>ZAGROŻENIA</b>
Zwiększenie popularności targów wśród wystawców i sfery branżowej	Dalsze powielanie schematów poprzednich edycji
Bogatsza oferta wykładów, konkursów, warsztatów oraz szkoleń branżowych	Spadek zainteresowania targami
Organizacja atrakcji dla dzieci	Brak nowych wystawców
Zwiększenie rangi największych targów ogrodnictwa na Podkarpaciu	Konkurencyjne Międzynarodowe Dni Zieleni GreenDays w Nadarzynie, odbywające się w zbliżonym terminie
Wygenerowanie większej liczby miejsc parkingowych	Niechęć wystawców do brania udziału w kolejnych edycjach Garden Expo
Właściwa organizacja parkingu	Możliwa susza wpływająca na brak zainteresowania się tematem ogrodnictwa
Niedopuszczanie do długich kolejek po bilety	–
Popularyzowanie zakupu biletów przez Internet	–
Wykorzystanie większej powierzchni wystawienniczej	–
Atrakcyjniejsze oferty dla wystawców	–
Możliwa susza – większe zainteresowanie nowinkami ogrodniczymi pozwalającymi na zachowanie estetycznego ogrodu w trudnym okresie	–
Większa świadomość ekologiczna mieszkańców, skutkująca większym zainteresowaniem, rozwiązaniami proekologicznymi i prośrodowiskowymi	–

Źródło: opracowanie własne

Z analizy SWOT wynika, iż liczba dobrych oraz złych stron tego przedsięwzięcia jest porównywalna. Jedną z głównych zalet jest lokalizacja tego wydarzenia. To, że znajduje się nie w centrum Rzeszowa, a zaledwie 14 km dalej, w żaden sposób nie ujmuje tym targom. Do Jasionki możemy bez problemu dojechać samochodem, a jeżeli nie mamy takiej możliwości, możemy wybrać komunikację miejską. Dla rodzin z dziećmi może być to ciekawa

weekendowa wycieczka, a lotnisko sąsiadujące z G2A Areną najprawdopodobniej będzie jedną z atrakcji takiej miniwyprawy. Jeżeli obiekt ten znajdowałby się w centrum Rzeszowa, mogłoby to skutkować problemami z dojazdem, brakiem miejsc parkingowych oraz zakorkowaniem okolicy. Bliskość terenów nieurbanizowanych dobrze wpływa również na możliwości rozwoju tego obiektu, w związku z tym nie stanowi on problemu dla okolicznych mieszkańców. Warto wspomnieć, że organizatorzy Garden Expo współpracują z Uniwersytetem Rzeszowskim oraz PWSZ Krosno, dzięki temu targi popularyzowane są wśród studentów z kierunków biologiczno-rolniczych, uczelnie mogą promować się podczas targów, a wykładowcy uatrakcyjnijają to wydarzenie wykładami branżowymi.

Najistotniejszą wadą Garden Expo jest niewątpliwie powtarzalność schematów. Tutaj możemy wyróżnić swego rodzaju paradoks, gdyż jak wyżej wynikało z analiz, aż 65% wystawców pojawiło się raz w ciągu trzech edycji. Z czego wynika owa powtarzalność? Stoiska wystawców, którzy uczestniczą w każdej z edycji, z reguły zajmują większą powierzchnię w widocznym miejscu i należą do wiodących firm na rynku. Do tego stoiska te niewiele różnią się od zeszłorocznych. Znajdując się na stosunkowo niewielkiej powierzchni, gdyż główna strefa wystawiennicza jest mocno okrojona, mamy wrażenie, że widzimy to samo, co w poprzedniej edycji. Nowi wystawcy zazwyczaj mają niewielkie stoiska i często nie są dość dobrze widoczni. Tutaj pojawia się kolejna kwestia, mianowicie zbyt wysoka cena za m<sup>2</sup> stoiska. Przykładowo szkółkarze muszą włożyć ogrom pracy i energii w przygotowania do takich targów. Pieczolowicie przygotowują dany asortyment roślinny, aby w momencie wystawy prezentował się jak najlepiej, często wiąże się to z przyspieszaniem czy opóźnieniem kwitnienia danych roślin. Zakładając, że wystawca chce zaprezentować swoje rośliny na kilku głównych wydarzeniach branżowych, musi przygotować kilka takich partii roślin. W koszty trzeba wliczyć również często dość trudny transport, wynagrodzenie pracowników, a niekiedy również hotel. Dlatego też wystawca ocenia udział w targach pod względem opłacalności. Wystawcy wolą zainwestować w udział w bardziej prestiżowych targach, gdzie są pewni, że przyniesie im to zysk. Garden Expo dopiero wchodzi na rynek targów ogrodniczych i buduje swoją renomę, dlatego też udział w nich może być odbierany przez wystawców jako ryzykowny.

W celu uatrakcyjnienia tego przedsięwzięcia w kolejnych latach należy przeanalizować jego szanse, których jest znacznie więcej niż zagrożeń. Garden Expo ma duży potencjał i należy go wykorzystać. Przede wszystkim to największe targi ogrodnicze na Podkarpaciu, przez co na pewno przyciągają uwagę wielu lokalnych firm, ale również amatorów ogrodnictwa. Jednak fakt, iż nie ma w bliskiej okolicy podobnego wydarzenia, nie może odbić się na jego jakości. Ważne, by zadbać o pozytywny odbiór przez zwiedzających. Jak to zrobić? Należałoby nawiązać kontakt z lokalnymi firmami, zaoferować atrakcyjniejszą ofertę, dzięki czemu pozyskano by większą ilość wystawców. Można by przeznaczyć większą powierzchnię pod ekspozycje. Powinno się również prześledzić organizację targów. W roku 2019 odnotowano liczne problemy ze znalezieniem wolnych miejsc parkingowych, należy przeanalizować kwestię dobudowy parkingu. Warto również popularyzować zakupy biletów przez Internet, motywować je np. zniżką promocyjną, co pozwoli uniknąć długich kolejek po bilety, jakie miały miejsce w 2019 r., gdy zorganizowano akcję „happy hour” i tymczasowo obniżono ich cenę. To właśnie media społecznościowe były głównym sposobem dowiadywania się o targach przez ankietowanych (w 2018 r. stanowił 42%, a w 2019 r. 40% możliwych wariantów), dlatego też sprzedaż biletów przez Internet ma tu duży potencjał. Ważną kwestią wydaje się być zorganizowanie czasu dla najmłodszych zwiedzających. Podczas dwóch edy-



cji jedynie stoiska uczelni oferowały miniwarsztaty i konkursy dla dzieci, z których również z chęcią korzystali dorośli.

Potencjalnych zagrożeń jest niewiele, co nie oznacza, że można je bagatelizować. Tutaj ponownie pojawia się kwestia liczby wystawców i sposobu zachęcania ich do wzięcia udziału w targach. To oni nadają temu wydarzeniu cały charakter i na tym w głównej mierze należałoby się skupić. Warto zwrócić uwagę na fakt, iż ze względu na datę zagrożeniem dla Garden Expo są Międzynarodowe Dni Zieleni GreenDays w Nadarzynie k. Warszawy. Wymiar GreenDays znacznie różni się od Garden Expo, przez co targi w Jasionce klasyfikują się znacznie niżej. Dlatego też należy się skoncentrować na lokalnych wystawcach, których rynek zbytu w głównej mierze usytuowany jest na Podkarpaciu. To dodatkowa zaleta, gdyż promowanie miejscowych marek jest szczególnie ważne, zwłaszcza w obecnej sytuacji, jaka panuje w gospodarce. W celu uatrakcyjnienia tego wydarzenia należy podjąć się wszelkich starań, by w miarę możliwości zminimalizować potencjalne zagrożenia.

## 4. Podsumowanie

Targi Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Garden Expo w obecnej formule mogą stanowić jeden z głównych rodzajów promocji na rynku branży ogrodniczej. Dzięki swojej lokalizacji, dużej powierzchni obiektu wystawienniczego oraz braku potencjalnej konkurencji na Podkarpaciu mają niezwykle potencjał marketingowy. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, iż aby promocja ta była skuteczna, organizatorzy jak i wystawcy powinni zgłębić swoją wiedzę dotyczącą marketingu wystawienniczego. Możliwość bezpośredniego poznania wystawców i ich asortymentu spotkała się z ogólną aprobatą zwiedzających, jednak trzeba stosować odpowiednie techniki, które pozwolą na pozyskiwanie większej grupy odbiorców.

Można to osiągnąć poprzez m.in.:

- aranżację stanowiska wystawienniczego w taki sposób, by przyciągnęło uwagę zwiedzających (np. poprzez kolorystykę, formę);
- skupienie się na prezentowaniu nowinek branżowych;
- przygotowanie personelu do właściwego komunikowania się z przedstawicielami mediów, przedsiębiorcami i klientami;
- przygotowanie atrakcyjnych materiałów reklamowych;
- zaaranżowanie ciekawych, często wręcz spektakularnych wystąpień targowych, które zapadną w pamięć zwiedzających [2].

Wystąpienie na targach wystawienniczych nie powinno być traktowane jako jednorazowe działanie marketingowe. Aby w pełni wykorzystać ten potencjał, wystawcy muszą starannie się do tego przygotować. Wiele stanowisk podczas Garden Expo nie wyróżniało się na tle innych, a znaczna część wystawców brała tylko raz udział w tym wydarzeniu, być może były to dla większości z nich pierwsze targi tego typu. Biorąc to pod uwagę, organizatorzy mogliby położyć większy nacisk na propagowanie wśród wystawców odpowiedniego przygotowania się do tego wydarzenia, umotywowanego wizją realnych zysków.

Ankietowani w większości byli usatysfakcjonowani obecną formą targów, z tendencją spadkową w stosunku do drugiej edycji. Aby na przestrzeni kolejnych lat motyw ten nie nabierał na sile, a zainteresowanie targami z roku na rok się zwiększało, należy podjąć odpowiednie działania. Wymagają one jednak pracy zarówno od organizatorów, jak i od samych wystawców.

## Literatura

- [1] Gębarowski M., 2013. Determinanty wykorzystania współczesnych targów jako skutecznego narzędzia realizowania celów public relations. *Studia Ekonomiczne, Uniwersytet Ekonomiczny w Katowicach*, nr 157, s. 194–203.
- [2] Gębarowski M., 2012. Targi jako narzędzie aktywności marketingowej instytucji naukowych i badawczych. *Prace Instytutu Lotnictwa*, s. 81–90.
- [3] Gębarowski M., 2010. Współczesne targi. Skuteczne narzędzie komunikacji marketingowej. Regan Press, Gdańsk.
- [4] Jaska E., 2014. Targi jako forma komunikacji przedsiębiorstwa z grupami otoczenia. *Turystyka i Rozwój Regionalny 2014*, nr 2, s. 35–44.
- [5] Palak M., 2015. Stolica innowacji czy miasto prowincjonalne? Analiza wizerunku Rzeszowa. *Instytut Socjologii, Zakład Socjologii Miasta i Regionu Uniwersytet Rzeszowski*, s. 114–124.
- [6] [www.bialystok.onet.pl/ok-20-tys-osob-odwiedzilo-targi-ogrodnicze/klvdw](http://www.bialystok.onet.pl/ok-20-tys-osob-odwiedzilo-targi-ogrodnicze/klvdw) (dostęp 25.03.2020).
- [7] [www.garden-expo.pl](http://www.garden-expo.pl) (dostęp 03.04.2020).
- [8] [www.greendaysexpo.com/](http://www.greendaysexpo.com/) (dostęp 21.03.2020).
- [9] [www.ogrodnik-amator.pl/wystawy.php](http://www.ogrodnik-amator.pl/wystawy.php) (dostęp 21.03.2020).
- [10] [www.zielentozycie.pl/](http://www.zielentozycie.pl/) (dostęp 21.03.2020).
- [11] [www.zielonaarena.pl/](http://www.zielonaarena.pl/) (dostęp 21.03.2020).
- [12] Zespół PR Targi Kielce: Targi jako skuteczne narzędzie marketingowe na przykładzie Targów Kielce, Warszawa/Kielce, 2012. dok. elektroniczny: [www.docplayer.pl/47-89510-Targi-jako-skuteczne-narzedzie-marketingowe-na-przykladzie-targow-kielce.htm,l](http://www.docplayer.pl/47-89510-Targi-jako-skuteczne-narzedzie-marketingowe-na-przykladzie-targow-kielce.htm,l), dostęp 21.03.2020.

## EVALUATION OF THE SATISFACTION LEVEL OF THE GARDENING AND LANDSCAPE ARCHITECTURE FAIR GARDEN EXPO

### Abstract

The aim of this study was: picturing issues of fair trades basing on Garden Expo Gardening and Landscape Architecture Fair (biggest event of this kind in Sub-Carpathian region), presenting satisfaction level of visitors as well as exhibitors and indicating improvement path for upcoming episodes of this event. Study was performed by mean of a survey, which was adapted to this kind of event. Collaterally, many analyzes, e.g. SWOT were performed. Conducted surveys and analyzes enabled to indicato what is the most important for visitors. Basing on this knowledge preferred exhibitors and additional events lists were developed.

**Key words:** expo gardening, landscape design, trade fair

Opiekun naukowy: dr inż. arch. kraj. Marta Gargała-Polar

Recenzenci: dr hab. inż. Grzegorz Janik  
dr inż. arch. Jerzy Potyrała

# REWITALIZACJA STAREGO MIASTA W IŁAWIE

Mateusz Lipski, Aleksandra Łyjak\*, Joanna Barcińska, Alicja Krawczyk

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Prawocheńskiego 17, 10-727 Olsztyn  
Koło Naukowe Architektów Krajobrazu „Horyzont”

\*e-mail: lyjak.ola@gmail.com

## Streszczenie

Zadaniem projektu było zrewitalizowanie obszaru Starego Miasta w Iławie. W celu określenia oczekiwań mieszkańców odbyło się spotkanie z Przewodniczącym Rady Miejskiej w Iławie – regionalistą i twórcą Internetowego Muzeum Iławy. Umożliwiło to również poznanie historii Iławy oraz historycznego zagospodarowania terenu. Wizyta pozwoliła na określenie zamierzeń architektonicznych. Główny cel stanowiło stworzenie przestrzeni integralnej z obszarami sąsiadującymi ze Starym Miastem między innymi z gotyckim kościołem z renesansową wieżą. Ważne również było nawiązanie do zabudowy z lat 60. XX wieku otaczającej rynek. W koncepcji zagospodarowania terenu zostało uwzględnione stworzenie miejsca na wystąpienia publiczne, co pozwoli na ożywienie obszaru, który stanowi centralną część miasta. Zrewitalizowane Stare Miasto zwiększy atrakcyjność tego terenu zarówno dla mieszkańców, jak i turystów. W projekcie została także uwzględniona analiza porównawcza działania na rzecz ożywienia i odbudowy przestrzeni publicznej w miejscowościach, które tak jak Iława znajdowały się na terenach Niemiec, a po II wojnie światowej zostały przyłączone do Polski.

**Słowa kluczowe:** rewitalizacja, zagospodarowanie terenu, stare miasto

## 1. Wprowadzenie

Rewitalizacja jest procesem, który prowadzi do przywrócenia życia zdegenerowanym obszarom miasta. Rewitalizacja to nie tylko remonty. Ważnym aspektem całego procesu jest uzupełnienie obszaru o nowe funkcje. Mają one na celu spowodowanie, iż obszar, który dotychczas nie był atrakcyjny, stanie się miejscem zachęcającym do odwiedzenia. Jest to proces długofalowy, a pozytywny rezultat tego przedsięwzięcia może zapewnić jedynie holistyczne podejście do tematu rozwoju miasta. Wiele miast Polski, które uległy zniszczeniu w wyniku wojen światowych, wymagało przywrócenia do życia – podobnie jak Iława podlegająca rządowi niemieckim. Obecnie ramy prawne dla procesu rewitalizacji w Polsce reguluje Ustawa z dnia 9 października 2015 roku o rewitalizacji [5].

Granice państwa polskiego na przestrzeni lat ulegały nieustannym zmianom. Wskutek wojen światowych, które swoim zasięgiem obejmowały terytorium Polski, uległo zniszczeniu wiele miast. Iława wchodziła w skład Rzeszy Niemieckiej do 1945 roku. W wyniku przesunięcia granic na mocy porozumień międzynarodowych stała się częścią Polski. W podobnej sytuacji znalazło się wiele miast współczesnej Polski. Często też odbudowując

przestrzenie miejskie po II wojnie światowej, wprowadzano odmienne od ówczesnej architektury bloki z „wielkiej płyty”, które przekształcały dotychczas istniejący krajobraz.

Obecnie dzięki wsparciu Unii Europejskiej jest możliwy rozwój obszarów ważnych dla gospodarki, ale również odbudowa starych miast i terenów istotnych dla historii państwa. Wiele miejscowości korzysta z takiej możliwości. Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego to wsparcie finansowe, które ma na celu likwidację dysproporcji regionalnych w kraju. Skorzystanie z tych środków umożliwia wprowadzenie zmian w miastach, które dążą do ożywienia przestrzeni i rozwoju turystyki [13].

Celem pracy jest zaproponowanie zmian – zarówno urbanistycznych, jak i funkcjonalnych, które można wprowadzić na terenie Starego Miasta Ławy do jego ożywienia. W pracy zawarta jest także analiza porównawcza miast należących do Rzeszy Niemieckiej w okresie wojennym, które dołączyły do Polski po 1945 r. oraz ich działań rewitalizacyjnych na rzecz przywrócenia życia obszarom starego miasta.

Niniejsza praca została podzielona na trzy główne części. Część pierwsza – teoretyczna, obejmuje analizę literatury przedmiotu, historyczne powiązania miast Polski, rozwój starych miast na przestrzeni lat, pomoc funduszy europejskich w tym procesie oraz uatrakcyjnienie tych obszarów pod względem funkcjonalnym. Kolejna część – projektowa, obejmuje założenia architektoniczne, mające na celu uatrakcyjnienie obszaru oraz propozycję działań na rzecz ich rozwoju. Ostatnią część stanowią podsumowania i wnioski.

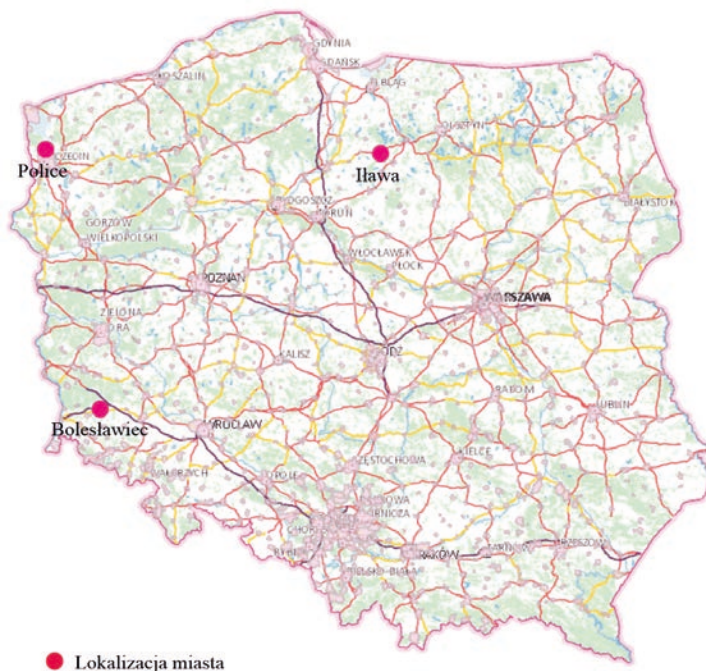
## **2. Analiza porównawcza miast w Polsce – Ława, Bolesławiec, Police**

### **2.1. Ława a inne miasta Polski – analiza demograficzno-funkcjonalna z uwzględnieniem czynników historycznych**

Na terytorium Polski istnieje wiele miast, które są zbliżone pod względem demograficznym do miasta będącego przedmiotem pracy. Miasta te, podobnie jak Ława, znalazły się w pod rządami państwa niemieckiego. Historia wpłynęła zarówno na funkcjonalność, jak i na architekturę tych miast.

W pracy jako obszar podlegający analizie przedstawiono i scharakteryzowano Ławę, Bolesławiec i Police. Miasta zostały wybrane ze względu na przynależność terytorium przed II wojną światową i zbliżone wartości demograficzne (rys. 1, tab. 1).

Bolesławiec to miasto w województwie dolnośląskim, w powiecie bolesławieckim. Jego powierzchnia stanowi ok. 24 tys. km<sup>2</sup>, zaś liczba populacji wynosi ok. 40 tys. mieszkańców. Przez miasto przepływa rzeka Bóbr. Miasto dostało się pod panowanie pruskie w czasach wojen śląskich. W wyniku zakończenia wojen napoleońskich zostało częściowo zniszczone. Po ich ukończeniu zaczęło się dynamicznie rozwijać. Znaczny wpływ na funkcjonowanie miasta miało przejście go przez Rzeszę Niemiecką w czasie II wojny światowej. W Bolesławcu zostały zlokalizowane dwie filie obozu koncentracyjnego Gross-Rosen. W lutym 1945 roku na terytorium miasta wkroczyła Armia Czerwona i uległo ono zniszczeniu. Spłonęły prawie wszystkie kamienice zabytkowe przy Rynku. Na mocy konferencji poczdamskiej wysiedlono niemieckich mieszkańców. Ich miejsce zajęli wysiedleńcy z Kresów Wschodnich i repatrianci z Jugosławii i Francji [3, 4, 12].



Źródło: opracowanie własne [https://mapy.geoportal.gov.pl/imap/Imgp\\_2.html?locale=pl&gui=new&sessionID=5029627](https://mapy.geoportal.gov.pl/imap/Imgp_2.html?locale=pl&gui=new&sessionID=5029627)

**Rys. 1.** Lokalizacja Iławy, Bolesławca i Polic na tle mapy Polski w skali 1:400 000 [3]

Tabela 1. Zestawienie liczby mieszkańców i powierzchni miast [16, 17, 21]

Miasto	Iława	Bolesławiec	Police
Liczba ludności	33 123	40 373	33 152
Powierzchnia (km <sup>2</sup> )	22,88	23,57	37,31

Źródło: opracowanie własne

Kolejnym z uwzględnionych w analizie miast są Police, w województwie zachodniopomorskim, w powiecie polickim. Police są położone nad Odrą i Gunicą. W mieście znajduje się port morsko-rzeczny. Powierzchnia tego terytorium stanowi ok. 37 tys. km<sup>2</sup>. Liczba ludności natomiast to ponad 33 tysiące. W czasie zaborów obszar znajdował się na terytoriach pruskich. W 1898 roku Police zyskały połączenie kolejowe ze Szczecinem, co wpłynęło na rozwój funkcji komunikacyjnej miasta. Przyczyniło się to do rozwoju przemysłu na tym obszarze. W 1937 roku w mieście rozpoczęto budowę fabryki benzyny syntetycznej Hydrierwerke Pölitz i w efekcie miasto zyskało na znaczeniu. W czasie II wojny światowej na terenie fabryki założono filię obozu koncentracyjnego Stutthof. W wyniku działań zbrojnych zniszczeniu uległ kościół na Starym Mieście. W 1945 roku Police zostały zdobyte przez wojska radzieckie, ale dopiero w 1946 roku przekazane administracji polskiej [29, 30].

## 2.2. Koncepcja rewitalizacji obszarów Starego Miasta w Bolesławcu i Policach

Skutkiem działań zbrojnych w trakcie II wojny światowej spłonęły niemal wszystkie zabytkowe kamienice przy Rynku Starego Miasta w Bolesławcu. Po wojnie kamieniczki zastąpiono blokami mieszkalnymi, co przyczyniło się do znacznej zmiany wyglądu tego obszaru. W tym czasie miasto skupiło się na odbudowie przestrzeni. Po transformacji ustrojowej w mieście powstały nowe kościoły. Trwały też intensywne renowacje i remonty Rynku i plant (fot. 1–3).

Powrót tematu poprawienia warunków i renowacji zarówno Starego Miasta, jak i pozostałych obszarów nastąpił wraz z pojawieniem się Programu Rewitalizacji Bolesławca. Jego założenia określają działania na rzecz ożywienia miasta i podwyższenia jakości życia mieszkańców. Lokalny Plan Rewitalizacji zakłada między innymi wdrożenie programu „Nowa Starówka”. Ma on za zadanie odnowienie Starego Miasta i 69 kamienic przyległych do Rynku. Celem Programu jest „ożywienie i poprawa stosunków społecznych w mieście poprzez poprawę wizerunku Rynku jako miejsca czystego i zadbanego, z czystym środowiskiem, wzrost estetyki otoczenia, poprawę zagospodarowania przestrzeni publicznej”.



Źródło: <http://sztuka-krajobrazu.pl/621/slajdy/przestrzen-publiczna-rewitalizacja-rynku-z-plantami-w-boleslawcu>

Fot. 1–3. Zrewitalizowany Rynek Starego Miasta wraz z plantami miejskimi w Bolesławcu [8]

Idęą projektową miasta jest zachowanie historycznego charakteru, średniowiecznej siatki ulic i nawiązanie do historycznej zabudowy. Wdrażanie Programu rozpoczęło się w 2007 roku. Wtedy też zmianom została poddana nawierzchnia. Asfalt zamieniono na nową kostkę granitową. Ta część projektowa została ukończona w 2017 roku. Koszt inwestycji to 4 mln zł, z czego 75% zostało dofinansowane z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego. W roku 2012 został wyremontowany i rozbudowany budynek Teatru Starego, a w latach 2012–2013 miała miejsce renowacja barokowego ratusza [27]. Miasto zwyciężyło też w konkursie Towarzystwa Urbanistów Polskich na najlepiej zagospodarowaną przestrzeń publiczną w Polsce w 2011 r. w kategorii „Zrewitalizowana przestrzeń publiczna” [10].

Drugie poddane analizie miasto – Police po II wojnie światowej także zaczęło się odbudowywać; ponownie rozwijał się przemysł. W południowej części Starego Miasta funkcjonowało kino, które przyciągało widzów do końca XX wieku. Po zakończeniu wojny miasto podobnie jak Bolesławiec uległo zniszczeniu. Pod koniec II wojny światowej ratusz z 1906 roku został całkowicie zniszczony. Po odzyskaniu niepodległości budynku już nie odbudowano. W 1967 roku we wschodniej części Rynku Starego Miasta powstał pomnik Marii Curie-Skłodowskiej. Pomnik został ufundowany przez społeczeństwo powiatu szczecińskiego w setną rocznicę urodzin Polki (fot. 4).



Źródło: <http://rewitalizacja.police.pl/efekty-rewitalizacji-starego-miasta-dp-2016/plac-chrobrego.html>

**Fot. 4.** Zrewitalizowany Rynek Starego Miasta wraz z plantami miejskimi w Policach [6]

W Lokalnym Programie Rewitalizacji Gminy Police uwzględniono ożywienie i renowację obszarów Starego Miasta. Określa on konieczność „rewitalizacji obszaru kryzysowego, poprawę estetyki przestrzeni publicznej oraz odwrócenie miasta w kierunku rzeki Łarpia – aktywizację terenów nadbrzeżnych” [22]. Do dziś całkowitej rewitalizacji został poddany teren parku Staromiejskiego. Powstało w nim lapidarium i został uporządkowany teren parku. Renowacji uległy też obszary ciągów pieszych. Generalnej przebudowie uległa centralna część Starego Miasta – plac Chrobrego [28]. Podczas jego planowania skupiono się na zaprojektowaniu przestrzeni, która jest atrakcyjna pod względem projektowym, ale jednocześnie tworzy nowoczesną przestrzeń. Zdecydowano się na podążanie w kierunku modernistycznym, nienawiązującym do architektury historycznej. Działania rewitalizacyjne udało się częściowo pokryć z funduszy Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Zachodniopomorskiego 2014–2020. Gmina Police zyskała ok. 4 mln zł dofinansowania na rzecz rewitalizacji obszarów zdegenerowanych Polic.

### 2.3. Aspekty ożywiający miasta Bolesławiec i Police

Na atrakcyjność obszarów miejskich wpływa nie tylko estetyka architektury miasta, ale i różnorodność działań społecznych, które aktywizują społeczeństwo. Na przełomie lat w analizowanych miastach działania te przenikały się i ulegały nieuchronnym zmianom, jednocześnie będąc też stałym elementem w funkcjonowaniu miasta.

Nieodłącznym elementem Bolesławca jest ceramika. To element charakterystyczny dla tego miasta. Historia ceramiki bolesławieckiej jest dalece zakorzeniona w historii tego regionu, dlatego też miasto pielęgnuje i wykorzystuje ją w celu ożywienia i uatrakcyjnienia miejscowości. Do podkreślenia tego aspektu rokrocznie odbywa się tam święto ceramiki. Wydarzenie umieszcza się w kalendarium Bolesławca w drugiej połowie sierpnia i przyciąga ono wielu zainteresowanych. W roku 2018 podczas obchodów 24. Bolesławieckiego Święta Ceramiki podstawiono bezpłatny pociąg z Wrocławia – Ceramiczny Express. W Bolesławcu ma także miejsce Międzynarodowy Plener Ceramiczno-Rzeźbiarski będący świętem z wie-

loletnią tradycją, który odbywa się w lipcu i sierpniu. Przyciąga ono wielu artystów nie tylko z Polski, ale i z zagranicy. Od roku 1990 jest organizowany Blues nad Bobrem będący międzynarodową imprezą bluesową, podczas której odbywają się także warsztaty [7]. Tradycją jest też Festiwal Kultury Południowosłowiańskiej, który odbywa się na początku lata. Ma na celu pielęgnację tradycji kulturowych przez udział reemigrantów z Bośni, Serbii, Chorwacji, Macedonii, Bułgarii, Rumunii czy Grecji oraz budowanie więzi kulturowych [18]. Kalendarium imprez Bolesławca przyciąga wielu turystów i działa na rzecz integracji mieszkańców. Zapewnia wiele miejsc pracy dla lokalnej społeczności podczas organizacji tego przedsięwzięcia.

Aspekt ożywienia przestrzeni i wprowadzania elementów zachęcających do inicjatyw międzyludzkich jest istotnym tematem dla Polic. W marcu odbywa się tam corocznie Dzień Kultury Greckiej. Jest to ściśle związane z historią tego miasta. Odnosi się do osiedleń greckich uchodźców po greckiej wojnie domowej w latach 1946–1948, dla których Police stały się miastem osiedleńczym [22]. Z początkiem maja odbywa się Łarpia Sail Festival – Międzynarodowy Festiwal Piosenki Morskiej i Folk. Najdłuższą tradycję mają jednak Dni Chemika, które są związane z najprężniej rozwijającą się gałęzią przemysłu charakteryzującą miasto. Zakłady Chemiczne Police są największym przedsiębiorstwem, zapewniają dużą liczbę miejsc pracy dla lokalnej społeczności i pozwalają na stabilizację lokalnej gospodarki. Miasto ma w swojej ofercie liczne imprezy sportowe, co również uatrakcyjnia jego wizerunek i zachęca do działania.

To, co ważne w próbie ożywienia zdegenerowanych, zapomnianych obszarów miast, to podjęcie działań zrzeszających zarówno lokalną społeczność, jak i zachęcających do odwiedzin ludzi z dalszych regionów. W poddanych analizie miastach istotne jest nawiązanie do historii, a także cech charakterystycznych miejscowości. W obu analizowanych przypadkach aspekty wyróżniające są związane z rozwijającą się tam gałęzią gospodarki, która w dużym stopniu warunkuje funkcjonowanie miasta.

## **2.4. Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego jako wsparcie dla miast w aspekcie rewitalizacji**

„Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego ma na celu wzmacnianie spójności gospodarczej i społecznej Unii Europejskiej poprzez korygowanie dysproporcji między poszczególnymi regionami” [13].

Polska należy do państw Unii Europejskiej, które są poddane konwergencji. W znaczeniu ekonomii to pojęcie odnosi się do państw, których poziom wskaźników gospodarczych zbliża się do wspólnej średniej [23]. Konwergencja jest ściśle związana z pojęciem „efektu doganiania” (catch-up effect). Zakłada on, iż państwa, które z pozoru mają niższy poziom rozwoju gospodarczego, osiągają wyższe wskaźniki wzrostu gospodarczego, co w dłuższej perspektywie wpływa na oddziaływanie tych państw na gospodarkę całej Unii Europejskiej [20]. Dlatego też ważne jest, by państwa członkowskie dążyły do niwelacji dysproporcji w aspekcie rozwoju. Wsparcie na rzecz rozwoju regionalnego znacznie to ułatwia. Dofinansowanie daje możliwość progresji obszarów, które nie mają wystarczających zasobów własnych na działania rozwijające czy rewitalizujące. Na przykładzie Bolesławca można zauważyć, jak znaczny odsetek kosztów związanych z rewitalizacją jest w stanie pokryć Fundusz. To duża szansa, z której warto skorzystać na rzecz podwyższenia estetyki miast i ożywienia obszarów zapomnianych.



## 3. Koncepcja rewitalizacji Starego Miasta w Iławie

### 3.1. Cel projektu i założenia projektowe

Celem pracy jest zaproponowanie działań rewitalizacyjnych dla Starego Miasta w Iławie, opracowanie projektu rewitalizacji dla tego obszaru, wprowadzenie rozwiązań projektowych, które zmienią obecną architekturę i zagospodarowanie terenu oraz zastosowanie rozwiązań, które nawiążą do historii tego miejsca przy jednoczesnym wprowadzeniu nowoczesnych elementów. Działania na rzecz rewitalizacji mają za zadanie ożywienie tego miejsca, które obecnie nie odznacza się wysokim stopniem zainteresowania. Czynności te miałyby doprowadzić do wzrostu liczby odwiedzających, integracji lokalnej ludności i popularyzacji Iławy.

Głównym celem przy projektowaniu obszaru Starego Miasta było stworzenie przestrzeni integralnej z architekturą miasta. Dlatego też historia stała się ważnym aspektem tego projektu. Ważną ideą było zaproponowanie zagospodarowania, które stworzy miejsce spotkań dla mieszkańców i zagwarantuje możliwość organizacji imprez plenerowych, uatrakcyjnających zarówno obszar Rynku, jak i całego miasta. Pozwoli to na stworzenie punktu charakterystycznego w topografii Iławy, który zachęci osoby odwiedzające do ponownej wizyty. Jednocześnie propozycja projektowa ma na celu zainteresowanie ludności historią tego miasta, co umożliwi zaproponowaną strefa historyczna. To także nawiązanie do punktu charakterystycznego – jeziora Jeziorak.

### 3.2. Historia Iławy

Iława to miasto położone w województwie warmińsko-mazurskim w powiecie iławskim. Miejscowość zajmuje blisko 22 tys. km<sup>2</sup> powierzchni. Pod względem liczby populacji należy do miast w przedziale od 25 000 do 49 999 km<sup>2</sup> – liczy ok. 33 tys. mieszkańców. Jest to miasto o dużym znaczeniu komunikacyjnym. Stanowi węzeł drogowy województwa warmińsko-mazurskiego i jest ważnym węzłem kolejowym w kraju [19]. Iława ze względu na położenie nad jeziorem Jeziorak – najdłuższym jeziorem Polski, ma także znaczenie turystyczne. To właśnie jego obecność i rozpoznawalność jest jedną z głównych atrakcji i elementem aktywizującym miasto.

Dokumenty lokacyjne miasta z 1305 roku zaginęły, dlatego też w 1317 r. zostały wystawione nowe przywileje. Średniowieczna architektura zawarta była w kształcie prostokąta. Mury obronne o kamiennych fundamentach chroniły miasto, a kościół mieszczący się w południowo-wschodniej części Iławy był częścią fortyfikacji. W centrum znajdował się rynek z ratuszem o wymiarach 60 x 65 m. Ulice Iławy rozchodziły się pod kątem prostym, dzieląc miasto na części. Warto wspomnieć też o drewnianym moście nad jeziorem Jeziorak. Zabudowę miejską XIV-wiecznej Iławy stanowiły drewniane domy kryte słomą. W mieście znajdował się klasztor pełniący funkcje szpitalne (rys. 2).

Wiek XV to dla Iławy początek rządów niemieckich. II pokój toruński nie wpłynął na zmiany terytorialne miasta – dalej mieściło się w granicach Prus Zakonnych. Później natomiast było częścią Prus Książęcych. W 1706 roku miał miejsce pożar, który doprowadził do przetrwania jedynie ceglanych budynków. Rozbiory nie przyniosły zmian politycznych dla miasta, które znajdowało się już wcześniej w granicach Prus.

Kolejne wieki – XVIII i XIX to czas intensywnego rozwoju wynikającego z lokalizacji przy szlaku handlowym łączącego Gdańsk i Warszawę. Było to przyczyną wzrostu osadnic-

stwa i ożywienia gospodarczego. Iława stała się ważnym węzłem komunikacyjnym. Stanęły tu też sąd obwodowy i urząd celny.

Miasto rozwijało się też z początkiem XX wieku. W 1901 roku wybudowano gazownię, powstały wodociągi miejskie, w 1912 r. został wybudowany ratusz. W wyniku przeprowadzonego plebiscytu, w którym jedynie 5% społeczeństwa opowiedziało się o chęci przynależności miasta do Polski, miasto dalej było pod rządami niemieckimi.

W czasie II wojny światowej na terytorium Iławy powstały obóz pracy i obóz karny dla więźniów ze Sztumu. Miasto zostało zniszczone w znacznym stopniu w wyniku ruchów wyzwolńczych. Maszyny i wszelkie mienie wywieziono do Związku Radzieckiego. Dawny obóz stał się obozem jenieckim, a Niemcy zamieszkujący te rejony zostali wywiezieni. Rozpoczęły się ruchy osadnicze Polaków [2, 24].

Czas po II wojnie światowej to okres intensywnej odbudowy. Wówczas powstało wiele zakładów stolarskich. Po wojnie główną rozrywkę Iławy stanowiło kino objazdowe. Jedną z atrakcji był również teatr przyjeżdżający z Olsztyna czy koncerty przyjezdnych zespołów. Miasto stopniowo ożywiało się. W latach 70. nagrywano w mieście film „Gniazdo”. To wydarzenie przyciągnęło turystów, dało też tymczasową pracę mieszkańcom. Rozwijała się turystyka [26], jednak z biegiem lat następowała stopniowa stagnacja. Dziś, choć nadal jest miastem chętnie odwiedzanym, zauważalny jest zmniejszony ruch turystyczny. W celu rozwinięcia miasta niezbędne są plany projektowe i ich realizacja oraz wprowadzenie atrakcyjnych wydarzeń kulturalnych.



Źródło: zbiory archiwalne miasta Iława

Rys. 2. Plan miasta Iława z przełomu lat 30. i 40. XX w.

### 3.3. Stare Miasto Iławy – stan istniejący

#### 3.3.1. Lokalizacja Starego Miasta

Stare Miasto Iławy jest zlokalizowane w centralnej części miasta. Od strony południowo-zachodniej znajduje się przejście prowadzące w kierunku drogi krajowej nr 16. Po przeciwnej stronie drogi rozpościera się jezioro Jeziorak. W kierunku północno-wschodnim od głównego placu mieści się rondo łączące ulicę Konstytucji 3 Maja z ulicą Jarosława Dąbrowskiego. Południowo-zachodnie przejście to połączenie z parkiem. Lokalizacja Rynku Starego Miasta

daje duże perspektywy funkcjonalne ze względu na sąsiedztwo z jedną z głównych atrakcji Iławy – jeziorem Jeziorak. Sąsiedztwo drogi krajowej zapewnia znaczny ruch ludności pozamiejskiej.

W obrębie Starego Miasta znajduje się kościół pw. Przemienienia Pańskiego. Został zbudowany w latach 1317–1325. Budowla została zachowana w stylu gotyckim. W 1550 roku dobudowano wieżę w stylu renesansowym. Obiekt pełni funkcję sakralną. Należy też podkreślić jego kilkukrotną przebudowę – ostatnia miała miejsce w latach 1903–1905 [31].

W sąsiedztwie gotyckiego kościoła są zlokalizowane mury miejskie wybudowane ok. XIV wieku. Wraz z zamkiem oraz fosą pełniły system obronny miasta. Materiałami użytymi do konstrukcji tego elementu były kamienie łamane i polne łączone zaprawą wapienną. Częściowo została także użyta cegła. Mury zachowały się jedynie fragmentarycznie i w 1961 r. zostały wpisane do rejestru zabytków [1].

### 3.3.2. Układ i architektura Starego Miasta w Iławie

Obecna architektura opiera się na budownictwie lat 60. XX wieku. Powstała w latach 1968–1972 w wyniku zastąpienia zniszczonej przedwojennej zabudowy w 1945 roku. Zauważalna jest dominacja form geometrycznych w kompozycji. Rynek Starego Miasta otoczony jest z czterech stron blokami i budynkami użyteczności publicznej, co znacznie wpływa na jego odbiór. Lokalizacja budynków mieszkalnych powoduje utrudnienia w identyfikacji funkcji tego miejsca. Nieodpowiednie zagospodarowanie tego terenu może umacniać odbiór Starego Miasta jako przestrzeni osiedlowej. Dlatego tak ważne jest umiejętne podkreślenie jego funkcji.

W budynkach sąsiadujących z tym terenem mieszczą się między innymi sklepy, obiekt gastronomiczny czy przedszkole. Nawierzchnia, jaką pokryty jest plac, to płyty betonowe ułożone w powtarzalny wzór oraz kostka brukowa (fot. 6, 7). Na obszarze Rynku Starego Miasta umiejscowione są podwyższone rabaty kwietne w kształcie prostokątów, jak i rabaty bez podwyższeń. W ich sąsiedztwie zlokalizowano fontanny. Jedna z nich zawiera charakterystyczne dla tego miejsce trzy betonowe żagle, z którymi, jak wynika z konsultacji terenowych, mieszkańcy są związani (fot. 5).



Źródło: opracowanie własne

Fot. 5–7. Stan istniejący Starego Miasta w Iławie

### 3.3.3. Funkcjonalność i aspekty ożywiający Stare Miasto

Stare Miasto obecnie nie ma wydzielonych stref funkcjonalnych. W koncepcji zagospodarowania terenu z lat 60. XX w. zrezygnowano z wydzielenia wnętrz krajobrazowych. Główną przestrzeń stanowi plac łączący różne aspekty życia miasta ze względu na bliskie sąsiedztwo kościoła, punktu gastronomicznego, przedszkola, budynków mieszkalnych czy sklepów. Obecna forma zagospodarowania pełni funkcję komunikacyjną łączącą wcześniej wspomniane obiekty. Ważne jest zaproponowanie takich zmian, które spowodują napływ ludności do tego miejsca w celach rekreacyjnych. Podwyższenie atrakcyjności i zróżnicowanie funkcjonalności tego obszaru pozwoliłoby na wzrost zainteresowania tym miejscem i ożywienie go.

W związku z lokalizacją Iławy nad jeziorem Jeziorak miasto w dużym stopniu pełni funkcję turystyczną. Turystyka wodna w rejonie geograficzno-kulturowym, jakim są Mazury, rozwija się głównie w drugim i trzecim kwartale roku. Z tego względu zauważalny jest spadek aktywności turystycznej zimą. Miasto stara się uatrakcyjnić swoją ofertę wydarzeniami kulturalnymi oraz festiwalami. Jednym z takich wydarzeń jest Międzynarodowy Festiwal Jazzu Tradycyjnego „Złota Tarka”. Warto nadmienić, iż jest to najstarszy festiwal jazzu tradycyjnego w całej Europie. Wydarzenie ma ponad 40-letnią tradycję. Najpierw odbywał się w Warszawie, zaś na początku lat 90. XX wieku został przeniesiony do Iławy [11] i odbywa się co roku w sierpniu. W mieście jest także organizowany festiwal „Jeziorak Szanty”. Jego lata świetności przypadają na przełom XX i XXI wieku, gdy gromadził światową czołówkę szant klasycznych. W roku 2001 festiwal stracił swój międzynarodowy charakter [9]. W Iławie odbywają się też inne festiwale muzyczne, m.in. Międzynarodowy Festiwal Muzyki Klasycznej „Viva Musica” oraz imprezy lokalne. Takie wydarzenia zapewniają rozrywkę miejscowej społeczności i ją integrują, jednocześnie też przyciągają turystów.

### 3.4. Uzasadnienie kompozycji, doboru roślinności i nawierzchni

Koncepcja projektowa zakłada zagospodarowanie przestrzeni w sposób, który zapewni mieszkańcom Iławy miejsce w pełni funkcjonujące jako Stare Miasto, jej funkcjonalność i zaspokoi potrzeby estetyczne. Założenia projektowanego terenu skupiają się na stworzeniu harmonii pomiędzy nawiązaniem do historii Iławy a nurtem modernizmu oraz stworzeniem przestrzeni spójnej z architekturą miasta przy jednoczesnym uszanowaniu tradycji. Ważnym aspektem jest wielopłaszczyznowe podejście do tematu rewitalizacji. Wprowadzenie nowoczesnego kierunku pozwoli nawiązać do współcześnie tworzonych przestrzeni miejskich. Tym samym umożliwi to realizację przestrzeni spełniającej wymogi współczesnej architektury. Projekt opiera się na koncepcji mieszanej. Łączy ona koncepcję organiczną z geometryczną, tworząc ich syntezę. Dzięki temu możliwe jest nawiązanie do geometrii budynków. Koncepcję organiczną wprowadzono za pomocą obłych kształtów jeziora w nawierzchni. Forma tej przestrzeni została zmiękczona poprzez użytą w kompozycji roślinność. Zastosowanie bylin i traw nawiązuje do dzikości natury. Zważając na konieczność ożywienia tego obszaru, w przestrzeni zastosowano podwyższenie na wystąpienia, które pozwoli na wprowadzenie imprez kulturalnych do tego miejsca oraz wnętrza historycznego, umożliwiającego codzienne obcowanie z historią.

W doborze gatunkowym roślin zastosowano wieloletnie trawy ozdobne i byliny. Istotne były zagęszczenie i dopełnienie traw w celu stworzenia obrazu nawiązującego do natural-

nych przestrzeni oraz dobór na podstawie akcentowania barw i pokroju bylin w łąkach traw ozdobnych. Skupiono się na przenikalności roślinności pod względem pór roku. W tabelach uwzględniono zestawienie roślinne rabaty od strony zachodniej (tab. 2). W projekcie zastosowano połączenie kostki granitowej – elementu nawiązującego do tradycji oraz nowoczesnych płyt betonowych (rys. 3).

Nawierzchnie są odzwierciedleniem idei projektowej dla tej przestrzeni. Odnoszą się do modernizmu dominującego w projekcie przy jednoczesnym odwołaniu do historii i tradycji. Nawierzchnie przenikają się, tworząc subtelne przejścia. Wprowadza to harmonię w projekcie, a także funkcjonalność, gdyż zastosowanie płyt betonowych w centralnej części Starego Miasta umożliwi łatwiejszą komunikację. Jako element nawierzchni w projekcie zastosowano także stal Corten, która posłużyła do wprowadzenia kształtu jeziora Jeziorak.

Tabela 2. Zestawienie roślinności

Nazwa polska	Nazwa łacińska
Drzewa	
Miłorząb japoński	<i>Ginkgo biloba</i>
Robinia akacja	<i>Robinia pseudoacacia</i>
Krzewy	
Ligustr pospolity	<i>Ligustrum vulgare</i>
Różanecznik 'Calsap'	<i>Rhododendron</i>
Suchodrzew chiński 'Moss green'	<i>Lonicera pileata</i>
Tawulec pogięty	<i>Stephanandra incisa</i>
Tawuła japońska 'Albiflora'	<i>Spiraea japonica</i>
Byliny	
Bylica Stelleria	<i>Artemisia stelleriana</i>
Długosz królewski	<i>Osmunda regalis</i>
Funkia 'Fragrant Bouquet'	<i>Hosta</i>
Funkia sina 'Blue Angel'	<i>Hosta</i>
Hebe mięsiste	<i>Hebe carnosula</i>
Jęczyznik zwyczajny	<i>Asplenium scolopendrium</i>
Paprotka zwyczajna	<i>Polypodium vulgare</i>
Runianka japońska	<i>Pachysandra terminalis</i>
Szałwia lekarska	<i>Salvia officinalis</i>
Wieloletnie trawy ozdobne	
Kostrzewa popielata 'Intense blue'	<i>Festuca glauca</i>
Miskant chiński 'Gracillimus'	<i>Miscanthus sinensis</i>
Szczotlika siwa 'Spiky Blue'	<i>Corynephorus canescens</i>
Trawa pampasowa 'Sunningdale Silver'	<i>Cortaderiaselloana</i>
Trzcinnik ostrokwiatowy 'Karl Foerster'	<i>Calamagrostis acutiflora</i>
Turzyca wiosenna 'The Beatles'	<i>Carex</i>
Turzyca ptasie łapki 'Variegata'	<i>Carex ornithopoda</i>
Śmiałek darniowy	<i>Deschampsia cespitosa</i>

Źródło: opracowanie własne



Źródło: opracowanie własne

Rys. 3. Wizualizacja placu z góry

### 3.5. Opis koncepcji projektowej

#### 3.5.1. Wnętrze historyczne

W koncepcji projektowej wyodrębniono wnętrze o funkcji historycznej i edukacyjnej (rys. 4, 5). Obszar ten mieści się w północno-zachodniej części projektowanego terenu. Jego wymiary to: 35,5 m x 16,9 m i ma on nawiązywać do planów inwestycyjnych Hławy – muzeum, które ma być miejscem koncentracji historii i tradycji miasta. Zaproponowane miejsce pełniłoby funkcję filii terenowej wspomnianej wcześniej instytucji. Możliwe byłyby tymczasowe wystawy eksponatów. Zaproponowane działania miałyby korzystny wpływ na ożywienie Starego Miasta i wpłynęłyby na wzrost świadomości historycznej lokalnej ludności.

Obszar ten składa się z drewnianego podestu o wymiarach: 14,3 m x 5,8 m połączonego ze stalową nawierzchnią. Połączenie tych materiałów nawiązuje do całości kompozycji opartej na drewnie, stali i betonie. Nawierzchnia daje poczucie wydzielenia przestrzeni – stworzenie wnętrza architektonicznego. W wyodrębnionym miejscu zaplanowane są tablice informacyjne wykonane ze stali Corten w celu podwyższenia jej odporności na warunki atmosferyczne. Tablice zawierają informacje na temat historii miasta, jego mieszkańców oraz szereg pamiątkowych zdjęć, które ukazywałyby historyczne ulice Hławy i jej mieszkańców. Znajduje się tu mapa Hławy, która pomoże turystom odnaleźć interesujące ich miejsca. W tej części zaplanowane jest także lapidarium, w którym znaleźć można części murów z przeszłości miasta i inne cenne kamienne eksponaty. W sąsiedztwie wydzielonej przestrzeni mieści się fontanna o wymiarach: 12,4 m x 6,3 m, która zastępuje obecną. Istotne było podświetlenie tablic, by mogły one również pełnić swoją funkcję po zmroku. W celu połączenia tego miejsca z muzeum zastosowano szlak, który będzie wskazywał drogę w kierunku Starego Miasta. Ten kierunek wprowadzony został za sprawą pojedynczych barwnych kostek granitowych w nawierzchni i tabliczek informujących o tym miejscu.



Rys. 4, 5. Wizualizacja wnętrza historycznego

### 3.5.2. Centralna część – scena

W centralnej części Rynku Starego Miasta zaplanowano scenę, która pozwoli na zorganizowanie wydarzeń kulturalnych i innych ważnych spotkań dla społeczności Iławy (rys. 6). To w dużej mierze wpłynie na ożywienie tej części miasta. Scena została zachowana w prostej, geometrycznej formie. Jej wymiary to 10 m x 22,5 m. Wprowadzono tu również element charakterystyczny dla projektowanej przestrzeni – stal. Przy planowaniu architektury tego miejsca ważny był aspekt uszanowania przestrzeni. Dlatego też istotne było zachowanie części dotychczasowej roślinności. Rabata za sceną to połączenie istniejącej już roślinności z roślinnością projektowaną. W celu złagodzenia formy tej przestrzeni – we frontowej części sceny zastosowano donice z roślinami. W jej sąsiedztwie została zlokalizowana fontanna, będąca standardowym elementem przestrzeni publicznych. Istotną sprawą było odpowiednie oświetlenie tego miejsca w celu podkreślenia ważności tego punktu i zachowania jego funkcjonalności.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 6. Wizualizacja sceny od strony północnej

### 3.5.3. Część południowo-zachodnia – nawiązanie do architektury miasta i poszanowanie przestrzeni

Część południowo-zachodnia projektowanego obszaru stanowi połączenie pomiędzy Rynkiem Starego Miasta a częścią komunikacyjną – drogą krajową numer 16. Po przeciwnej stronie drogi mieści się jezioro Jeziorak z widocznym Portem Śródlądowym Iławy. Port jest stosunkowo nową inwestycją miasta. Architektura tego obiektu również została zachowana w stylu modernistycznym. Dominuje tam geometryczna forma. Połączenie tych myśli architektonicznych sprawi, że urbanistyka miasta stanie się spójna i przemyślana.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 7. Żagle, wizualizacja od strony południowej

W projektowanej przestrzeni będącej ciągiem komunikacyjnym zastosowano element wody. Woda użyta w nawierzchni jest kontynuacją kształtu jeziora Jeziorak – najbardziej charakterystycznego punktu w regionie. Jezioro zostało stworzone ze stali Corten. Jest ono elementem kontrastującym w całej kompozycji. Odniesienie się do tego obiektu geograficznego zachowa spójność przestrzeni. Umożliwi zachowanie indywidualności tego obszaru, jak również wprowadzi niecodzienny element na tle przestrzeni staromiejskich innych miast Polski. W projekcie zdecydowano się także na zachowanie elementów współczesnego Starego Miasta. Żagle stanowiące do tej pory część największej fontanny staną się rzeźbami porośniętymi bluszczem (rys. 7). To ważne, by móc wprowadzić w nową przestrzeń obiekty związane z mieszkańcami i z którymi łączą tę przestrzeń.

### 3.5.4. Wnętrze roślinne

W części południowo-wschodniej i wschodniej Starego Miasta stworzono nieregularne rabaty roślinne (rys. 8, 9). Alejki pomiędzy nimi pozwolą na sprawną komunikację, jednocześnie zapewniając możliwość zanurzenia się przechodniów w otaczającą zielen. Stworzy to niejako zielen parkową, która swoją formą i doбором gatunkowym nawiąże do natury. Tutaj też znajdują się ławki, które umożliwią zatrzymanie się w tym miejscu. Rabaty mają formę nieregularną, a roślinność przenika się z nawierzchnią utwardzoną. Wprowadzenie zieleni w przestrzeń Starego Miasta pozwala na zachowanie równowagi pomiędzy naturą a krajobrazem intensywnie zmienionym przez człowieka.





Źródło: opracowanie własne

**Rys. 8, 9.** Wnętrza roślinne, wizualizacje od strony południowej i północno-wschodniej

### 3.6. Aspekty ożywiające Iławę

Definicja rewitalizacji określa zmiany zarówno na płaszczyźnie projektowej, jak i funkcjonalnej. Narzuca to konieczność wprowadzenia działań aktywizujących przestrzeń. Dlatego też tak ważne jest zaproponowanie rozwiązań zwiększających liczbę osób, które odwiedzą to miejsce. Wzrost turystów zainteresowanych uczestnictwem w wydarzeniach kulturalnych zaproponowanych przez Iławę wpłynie na intensywniejszy rozwój turystyki. Ta zaś umożliwi rozwój sektora usług, co zapewni nowe miejsca pracy dla lokalnej ludności oraz podwyższenie dochodów.

Wprawdzie Iława organizuje wydarzenia artystyczne, jednak należy zauważyć, że za-inaugurowanie imprez, które zostaną zlokalizowane w obrębie Starego Miasta, umożliwi pełną rewitalizację tego obszaru. Ważne jest zaproponowanie takich rozwiązań, by zachęcić ludzi do odwiedzania tego miejsca przez cały rok, a nie tylko w porze letniej. W grudniu dobrym pomysłem byłaby organizacja jarmarku świątecznego. To inicjatywa, która zainteresuje mieszkańców i zachęci do odwiedzenia tej części miasta. Jarmark umożliwi też promocję lokalnym przedsiębiorstwom, które będą mogły zainteresować i rozpropagować wytwarzane przez siebie produkty. Ciekawą propozycją mogą być targi zrzeszające lokalnych przedsiębiorców, które urozmaicą handel i wesprą rozwój usług regionalnych. W porze zimowej warto zbudować lodowisko w centralnej części Rynku. Zapewni ono mieszkańcom rozrywkę i ruch na świeżym powietrzu, i tym samym zachęci dużą liczbę osób do odwiedzin. Wśród propozycji warto wymienić też koncerty, których organizację umożliwi zaprojektowana scena, a w porze letniej może służyć jako kino w plenerze. Wydzielenie wnętrza historycznego to dobra okazja do wprowadzenia tymczasowych wystaw eksponatów związanych z historią miasta oraz organizacji inicjatyw historycznych.

## 4. Podsumowanie

Rewitalizacja to proces, który pozwala na poprawę jakości życia ludzi. Ze względu na złożoność i wielopłaszczyznowość tego procesu niezbędna jest jego dogłębna analiza. Współcześnie podjęcie się takiego działania jest potrzebne wielu miastom i ich przestrzeniom. Obszary starego miasta to bardzo ważne punkty w urbanistyce miast. Są połączeniem historii i współczesnego życia. To także obszar dający wiele perspektyw w aspekcie turystyki. Dlatego tak

istotne jest świadomie gospodarowanie tą przestrzenią. Obecnie istnieje wiele miast, w których ten obszar nie jest atrakcyjny i nie oferuje działań dających możliwość jego ożywienia.

Znaczący wpływ na rozwój polskich miast miała skomplikowana przeszłość kraju. Liczne działania zbrojne doprowadziły do wielu zniszczeń, których konsekwencje kraj odczuwa do dziś. Dużo działań na rzecz odbudowy i zmiany wizerunku polskich miast przypada na okres powojenny. Wizerunek polskich miast w znaczącym stopniu zmieniły też charakterystyczna zabudowa lat 60. XX w. i koncentracja na rozwoju gospodarki. Obecnie zauważa się wzrost świadomości przestrzeni – jej ważności i funkcji w codziennym życiu mieszkańców. Po przystąpieniu Polski do Unii Europejskiej kraj zyskał wiele możliwości wsparcia. Pozwala to na rozwój również tych miast, które samodzielnie nie znalazłyby środków na poprawienie atrakcyjności przestrzeni w celu jej ożywienia i umożliwienia niwelowania dysproporcji pomiędzy miastami.

Obecnie zauważa się dwa kierunki w procesie rewitalizacyjnym starych miast. Pierwszym z nich jest nawiązanie do tradycji i odwołanie się do historycznej zabudowy, gdzie widoczne jest wprowadzanie przestrzeni pełniących funkcje, jakie niegdyś pełniły te miejsca. Taki kierunek przy odbudowie Starego Miasta obrał Bolesławiec, który skupił się na odrestaurowaniu tej przestrzeni. Drugim nurtem jest wprowadzenie nowoczesnej architektury przestrzeni nawiązującej do współczesnej zabudowy miejskiej, skupienie się na uatrakcyjnieniu obszaru i zaakcentowaniu ważności tego miejsca oraz wprowadzenie nowoczesnych rozwiązań. Ten aspekt był istotny w procesie rewitalizacyjnym Starego Miasta w Policach. To tutaj zauważalne jest oderwanie się od tradycyjnego myślenia i skupienie na modernizmie.

Celem pracy było zaprojektowanie przestrzeni Starego Miasta w Iławie w sposób umożliwiający wprowadzenie w życie na tym obszarze, uatrakcyjnienie go zarówno pod względem wizualnym, jak i funkcjonalnym. Po przeprowadzonej analizie porównawczej, która zwróciła uwagę na dualizm we współczesnym projektowaniu starych miast, celem projektowym stało się stworzenie przestrzeni pozwalającej na połączenie tych dwóch nurtów i pokazanie możliwości zaprojektowania obszaru, który jest w stanie zachować historyczność przy jednoczesnym koncentrowaniu na modernizmie. To działanie pozwoli na wprowadzenie wielu funkcji zachęcających do odwiedzania tego miejsca.

## Literatura

- [1] Błędowska A., Czerny M., Sobieraj R., 2005. Iławianie o historii miasta i okolic. Towarzystwo Miłośników Ziemi Iławskiej, Iława.
- [2] Bojarski J., 2002. Z badań nad pograniczem śląsko-pruskim we wczesnym średniowieczu. *Studia nad średniowiecznym osadnictwem*, Toruń, t. 4, s. 9–28.
- [3] Dolata B., Jurga T., 1971. Walki zbrojne na ziemiach polskich 1939–1945. Wybrane miejsca bitew, walk i akcji bojowych. Warszawa, s. 41.
- [4] Filie obozu koncentracyjnego Gross-Rosen, 2008. Informator. Muzeum Gross-Rosen, Wałbrzych, s. 20–22.
- [5] <http://prawo.sejm.gov.pl/isap.nsf/download.xsp/WDU20150001777/U/D20151777Lj.pdf> (dostęp 03.04.2020)
- [6] <http://rewitalizacja.policz.pl/efekty-rewitalizacji-starego-miasta-dp-2016/plac-chrobrego.html> (dostęp 20.04.2020).
- [7] <http://swietoceramiki.pl/> (dostęp 25.04.2020).

- [8] <http://sztuka-krajobrazu.pl/621/slajdy/przestrzen-publiczna-rewitalizacja-rynku-z-plantami-w-boleslawcu> (dostęp 20.04.2020).
- [9] <http://www.szantymaniak.pl/festiwale/jeziorak-szanty/> (dostęp 28.04.2020).
- [10] [http://www.um.boleslawiec.bip-gov.pl/public/get\\_file\\_contents.php?id=85502](http://www.um.boleslawiec.bip-gov.pl/public/get_file_contents.php?id=85502) (dostęp 20.04.2020).
- [11] <http://zlotatarka.pl/kronika/> (dostęp 28.04.2020).
- [12] [https://boleslawiec.eu/rewit/index.php?option=com\\_content&view=article&id=30&Itemid=37](https://boleslawiec.eu/rewit/index.php?option=com_content&view=article&id=30&Itemid=37) (dostęp 18.04.2020 r.).
- [13] [https://ec.europa.eu/regional\\_policy/pl/funding/erdf/](https://ec.europa.eu/regional_policy/pl/funding/erdf/) (dostęp 03.04.2020).
- ???? [14] [https://ec.europa.eu/regional\\_policy/pl/funding/erdf/](https://ec.europa.eu/regional_policy/pl/funding/erdf/) (dostęp 26.04.2020).
- [14] <https://gs24.pl/od-wielu-lat-mozemy-observerwowac-rozwoj-gminy-police-ar/c3-13212165> (dostęp 20.04.2020).
- [15] [https://mapy.geoportal.gov.pl/imap/Imgp\\_2.html?locale=pl&gui=new&sessionID=5029627](https://mapy.geoportal.gov.pl/imap/Imgp_2.html?locale=pl&gui=new&sessionID=5029627) (dostęp 18.04.2020).
- [16] [https://olsztyn.stat.gov.pl/vademecum/vademecum\\_warminsko-mazurskie/portrety\\_gmin/ilawski/m.ilawa.pdf](https://olsztyn.stat.gov.pl/vademecum/vademecum_warminsko-mazurskie/portrety_gmin/ilawski/m.ilawa.pdf) (dostęp 18.04.2020r.).
- [17] <https://pl.wikipedia.org/wiki/Boles%C5%82awiec> (dostęp 18.04.2020).
- [18] <https://pl.wikipedia.org/wiki/Bolesławiec#Kultura> (dostęp 25.04.2020).
- [19] <https://pl.wikipedia.org/wiki/Iława> (dostęp 18.04.2020).
- [20] [https://pl.wikipedia.org/wiki/Konwergencja\\_\(ekonomia\)](https://pl.wikipedia.org/wiki/Konwergencja_(ekonomia)) (dostęp 27.04.2020).
- [21] <https://pl.wikipedia.org/wiki/Police> (dostęp 18.04.2020r.).
- [22] [https://pl.wikipedia.org/wiki/Stare\\_Miasto\\_\(Police\)](https://pl.wikipedia.org/wiki/Stare_Miasto_(Police)) (dostęp 20.04.2020).
- [23] <https://sjp.pwn.pl/slowniki/konwergencja.html> (dostęp 26.04.2020).
- [24] [https://www.castlesofpoland.com/prusy/ilaw\\_hist.htm](https://www.castlesofpoland.com/prusy/ilaw_hist.htm) (dostęp 15.04.2020).
- [25] <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=2ahUKEwjC652HiKnpAhUhxaYKHSfhBpAQFjABegQIAxAB&url=http%3A%2F%2Fwww.klon.org.pl%2Ffiles%2Fszkolaliderow.pl%2Fpublic%2FDZIENKULTURY-GRECKIEJ.doc&usq=A0vVaw0WrZzmI6D8U478maubscFn> (dostęp 26.04.2020).
- [26] <https://www.kurier-ilawski.pl/czytaj/Jak-to-bylo-w-Ilawie-po-wojnie-opowiada-szklarz/2243> (dostęp 15.04.2020).
- [27] Lokalny Plan Rewitalizacji. Załącznik do Uchwały Nr XLI/343/09.
- [28] Lokalny Program Rewitalizacji dla gminy Police do roku 2025.
- [29] Matura J., 2002. Historia Polic od czasów najstarszego osadnictwa do II wojny światowej. Wyd. 2. Urząd Gminy w Policach, s. 138, 153–154.
- [30] Matura J., 2004. Powojenne dzieje Polic 1945–2004. Urząd Gminy w Policach, s. 109–120.
- [31] Niesiołędzki W., 2003. Zamki, pałace, dwory i inne zabytki powiatu iławskiego. Iława.

## REVITALIZATION OF THE OLD TOWN OF IŁAWA

### Abstract

The aim of this project was to revitalise the Old Town district of Iława. The meeting with the City Council's Chairman has taken place in order to determine the resident's expectations. The Chairman is a regionalist and the creator of the city's internet

museum. One of the outcomes of this meeting was a chance to acquire deeper knowledge concerning the history of Hawa, and its historical land development. It also helped to define the architectural intentions. The most significant aim of the project was to create the integral space with the neighbouring areas, such as the Gothic church with a renaissance tower. The reference to the 1960s buildings which surround the market square, was also an important aspect. Finally, in order to revitalise the central park of the city, a new area dedicated to public functions was included in the concept of land development. The revitalized Old Town will increase the attractiveness of this area for both the residents and tourists. The research part of this project includes the comparative analysis of steps to rejuvenate and reconstruct the public space. There were introduced in localities which, just like Hawa, were incorporated to Polish territories after World War II.

**Key words:** revitalization, land development, Old Town

Opiekun naukowy: dr inż. arch. kraj. Mariusz Antolak

Recenzent: dr inż. arch. Wiesława Gadowska

# OCENA WARTOŚCI ODŻYWCZEJ KARM SUCHYCH EKSTRUADOWANYCH DLA PSÓW DOROSŁYCH

Katarzyna Greń, Paulina Misiorna\*, Emilia Rogowska

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,  
ul. K. Janickiego 29, 71-270 Szczecin  
SKN Żywniowców

\*e-mail: p.misiorna@gmail.com

## Streszczenie

Wartość odżywcza karmy pełnoporcjowej podawanej przez dłuższy czas jest niezwykle istotna, gdyż niezbilansowana i niedostosowana do wieku, aktywności fizycznej i złej jakości dieta może doprowadzić do wielu schorzeń czy chorób.

Celem badań była ocena wartości odżywczej losowo wybranych 15 karm bytowych suchych ekstrudowanych dla psów dorosłych. W ocenie uwzględniono: podstawowe składniki odżywcze oraz niezbędne makroelementy. Wszystkie oznaczone parametry porównano z zalecanymi poziomami. Zweryfikowano także informacje podane przez producentów na etykietach karm.

Badania wykazały, że wszystkie składniki odżywcze w ocenianych karmach (z wyjątkiem potasu w 30% analizowanych próbach) występują w ilościach spełniających zalecane minima żywieniowe.

**Słowa kluczowe:** etykieta, karma pełnoporcjowa, makroelementy, składniki odżywcze, zapotrzebowanie

## 1. Wprowadzenie

Obecnie pies traktowany jest przeważnie na równi z pozostałymi członkami rodziny. Według dokumentu „Fact and figures” FEDIAF w krajach Unii Europejskiej pies jest najpopularniejszym zwierzęciem domowym. W Polsce jest ich 7,6 mln, a w całej EU jest ich 65,5 mln [8]. Opiekunowie dbają o jego komfort psychiczny, uprawiają z nim sport, a także stosują wyszukane diety. W związku ze wzrastającą świadomością właścicieli dynamicznie zmienia się rynek karm dla zwierząt. Produkowane są karmy dostosowane do wieku psa, jego trybu życia, aktywności fizycznej oraz wielkości rasy.

Odpowiednie żywienie jest niezwykle istotne nie tylko w utrzymaniu przez długie lata zdrowia fizycznego, dobrej kondycji, ale także dla dobrego samopoczucia oraz zdrowia psychicznego psa. Wraz z pożywieniem dostarczane są substancje, które nie mogą być wytworzone w organizmie lub są wytwarzane w ilościach niewystarczających, aby utrzymać zdrowie i dobrą kondycję. Kompletna i zbilansowana dieta powinna zatem dostarczać wszystkie niezbędne składniki pokarmowe w odpowiedniej ilości, aby zapewnić prawidłowe funkcjonowanie organizmu oraz energię pokarmową pokrywającą potrzeby zwierzęcia [3].

W ostatnim czasie coraz więcej właścicieli decyduje się na zakup gotowych karm komercyjnych. Jest to spowodowane różnymi względami, ale jednymi z najważniejszych są zapewnienia producentów, że karmy te są pełnowartościowe i dostarczają wszelkich niezbędnych składników odżywczych, takich jak białko, tłuszcz oraz makro- i mikroelementy, w odpowiednich ilościach. Produkt oznaczony jako karma pełnoporcjowa/bytowa jest według regulacji prawnych zbilansowany w taki sposób, aby mógł stanowić jedyne źródło pożywienia dla zwierzęcia, nie doprowadzając do niedoborów składników odżywczych [20]. Wiele psów żywionych jest tą samą karmą przez dłuższy czas. W konsekwencji ww. humanizacji zwierząt towarzyszących opiekunowie psów przy wyborze karm kładą nacisk na zaufanie do producenta. Sugeruje to konieczność podejmowania działań w kierunku ujawniania nieścisłości deklarowanego na etykiecie składu produktów z rzeczywistym, w tym braku zbilansowania składników odżywczych weryfikowanym na drodze analiz laboratoryjnych.

Prawo nie reguluje ściśle składu karm, są podawane jedynie zalecenia dla producentów, do których większość się stosuje [3]. Wybierając gotowe karmy dla psów, opiekun chce mieć pewność, że informacje podane na opakowaniach są prawdziwe, a zawartość poszczególnych składników mieści się w zalecanej normie. W celu utrzymania standardów zalecanych wartości składników odżywczych w karmach oraz budowania zaufania konsumentów w 2010 r. utworzono Naukową Radę Doradcą (Scientific Advisory Board – SAB), która doradza FEDIAF w zakresie wytycznych żywieniowych [9].

Mając powyższe na uwadze, celem badań była ocena wartości odżywczej losowo wybranych 15 karm bytowych suchych ekstrudowanych dla psów dorosłych. W ocenie uwzględniono: podstawowe składniki odżywcze oraz makroelementy (P, Ca, K, Mg, Na) i zbilansowanie składników odżywczych zgodnie z obowiązującymi normami FEDIAF [9]. Dodatkowo zweryfikowano informacje o składzie analitycznym podawanym przez producenta na etykietach.

## 2. Materiał i metody

Materiałem do badań było 15 losowo wybranych karm bytowych suchych ekstrudowanych dla psów dorosłych: pięć dla psów wszystkich ras (1\_O-5\_O), pięć dla psów ras dużych (6\_D-10\_D) i pięć dla psów ras małych (11\_M-15\_M). Próby (około 200 g) karm zostały zmielone w młynku laboratoryjnym typ KNIFETEC 1095 (Foss Tecator, Szwecja) i umieszczone w jałowych pojemnikach.

W zmielonych próbach oznaczono podstawowy skład chemiczny zgodnie z AOAC [1]. Suchą masę w zmielonych karmach oznaczono metodą suszarkowo-wagową w temperaturze 105°C. Białko ogółem ( $N \times 6,25$ ) oznaczono metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu do mineralizacji Büchi Scrubber B414 oraz zestawu destylacyjnego Büchi 324. Tłuszcz surowy określono metodą Soxhleta za pomocą eteru dietylowego użytego jako rozpuszczalnika. Włókno surowe oznaczono na aparacie ANKOM<sup>220</sup> FibreAnalyser (ANKOM Technology, USA). Popiół surowy – poprzez spalenie w piecu muflowym w temperaturze 580°C przez 8 godzin. Węglowodany ogółem, określane również pojęciem związku bezazotowe wyciągowe (BNW), obliczono zgodnie ze wzorem (1).

$$BNW(\%) = SM - (BO + TS + WS + PS) \quad (1)$$

gdzie:

*BNW* – bezazotowe związki wyciągowe,

*SM* – sucha masa,

*BO* – białko ogólne,

*TS* – tłuszcz surowy,

*WS* – włókno surowe,

*PS* – popiół surowy.

Materiał do analizy stężeń makroelementów poddano mineralizacji w stężonym kwasie siarkowym (VI) i kwasie chlorowym (VII). Zawartość fosforu oznaczono metodą kolorymetryczną Egner-Riehm z molibdenianem amonu, przy długości fali 660 nm, w aparacie Specol 221. Spektrometr masowy (seria iCE 3000, Thermo Fisher Scientific) został użyty do oznaczenia zawartości wapnia, potasu, magnezu i sodu.

Wszystkie oznaczenia chemiczne wykonano w dwóch powtórzeniach i przedstawiono jako wartości średnie w przeliczeniu na 100 gramów suchej masy (SM).

Oznaczone i wyliczone parametry porównano z zalecanymi poziomami składników odżywczych dla psów dorosłych ustalonych przez FEDIAF [9] oraz deklaracją producenta umieszczoną na opakowaniu każdej karmy.

### 3. Omówienie wyników

Spośród czynników środowiskowych to właśnie żywienie jest jednym z najważniejszych, wpływających na stan zdrowia zwierzęcia. W żywieniu psów coraz częściej stosuje się karmy przemysłowe (komercyjne). Gotową karmą można zapobiec wystąpieniu wielu chorób czy nawet wydłużyć życie psa, ale dokonując niewłaściwego wyboru, można także zaszkodzić zwierzęciu. Karmy opisane jako pełnoporcjowe niezależnie od segmentu powinny dostarczyć zalecane dawki wszystkich składników odżywczych. Spośród różnych rodzajów karm dla psów Polacy najczęściej sięgają po karmy suche. Wskazuje je ponad 72% opiekunów zwierząt domowych [14]. Dlatego tak ważna jest wartość odżywcza karm i wiarygodność informacji podawanych na etykiecie. Wyniki uzyskane z analiz własnych dotyczące zawartości składników odżywczych w badanych karmach umieszczono w tabeli 1a dla wszystkich ras psów, w tabeli 1b – dla ras dużych, a w tabeli 1c – dla ras małych.

Przyjęto, że wilgotność karm suchych powinna wynosić 10–11% i nie mniej niż 3–6%. Zbyt wysoka wilgotność sprzyja psuciu się karmy oraz rozwojowi drobnoustrojów chorobotwórczych [3]. Jak wynika z analiz własnych, w ocenianych karmach wilgotność była mniejsza niż 10% (tab. 1a–c). Wszystkie karmy miały mniejszą wilgotność niż ta, którą producent zadeklarował na etykiecie opakowania.

Białko jest najważniejszym składnikiem pokarmowym, ponieważ decyduje o rozwoju organizmu. Jest to składnik odżywczy niezbędny do prawidłowego przebiegu procesów trawienia, produkcji energii, krzepnięcia krwi, skurczu mięśni [6]. Zbyt niski poziom białka w diecie może prowadzić do utraty masy ciała. Zalecane minimum dla psów dorosłych według wytycznych żywieniowych FEDIAF [9] wynosi 18 g na 100 g suchej masy przy 110 kcal EM×kg<sup>(0,75)-1</sup>. Badania własne wykazały, że wszystkie badane karmy, niezależnie dla jakiej grupy psów dorosłych były przeznaczone, spełniły ten wymóg.

Spośród karm dla wszystkich psów dorosłych najmniejszym poziomem białka charakteryzowała się karma nr 3\_O (22,22 g×100 g<sup>-1</sup> SM), a największym 4\_O (42,22 g×100 g<sup>-1</sup> SM) (tab. 1a).

Oceniane karmy przeznaczone dla ras dużych charakteryzowała rozpiętość białka od 25,82 (karma nr 8\_D) do 30,41 (karma nr 6\_D), a spośród karm dla ras małych rozpiętość wynosiła 28,32–36,36 g. Nie określono maksymalnej zawartości białka w pokarmie, jednak należy mieć na uwadze, że jego nadmiar może prowadzić do pogorszenia stanu organizmu z istniejącą wcześniej chorobą nerek [18]. Pokrycie zawartości białka oznaczonego w karmach dla dużych ras z danymi podanymi przez producenta na etykiecie mieściło się w granicach błędu analitycznego we wszystkich ocenianych karmach.

Tłuszcz decyduje w głównej mierze o wartości energetycznej pokarmu. Dostarcza dwa i pół razy więcej energii niż białko i węglowodany [12]. Tłuszcze są niezbędne do wchłaniania witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, D, E, K). Kwasy tłuszczowe wpływają na stan okrywy włosowej, zapewniają jej wodoodporność [22]. Charakteryzują się właściwościami przeciwzapalnymi i łagodzeniem zmian chorobowych [17]. Niedobór tłuszczu i kwasów tłuszczowych w diecie prowadzi do utraty masy ciała, osłabienia jakości okrywy włosowej i skóry [5]. Dla psów dorosłych zalecane minimum tego składnika w karmie według wytycznych żywieniowych FEDIAF [9] wynosi 5,5 g na 100 g suchej masy. Wśród badanych karm wszystkie zawierały wyższy poziom tłuszczu niż zalecane minimum.

Tabela 1a. Zawartość składników odżywczych (g×100 g<sup>-1</sup> SM karmy) w badanych karmach dla wszystkich ras

Próba	Dane	SM <sup>3</sup> (g×100 g <sup>-1</sup> karmy)	BO <sup>4</sup>	TS <sup>5</sup>	WS <sup>6</sup>	PS <sup>7</sup>	BNW <sup>8</sup>
1_O	A <sup>1</sup>	92,13	32,78	16,39	3,27	7,65	39,89
	B <sup>2</sup>	91,5	26,09	8,91	3,14	6,46	55,4
	%		79,57	54,35	95,77	84,44	138,87
2_O	A	92,12	28,88	17,77	2,77	8,33	42,22
	B	90**	26,7	13,07	5,48	8,87	45,87
	%		92,42	73,51	197,28	106,44	108,63
3_O	A	94,23	22,22	11,11	3,33	8,88	54,44
	B	90**	22,9	9,61	2,91	5,54	59,04
	%		103,05	86,49	87,3	62,325	108,44
4_O	A	93,13	42,22	20,55	3,88	9,88	23,44
	B	90**	43,56	16,56	2,54	5,25	32,09
	%		103,16	80,56	65,31	53,08	136,87
5_O	A	93,92	35,55	20	3,33	10,66	30,44
	B	90	35,88	18,08	2,91	10	33,13
	%		100,91	90,4	87,3	93,75	108,82
Zalecane minimum*		–	18,00	5,50	–	–	–

Źródło: opracowanie własne

\*według FEDIAF 2019

\*\*przy niepodanej wilgotności przez producenta autorzy przyjęli wilgotność 10%

<sup>1</sup>dane wyliczone w analizie, <sup>2</sup>informacje podane przez producenta, <sup>3</sup>sucha masa, <sup>4</sup>białko ogólne, <sup>5</sup>tłuszcz surowy,

<sup>6</sup>włókno surowe, <sup>7</sup>popiół surowy, <sup>8</sup>bezażotowe związki wyciągowe



Tabela 1b. Zawartość składników odżywczych ( $\text{g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM) w badanych karmach dla psów ras dużych

Próba	Dane	SM <sup>3</sup> ( $\text{g} \times 100 \text{ g}^{-1}$ karmy)	BO <sup>4</sup>	TS <sup>5</sup>	WS <sup>6</sup>	PS <sup>7</sup>	BNW <sup>8</sup>
6_D	A <sup>1</sup>	93,6	30,41	22,60	3,13	9,99	33,88
	B <sup>2</sup>	92	32,61	19,57	3,8	8,7	35,33
	%		93,26	115,48	82,37	114,83	95,9
7_D	A	93,14	28,10	12,11	3,41	9,99	46,38
	B	90	30	15,56	2,22	7,78	44,44
	%		93,67	77,85	153,45	128,44	104,4
8_D	A	93,2	25,82	13	3,49	5,98	51,72
	B	90	28,89	15,56	3,11	7,78	44,67
	%		89,38	83,57	112,18	76,89	115,8
9_D	A	92,9	26,13	10,05	2,26	10	51,56
	B	90**	25,56	13,33	3,33	6,67	54,11
	%		100,62	75,4	67,8	150	95,29
10_D	A	92,53	27,95	11,36	2,97	9,99	47,7
	B	90	27,78	16,11	5,56	11,11	39,44
	%		100,62	70,51	53,46	89,91	120,93
Zalecane minimum*		–	18,00	5,50	–	–	–

Źródło: opracowanie własne  
Wyjaśnienia jak pod tabelą 1a

Najmniejszą ilością tłuszczu charakteryzowała się karma przeznaczona dla wszystkich ras 9\_D ( $10,05 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM) (tab. 1b). Największą – karma 6\_D ( $22,60 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM) (tab. 1b). Producenci w większości analizowanych karm zadeklarowali wyższą zawartość tłuszczu niż wynika to z analiz własnych (tab. 1a, b).

Popiół surowy jest materiałem nieorganicznym, która pozostała po spaleniu materii organicznej. Jego oznaczenie jest wymagane do określenia zawartości minerałów w karmie [9]. Dobrej jakości karmy powinny zawierać 5–9% popiołu. Najmniej popiołu surowego zawierała karma dla dużych ras ( $5,98 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM, tab. 1b). Pozostałe karmy cechowała zawartość popiołu w rozstępie od  $7,65 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM do  $10,66 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM. Zbyt wysoka zawartość popiołu w pożywieniu psa może ograniczać wchłanianie innych składników pokarmowych. Wśród badanych karm w 40% zawartość popiołu surowego była większa niż zadeklarował producent na etykiecie.

Węglowodany (BNW, bezazotowe związki wyciągowe) są dla organizmu źródłem energii, wykorzystywanej do wytworzenia ciepła. Ich nadmiar magazynowany jest w postaci glikogenu lub tłuszczu jako materiał zapasowy [3]. W większości przypadków węglowodany powinny stanowić najmniejszą część diety psa [19]. Nie są niezbędnym składnikiem odżywczym, ale spełniają wiele istotnych funkcji [12]. Nadmiar węglowodanów w diecie psów chorujących na cukrzycę może prowadzić do hiperglikemii i zwiększyć zapotrzebowanie na insulinę [7]. Wśród badanych karm (tab. 1a) najwięcej BNW zawierała karma 3\_O ( $54,44 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM), najmniej 4\_O ( $23,44 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM).

Tabela 1c. Zawartość składników odżywczych ( $\text{g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM karmy) w badanych karmach dla psów ras małych

Próba	Dane	SM <sup>3</sup> ( $\text{g} \times 100 \text{ g}^{-1}$ karmy)	BO <sup>4</sup>	TS <sup>5</sup>	WS <sup>6</sup>	PS <sup>7</sup>	BNW <sup>8</sup>
11_M	A <sup>1</sup>	93,04	36,36	15,24	5,42	10,00	32,98
	B <sup>2</sup>	88	35,23	19,32	5,68	7,95	31,82
	%		103,22	78,89	95,39	125,71	103,65
12_M	A	94,64	31,8	12,81	2,76	10,00	42,64
	B	90	31,11	16,44	3,11	7,78	41,56
	%		102,23	77,9	88,71	128,57	102,61
13_M	A	93,97	28,32	11,43	1,64	10,00	48,62
	B	90**	26,67	13,33	3,33	7,78	48,89
	%		106,2	85,73	49,2	128,57	99,45
14_M	A	90,38	30,98	13,84	2,68	10,00	42,5
	B	90**	30,00	18,89	1,67	8,33	41,11
	%		103,25	73,27	160,8	120,0	103,38
15_M	A	94,53	30,85	17,84	4,48	10,00	36,85
	B	92	30,43	19,57	6,52	4,35	39,13
	%		101,36	91,18	68,62	230,0	94,17
Zalecane minimum*		–	18,00	5,50	–	–	–

Źródło: opracowanie własne  
Wyjaśnienia jak pod tabelą 1a

Włókno surowe jest częścią włókna pokarmowego, które stanowią polisacharydy odporne na działanie enzymów trawiennych i nieulegające hydrolizie w jelicie cienkim zwierząt monogastrycznych, do jakich zaliczany jest pies. Mogą one natomiast ulegać fermentacji w jelicie grubym. Produkty tego procesu wspierają prawidłowe funkcjonowanie jelit [21]. Wśród badanych karm największym poziomem włókna surowego charakteryzowała się karma 2\_O ( $2,77 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM, tab. 1a), a najmniejszym 13\_M ( $1,64 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$  SM, tab. 1c). Wyższy poziom włókna surowego niż zadeklarował producent zawierało 53% badanych karm, niższy – 27% z nich, a zgodny z deklaracją tylko 20%.

Wyniki badań własnych są zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów. Badania Hill i wsp. [11] również wykazały rozbieżności w składnikach odżywczych z analiz własnych i podawanych na etykiecie przez producenta. Także Choale i wsp. [4] analizując karmy w okresie od 2003 do 2006 r., stwierdzili rozbieżności w informacjach dotyczących podstawowych składników odżywczych z badań własnych i informacji producenta. Niestety, jedynie karmy weterynaryjne podlegają rygorystycznym kontrolom jakości. Karmy bytowe – tylko wybiórczo [13].

Zawartość badanych makroelementów w badanych karmach umieszczono w tabeli 2a dla wszystkich ras psów, w tabeli 2b – dla ras dużych, a w tabeli 2c – dla ras małych. Producenci zadeklarowali na etykietach opakowań karm głównie zawartość wapnia i fosforu. Niektórzy nie podali zawartości żadnego makroelementu w karmach (4\_O, 5\_O, 10\_D, 12\_M i 14\_M).

Wapń uczestniczy w procesie krzepnięcia krwi i przewodnictwie impulsów nerwowych. Odgrywa ważną rolę w tworzeniu i rozwoju kości. Niedobór wapnia może prowadzić do powstania złamań patologicznych. Nadmiar tego makroelementu w diecie rosnących psów ras dużych powoduje osteochondrozę i może hamować wzrost [10]. Zalecane minimum zawartości wapnia w karmie wynosi 0,5 g na 100 g suchej masy, natomiast maksimum żywieniowe = 2,5 g na 100 g suchej masy karmy. Wszystkie badane karmy miały poziom wapnia zgodny z normami (tabela 2a–c). Najmniej wapnia zawierała karma 12\_M (1,06 g×100 g<sup>-1</sup> SM), najwięcej 7\_D (2,55 g×100 g<sup>-1</sup> SM). Wśród badanych karm 53,3% miało wyższy poziom wapnia niż zadeklarował producent. W przypadku 33,3% karm zawartość wapnia nie została podana przez producenta na etykiecie.

Fosfor jest składnikiem związków niezbędnych do przebiegu procesów metabolizmu energetycznego, wraz z wapniem uczestniczy w procesie tworzenia tkanki kostnej. Jego niedobór może powodować obniżenie czynności mięśnia sercowego oraz rozpad erytrocytów, z kolei nadmiar hamuje wchłanianie wapnia [3]. Zalecane minimum zawartości fosforu w karmie wynosi 0,4 g na 100 g suchej masy, natomiast maksimum – 1,6 g na 100 g suchej masy. Poziom fosforu we wszystkich analizowanych karmach mieścił się w zakresie 0,79–1,36 g×100 g<sup>-1</sup> SM. Najmniejszym poziomem P charakteryzowała się karma 6\_D, a największym 1\_O. Pośród badanych karm 33,3% miało większy poziom fosforu niż zadeklarował producent. W pozostałych 33,3% nie został on podany na etykiecie (4\_O, 5\_O, 10\_D, 12\_M i 14\_M).

Tabela 2a. Zawartość makroelementów (g×100 g<sup>-1</sup> SM) w badanych karmach dla wszystkich ras

Próba	Dane	Ca	P	K	Na	Mg
1_O	A <sup>1</sup>	1,17	1,36	0,48	0,23	0,11
	B <sup>2</sup>	1,75	0,98	bd	bd	bd
	%	67,09	138,09	–	–	–
2_O	A	1,39	1,20	0,73	0,47	0,1
	B	1,44	1,00	bd	0,44	bd
	%	96,2	119,80	–	106,11	–
3_O	A	1,96	0,97	0,6	0,45	0,18
	B	1,66	1,33	bd	bd	bd
	%	118,13	72,95	–	–	–
4_O	A	1,8	0,96	0,81	0,45	0,12
	B	bd	bd	bd	bd	bd
	%	–	–	–	–	–
5_O	A	2,42	1,25	0,7	0,31	0,13
	B	bd	bd	bd	bd	bd
	%	–	–	–	–	–
Zalecane minimum*		0,50	0,40	0,50	0,10	0,07
Maksimum*		2,5	1,60	–	1,5	–

Źródło: opracowanie własne

\*według FEDIAF 2019, <sup>1</sup>dane wyliczone w analizie, <sup>2</sup>informacje podane przez producenta, bd – brak danych

Potas odgrywa ważną rolę w przewodzeniu impulsów nerwowych i regulacji potencjału czynnościowego błon komórkowych. Jego niedobór może powodować obniżenie ciśnienia krwi i pojemności minutowej serca. Nadmiar potasu zazwyczaj wynika z dysfunkcji nerek [16]. Objawami klinicznymi niedoboru potasu są apatia i zaburzenia funkcjonowania mięśnia sercowego, przeważnie arytmia [15]. Zalecana minimalna zawartość potasu wynosi 0,5 g na 100 g suchej masy. Wśród analizowanych karm 33,3% miało mniejszy poziom 1\_O, 7\_D, 8\_D, 10\_D i 12\_M). Wytyczne żywieniowe FEDIAF [9] nie podają zalecanego maksymalnego poziomu potasu w karmach. Jego najmniejszą ilością charakteryzowała się karma 8\_D (0,32 g×100 g<sup>-1</sup> SM), natomiast największą 4\_O (0,81 g×100 g<sup>-1</sup> SM).

Magnez uczestniczy w przewodzeniu impulsów nerwowych, jest również składnikiem kości a jego nadmiar wydalany jest z organizmu z moczem i kałem [3]. Zalecana minimalna zawartość magnezu w karmie wynosi 0,07 g na 100 g suchej masy, z kolei maksymalna zalecana zawartość nie została określona. Wszystkie karmy zawierały więcej magnezu niż 0,07 g. Najmniejszą karmą 8\_O (0,09 g×100 g<sup>-1</sup> SM), największą – 3\_O (0,18 g×100 g<sup>-1</sup> SM).

Tabela 2b. Zawartość makroelementów (g×100 g<sup>-1</sup> SM) w badanych karmach dla psów ras dużych

Próba	Dane	Ca	P	K	Na	Mg
6_D	A <sup>1</sup>	2,18	0,79	0,55	0,87	0,14
	B <sup>2</sup>	1,52	0,98	bd	bd	bd
	%	143,26	80,76	–	–	–
7_D	A	2,55	1,19	0,42	0,19	0,14
	B	1,67	1,2	bd	bd	bd
	%	153	97,36	–	–	–
8_D	A	1,96	1,18	0,32	0,27	0,09
	B	1,67	1,33	bd	bd	bd
	%	117,6	88,5	–	–	–
9_D	A	1,61	1,06	0,65	0,37	0,1
	B	1,44	1	bd	0,44	bd
	%	111,46	106	–	83,25	–
10_D	A	1,2	1,15	0,44	0,22	0,15
	B	bd	bd	bd	bd	bd
	%	–	–	–	–	–
Zalecane minimum*		0,50	0,40	0,50	0,10	0,07
Maksimum*		2,5	1,60	–	1,5	–

Źródło: opracowanie własne

Wyjaśnienia – jak pod tabelą 2a

Sód reguluje równowagę kwasowo-zasadową i uczestniczy w przewodzeniu impulsów nerwowych. Jego niedobór sprzyja odwodnieniu i ataksji, prowadzi do przyspieszenia akcji serca [23], zaś jego nadmiar może wywołać wymioty [24]. Zawartość sodu większa od 2% w suchej masie może przyczynić się do ujemnego bilansu potasu [2]. Wszystkie badane karmy miały większy poziom sodu niż zalecane minimum wynoszące 0,1 g na 100 g suchej masy. Najmniejszym poziomem charakteryzowała się karma 7\_D (0,19 g×100 g<sup>-1</sup> SM), a największym 14\_M (0,49 g×100 g<sup>-1</sup> SM).

Tabela 2c. Zawartość makroelementów (g×100 g<sup>-1</sup> SM) w badanych karmach dla psów ras małych

Próba	Dane	Ca	P	K	Na	Mg
11_M	A <sup>1</sup>	1,7	0,91	0,75	0,3	0,14
	B <sup>2</sup>	1,59	1,25	bd	bd	bd
	%	106,73	73,02	–	–	–
12_M	A	1,06	0,9	0,38	0,21	0,16
	B	bd	bd	bd	bd	bd
	%	–	–	–	–	–
13_M	A	1,52	1,1	0,7	0,42	0,11
	B	1,44	1	bd	0,5	bd
	%	105,33	109,57	–	84,54	–
14_M	A	1,81	1,27	0,69	0,49	0,13
	B	bd	bd	bd	bd	bd
	%	–	–	–	–	–
15_M	A	1,48	1,4	0,73	0,32	0,1
	B	0,87	0,43	bd	bd	bd
	%	170,23	322,77	–	–	–
Zalecane minimum*		0,50	0,40	0,50	0,10	0,07
Maksimum*		2,5	1,60	–	1,5	–

Źródło: opracowanie własne

Wyjaśnienia – jak pod tabelą 2a

## 4. Podsumowanie

W pracy oceniono wartość odżywczą 15 losowo wybranych karm bytowych suchych ekstrudowanych dla psów dorosłych. Analiza chemiczna karm na zawartość podstawowych składników odżywczych, frakcji włókna pokarmowego, makroelementów (P, Ca, K, Mg, Na) oraz zweryfikowanie informacji podawanych przez producentów na etykietach karm pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Oceniane karmy to karmy suche ekstrudowane o niskiej wilgotności. Średnio stwierdzono 7% wilgotności w ocenionych karmach. Chociaż producent nie ma obowiązku podawania na etykiecie wilgotności karmy, jeżeli jest mniejsza niż 14%, to wilgotność została określona w 53,3% analizowanych karm. Etykiety 1\_O, 2\_O, 3\_O, 4\_O, 9\_D, 13\_M i 14\_M nie zawierały tej informacji.
2. Wszystkie badane karmy spełniły zalecany przez FEDIAF minimalny poziom białka i tłuszczu w karmach dla psów dorosłych.
3. Zbilansowana karma bytowa powinna spełniać również normy na składniki mineralne. Z niezbędnych makroelementów producenci deklarowali na etykietach karm jedynie poziom wapnia i fosforu. Niestety, na etykietach karm 4\_O, 5\_O, 10\_D, 12\_M i 14\_M nie podano żadnego z tych pierwiastków. Wszystkie badane karmy spełniły zalecane minimum i nie przekraczały maksimum żywieniowego ustalonego dla tych pierwiastków.
4. W pięciu z 15 badanych stwierdzono mniejszy poziom potasu niż zalecane minimum.
5. Poziom magnezu i sodu spełniał zalecane minimum we wszystkich karmach. Nie zostało przekroczone maksimum żywieniowe dla sodu w żadnej z analizowanych karm.

Podsumowując, wyniki niniejszych badań wskazują, że poziomy głównych składników odżywczych różnią się od deklarowanych przez producenta, co w konsekwencji sprawia, że wartość energetyczna karmy jest inna niż deklarowana na opakowaniu, a w dalszym etapie na pewno dawkowanie dla psów byłoby inne niż podane na etykiecie. Niestety, procedury kontroli jakości w karmach bytowych mogą być bardzo różne. Od rutynowego sprawdzania poziomu makroskładników (białka, tłuszczu, włókna, popiołu i wilgotności) lub sporadycznych pełnych analiz składników odżywczych w produktach finalnych, aż do zupełnego braku kontroli jakości po przetworzeniu. Natomiast firmy, które produkują diety weterynaryjne, testują każdą partię wyprodukowanej karmy.

## Literatura

- [1] AOAC Association of Official Analytical Chemists, 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International, 21st Edition, Gaithersburgs, MD.
- [2] Boemke W., Palm U., Kaczmarczyk G., Reinhardt H.W, 1990. Effect of high sodium and high water intake on 24 h-potassium balance in dogs. *Z. Versuchstierkd*, vol. 33 (4), s. 179–185.
- [3] Ceregrzyn M., Lechowski R., Barszczewska B., 2016. Podstawy żywienia psów i kotów, Wydawnictwo Urban & Partner, Wrocław.
- [4] Choate C.J., Hill R.C., Scott K.C., Molenberghs G., 2009. Comparison of the guaranteed analysis with the measured nutrient composition of commercial pet foods. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, vol. 93 (2), s. 141.
- [5] Codner E.C., Thatcher C.D., 1990. The role of nutrition in the management of dermatoses. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery*, vol. 5 (3), s. 167–177.
- [6] Cuesta S.M., Rahman S.A., Furnham N., Thornton J.M., 2015. The classification and evolution of enzyme function. *Biophysical Journal*, vol. 109 (6), s. 1082–1086.
- [7] Elliot K.F., Rand J.S., Fleeman L.M., Morton J.M., Litster A.L., Biourge V.C., Markwell P.J., 2012. A diet lower in digestible carbohydrate results in lower postprandial glucose concentrations compared with a traditional canine diabetes diet and an adult maintenance diet in healthy dogs. *Research in Veterinary Science*, vol. 93 (1), s. 288–295.
- [8] FEDIAF European Pet Food Industry Federation, *European Facts & Figures*, 2018, s. 1–10.
- [9] FEDIAF European Pet Food Industry Federation, *Nutritional Guidelines For Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs*, 2019, s. 15–16, 54–57.
- [10] Hazewinkel H.A., Goedegebuure S., Poulos P., Wolvekamp W., 1985. Influences of chronic calcium excess on the skeletal development of growing Great Danes. *The Journal of the American Animal Hospital Association*, vol. 21, s. 377–391.
- [11] Hill R.C., Choate C.J., Scott K. C., Molenberghs G., 2009. Comparison of the guaranteed analysis with the measured nutrient composition of commercial pet foods. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 234 (3), s. 347–351.
- [12] Hołda K., Głogowski R., 2016. Konsekwencje błędów żywieniowych. *Vet Personel*, 2016, vol. 1, s. 27–30.
- [13] Hołda K., Głogowski R., 2019. Różnice między dietami weterynaryjnymi i karmami bytowymi. *Weterynaria w Praktyce*, vol. 16, s. 7–8.
- [14] <https://www.wiadomoscihandlowe.pl/artykuly/rynek-karmy-dla-psow-najnowsze-badanie-preferencji,47912> (dostęp 29.05.2020).

- [15] Idziak M., Burdzińska A., 2010. Potas w praktyce weterynaryjnej – co należy wiedzieć o hiperkaliemii u psów i kotów. *Magazyn Weterynaryjny*, vol. 19, s. 879–884.
- [16] Kogika M.M., de Moraes H.A., 2017. A quick reference on hyperkalemia. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, vol. 47 (2), s. 223–228.
- [17] LeBlanc C.J., Horohov D.W., Bauer J.E., Hosgood G., Mauldin G.E., 2008. Effects of dietary supplementation with fish oil on *in vivo* production of inflammatory mediators in clinically normal dogs. *American Journal of Veterinary Research*, vol. 69 (4), s. 486–493.
- [18] Martin W.F., Armstrong L.E., Rodriguez N.R., 2005. Dietary protein intake and renal function. *Nutrition & Metabolism*, s. 2, 25.
- [19] Mirowski A., 2013. Czy węglowodany są niezbędne w żywieniu psów i kotów? *Życie Weterynaryjne*, vol. 88 (10), s. 870–872.
- [20] Rozporządzenie (WE) nr 767/2009 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 13 lipca 2009 r. w sprawie wprowadzania na rynek i stosowania pasz.
- [21] Slavin J.L., 2008. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *Journal of the American Dietetic Association*, vol. 108 (10), s. 1716–1731.
- [22] Szalata A., 2017. Wpływ diety na kondycję skóry i sierści psów. *Vet Personel*, s. 3–4, 32–34.
- [23] Ueda Y., Hopper K., Epstein S.E., 2015. Incidence, severity and prognosis associated with hyponatremia in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 29 (3), s. 801–807.
- [24] Zentek J., Meyer H., 1995. Normal handling of diets – are all dogs created equal. *The Journal of Small Animal Practice*, vol. 36 (8), s. 354–359.

## EVALUATION OF THE NUTRITIONAL VALUE OF DRY EXTRUDED FOOD FOR ADULT DOGS

### Abstract

The nutritional value of complete food given for a long time is extremely important, because unbalanced and unsuitable for age, physical activity and poor quality diet can lead to many diseases or diseases.

The aim of the study was to assess the nutritional value of randomly selected 15 dry extruded household foods for adult dogs. The assessment included: basic nutrients and necessary macroelements. All estimated parameters were compared to the recommended levels. Information provided by producers on pet food labels was also verified.

Studies have shown that all nutrients in the evaluated feeds (except potassium in 30% of the analyzed samples) are in amounts consistent with the recommended dietary minima.

**Key words:** complete food, label, macroelements, nutrients, requirement

Opiekun naukowy: dr hab. inż. Wioletta Biel, prof. ZUT

Recenzenci: dr hab. inż. Ewa Czerniakowska-Piątkowska, prof. ZUT  
dr Katarzyna Królaczyk





# WYSTĘPOWANIE INTEGRONÓW OPORNOŚCI U SZCZEPÓW *E. COLI* OBECNYCH W PRODUKCJI DROBIU

Hanna Biesiada

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań  
Studenckie Koło Naukowe Medyków Weterynaryjnych

e-mail: haniabics@gmail.com

## Streszczenie

Celem doświadczenia było określenie rodzaju i częstości występowania integronów oporności oraz związku między występowaniem integronów z wielolekoopornością u niepatogennych szczepów *E. coli*, obecnych w produkcji drobiu. Materiał do badań stanowiły 73 komensalne szczepy bakterii *E. coli* pochodzące z posiewów wymazów z komercyjnych stad drobiu, pozyskanych ze ściółki kurników, kału oraz skóry szyi kurcząt rzeźnych pobranych poubojowo. Przynależność pozyskanych izolatów do izolatu potwierdzano z wykorzystaniem techniki MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik, Germany). Lekooporność szczepów danego gatunku na penicyliny, fluorochinolony, aminoglikozydy, sulfonamidy z trimetoprimem i tetracykliny była oznaczana metodą dyfuzji w podłożu agarowym, zgodnie z rekomendacjami CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute 2012). Szczepy uznane za wielolekooporne (MDR – multi drug resistance) zostały poddane badaniom molekularnym (PCR). Wykonano izolację DNA bakterii, a następnie określano obecność 9 genów związanych z rozpoznaną opornością fenotypową. W ostatnim etapie przeprowadzono identyfikację genów *int11* i *int12*, na podstawie których potwierdzano obecność integronów klasy 1 i 2 w plazmidowym DNA. Stwierdzono, że integrony są powszechnymi mediatorami oporności na antybiotyki wśród wielolekoopornych niepatogennych szczepów *E. coli*, izolowanych na poszczególnych etapach produkcji drobiu.

**Słowa kluczowe:** *E. coli*, drób, wielolekooporność, geny oporności, integrony

## 1. Wprowadzenie

Narastająca w ostatnich latach oporność drobnoustrojów na środki przeciwdrobnoustrojowe, a zwłaszcza oporność wielolekowa (MDR – multiple drug resistance), stanowią coraz większe zagrożenie zdrowia publicznego. Niekontrolowane stosowanie antybiotyków i chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych u drobiu (szczególnie w stężeniach niższych niż hamujące), a także obecność ich pozostałości w paszy i środowisku wywierają istotny wpływ na kształtowanie się oporności wśród drobnoustrojów zoonotycznych przenoszonych przez żywność [23].

Aktualna polityka Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) ma na celu ochronę skuteczności antybiotyków ważnych dla medycyny człowieka przez ograniczenie ich nieuzasad-

nionego stosowania u ludzi i zwierząt [12]. Skutkiem częstego lub niewłaściwego leczenia zwierząt antybiotykami jest coraz powszechniej występująca wielolekooporność szczepów bakterii [19]. Stosowanie środków przeciwdrobnoustrojowych, szczególnie w stężeniach niższych niż hamujące, doprowadza do szybkiej adaptacji danej populacji drobnoustrojów, w tym bakterii patogennych wywołujących choroby u ludzi i/lub zwierząt, mikroorganizmów komensalnych albo bakterii występujących w środowisku, do którego są uwalniane substancje czynne bądź ich aktywne metabolity [24].

Coraz więcej doniesień na temat antybiotykoopornych bakterii dotyczy mięsa – produktu spożywczego zaliczanego do jednego z bardziej wrażliwych na skażenie mikrobiologiczne. Elementem, który sprzyja transmisji drobnoustrojów w zakładach ubojowych, są tzw. zanieczyszczenia krzyżowe, będące skutkiem nieprawidłowo przeprowadzanych czynności ubojowych, takich jak wykrwawianie czy wytrzewianie [3, 22]. Za powszechne źródło szczepów MDR uznaje się między innymi mięso drobiowe [5, 14, 20].

Oporność na antybiotyki u bakterii zoonotycznych może być konsekwencją mutacji genów chromosomalnych albo nabywania genów oporności od innego drobnoustroju w procesie horyzontalnego transferu genów (HGT – horizontal gene transfer). HGT to zjawisko przeniesienia materiału genetycznego z jednego organizmu do drugiego, najczęściej pozostającymi ze sobą w ścisłej relacji ekologicznej [4, 11]. Pobieranie nowych sekwencji DNA odbywa się przy współdziałaniu mobilnych elementów genetycznych (MGE – mobile genetic elements). Do głównych mechanizmów nabywania antybiotykooporności poprzez HGT zaliczamy: transdukcję, transformację oraz koniugację, a istotnymi elementami genetycznymi biorącymi udział w tym procesie są integrony [8, 13, 17].

Pojęcie integronu zostało po raz pierwszy użyte w 1989 roku. Określa ono strukturę umożliwiającą lokalną rekombinację genetyczną poprzez włączenie do swojej konstrukcji najmniejszych mobilnych elementów genetycznych – kaset genowych oraz ich ekspresję [1]. Istnieje 8 klas integronów sklasyfikowanych na podstawie genu *integrazy* [21]. Do najlepiej poznanej grupy zalicza się integrony klasy 1 i 2. Ich główny rezerwuar stanowią bakterie Gram-ujemne, w tym drobnoustroje *Escherichia coli* [7, 9].

*E. coli* jest bardzo zróżnicowanym gatunkiem bakterii skupiającym szczepy komensalne oraz jelitowe i pozajelitowe patogeny. Zdolności przystosowania tych drobnoustrojów do różnych niszy w organizmie gospodarza jest uwarunkowane niezwykle plastycznym genomem. Inną istotną siłą napędową ewolucji genomów u *E. coli* jest ruchoma pula genów wymieniana w wyniku horyzontalnego transferu genów (HGT) [2].

Badania drobnoustrojów *E. coli* występujących w środowisku hodowlanym kurcząt brojlerów, ich kale oraz mięsie drobiowym dostarczają cennych informacji o rezerwuarze genów bakteryjnych. W dążeniu do pełnego zrozumienia zagrożeń wynikających z możliwości transferu bakterii opornych w łańcuchu produkcji drobiu ważne wydaje się poznanie zróżnicowania i stopnia rozpowszechnienia genetycznych determinant oporności na antybiotyki wśród ich komensalnych szczepów [23].

Celem doświadczenia było zbadanie rodzaju i częstości występowania integronów oporności oraz związku występowania integronów z wielolekoopornością u środowiskowych szczepów *E. coli*, obecnych w produkcji drobiu.

## 2. Materiał i metody

Łącznie w 2019 roku pozyskano 73 izolaty *E. coli* z trzech obszarów produkcji drobiu: wymazów ściółkowych z kurników (n = 23), wymazów z kloaki kurcząt brojlerów (n = 25) oraz z mięsa drobiowego (n = 25). Próby pochodzące ze ściółki (wymazy poduszowe) pozyskano w ramach krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach drobiu, zgodnego z wytycznymi aktualnych przepisów prawa krajowego (min. ustawa „O ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt”) oraz wspólnotowego (rozporządzenie Komisji WE nr 200/2012) [11]. Wymazy ze ściółki pobrano z obiektów znajdujących się na terenie województwa wielkopolskiego. Wymazy z kloaki oraz mięsa kurcząt rzeźnych pozyskano poubojowo w dwóch wielkopolskich ubojniach drobiu. Materiał do przeprowadzenia badań mikrobiologicznych na obecność *E. coli* w mięsie stanowiły wycinki skór szyi kurcząt po schłodzeniu.

Hodowla drobnoustrojów była przeprowadzona zgodnie z normą PN-ISO 16649-2:2004. „Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby beta-glukuronidazo-dodatnich *Escherichia coli*. Część 2. Metoda płytkowa w temperaturze 44°C z zastosowaniem 5-bromo-4-chloro-3-indolilo- $\beta$ -D-glukuronidu”. Uzyskane w toku badań izolaty bakterii były poddane identyfikacji z wykorzystaniem techniki MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik, Germany). Wartość score wahała się od 2,015 do 2,152.

Każda wyizolowana kolonia bakteryjna została przeniesiona do próbki testowej zawierającej 10 ml bulionu Muller Hinton (OXOID, Wielka Brytania). Następnie przygotowano zawiesinę (inokulum) o gęstości 0,5 McFarlanda, w celu uzyskania pożądanej ilości/gęstości zawiesiny bakterii. W ciągu 15 minut od przygotowania inokulum zanurzono w nim sterylny bawełniany wacik, usunięto nadmiar płynu i wykonano równomierny posiew w trzech kierunkach na powierzchni agaru Mueller-Hinton (OXOID, Wielka Brytania).

Badania wrażliwości wszystkich 73 izolatów *E. coli* na: penicyliny (ampicylina – AMP i amoksycylina z kwasem klawulanowym – AMC), fluorochinolony (cyprofloksacyna – CIP), aminoglikozydy (gentamycyna – GEN), sulfonamidy (sulfametoksazol z trimetoprimem – SUL/TM), tetracykliny (doksycyklina – DOX) wykonano metodą dyfuzji w podłożu agarowym. Krążki z antybiotykami były delikatnie dociskane do agaru i inkubowane w temperaturze 37°C przez 24 +/- 2 h. Po inkubacji średnica strefy zahamowania tworząca się wokół każdego krążka była mierzona za pomocą odblaskowej, przezroczystej linijki. Oznaczanie i interpretacja wrażliwości na antybiotyki były wykonywane zgodnie z rekomendacjami CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute 2012). Jako szczep kontrolny zastosowano szczep *E. coli* ATCC 25922. Powyższe badania zostały wykonane we współpracy z Weterynaryjnym Laboratorium Diagnostycznym Lab-Vet w Tarnowie Podgórnym.

Szczepy uznane za wielolekooporne (MDR – multidrug resistant), czyli odporne na co najmniej trzy grupy środków przeciwdrobnoustrojowych, zostały zamrożone do temperatury -80°C, przeniesione na agar Columbia z krwią baranią (Thermo Scientific, USA), a następnie przekazane do badań molekularnych w Katedrze Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu.

W laboratorium molekularnym wyizolowano DNA plazmidowe z wielolekoopornych szczepów *E. coli* przy użyciu zestawu EURX® GeneMATRIX Plasmid Miniprep DNA Purification Kit, przeznaczonego do izolacji wysokiej czystości plazmidowego DNA z bakterii Gram-ujemnych.

W celu identyfikacji sekwencji związanych z opornością fenotypową bakterii wykonano reakcje PCR z zestawem starterów dla 9 wybranych genów: *bla<sub>TEM</sub>*; *QnrA*, *QnrB*, *QnrS*; *aac(3)*; *sul1*, *sul2*, *sul3*; *tet(O)*. Sekwencje starterów podano w tabeli 1. Obecność integronów klasy 1 i 2 weryfikowano poprzez amplifikację sekwencji specyficznych dla genów integrazy I (*IntI1*) oraz integrazy II (*IntI2*). Sekwencje starterów dla wybranych genów oporności oraz genu *IntI* zaprojektowano na podstawie sekwencji zdeponowanej w banku genów GenBank. Sekwencje starterów dla genów *qnrA*, *sul2* oraz *sul3* oraz genu integrazy II wykorzystano z publikacji podanych w tabeli 1. Próby amplifikowano w 10 µl mieszaniny reakcyjnej składającej się z: 1 µl DNA, 0,6 µM starterów oraz 2 µl 5x HOT FIREPol® Blend Master Mix (SolisBiodyne) w termocyklerze MJ Research PTC-200 Peltier Thermal Cycler. Warunki reakcji obejmowały: denaturację wstępną (95°C, 15 min), 38 cykli denaturacji (95°C, 20 s), przyłączanie starterów w temperaturze specyficznej dla danej pary starterów przez 45 s oraz elongację (72°C, 60 s). Końcowa elongacja produktu została przeprowadzona w 72°C przez 5 min. Produkty reakcji PCR rozdzielono oraz wizualizowano na 1,5% żelu agarozowym z wykorzystaniem odczynnika SimplySafe™ (EURx). Obrazowanie żeli wykonano za pomocą systemu ChemiDoc™ MP Imaging System (Bio-Rad).

Tabela 1. Sekwencje starterów dla badanych genów

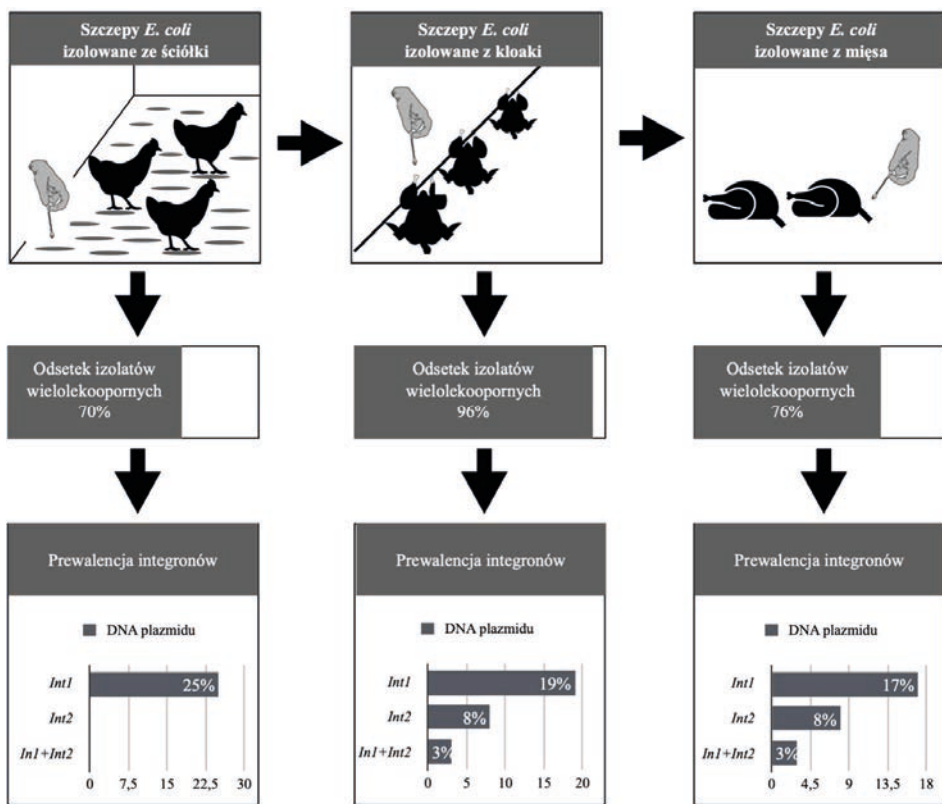
Lp.	Startery reakcji	Sekwencje starterów	Długość produktu PCR (pz)	Temperatura przyłączenia (°C)	Źródło
1	2	3	4	5	6
1.	IntI 1 F	GGCATCCAAGCAGCAAG	898	60	GenBank: M73819.1
	IntI 1 R	AAGCAGACTTGACCTGA			
2.	Int 2 F	TCTCGGGTAACATCAAGG	486	61	White i wsp. 2001 [28]
	Int 2 R	GTGAGCGCATACGCTACTTG			
3.	BlaTEM F	AGATCAGTTGGGTGCACGAG	690	62	GenBank: JN188365.1
	BlaTEM R	TGACTCCCCGTCGTGTAGAT			
4.	QnrA F	TGACTTCAGCCACTGTCAGC	349	55	Lavilla i wsp. 2008 [18]
	QnrA R	GGCATTGCTCCAGTTGTTTT			
5.	QnrB F	ATATGATCACCACGCGCACC	114	63	GenBank: MK532875.1
	QnrB R	AACGGTTTTCCACAGCTCA			
	QnrS F	CCTTCACCGCTTGCACATTC	450	62	GenBank: EU391634.1
	QnrS R	ATTGCCCCCAGACATCTTCG			
6.	Tet F	GCGGTGAAATCTCTCTGCA	211	62	GenBank: MF993525.1
	Tet R	CTGGCTTTTTCAAGTGCCT			

Tabela 1. cd

1	2	3	4	5	6
7.	Sul1 F	GTGACGGTGTTCGGCATTCT	779	62	GenBank: M73819.1
	Sul1 R	TCCGAGAAGGTGATTGCGCT			
	Sul2 F	GCGCTCAAGGCAGATGGCATT	285	62	Kern i wsp. 2002 [16]
	Sul2 R	ACGGGAGCCGGTATCAAACG			
	Sul3 F	GAGCAAGATTTTTGGAATCG			
8.	Sul3 R	CTAACCTAGGGCTTTGGATAT	790	62	Hammerum i wsp. 2006 [10]
	Aac(3)	CAAACCGGTGACCTCTTGAT	541	62	GeneBank: NC_019045.2
Aac(3)	CTTCACCGTCTCTCCAAGC				

### 3. Wyniki

Na rysunku 1 przedstawiono graficzną wizualizację doświadczenia oraz prevalencję integronów w odniesieniu do wielolekooporności badanych szczepów *E. coli* na poszczególnych etapach produkcji drobiu.

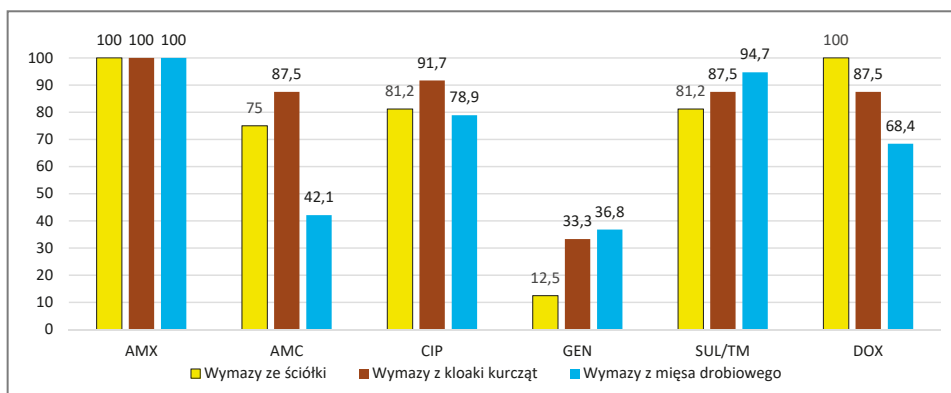


Źródło: opracowanie własne

**Rys. 1.** Wielolekooporność szczepów *E. coli* oraz częstość występowania integronów na poszczególnych etapach produkcji drobiu

W pierwszym etapie badań oceniono profile oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki wśród 73 środowiskowych szczepów *Escherichia coli* pozyskanych ze ściółki (grupa A), wymazów z kloaki kurcząt brojlerów (grupa B) oraz mięsa drobiowego (grupa C). Pięćdziesiąt dziewięć izolatów (16/23 (70%) z grupy A, 24/25 (96%) z grupy B i 19/25 (76%) z grupy C) wykazało fenotyp oporności na wiele substancji przeciwbakteryjnych (rys. 1).

Badania wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki wykazały wysokie odsetki oporności na większość testowanych antybiotyków. W grupie drobnoustrojów wyizolowanych ze ściółki drobiowej największy odsetek oporności stwierdzono w stosunku do AMP (100%), DOX (100%), CIP i SUL/TM (81,2%) oraz AMC (75%), a najniższy dla GEN (12,5%). Wysoką oporność izolatów *E. coli* pochodzących z wymazów z kloaki zaobserwowano w odniesieniu do: AMP (100%), CIP (91,7%), AMC, DOX i SUL/TM (87,5%), a najniższą ponownie dla GEN (33,3%). Izolaty pobrane z próbek mięsa najczęściej wykazywały oporność na: AMP (100%), SUL/TM (94,7%), CIP (78,9%), DOX (68,4%), natomiast oporność na AMC i GEN mieściła się w granicach od 42,1 do 36,8% (rys. 2).



Źródło: opracowanie własne

**Rys. 2.** Oporności szczepów *E. coli* izolowanych ze ściółki drobiowej, wymazów z kloaki kurcząt brojlerów oraz mięsa drobiowego (AMP – ampicylina, AMC – amoksylicyna/kw. klawulanowy, CIP – cyprofloksacyna, GEN – gentamycyna, SUL/TM – sulfametoksazol/trimetoprim, DOX – doksylicykлина)

Testy wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe wykazały, że 7,1% wszystkich szczepów MDR było opornych na trzy antybiotyki, 33,3% na cztery, 38% wykazało oporność na pięć, a 21,4% na sześć antybiotyków (tab. 2).

Analizowane szczepy badano następnie w kierunku genotypu oporności. Występowanie genu *bla<sub>TEM</sub>* wśród 59 (100%) szczepów MDR opornych na ampicylinę i 41 (69,5%) na amoksylicynę z kw. klawulanowym stwierdzono w 12 i 5 izolatach pochodzących ze ściółki, w 20 i 16 izolatach pochodzących z jelita grubego oraz w 15 i 2 izolatach pochodzących z mięsa. Pięćdziesiąt szczepów (84,7%) wykazywało fenotyp oporności na cyprofloksacynę, a obecność genów oporności na fluorochinolony (*qnrA*, *B* i *S*) odnotowano kolejno w 12, 5 i 1 przypadku, przy czym gen *qnrA* występował u nich najczęściej. Gen oporności na gentamycynę – *aad(3)* został zidentyfikowany jedynie w szczepie pochodzącym z wymazów z kloaki. Obecność genów *sul1*, *sul2* i *sul3*, nadających oporność na sulfonamidy, wykryto w 33 szczepach spośród 52 (88,1%) izolatów wykazujących fenotyp oporności na ten che-

mioterapeutyk. Częstość występowania szczepów *E. coli* opornych na tetracykliny wynosiła z kolei 84,7%. Wyniki PCR wykazały, że gen *tet(O)*, był obecny w 21 szczepach spośród pięćdziesięciu opornych na doksycyklinę (tab. 3).

Tabela 2. Profile oporności wielolekoopornych szczepów *E. coli*

Grupa	Oporność na 3 antybiotyki/chemioterapeutyki	Oporność na 4 antybiotyki/chemioterapeutyki	Oporność na 5 antybiotyków/chemioterapeutyków	Oporność na 6 antybiotyków/chemioterapeutyków
	Liczba szczepów <i>E. coli</i>			
A	1	6	7	1
B	0	3	5	6
C	2	5	4	2
Suma	3 (7,1%)	14 (33,3%)	16 (38%)	9 (21,4%)

Źródło: opracowanie własne

Tabela 3. Rozpowszechnienie genów oporności wśród wielolekoopornych szczepów *E. coli*

Czynnik przeciwbakteryjny	Liczba szczepów <i>E. coli</i> opornych na antybiotyki i chemioterapeutyki (grupa A/grupa B/grupa C) (suma)	Liczba wykrytych genów oporności wśród szczepów <i>E. coli</i> (grupa A/grupa B/grupa C) (suma)
Ampicylina (AMP)	16/24/19 (59)	<i>bla<sub>TEM</sub></i> (12/20/15) (47)
Amoksycylina/kw. klawulanowy (AMC)	12/21/8 (41)	<i>bla<sub>TEM</sub></i> (5/16/2) (23)
Cyprofloksacyna (CIP)	13/22/15 (50)	<i>qnrA</i> (3/7/2) (12) <i>qnrB</i> (2/2/1) (5) <i>qnrS</i> (0/1/0) (1)
Gentamycyna (GEN)	2/8/7 (17)	<i>aad(3)</i> (0/1/0) (1)
Sulfametoksazol (SUL)	13/21/18 (52)	<i>sul1</i> (2/5/4) (11) <i>sul2</i> (4/7/6) (17) <i>sul3</i> (2/3/0) (5)
Doksycyklina (DOX)	16/21/13 (50)	<i>tet(O)</i> (5/12/4) (21)

Źródło: opracowanie własne

grupa A – wymazy ze ściółki, grupa B – wymazy z kloaki, grupa C – wymazy z mięsa drobiowego

W ostatnim etapie doświadczenia zidentyfikowano obecność integronów klasy 1 i 2. Z 59 wielolekoopornych szczepów *E. coli* odnotowano łącznie 42 izolaty, które zawierały geny *integrazy 1* i *2* w plazmidowym DNA. Trzydzieści sześć z nich (61%) posiadało integrony klasy 1, dziesięć (16,9%) integrony klasy 2, a cztery (6,7%) miały integrony obu klas.

Pośród wszystkich wielolekoopornych szczepów najwięcej integronów klasy 1 odnotowano w izolatach pochodzących ze ściółki (25%). Integrony klasy 2 wykazywały tę samą prewalencję w szczepach należących do grupy B i C (8%). Podobna sytuacja dotyczyła częstości występowania par integronów. W izolatach pochodzących z wymazów z kloaki oraz mięsa kształtowała się na poziomie 3% (rys. 1).

Wśród wszystkich szczepów integrazo-dodatnich najczęstszy profil lekooporności dotyczył ich oporności na: AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX. W przypadku izolatów z parą integronów (n = 4) odnotowano szczepy, które wykazywały oporność na 6, 5 i 4 środki przeciwdrobnoustrojowe, przy czym w dwóch przypadkach profil oporności kształtował się następująco: AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX (tab. 4).

Tabela 4. Profile oporności szczepów *E. coli* w odniesieniu do obecności integronów klasy 1 i 2

Profile oporności	Gen	Liczba integronów
Izolaty z grupy A (n = 15)	<i>Int1</i> , <i>Int2</i>	
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	Integron kl. 1 (15)
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	Integron kl. 2 (0)
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
Izolaty z grupy B (n = 14)		
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i> , <i>Int2</i>	Integron kl. 1 (11)
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i> , <i>Int2</i>	Integron kl. 2 (5)
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int2</i>	Integron kl. 1 + kl. 2 (2)
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int2</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int2</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, GEN, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
Izolaty z grupy C (n = 13)		
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	Integron kl. 1 (10)
AMP, AMC, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	Integron kl. 2 (5)
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	Integron kl. 1 + kl. 2 (2)
AMP, AMC, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int2</i>	
AMP, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i> , <i>Int2</i>	
AMP, CIP, GEN, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i> , <i>Int2</i>	
AMP, AMC, SUL/TM, DOX	<i>Int2</i>	
AMP, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, CIP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	
AMP, AMC, CIP, SUL/TM	<i>Int1</i>	
AMP, CIP, SUL/TM	<i>Int2</i>	
AMP, SUL/TM, DOX	<i>Int1</i>	

Źródło: opracowanie własne



## 4. Podsumowanie

Wzorce oporności uzyskane podczas doświadczenia były zgodne z preferencjami stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych w produkcji drobiu w Polsce [6, 27]. Wysoka prewalencja bakterii opornych na wiele leków w łańcuchu żywnościowym może wynikać z nadużywania lub niewłaściwego stosowania antybiotyków w komercyjnych fermach kurcząt brojlerów [25]. Bakterie wyizolowane z jelita grubego miały najszerszy zakres oporności, co mogło być wynikiem działania silnej presji selekcyjnej wywieranej przez antybiotyki [23].

Wszystkie szczepy z integronami, niezależnie od ich zawartości genowej, były odporne na co najmniej trzy czynniki antybakteryjne należące do różnych grup antybiotyków. W przypadku badanych szczepów odnotowano związek pomiędzy obecnością integronów a zwiększoną częstością oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki, zwłaszcza penicyliny, fluorochinolony, tetracykliny oraz sulfonamidy z trimetoprimem.

Przytoczone badania, podobnie jak inne źródła naukowe, dowodzą, że integrony przy współdziałaniu plazmidów są powiązane ze zjawiskiem wielolekooporności [25, 29]. Istnieje zatem potrzeba prowadzenia dalszych, szczegółowych badań molekularnych dotyczących skomplikowanych mechanizmów nabywania oporności przez drobnoustroje na drodze horyzontalnego transferu genów. Ich wyniki będą służyły w ustaleniu dynamiki narastania oporności oraz strategii przeciwdziałania antybiotykooporności wśród drobnoustrojów zoonotycznych przenoszonych przez żywność pochodzenia zwierzęcego.

## Literatura

- [1] Baj J., Markiewicz Z., 2015. *Biologia molekularna bakterii*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- [2] Baldy-Chudzik K., Bok E., Mazurek J., 2015. Well-known and new variants of pathogenic *Escherichia coli* as a consequence of the plastic genome. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, vol. 69, s. 345–361.
- [3] Borck B., Pedersen K., 2005. Pulsed-field gel electrophoresis types of *Campylobacter* spp. in Danish turkeys before and after slaughter. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 101 (1), s. 63–72.
- [4] Burrus V., Waldor M.K., 2004. Shaping bacterial genomes with integrative and conjugative elements. *Research in Microbiology*, vol. 155 (5), s. 376–386.
- [5] Dierikx C., van der Goot J., Fabri T., van Essen-Zandbergen A., Smith H., Mevius D., 2013. Extended-spectrum-beta-lactamase- and AmpC-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *J Antimicrob Chemother*, vol. 68 (1), s. 60–67.
- [6] European Medicines Agency: Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2017 – Trends from 2010 to 2017, 2019.
- [7] Fluit A.C., Schmitz F.J., 2004. Resistance integrons and super-integrons. *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 10(4), s. 272–288.
- [8] Gal-Mor O., Finlay B.B., 2006. Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. *Cell Microbiol*, vol. 8(11), s. 1707–1719.
- [9] Goldstein C., Lee M.D., Sanchez S., Hudson C., Phillips B., Register B., Maurer J.J., 2001. Incidence of class 1 and 2 integrases in clinical and commensal bacteria from

- livestock, companion animals, and exotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 45(3), s. 723–726.
- [10] Hammerum A.M., Sandvang D., Andersen S.R., Seyfarth A.M., Porsbo L.J., Frimodt-Møller N., Heuer O.E., 2006. Detection of *sul1*, *sul2* and *sul3* in sulphonamide resistant *Escherichia coli* isolates obtained from healthy humans, pork and pigs in Denmark. *Int J Food Microbiol*, vol. 106(2), s. 235–237.
- [11] <https://www.wetgiw.gov.pl/nadzor-weterynaryjny/przepisy-prawne-dotyczace-salmonelloz-u-drobiu> (dostęp 12.08.2020)
- [12] <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/en/> (dostęp 28.03.2018)
- [13] Jaworski A., Jurczak I., Adamczyk J., 2016. Molecular mechanisms and cellular processes responsible for appearance and spread-out of bacterial species resistant to antibiotics in natural environment. *Journal of Health Study and Medicine*, vol. 3, s. 29–50.
- [14] Jiang H.X., Lu D.H., Chen Z.L., Wang X.M., Chen J.R., Liu Y.H., Zeng Z.L., 2011. High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *Escherichia coli* isolates in pigs and poultry in China. *Vet J*, vol. 187(1), s. 99–103.
- [15] Kelly B.G., Vespermann A., Bolton D.J., 2009. The role of horizontal gene transfer in the evolution of selected foodborne bacterial pathogens. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 47(5), s. 951–968.
- [16] Kern M.B., Klemmensen T., Frimodt-Møller N., Espersen, F., 2002. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring sulphonamide resistance. *J Antimicrob Chemother*, vol. 50(4), s. 513–516.
- [17] Kurland C.G., Canback B., Berg O.G., 2003. Horizontal gene transfer: a critical view. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 100 (17), s. 9658–9662.
- [18] Lavilla S., Gonzalez-Lopez J.J., Sabate M., Garcia-Fernandez A., Larrosa M.N., Bartolome R.M., Carattoli A., Prats G., 2008. Prevalence of *qnr* genes among extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacterial isolates in Barcelona, Spain. *Antimicrob Chemother*, vol. 61(2), s. 291–295.
- [19] Majewski M., Anusz K., 2018. Antibiotic resistance of zoonotic pathogens related to the safety of foods of animal origin. *Życie Weterynaryjne*, 2018. Vol. 93(2), s. 118–121.
- [20] Mellata M., 2013. Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. *Foodborne Pathog Dis*, vol. 10(11), s. 916–932.
- [21] Nield B.S., Holmes A.J., Gillings M.R., Recchia G.D., Mabbutt B.C., Nevalainen K.M.H., Stokes H.W., 2001. Recovery of new integron classes from environmental DNA. *Fems Microbiology Letters*, vol. 195(1), s. 59–65.
- [22] Peyrat M.B., Soumet C., Maris P., Sanders P., 2008. Phenotypes and genotypes of campylobacter strains isolated after cleaning and disinfection in poultry slaughterhouses. *Veterinary Microbiology*, vol. 128 (3–4), s. 313–326.
- [23] Racewicz P., Majewski M., Madeja Z.E., Łukomska A., Kubiak M., 2020. Role of integrons in the proliferation of multiple drug resistance in selected bacteria occurring in poultry production. *Br Poult Sci*, vol. 61 (2), s. 122–131.
- [24] Singer R.S., Williams-Nguyen J., 2014. Human health impacts of antibiotic use in agriculture: A push for improved causal inference. *Current Opinion in Microbiology*, vol. 19, s. 1–8.

- [25] Soufi L., Abbassi M.S., Saenz Y., Vinue L., Somalo S., Zarazaga M., Torres C., 2009. Prevalence and Diversity of Integrons and Associated Resistance Genes in *Escherichia coli* Isolates from Poultry Meat in Tunisia. *Foodborne Pathogens and Disease*, vol. 6(9), s. 1067–1073.
- [26] Soufi L., Saenz Y., Vinue L., Abbassi M. S., Ruiz E., Zarazaga M., Torres C., 2011. *Escherichia coli* of poultry food origin as reservoir of sulphonamide resistance genes and integrons. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 144(3), s. 497–502.
- [27] Wasyl D., Hoszowski A., Zajac M., Szulowski K., 2013. Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolated from animals at slaughter. *Frontiers in Microbiology*, vol. 4, s. 221.
- [28] White P.A., McIver C.J., Rawlinson W.D., 2001. Integrons and gene cassettes in the enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 45(9), s. 2658–2661.
- [29] Wu H., Xia S., Bu F., Qi J., Liu Y., Xu H., 2015. Identification of integrons and phylogenetic groups of drug-resistant *Escherichia coli* from broiler carcasses in China. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 211, s. 51–56.

## OCCURRENCE OF RESISTANCE INTEGRONS IN *E. COLI* STRAINS IN POULTRY PRODUCTION

### Abstract

The aim of the present study was the exploration of the types and resistance integrons prevalence, and the association between occurrence of integrons and Multidrug Resistance in nonpathogenic *E. coli* strains in poultry production. The research material was 73 commensal *E. coli* strains isolated from bacterial cultures smears of commercial poultry flocks extracted from poultry litter, faeces and neck skin of chickens for fattening carcasses. The belonging of isolated strains to the bacterial species was confirmed using MALDI-TOF MS technique (Bruker Daltonik, Germany). The drug resistance of a given strain species to penicillins, fluoroquinolones, aminoglycosides, sulfonamides with trimethoprim and tetracyclines was determined by diffusion method in an agar medium according to CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute 2012). Strains confirmed as multi drug resistant (MDR – multi drug resistance) have been subjected to molecular tests (PCR). It was made isolation of the bacterial DNA, subsequently it was searching for 9 genes associated with recognized phenotypic resistance. In the last stage, the *intI1* and *intI2* genes were identified, based on confirmation of the presence of class 1 and 2 integrons in the plasmid DNA. It was found that the integrons are the common mediators of antimicrobial resistance among nonpathogenic multi drug resistant *E. coli* strains isolated in individual stages of poultry production.

**Key words:** *E. coli*, poultry, multiple drug resistance, resistance genes, integrons

Opiekun naukowy: dr n. wet. Przemysław Racewicz

Recenzenci: dr Maciej Kuczkowski

dr n. wet. Kamila Bobrek



# RACHUNEK ZYSKÓW I STRAT W SYSTEMIE INFORMACYJNYM UŻYTKOWNIKÓW

Oliwia Piętak

Uniwersytet Opolski, Wydział Ekonomiczny, ul. Ozimska 46a, 45-058 Opole  
Koło Naukowe Rachunkowości

e-mail:

## Streszczenie

Zmieniające się warunki rynkowe, narastająca konkurencja międzynarodowa i złożoność procesów gospodarczych wymuszają na zarządzających przedsiębiorstwem podejmowanie racjonalnych decyzji gospodarczych, umożliwiających osiągnięcie zamierzonych celów rozwojowych. Kierownictwo chcąc osiągnąć przyjęte w strategii zadania, musi dysponować rzetelnymi informacjami o kosztach, przychodach i wynikach. Kształtują one bowiem wyniki finansowe działalności przedsiębiorstwa.

Celem artykułu jest zaprezentowanie roli rachunku zysków i strat w aspekcie zaspokajania potrzeb informacyjnych użytkowników, zarówno tych wewnętrznych – zarządu, jak i zewnętrznych funkcjonujących w otoczeniu krajowym i międzynarodowym.

**Słowa kluczowe:** rachunek zysków i strat, system informacyjny, sprawozdawczość

## 1. Wprowadzenie

Jednym z ważnych źródeł informacji dotyczących rezultatów prowadzonej działalności oraz kategorii go kształtujących jest sprawozdanie rachunek zysków i strat. Zgodnie z literaturą ekonomiczną oraz Międzynarodowymi Standardami Rachunkowości [7, 13, 19] celem sprawozdania finansowego, w tym rachunku zysku i strat, jest dostarczanie użytecznych informacji zarówno dla zarządzających przedsiębiorstwem do podejmowania racjonalnych decyzji ekonomicznych, jak i dla potencjalnych inwestorów, pożyczkodawców i innych wierzycieli przy podejmowaniu przez nich decyzji o dostarczaniu zasobów dla jednostki.

A zatem rachunek zysków i strat dla każdego z użytkowników spełnia inną rolę, dostarczając użytecznych informacji. Jest on pomocny w podejmowaniu kluczowych decyzji przez zarządzających podmiotem, przykładowo dotyczących oceny i kontynuacji działalności na rynku. Prowadzenie sprawozdawczości przez jednostki gospodarcze pozwala na uzyskanie informacji o kosztach, przychodach, a w konsekwencji rezultatach prowadzonej działalności. Wszystkie podmioty gospodarcze niezależnie od wielkości i skali działalności są zainteresowane osiągnięciem dodatnich rezultatów. Jednostki doskonale wiedzą, że chcąc uzyskać sukces, należy stale kontrolować bieżącą działalność, w tym kondycję finansową przedsiębiorstwa. Generowane informacje z rachunku zysków i strat pozwolą przedsiębiorstwu także na zmniejszenie niepewności i ryzyka. Dlatego tak ważne jest dostarczanie wiarygodnych i rzetelnych strumieni informacji, ale również ich dostępność i jakość, co zapewni osiągnię-

cie założonych celów. Rzetelne informacje zawarte w rachunku zysków i strat są użyteczne, ponieważ powiększają zasób wiedzy na temat całokształtu działalności gospodarczej przedsiębiorstwa.

Celem artykułu jest przedstawienie roli rachunku zysków i strat w aspekcie zaspokajania potrzeb informacyjnych użytkowników, zarówno tych wewnętrznych – zarządu, jak i zewnętrznych funkcjonujących w otoczeniu krajowym i międzynarodowym.

Artykuł prezentuje teoretyczne aspekty rachunku zysków i strat na podstawie literatury przedmiotu oraz przedstawienie rachunku zysków i strat w zestawieniu z potrzebami informacyjnymi zainteresowanych użytkowników, ze szczególnym uwzględnieniem celów, do których będą te informacje wykorzystywać. Ponadto w celu głębszej analizy poruszanego tematu powołano się na akty prawne stosowane w rachunkowości oraz MSR.

## **2. Rachunek zysków i strat – zakres informacyjny**

W literaturze przedmiotu można znaleźć wiele kwestii teoretycznych, dotyczących rachunku zysków i strat. Rachunek zysków i strat jest traktowany jako obligatoryjny element każdego sprawozdania finansowego. Stanowi cenne źródło informacji, pozwalające w sposób właściwy i efektywny zarządzać jednostką, ale także ułatwia ocenę podmiotu przez interesariuszy zewnętrznych. Sporządzany jest przez wszystkie podmioty gospodarcze prowadzące działalność, niezależnie od formy organizacyjno-prawnej. Rachunek zysków i strat daje sposobność dokonywania pomiaru efektu działań jednostki w określonym czasie, przez co ma charakter dynamiczny. Kierowany jest on do szerokiego otoczenia odbiorców [16].

E. Nowak definiuje rachunek zysków i strat jako zestawienie o charakterze rachunkowym wyników finansowych, które zostały osiągnięte przez jednostki gospodarcze w danym okresie sprawozdawczym. W treści takiego zestawienia przedstawiona jest kwota wyniku finansowego, a także kwoty wielkości mające wpływ na wynik finansowy, określane przez uzyskane przychody i poniesione koszty. Zdaniem autora termin rachunku zysków i strat jest często utożsamiany z pojęciem rachunku wyników. Rachunek wyników bowiem sprowadza się do całokształtu działań rachunkowych, zmierzających do ustalenia końcowego wyniku przedsiębiorstwa w okresie sprawozdawczym, koniecznych w celach sporządzenia rachunku zysków i strat [8].

W rachunku zysków i strat zawarte są wielkości strumieniowe, które określają osiągnięte przychody podmiotu gospodarczego oraz wszystkie poniesione koszty. Istota rachunku zysków i strat sprowadza się do usystematyzowania przychodów i kosztów, dzięki czemu możliwe jest określenie wyników finansowych z różnych rodzajów prowadzonej działalności [10]. T. Maszczak rozszerza tę kwestię, wskazując, iż prezentowane informacje w rachunku zysków i strat odnoszą się do kosztów, przychodów, jak również wyznaczany jest wynik z poszczególnych częściowych działalności, który odgrywa kluczową rolę [7].

W świetle ustawy o rachunkowości art. 47 ust. 1 w dokumencie tym przedstawia się osobno przychody, koszty, zyski i straty oraz powstające obciążenia wyniku finansowego, które są obowiązkiem, odnoszące się do bieżącego i poprzedniego roku obrotowego [23]. Sprawozdawczość finansowa w państwach członkowskich Unii Europejskiej jest obecnie uregulowana Dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2013/34/UE. W Dyrektywie zawarte są informacje dotyczące zakresu sporządzania sprawozdań finansowych, w tym także

rachunek zysków i strat oraz poszczególne jego elementy. Przedstawione obowiązki są dostosowane w sposób proporcjonalny do rozmiarów działalności [17]. Zatem rachunek zysków i strat odzwierciedla strukturę przychodów i kosztów danej jednostki gospodarczej, która może okazać się pomocna w ocenie rentowności podmiotu gospodarczego. Gdy przychody ogółem są większe niż koszty, przedsiębiorstwo osiąga zysk, lecz gdy koszty przewyższają przychody, osiągnięta jest strata [3].

W ustawie o rachunkowości można znaleźć informację, iż rachunek zysków i strat zawiera informacje wpływające na wynik finansowy i może być sporządzany w dwóch wariantach: porównawczym bądź kalkulacyjnym, w zależności od potrzeb przedsiębiorstwa. Wariant porównawczy może zastosować jednostka gospodarcza, która prowadzi ewidencję kosztów tylko na kontach zespołu „4”, czyli tylko w układzie rodzajowym zgodnie z dyrektywą 2013/14/UE (amortyzacja, zużycie materiałów i energii, usługi obce, wynagrodzenia, ubezpieczenia społeczne i inne świadczenia, w tym emerytalne, pozostałe koszty, w tym wartość sprzedanych towarów i materiałów). W takim układzie wyszczególnione koszty nie są rozliczane w przypadku konkretnych działów lub rodzajów działalności. Wariant kalkulacyjny dopuszcza ewidencjonowanie kosztów, które są przyporządkowane do danego miejsca powstawania kosztów (MPK). Można wyróżnić następujące przykładowe koszty na kontach zespołu „5”: koszty sprzedanych produktów, towarów i materiałów, koszty sprzedaży lub ogólnego zarządu. W takiej sytuacji jednostka musi wykazać koszt własny sprzedaży osobno od innych kosztów. Wówczas użytkownicy dysponują bardziej przydatnymi informacjami niż w przypadku klasyfikacji kosztów w układzie rodzajowym [11].

Analizując dwa warianty, tj. porównawczy i kalkulacyjny pod względem potrzeb zarządzania, wariant kalkulacyjny pozwala uzyskać szersze informacje niż w przypadku wariantu porównawczego. Rachunek zysków i strat w wariantcie kalkulacyjnym informuje o kosztach sprzedanych produktów, czyli koszty odpowiadają ukazanym w sprawozdaniu przychodom ze sprzedaży produktów. Dodatkowo ten wariant prezentuje wynik ze sprzedaży brutto, co w konsekwencji doprowadza do podziału kosztów według miejsc powstania (tzw. ośrodka odpowiedzialności kosztów), o czym była mowa wcześniej. Takie ukształtowanie kosztów daje większą skuteczność ich optymalizacji [2].

Ukazane w rachunku zysków i strat warianty kosztów, struktura przychodów oraz wynik podlegają nadrzędnym zasadom rachunkowości, dlatego też ich układ i treść w sprawozdaniu są ściśle określone przepisami ustawy o rachunkowości. Ważną kwestią są informacje, które zawarte są w rachunkach problemowych i mają zastosowanie w procesach decyzyjnych krótkiego okresu. Informacje dotyczące zmienności wyniku finansowego potrzebne są do prognozy zdolności przedsiębiorstwa w celu generowania zysku w przyszłym okresie. Mają także zastosowanie w kreowaniu opinii związanej z efektywnością firmy, dzięki której jednostka może wykorzystać potencjalne dodatkowe zasoby [12].

W ustawie o rachunkowości zaprezentowana jest definicja przychodów i zysków jako: uprawdopodobnione powstanie w okresie sprawozdawczym korzyści ekonomicznych, o wiarygodnie określonej wartości, w formie zwiększenia wartości aktywów, albo zmniejszenia wartości zobowiązań, które doprowadzą do wzrostu kapitału własnego bądź zmniejszenia jego niedoboru w inny sposób niż wniesienie środków przez udziałowców lub właścicieli [23].

Zgodnie z Międzynarodowymi Standardami Rachunkowości przychody interpretuje się jako zwiększanie korzyści ekonomicznych w czasie okresu obrotowego w formie uzyskania bądź ulepszenia aktywów albo zmniejszenia zobowiązań. Wskutek tego następuje wzrost

kapitału własnego, z wyjątkiem wkładów, które zostały zniesione przez udziałowców lub akcjonariuszy [8].

Koszt uzyskania przychodu wyznaczony jest kosztem własnym produktów, które zostały sprzedane, oraz ukazany jest przez wartość sprzedanych towarów i materiałów w cenie nabycia lub zakupu. W takiej sytuacji kosztem uzyskania przychodu będzie wartość tych sprzedanych towarów i materiałów. Dodatkowo kształtowany jest wynik ze sprzedaży [7].

Koszty oraz straty, które zostały poniesione przez podmioty gospodarcze, zdefiniowane są w ustawie rachunkowości jako: uprawdopodobnione zmniejszenie w okresie sprawozdawczym korzyści ekonomicznych, o wiarygodnie określonej wartości, w formie zmniejszenia wartości aktywów, albo zwiększenia wartości zobowiązań i rezerw, które doprowadzą do zmniejszenia kapitału własnego lub zwiększenia jego niedoboru w inny sposób niż wycofanie środków przez udziałowców bądź właścicieli [22].

Na podstawie Międzynarodowych Standardów Sprawozdawczości Finansowej koszty definiuje się jako zmniejszenie korzyści ekonomicznych w trakcie okresu obrotowego w formie rozchodu lub spadku wartości aktywów albo powstania zobowiązań, powodując zmniejszenie kapitału własnego, z wyjątkiem podziału kapitału na rzecz właścicieli [20].

Rozpatrując elementy rachunku zysków i strat, można wyodrębnić:

- podstawową działalność operacyjną,
- pozostałą działalność operacyjną,
- działalność finansową,
- podatek dochodowy oraz inne obowiązkowe obciążenia [11].

Działalność operacyjna podmiotu gospodarczego związana jest z rynkowymi dobrami materialnymi oraz z czynnikami produkcji, co w następstwie tyczy się realnych procesów gospodarczych. Prowadzone operacje dotyczą się bezpośrednio głównej aktywności jednostki, która została ustalona np. w statucie. W ramach tej działalności dokonuje się sprzedaży produktów, towarów i materiałów. Podstawowa działalność operacyjna realizuje przychody netto ze sprzedaży (wyrobów gotowych, półfabrykatów, wykonane usługi, sprzedaż towarów nabytych i odsprzedanych innym). Ceny sprzedaży uwzględniają rabaty bądź upusty. Zaprezentowane klasyfikacje przychodów są przychodami z podstawowej działalności operacyjnej [8].

Wynik ze sprzedaży, który został powiększony o wynik na pozostałej działalności operacyjnej, obrazuje wynik z działalności operacyjnej [7].

Pozostała działalność operacyjna wiąże się z działaniami okazjonalnymi i sporadycznymi, powiązаныmi z ogólnym ryzykiem (np. odszkodowania, nieściągalność należności). Wykonywane czynności są pośrednio związane z głównym, założonym celem jednostki (np. zbycie środków trwałych). W ustawie o rachunkowości art. 3 ust. 1 pkt 32 zawarte są informacje o pozostałych kosztach i przychodach operacyjnych. Informacje o pozostałych przychodach i kosztach operacyjnych dostarczają informacji na temat wyniku z pozostałej działalności operacyjnej (pozostałe przychody operacyjne – pozostałe koszty operacyjne), oddziałując na wynik netto [7].

Działalność finansowa odnosi się do rynku finansowego i związanych z nim czynności inwestycyjnych i zaciąganych zobowiązań finansowych.

Wynik z działalności finansowej jest różnicą przychodów z operacji finansowych i kosztów operacji finansowych.

Wynik z działalności operacyjnej, który został powiększony o wynik na operacjach finansowych, pozwala uzyskać wynik z działalności gospodarczej [7].



Oprócz działalności gospodarczej wyróżnia się także sytuacje nadzwyczajne i nieplano- wane. Zyski i straty nadzwyczajne mają charakter losowy, jednak wpływają na wynik brutto. Warto wskazać, iż według przeprowadzonej nowelizacji ustawy o rachunkowości w 2015 r. w sprawozdaniu finansowym przedsiębiorstw zyski i straty nadzwyczajne ujmowane są w pozostałych przychodach operacyjnych oraz pozostałych kosztach operacyjnych [21].

Kluczową rolę odgrywają informacje o obowiązkowych obciążeniach wyniku finansowego, ponieważ mają ostateczny wpływ na kształtowanie wyniku netto, który jest traktowany jako podstawa oceny działalności. Podatek dochodowy traktuje się jako świadczenie podmiotu ze względu na jednostki prawa publicznego [7].

Wynik netto powstaje po pomniejszeniu wyniku brutto o obowiązkowe obciążenia wy- niku finansowego. Może być zyskiem bądź stratą dla przedsiębiorstwa. Zysk netto jest pod- dany podziałowi na podstawie decyzji właścicieli. W sytuacji wystąpienia straty zarządzający jednostką poszukują rozwiązania jej pokrycia. Zgodnie z art. 7 ust 1 ustawy o rachunkowości określony wynik finansowy musi ukazywać rzeczywisty obraz gospodarowania [7].

### **3. Rachunek zysków i strat a potrzeby informacyjne użytkowników**

Obecnie obserwuje się znaczący wzrost zapotrzebowania na informacje, odnoszące się do rachunku zysków i strat. Zainteresowani użytkownicy oczekują rzetelnej i użytecznej in- formacji o jednostce, która pozwoli podjąć im właściwe decyzje, osiągnąć zysk finansowy, zapewnić efektywność wykorzystywania majątku oraz prawidłowo ocenić pozycję finansową na rynku. Zgodnie z literaturą ekonomiczną oraz z *Załoženiami koncepcyjnymi MSSF* głównym celem rachunku zysków i strat jako sprawozdania finansowego jest dostarczanie użytecznych informacji określonej grupie użytkowników. Informacje finansowe mogą być użytkowane do konkretnych celów i potrzeb przez interesariuszy wewnętrznych jednostki, ale także zewnętrznych [14].

Użytkownikiem sprawozdania finansowego jest osoba bądź instytucja, która korzystając ze sprawozdania finansowego, czerpie z tego powodu określone korzyści. Użytkownik sprawozdania finansowego przede wszystkim pozyskuje informacje o sytuacji finansowej oraz majątkowej jednostki. Ponadto zawarte w sprawozdaniu informacje dostarczają wiedzy o wynikach działalności [15].

Jedną z najważniejszych kwestii użyteczności informacji rachunku zysków i strat, ale także innych sprawozdań finansowych jest umiejętne czytanie i prezentacja zawartych w nich informacji. *Założenia koncepcyjne* zakładają, iż każdy z użytkowników, zainteresowany danymi informacjami w sprawozdaniach finansowych, dysponuje konieczną wiedzą ekonomiczną w zakresie rachunkowości i wykazuje chęci do sumiennego zapoznawania się z przedstawionymi informacjami [5].

Potrzeby informacyjne dotyczące rachunku zysków i strat są różnorodne dla poszczegól- nych użytkowników, z czego wynikają specyficzne cechy każdego zainteresowanego, choć niektóre potrzeby są wspólne dla konkretnych odbiorców. Potrzeby użytkowników wewnętrznych jednostki sprowadzają się do możliwości czerpania wiedzy odnoszącej się do kreowania wyniku finansowego. W przypadku niektórych użytkowników zewnętrznych ich potrzeby są efektem panujących obowiązkowych przepisów prawnych, których należy przestrzegać [7].

W świetle *Założeń koncepcyjnych MSSF* wśród użytkowników wewnętrznego rachunku zysków i strat wyróżnia się kierownictwo i pracowników jednostki, natomiast odbiorcami zewnętrznymi informacji są m.in.: inwestorzy, kredytodawcy, dostawcy i inni wierzyciele, klienci, rządy i agendy rządowe, ubezpieczyciele, instytucje podatkowe oraz społeczeństwo, a dokładniej także gospodarstwa domowe [18].

Analizując użytkowników wewnętrznego, do najważniejszych należy kierownictwo, które zarządza przedsiębiorstwem. To właśnie kierownictwo odpowiedzialne jest za sporządzenie i prezentowanie sprawozdań finansowych. Dzięki wykorzystaniu rachunku zysków i strat mogą planować oraz kontrolować swoją działalność, a ponadto obligatoryjne sprawozdanie finansowe umożliwia im podejmowanie racjonalnych decyzji skutkujących rozwojem firmy. Kierownictwo zajmuje się dodatkowo uzupełnianiem informacji, kształtuje ich określone formy i zawarte treści ze względu na występujące potrzeby zarządzania w bieżącym okresie, ale także w przyszłości. Rachunek zysków i strat, który jest sprawozdaniem finansowym, dodatkowo dostarcza kierownictwu wielu innych, przydatnych informacji. Do najważniejszych zadań sprawozdań finansowych, z których korzystają jednostki wewnętrzne, zalicza się:

- tworzenie podstaw, które zostaną wykorzystane w badaniach analitycznych;
- sprawozdania finansowe traktowane jako raporty dla osób zarządzających, które prezentują rezultaty działalności;
- miary wykorzystywane w rachunku odpowiedzialności, zawarte w treści sprawozdań;
- sygnały, których celem jest wczesne ostrzeżenie;
- prognozowanie zjawisk finansowych [8].

Pracownicy i organizacje reprezentujące są kolejną grupą wewnętrzną jednostki, która jest zainteresowana funkcjonowaniem przedsiębiorstwa i kierują do niej własne potrzeby. Ich oczekiwania informacyjne związane są ze zdolnościami jednostki w kwestii wypłacalności wynagrodzeń i innych świadczeń emerytalnych. Dodatkowo oczekują od przedsiębiorstwa informacji o rentowności, perspektywach rozwoju firmy, stabilności i tworzenia miejsc pracy [1].

Przechodząc do rozważań nad drugą grupą użytkowników zewnętrznego sprawozdań jednostki, można wskazać inwestorów (giełdowych). Głównym zadaniem tej grupy odbiorców jest pozyskanie jakościowej informacji, którą mogą wykorzystać w celach inwestycyjnych. Interesuje ich przede wszystkim stopa zwrotu kapitału, wskaźniki rentowności, minimalizacja potencjalnych strat, a także ocena oraz ograniczenie ryzyka inwestycyjnego. Uwagę koncentrują na możliwościach zarobkowych w formie dywidendy, zysku netto i jego podziału. Posiadacze akcji są podstawową grupą, która ma dostęp jako pierwsza do informacji dotyczących sprawozdań finansowych [9].

Kolejną grupą użytkowników zewnętrznego rachunku zysków i strat są kredytodawcy i pożyczkodawcy. Są to podmioty, które dają możliwość finansowego wsparcia jednostki gospodarczej przez udzielenie kredytu bądź pożyczki (np. banki). Potrzebują informacji pochodzących ze sprawozdania, aby móc nawiązać współpracę, ocenić realność spłaty zobowiązań, określić, czy dany podmiot jest wypłacalny (ocena ryzyka kredytowego i zwrotu udzielanego kredytu), przeanalizować wnikliwie dokumenty, zwłaszcza wynik finansowy przed podjęciem decyzji o finansowaniu przedsiębiorstwa [6].

Dostawców i innych wierzycieli interesuje głównie płynność finansowa jednostki, której sprzedają swoje dobra lub usługi. Ważne jest dla nich przestrzeganie przez firmę terminowości zapłaty za zobowiązania i zdolności płatniczej danej jednostki.

Klienci oczekują od przedsiębiorstwa informacji dotyczącej dalszej działalności (podobnie jak dostawcy i inni wierzyciele) i jej perspektywy przez wzgląd na zawarte umowy długoterminowe z jednostką i zależność od niej.

Do grupy użytkowników zewnętrznych rachunku zysków i strat należą także ubezpieczyciele. W przedsiębiorstwach zdarzają się czasem zdarzenia losowe, których nie można przewidzieć. Wówczas niezbędna jest fachowa pomoc ubezpieczycieli, którzy przeprowadzając analizy zajścia zdarzenia, oceniają ryzyko działalności. Wzorują się także sprawozdaniami finansowymi umożliwiającymi wgląd, jak taki problem przedstawiał się w przeszłości [6].

Institucje podatkowe jako kolejni użytkownicy zewnętrzni sprawozdań oczekują informacji dotyczących wyniku finansowego przedsiębiorstwa, ponieważ traktują go jako podstawowe źródło dochodów zasilających budżet państwa. Dzięki informacjom mogą ocenić, czy jednostka prawidłowo nalicza podatek dochodowy od osób prawnych i ustalają dochód do opodatkowania. Jest to obowiązek każdego przedsiębiorstwa zgodnie z wytycznymi prawa podatkowego, a dokładniej ustawy o podatku dochodowym od osób prawnych [7].

Rządy i agendy rządowe potrzebują informacji pochodzących z rachunku zysków i strat w celu odpowiedniej alokacji zasobów, zatem podejmują decyzję o ingerencji w działalność przedsiębiorstw. Potrzebują także informacji finansowych do celów makrostatystycznych gospodarki, aby określić politykę fiskalną i ustalić dochód narodowy, co podlega ustawowemu obowiązkowi sporządzania statystyk ogółu państwa [8].

Użytkownikiem zewnętrznym jest również konkurencja, kontrolująca rynek w celu wypracowania przewagi konkurencyjnej poprzez analizę sprawozdań finansowych, które są publikowane przez jednostki. W szczególności konkurencję interesują aspekty organizacyjno-finansowe przedsiębiorstwa: rentowność działalności, jakie są jego kierunki sprzedaży, rozmiary prowadzonej działalności oraz poziom kosztów, cen, marż i perspektywy rozwojowe [4].

Społeczność lokalna zainteresowana jest informacjami jednostek gospodarczych, ponieważ jest od nich zależna. Interesują ją wyniki prowadzonych działalności ze względu na chęć podjęcia przedsięwzięć regionalnych. Ponadto miejscowa ludność znajduje zatrudnienie w przedsiębiorstwach, co wpływa na kształtowanie popytu na dobra oraz usługi o zasięgu lokalnym, a także rozwija region pod względem społeczno-ekonomicznym [8]. Należy zwrócić szczególną uwagę na gospodarstwa domowe, które chcą uzyskać konkretne informacje finansowe, odnoszące się do rachunku zysków i strat. Ich zainteresowanie sprawozdaniem finansowym wynika z faktu, iż mogą wykazywać chęć ulokowania oszczędności w danej spółce przez kupno akcji, zatem ważny jest dla nich wynik finansowy. Oceniają, czy warto wybrać konkretny podmiot, jakie ma szanse rozwojowe i w ten sposób stają się inwestorami. W takiej sytuacji inwestorami mogą także zostać pracownicy danego podmiotu gospodarczego [6].

Podmioty gospodarcze muszą obowiązkowo wykazywać informacje w sprawozdaniach finansowych, które ułatwią użytkownikom ocenę:

- wpływu instrumentów finansowych na bieżącą sytuację finansową oraz na końcowe wyniki poszczególnych części działalności;
- charakteru i zakresu wynikających z instrumentów finansowych pod względem występującego ryzyka, na które przedsiębiorstwo jest narażone w okresie sprawozdawczym oraz na konkretny dzień sprawozdawczy,
- sposobu, w jaki zarządza się ryzykiem w danej jednostce [6].

## 4. Zakończenie

Prowadząc rozważania o rachunku zysków i strat w systemie informacyjnym użytkowników, należy stwierdzić, iż pełni on ważne źródło informacji o kosztach, przychodach, wynikach działalności oraz rentowności jednostki. Informacje generowane przez sprawozdanie kierowane są zarówno do odbiorców zewnętrznych, jak i wewnętrznych. Pozwalają one na podejmowanie racjonalnych decyzji ekonomicznych w dobie silnej międzynarodowej konkurencji. Są to decyzje m.in. dotyczące transakcji biznesowych, zainwestowania kapitału, systemu bankowego czy podatkowego. Z pewnością informacje generowane przez rachunek zysków i strat pozwolą zarządzającym na podejmowanie decyzji w obszarze minimalizowania ryzyka, kontynuacji działalności oraz rozwoju.

## Literatura

- [1] Baran W., 2006. Jakość, pojemność i użyteczność informacji finansowej w świetle założeń koncepcyjnych Międzynarodowych Standardów Rachunkowości. e-Finanse, finansowy kwartalnik internetowy nr 2, s. 52.
- [2] Biesiada S., Bronowicki S., 2010. Identyfikacja i sposób oceny przedsiębiorstwa turystycznego na podstawie sprawozdania finansowego (cz. II – identyfikacja i analiza wstępna rachunku zysków i strat). *Studia Periegetica*, nr 5 Turystyka w kraju i za granicą: wybrane problemy, Poznań, s. 249.
- [3] Czubakowska K., 2007. Rachunek zysków i strat w międzynarodowych standardach rachunkowości i ustawie o rachunkowości, [w:] red. Gabrusewicz W., *Rachunkowość w teorii i praktyce. Tom III. Sprawozdawczość i analiza finansowa*. Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej w Poznaniu, Poznań, s. 60.
- [4] Frymus M., 2016. Sprawozdanie finansowe według Międzynarodowych Standardów Sprawozdawczości Finansowej źródłem informacji dla interesariuszy – ujęcie jakościowe. *Finanse, Rynki Finansowe, Ubezpieczenia*, nr 2 (80), cz. 2, s. 446.
- [5] Hońko S., 2013. Ogólna charakterystyka sprawozdania finansowego [w:] Gos W., Hońko S., Szczypa P. *ABC sprawozdań finansowych. Jak je czytać, interpretować i analizować*. CeDeWu, Warszawa, s. 9–41.
- [6] Lulek A., 2018. Zastosowanie nowych technologii w publikowaniu sprawozdań finansowych dla inwestorów giełdowych. *Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego*, Szczecin, s. 70, 71.

- [7] Maszczak T., 2011. Rachunek zysków i strat w aspekcie potrzeb informacyjnych użytkowników. *Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu. Rachunkowość a controlling*, Nr 181, Wydawnictwo UE we Wrocławiu, s. 403–410.
- [8] Nowak E., 2008. *Analiza sprawozdań finansowych*. Wydanie II zmienione. Wydawnictwo PWE, Warszawa, s. 14, 43, 106, 116, 110.
- [9] Owczarek Z., Walińska E., 2002. Ujawnianie informacji w sprawozdaniach finansowych [w:] Hendriksen E.A., Van Breda, M.F. *Teoria rachunkowości*, PWN Warszawa, s. 835.
- [10] Podstawka M., 2005. *Podstawy finansów. Teoria i praktyka*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa, s. 293.
- [11] Pomykański P., 2010. *Analiza finansowa przedsiębiorstwa. Wskaźniki i decyzje w zarządzaniu*. PWN, Warszawa 2010, s. 74–75.
- [12] Sierpińska M., Jachna T., 2007. *Metody podejmowania decyzji finansowych. Analiza przykładów i przypadków*. Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa, s. 73.
- [13] Świdarska G.K., Więclaw W. (red.), 2012. *Sprawozdanie finansowe według polskich i międzynarodowych standardów rachunkowości*. Wydawnictwo Difin, Warszawa, s. 52–54.
- [14] Turyna J., 1997. *System informacyjny rachunkowości w podejmowaniu decyzji zarządczych*. Wydawnictwo Naukowe Wydziału Zarządzania Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, s. 12.
- [15] Wierzińska Z., 2014. Wycena aktywów i pasywów a oczekiwania informacyjne użytkowników sprawozdań finansowych. *Studia Oeconomica Posnaniensia*, vol. 2, No. 2, s. 156.
- [16] Witczak I., 2015. Rachunek zysków i strat jako źródło informacji oceny efektywności OFE w okresie badawczym 2012–2014. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego*, nr 862, s. 508.

#### Akty prawne

- [17] Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2013/34/UE z dnia 26 czerwca 2013 r. w sprawie rocznych sprawozdań finansowych, skonsolidowanych sprawozdań finansowych i powiązanych sprawozdań finansowych niektórych rodzajów jednostek, Dz. U. UE L 182 z 29.06.2013 r.
- [18] *Międzynarodowe Standardy Sprawozdawczości Finansowej 2004*, International Accounting Standards Board, London, s. 57–58.
- [19] *Międzynarodowe Standardy Sprawozdawczości Finansowej*, 2014. SKwP, Warszawa, par. C2, s. 36.
- [20] *MSSF, International Accounting Standard Bard*, London, Stowarzyszenie Księgowych w Polsce, 2004. Warszawa, s. 73.
- [21] Nowelizacja ustawy o rachunkowości z 2 listopada 2015 r., która weszła w życie od 1 stycznia 2016 r. – Dz.U. z 2015 r. poz. 1954.
- [22] Ustawa z dnia 29 września 1994 r. o rachunkowości, Dz.U. z 2013 r. poz. 330, 613 z późn. zm., art. 3. ust.1 pkt 30.
- [23] Ustawa z dnia 29 września 1994 r. o rachunkowości Dz.U.2019.0.351 t.j.

# **PROFIT AND LOSS ACCOUNT IN THE USERS' INFORMATION SYSTEM**

## **A b s t r a c t**

Changing market conditions, growing international competition, complexity of implemented business processes, force enterprise managers to make rational economic decisions, enabling achievement of intended development goals. Management wanting to achieve the goals adopted in the strategy must have reliable information on costs, revenues, results. They shape financial results business operations.

The purpose of the article is to present the role of the profit and loss account in the aspect of satisfying users' information needs, both internal – management as well as and external functioning in environment national and international.

**Key words:** profit and loss account, information system, reporting

Opiekun naukowy: dr Teresa Maszczak

Recenzenci: dr inż. Irena Kropsz-Wydra  
dr Krzysztof Prymon

# ORGANIZACJA RACHUNKOWOŚCI A POTRZEBY INFORMACYJNE PRZEDSIĘBIORSTWA

Anna Kapłon

Uniwersytet Opolski, Wydział Ekonomiczny, ul. Ozimska 46a, 45-058 Opole  
Koło Naukowe Rachunkowości

e-mail:

## Streszczenie

W dobie globalizacji, silnej konkurencji i niepewności na rynku rachunkowość pełni ważną rolę, bowiem uznawana jest jako język biznesu, który umożliwia porozumiewanie się wszystkich uczestników życia gospodarczego [10]. Rachunkowość w literaturze przedmiotu oraz w Międzynarodowych Standardach Sprawozdawczości Finansowej [4, 5, 10] postrzegana jest jako system informacyjny, którego celem jest dostarczanie użytecznych informacji odbiorcom, zarówno wewnętrznym, np. zarządowi, jak i zewnętrznym funkcjonującym w otoczeniu takim jak potencjalni inwestorzy, pożyczkodawcy, kredytodawcy, dostawcy, klienci, rządy i agendy rządowe czy społeczeństwo. Biorąc pod uwagę cel, jaki pełni współczesna rachunkowość, czyli dostarczanie informacji odbiorcom, ważna jest jej organizacja. Sprawna organizacja wpływa na jakość generowanych informacji (zrozumiałość, przydatność, wiarygodność, porównywalność).

Celem artykułu jest zaprezentowanie roli organizacji rachunkowości jako systemu informacyjnego w procesie zarządzania przedsiębiorstwem funkcjonującym w dynamicznie zmieniającym się globalnym otoczeniu.

**Słowa kluczowe:** rachunkowość, organizacja, proces informacyjny

## 1. Wprowadzenie

We współczesnym świecie, w warunkach globalizacji gospodarki i silnej konkurencji na rynku zarządzający jednostką gospodarczą są zainteresowani szerokim zakresem informacji ekonomicznych w procesie podejmowania decyzji gospodarczych.

Każda jednostka codziennie realizuje wiele różnorodnych zadań gospodarczych. Do tego celu konieczne są użyteczne informacje. Potrzeby informacyjne związane są z procesem podejmowania decyzji ekonomicznych, prowadzeniem transakcji finansowych na rynku pierwotnym i wtórnym, przeprowadzaniem rozliczeń z instytucjami publiczno-prawnymi i sporządzaniem sprawozdań finansowych. Głównymi odbiorcami informacji ekonomicznych są użytkownicy zewnętrzni i wewnętrznymi. Wśród wewnętrznych szczególną rolę odgrywają zarządzający w procesie podejmowania decyzji. Natomiast użytkownicy zewnętrzni są zainteresowani wynikami jednostki w celu zainwestowania kapitału.

Jednym z głównych zadań organizacji rachunkowości jest powiązanie wszystkich elementów w taki sposób, aby system rachunkowości sprawnie funkcjonował, czyli umożliwiał spełnienie przez rachunkowość przykładowo funkcji: informacyjnej, kontrolnej, analitycznej, dowodowej, rozliczeniowo-obrachunkowej, sprawozdawczej, planistyczno-statystycznej i stymulacyjnej. Sprawna organizacja rachunkowości na pewno przyczyni się do generowania użytecznych informacji w procesach decyzyjnych.

W artykule zaprezentowano rolę organizacji rachunkowości jako systemu informacyjnego w procesie zarządzania przedsiębiorstwem funkcjonującym w dynamicznie zmieniającym się globalnym otoczeniu.

W rozdziale drugim przedstawiono podstawowe funkcje systemu rachunkowości. Podjęte zostały również rozważania dotyczące struktury rachunkowości, jej istoty oraz zakresu.

Rozdział trzeci prezentuje system informacyjny rachunkowości we współczesnym przedsiębiorstwie. Wskazuje na potrzeby informacyjne użytkowników i rolę, jaką odgrywa on w funkcjonowaniu przedsiębiorstwa na globalnym rynku. Istotne informacje są pozyskiwane z systemu informacyjnego rachunkowości. Jednym z podstawowych kryterium użyteczności informacji jest wskazanie potrzeb informacyjnych osób podejmujących racjonalne decyzje w przedsiębiorstwie.

## 2. Istota i zakres organizacji rachunkowości

W procesie podejmowania decyzji przez zarządzających w każdej jednostce gospodarczej wymagane są informacje dotyczące np. poziomu uzyskanych przychodów, poniesionych kosztów i osiągnięcia wyników z prowadzonej działalności gospodarczej.

Informacje te może generować dobrze zorganizowana rachunkowość. Organizacja rachunkowości jest istotnym elementem tworzenia rzetelnego obrazu sytuacji majątkowo-finansowej przedsiębiorstwa. Wraz z rozwojem nowoczesnych technologii rachunkowość wspierana jest także przez zintegrowane systemy informacyjne rachunkowości do tworzenia użytecznych informacji.

Biorąc pod uwagę istotę organizacji rachunkowości, należy wspomnieć, jak rozumiana jest rachunkowość. Istnieje wiele definicji dotyczących systemu rachunkowości. Według opinii K. Sawickiego rachunkowość to „całościowy i zwarty system ciągłego oraz systematycznego gromadzenia i przetwarzania danych jak również prezentacji informacji ekonomiczno-finansowych” [8]. W literaturze przedmiotu rachunkowość traktowana jest jako system ewidencji, prezentowania i interpretacji procesów gospodarczych oraz ich skutków w wyodrębnionej jednostce gospodarczej [1].

Z analizy definicji można wnioskować, że rachunkowość jest procesem informacyjnym, który dostarcza wiarygodne i rzetelne informacje potrzebne do oceny sytuacji majątkowo-finansowej jednostki gospodarczej. Według definicji Gabrusewicza rachunkowość to „system będący układem wzajemnie ze sobą powiązanych zasad i reguł, określających specyficzne w danym podmiocie sposoby obserwacji i pomiaru operacji gospodarczych, ich rejestracji, weryfikacji i agregacji oraz prezentacji w danym okresie”. Z definicji wynika, że rachunkowość jest traktowana jako system, co oznacza, że można wyodrębnić w niej:

- wzajemnie powiązane ze sobą podsystemy takie jak ewidencja zapasów, ewidencja środków trwałych, które charakteryzują się określonym sposobem udokumentowa-



nia operacji gospodarczych, właściwym sobie sposobem przetwarzania danych, tzn. tworzenia określonych zbiorów jako efektu rejestracji operacji gospodarczych, oraz określonym sposobem powiązań między podsystemami;

- ciąg ściśle ze sobą powiązanych procesów, podczas realizacji których należy przestrzegać określonych reguł i zasad, dyscyplinujących procedury zapisów księgowych i nadających identyczny walor poznawczy informacjom tworzonemu przez system rachunkowości;

Wśród nich wyodrębnić można:

- obserwację i pomiar,
- rejestrację, tzn. zapis w księgach rachunkowych na podstawie dowodów księgowych,
- weryfikację i agregację zapisów, w którym to procesie dokonuje się konfrontacji danych w księgach rachunkowych ze stanem rzeczywistym innych uzgodnień,
- prezentację danych, czyli sporządzanie sprawozdań finansowych [2].

Prowadząc rozważania o istocie rachunkowości, należy stwierdzić, że rachunkowość realizuje funkcję informacyjną, czyli gromadzenie i prezentowanie informacji dotyczących całokształtu działalności gospodarczej.

Biorąc pod uwagę zaprezentowane definicje, głównym celem rachunkowości jest dostarczanie informacji ekonomicznych dla różnorodnych odbiorców. Są to informacje ekonomiczne zorientowane na zewnętrznych i wewnętrznych użytkowników. Wspomagają one procesy zarządzania, kontroli i podejmowania różnorodnych decyzji gospodarczych.

W literaturze ekonomicznej istota organizacji rachunkowości rozpatrywana jest w węższym lub szerszym ujęciu. W znaczeniu węższym organizację rachunkowości można rozpatrywać przez pryzmat organizacji służb finansowo-księgowych. Obejmuje ona zasady określające miejsce tych służb w strukturze organizacyjnej podmiotu, strukturę wewnętrzną służb finansowo-księgowych, podział kompetencji i obowiązków pomiędzy pracowników służb finansowo-księgowych [7].

Natomiast w ujęciu szerszym stanowi ona zespół sposobów umożliwiających uporządkowane powiązanie różnych czynności i urządzeń niezbędnych do realizacji procesu informacyjnego w celu zapewnienia prawidłowego funkcjonowania rachunkowości w jednostce gospodarczej, z uwzględnieniem jej specyficznych cech, możliwości technicznych i kadrowych oraz przy racjonalnym zaangażowaniu środków i nakładów pracy [3].

Rozpatrując istotę organizacji rachunkowości, warto podkreślić, że zakres organizacji rachunkowości jest dzielony na dwa mniejsze obszary:

- pierwszy obszar dotyczy całego systemu informacyjnego rachunkowości,
- drugi jest związany z miejscem i zadaniami poszczególnych komórek organizacyjnych służb finansowo-księgowych.

Na organizację procesu informacyjnego rachunkowości składa się organizacja następujących elementów [6]:

- dokumentacji księgowej (rodzaje dokumentów, ich wystawianie, kontrola, obieg, przechowywanie),
- ewidencji księgowej (plan kont, forma i technika księgowości),
- inwentaryzacji i kontroli wewnętrznej,
- sprawozdawczości (rodzaje, zasady sporządzania, badanie, zatwierdzanie).

Do zakresu organizacji działu rachunkowości można zaliczyć [3]:

- lokalizację działu rachunkowości w strukturze jednostki gospodarczej,
- wewnętrzną strukturę działu rachunkowości,

- wyposażenie techniczne tego działu,
- dobór i przygotowanie personelu.

Analizując istotę organizacji rachunkowości, należy zauważyć, że między poszczególnymi obszarami i elementami organizacji rachunkowości istnieją z jednej strony powiązania, a z drugiej strony uwarunkowania, np.: wybór optymalnego wyposażenia technicznego, który ma istotny wpływ na organizację pracy w dziale rachunkowości, jak również wymagania kompetencji personelu, rozwiązania dotyczące dokumentacji, ewidencji księgowej, inwentaryzacji i sprawozdawczości. Jednocześnie dotychczasowy model ewidencji w jednostce gospodarczej, jej struktura organizacyjna, kwalifikacje personelu mogą wpływać na wybór określonych rozwiązań technicznych [11].

Prowadząc rozważania dotyczące istoty i zakresu organizacji rachunkowości, należy zwrócić uwagę na stosowanie i przestrzeganie w organizacji rachunkowości zasad wynikających z ustawy o rachunkowości, która jest podstawowym aktem prawnym regulującym zagadnienia dotyczące rachunkowości. Sposób organizacji dokumentacji księgowej przedstawia art. 10 ustawy. Jednostka powinna posiadać dokumentację opisującą w języku polskim przyjęte przez nią zasady (politykę) rachunkowości, a w szczególności dotyczące:

- 1) określenia roku obrotowego i wchodzących w jego skład okresów sprawozdawczych;
- 2) metod wyceny aktywów i pasywów oraz ustalania wyniku finansowego;
  - a) sposobu prowadzenia ksiąg rachunkowych, w tym co najmniej: zakładowego planu kont, ustalającego wykaz kont księgi głównej, przyjęte zasady klasyfikacji zdarzeń, zasady prowadzenia kont ksiąg pomocniczych oraz ich powiązania z kontami księgi głównej;
  - b) wykazu ksiąg rachunkowych, a przy prowadzeniu ksiąg rachunkowych przy użyciu komputera – wykazu zbiorów danych tworzących księgi rachunkowe na informatycznych nośnikach danych z określeniem ich struktury, wzajemnych powiązań oraz ich funkcji w organizacji całości ksiąg rachunkowych i w procesach przetwarzania danych;
  - c) opisu systemu przetwarzania danych, a przy prowadzeniu ksiąg rachunkowych przy użyciu komputera – opisu systemu informatycznego, zawierającego wykaz programów, procedur lub funkcji, w zależności od struktury oprogramowania, wraz z opisem algorytmów i parametrów oraz programowych zasad ochrony danych, w tym w szczególności metod zabezpieczenia dostępu do danych i systemu ich przetwarzania, a ponadto określenie wersji oprogramowania i daty rozpoczęcia jego eksploatacji, systemu służącego ochronie danych i ich zbiorów, w tym dowodów księgowych, ksiąg rachunkowych i innych dokumentów stanowiących podstawę dokonanych w nich zapisów.

Kierownik jednostki ustala w formie pisemnej i aktualizuje dokumentację, o której mowa w ust. 1 [9].

Omawiając elementy organizacji rachunkowości w jednostce gospodarczej, należy zwrócić uwagę na urządzenia księgowe (księgę główną, księgi pomocnicze) służące do ewidencji zdarzeń dotyczących całokształtu prowadzenia działalności (plan kont).

Zarejestrowane zdarzenia gospodarcze, zgodnie z obowiązującymi zasadami (w tym zasadą wiernego obrazu), stanowią podstawę do sporządzenia rzetelnych sprawozdań finansowych, które są ostatecznym etapem przetwarzania danych księgowych. Generują one użyteczne informacje dla odbiorców zarówno zewnętrznych, jak i wewnętrznych.

### **3. Organizacja rachunkowości w aspekcie potrzeb informacyjnych przedsiębiorstwa**

W organizacji rachunkowości kluczowym elementem są potrzeby informacyjne użytkowników. Dzięki prawidłowej organizacji rachunkowości w jednostce gospodarczej odbiorcy uzyskują potrzebne informacje ekonomiczne. Istotnym czynnikiem każdej jednostki gospodarczej jest ustalenie określonego zakresu potrzeb informacyjnych, m.in. zarządzających oraz możliwości ich zaspokojenia. W dzisiejszych warunkach ważne jest, aby dostęp do informacji był jak najszybszy oraz niezależny miejsca i czasu.

Potrzeby informacyjne organizacji rachunkowości uzależnione są od odbiorców zewnętrznych i wewnętrznych informacji, ich kompetencji, umiejętności i możliwości wykorzystania. W pewnym momencie pojawiają się trudności w zaspokajaniu potrzeb informacyjnych z powodu nieprzewidywalnych zdarzeń gospodarczych czy sytuacji losowych, które generują potrzeby w momencie pojawienia się problemu, a niedostatek informacji uniemożliwia ich zaspokojenie [12].

W literaturze przedmiotu potrzeby informacyjne związane z zarządzaniem przedsiębiorstwem można podzielić na dwie grupy [4, 5, 10]:

- wynikające z wewnętrznych potrzeb podmiotów, określonych stopniem i możliwościami korzystania z informacji dotyczących kształtowania poziomu kosztów, osiągnięcia przychodów, ustalania wyniku prowadzonej działalności gospodarczej;
- wynikające z uwarunkowań prawnych związanych z obowiązkiem informowania użytkowników zewnętrznych, takich jak instytucje podatkowe i ubezpieczeniowe, kredytodawcy i pożyczkodawcy, organa administracji państwowej i samorządowej, inwestorzy, dostawcy i inni wierzyciele, klienci, społeczność lokalna;

Analizując potrzeby informacyjne zarządzających, należy zauważyć, że pierwsza grupa potrzeb informacyjnych związana jest głównie z realizacją podstawowego celu, jakim jest osiągnięcie dodatniego wyniku działalności. Natomiast odbiorcy zewnętrzni informacji przez pryzmat wyniku są zainteresowani realizacją swoich dość zróżnicowanych zamierzeń.

### **4. Zakończenie**

Na podstawie przeprowadzonych rozważań dotyczących roli organizacji rachunkowości jako systemu informacyjnego w procesie zarządzania przedsiębiorstwem funkcjonującym w dynamicznie zmieniającym się globalnym otoczeniu należy stwierdzić, że generuje ona istotne informacje dotyczące kondycji finansowej jednostki, dokonań czy wyników całości kształtu działalności, kontynuacji działalności oraz możliwości rozwojowych. Podsumowując, organizacja rachunkowości z punktu widzenia potrzeb informacyjnych przedsiębiorstwa pełni ważną rolę, bowiem wspomaga proces zarządzania, tj. planowanie, organizowanie, motywowanie oraz kontrolę na wszystkich szczeblach. Decydenci pozyskując informacje generowane przez rachunkowość, mają możliwość planowania procesów biznesowych czy kontrolowania rezultatów prowadzonej działalności.

## Literatura

- [1] Borowska G., 2006. Zasady rachunkowości. Wydawnictwo WSIP, Warszawa, s. 7–8.
- [2] Gabrusewicz W., Kołaczyk Z., 2005. Bilans. Wartość poznawcza i analityczna. Difin, Warszawa, s. 11–12.
- [3] Kiziukiewicz T., 2002. Organizacja rachunkowości w przedsiębiorstwie. PWE Warszawa, s. 10, 12.
- [4] Maszczak T., 2011. Rachunkowość a controlling. Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu Nr 181. Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu, s. 342, 403–410.
- [5] Międzynarodowe Standardy Sprawozdawczości Finansowej, 2014. SKwP, Warszawa, par. C2, s. 36.
- [6] Nita B., Koczar J., Kostyk-Siekierska K., 2017. Organizacja rachunkowości podmiotów gospodarczych, Difin, Warszawa, s. 18.
- [7] Nowak E. (red.), 1996. Leksykon rachunkowości. PWN Warszawa, s. 139.
- [8] Sawicki K. (red.), 2009. Podstawy rachunkowości. Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne, Warszawa, s. 14–15.
- [9] Ustawa z dnia 29 września 1994 r. o rachunkowości, DzU z 2002, nr 76, poz. 694 z późn. zm., art. 10.
- [10] Walińska E., 2009. Rachunkowość. Wolters Kluwer, Warszawa, s. 22, 23.
- [11] Winiarska K. (red.), 2011. Organizacja rachunkowości PWE, Warszawa, s. 14.
- [12] Zieleniewski J., 1981. Organizacja i zarządzanie. PWN Warszawa, s. 516.

## ACCOUNTING ORGANIZATION AND INFORMATION NEEDS OF THE COMPANY

### Abstract

In the era of globalization, strong competition, uncertainty in the market, accounting plays an important role because it is recognized as a business language that enables communication between all participants of economic life. Accounting in the literature on the subject as well as in the International Financial Reporting Standards is perceived as an information system whose purpose is to provide useful information to recipients, both internal, e.g. management and external operating in the environment, e.g. potential investors, lenders, suppliers, customers, governments and governmental agencies, society. Considering the purpose of modern accounting, i.e. providing information to recipients, its organization is important. Efficient organization affects the quality of generated information (intelligibility, usefulness, reliability, comparability).

The purpose of the article is to present the role of accounting organization as an information system in the process of managing an enterprise functioning in a dynamically changing global environment.

**Key words:** accounting, organization, information process

Opiekun pracy: dr Teresa Maszczak

Recenzenci: dr inż. Irena Kropsz-Wydra  
dr Krzysztof Prymon