

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

**Wybrane zagadnienia
z zakresu produkcji surowców,
żywności i kosmetyków**

Tom 5

Środowisko - Roślina - Zwierzę - Produkt

WUP

Wybrane zagadnienia
z zakresu produkcji surowców, żywności i kosmetyków

Tom 5

Środowisko – Roślina – Zwierzę – Produkt

Wybrane zagadnienia
z zakresu produkcji surowców,
żywności i kosmetyków

Tom 5

pod redakcją
Marka Babicza
Kingi Kropiwiec-Domańskiej

Lublin 2025

Recenzenci

dr hab. inż. Beata Bilska, prof. uczelni
dr hab. Katarzyna Gawel-Beben, prof. uczelni
dr n. med. i n. o zdr. Martyna Kasela
dr hab. inż. Sylwester Samborski, prof. uczelni

Redaktor prowadzący
Magdalena Marcewicz

Opracowanie redakcyjne
Agnieszka Litwińczuk
Emilia Drożdziel

Skład i łamanie
Małgorzata Grzesiak

Projekt okładki
Jacek Pałyszka



Ten utwór jest dostępny na licencji
Creative Commons Uznanie autorstwa – Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowa

ISBN 978-83-7259-488-4 online
<https://doi.org/10.24326/mon.2025.9>



Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin
<https://up.lublin.pl/nauka/wydawnictwo/>
11,1 ark. wyd.

Spis treści

Sławomir Adamek, Maja Markowska	
Biotechnologia w kosmosie: innowacyjne metody produkcji żywności na rzecz misji kosmicznych	7
Biotechnology in space: innovative food production methods for space missions	
Julia Bębacz, Oliwia Cygan, Ewelina Zielińska	
Quality evaluation of almond beverage enriched with matcha	16
Ocena jakości napoju migdałowego wzbogaconego w matchę	
Aleksandra Burza, Anna Kochanek, Jarosław Cyboron, Wojciech Panna	
Łupek krośnieński z Wysoczan jako perspektywiczny materiał do zastosowania w rolnictwie i ogrodnictwie	24
Krosno slate from Wysoczany as a perspective raw material for use in agriculture and horticulture	
Martyna Konopa, Karolina Bączkowska, Magdalena Klimek, Antonina Krawczyk, Wojciech Ospalek, Łukasz Wlazlo	
Czystość mikrobiologiczna akcesoriów do makijażu	34
Microbiological cleanliness of makeup accessories	
Maciej Kozakiewicz, Jan Komuda, Patryk Plewik	
Teraźniejszość, przyszłość i szanse dla bakteriofagów w przemyśle spożywczym	43
Present, future and potential for bacteriophages in food industry	
Anna Kozarska, Emilia Osmólska, Wiktoria Stoma, Łukasz Wójcik	
Zastosowanie metody Six Sigma jako narzędzia zarządzania jakością w optymalizacji procesów produkcyjnych	50
Using the Six Sigma method as a quality management instrument in optimizing production processes	
Zuzanna Łabęcka, Ewelina Chrzanowska, Bożena Denisow	
Black cumin seed oil (<i>Nigella sativa</i> seed oil) as a valuable raw material in cosmetics, pharmaceuticals, and the food industry	60
Olej z nasion czarnuszki siewnej (<i>Nigella sativa</i> seed oil) jako cenny surowiec w kosmetyce, farmacji i przemyśle spożywczym	
Karolina Madej, Danuta Lisiewicz, Agnieszka Latoch	
Pistacje (<i>Pistachio vera</i> L.) – właściwości prozdrowotne i zagrożenia dla zdrowia	68
Pistachios (<i>Pistachio vera</i> L.) – health benefits and health risks	
Krzysztof Niedźwiedź, Paulina Nowacka, Agnieszka Latoch	
Opakowania żywności jako potencjalne źródło bisfenol A	76
Food packaging as a potential source of bisphenol A	
Magdalena Palik, Dominika Pałyska, Lucja Tomaszewska, Wiktoria Jakubowska, Magdalena Walasek-Janusz	
Ziele wąkroty azjatyckiej (<i>Centella asiatica</i> L.) jako źródło cennych związków aktywnych	83
The herb of <i>Centella asiatica</i> L. as a source of valuable active compounds	

Dominika Pałyska, Lucja Tomaszewska, Magdalena Palik, Rafał Papliński, Magdalena Walasek-Janusz	
Ocena zawartości składników aktywnych oraz potencjału antyoksydacyjnego preparatów z miodli indyjskiej (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss).....	91
Active compounds content and antioxidant activity assessment of neem	
Dawid Ramotowski, Izabela Podgórska-Kryszczuk	
Effect of the addition of the spirulina (<i>Arthrospira platensis</i>) on selected properties of sponge cake.....	101
Wpływ dodatku spiruliny (<i>Arthrospira platensis</i>) na wybrane właściwości ciasta biszkoptowego	
Weronika Rólkowska, Ewa Januś, Agata Święcilo	
Badanie właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych oraz pH płynów do higieny intymnej dla kobiet.....	110
Study of the bactericidal and fungicidal properties as well as the pH of feminine intimate hygiene washes	
Weronika Rólkowska, Agata Święcilo, Ewa Januś	
Badanie właściwości biobójczych oraz pomiar pH toników do twarzy.....	119
tudy of biocidal properties and pH measurement of facial toners	
Wiktoria Stoma, Anna Kozarska	
Świadomość konsumentów w obszarze żywności funkcjonalnej w badaniach własnych	129
Consumer awareness in the area of functional food in own research	
Joanna Tomasik, Kinga Radaaj, Dawid Szykuła, Miłosz Wrotniak, Stanisław Perestaj	
Wpływ warunków przetwórstwa na właściwości i morfologię powierzchni biostabilnych i biodegradowalnych tworzyw polimerowych	139
The influence of processing conditions on the properties and surface morphology of biostable and biodegradable polymer materials	
Wiktoria Włodarczyk, Angelika Urbanek, Ewelina Chrzanowska, Bożena Denisow	
Grupy alkaloidów wytwarzane przez gatunki roślin z rodziny Boraginaceae (ogórecznikowate).....	151
Groups of alkaloids produced by plant species of the family Boraginaceae	
Julia Zarzeczna, Anna Wirkijowska	
Wpływ dodatku wyciągów z jagody kamczackiej (<i>Lonicera caerulea</i> L.) na jakość muffinów biszkoptowo-tłuszczowych.....	159
Influence of the addition of extruded kamchatka berries (<i>Lonicera caerulea</i> L.) on the quality of biscuit-fat muffins	
Jakub Żmuda, Gabriela Zosiuk, Adam Staniszewski, Jan Sadurski, Hubert Szczerba	
Metagenomika – omiczna analiza mikrobiomu żywności	176
Metagenomics – omic analysis of food microbiome	

Biotechnologia w kosmosie: innowacyjne metody produkcji żywności na rzecz misji kosmicznych

Biotechnology in space: innovative food production methods for space missions

Wstęp

Postępująca eksploracja kosmosu oraz plany długoterminowych misji kosmicznych, w tym budowa stałych baz na Księżycu i Marsie, stawiają przed nauką i technologią liczne wyzwania. Jednym z kluczowych aspektów przyszłych misji załogowych jest zapewnienie astronautom zrównoważonego i pełnowartościowego źródła pożywienia, które nie tylko pokryje ich zapotrzebowanie energetyczne, ale także dostarczy niezbędnych składników odżywczych, minimalizując jednocześnie wpływ długotrwałego przebywania w warunkach mikrogravitacji oraz promieniowania kosmicznego na organizm.

Tradycyjne metody transportu i przechowywania żywności na pokładzie statków kosmicznych mają ograniczenia wynikające z masy ładunku, trwałości produktów oraz wartości odżywczej posiłków. W odpowiedzi na te wyzwania dynamicznie rozwijają się biotechnologiczne metody produkcji żywności, które mogą umożliwić autonomiczną produkcję pożywienia w przestrzeni kosmicznej. Obejmują one m.in. hodowlę roślin w kontrolowanych warunkach, wykorzystanie mikroorganizmów do syntezy bioaktywnych składników odżywczych, produkcję mięsa in vitro oraz zastosowanie jadalnych owadów i grzybów jako alternatywnych źródeł białka.

Rozwój biologii syntetycznej i inżynierii genetycznej pozwala na dalszą optymalizację tych procesów, zwiększając efektywność hodowli roślin i mikroorganizmów, a także dostosowując skład żywności do specyficznych potrzeb astronautów. W artykule omówiono najnowsze innowacyjne strategie biotechnologiczne, które mogą odegrać kluczową rolę w przyszłych misjach kosmicznych.

Celem niniejszego rozdziału przeglądowego jest analiza i omówienie nowoczesnych biotechnologicznych metod produkcji żywności, które mogą znaleźć zastosowanie w długoterminowych misjach kosmicznych. Szczególną uwagę poświęcono biologii syntetycznej, alternatywnym źródłom białka oraz mikroorganizmom wykorzystywanym do syntezy składników odżywczych. Przedstawiono także możliwości hodowli roślin w warunkach mikrogravitacji oraz potencjalne wyzwania związane z implementacją tych technologii w przestrzeni kosmicznej.

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów „Biom”, slawekadamk@gmail.com

Wzbogacanie pożywienia

Kluczowym czynnikiem zapewniającym sukces misji kosmicznych jest odpowiednie żywienie załogi. Jednym z rozwiązań jest wykorzystanie żywności funkcjonalnej, zawierającej biologicznie aktywne związki o udokumentowanym korzystnym wpływie na zdrowie. Składniki te mogą wspierać profilaktykę oraz leczenie niektórych schorzeń, co jest szczególnie istotne w warunkach długotrwałych misji kosmicznych.

Jednym z obiecujących związków do wzbogacania diety astronautów jest astaksantyna (AXT) – karotenoid o silnych właściwościach przeciwutleniających. Jest ona zdolna do przekraczania bariery krew-mózg, co może pozytywnie wpływać na funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego. Ponadto wykazuje zdolność do ograniczania uszkodzeń DNA oraz komórek spowodowanych promieniowaniem ultrafioletowym (UV), przyspiesza regenerację DNA, stymuluje układ odpornościowy oraz pomaga w utrzymaniu homeostazy organizmu [Xie i in. 2024]. Właściwości antyoksydacyjne i przeciwstarzeniowe astaksantyny mogą wspierać zdrowie astronautów, redukując negatywne skutki długotrwałej ekspozycji na promieniowanie kosmiczne [Jing i in. 2022 i Nishida 2022].

Dodatkowo jej działanie przeciwzapalne może ograniczać skutki przewlekłych stanów zapalnych wywoływanych przez cytokiny indukowane promieniowaniem.

Astaksantyna może również wspomagać hodowlę roślin na pokładzie statków kosmicznych, zwiększając efektywność fotosyntezy [Delic i in. 2017]. W związku z tym jej lokalna produkcja w przestrzeni kosmicznej może stanowić istotny element strategii żywieniowej. Wysokie stężenia tego karotenoidu stwierdzono u wielu gatunków bakterii, takich jak *Brevundimonas* spp., *Sphingomonas* spp., *Methylobacter* spp., *Altererythrobacter ishigakiensis*, *Paracoccus haeundaensis* oraz *Paracoccus carotinifaciens* [Mussagy i Dufossé 2023]. Ponadto astaksantyna jest syntetyzowana przez liczne mikroalgi, m.in. *Chlamydomonas nivalis*, *Haematococcus lacustris*, *Haematococcus pluvialis*, *Euglena sanguinea*, *Chromochloris zofingiensis*, *Chlorella sorokiniana* oraz *Scenedesmus acutus* [Patel i in. 2022]. Ich hodowla na pokładzie statku kosmicznego mogłaby stanowić efektywne źródło astaksantyny, wspierając zdrowie astronautów oraz rozwój systemów biosferycznych w warunkach kosmicznych.

Witaminy odgrywają kluczową rolę w produkcji żywności funkcjonalnej. Ich głównym źródłem są warzywa i owoce, jednak wiele z nich, w tym witaminy z grupy B (B_1 – tiamina, B_2 – ryboflawina, B_3 – niacyna, B_5 – kwas pantotenowy, B_6 – pirydoksal, B_7 – biotyna, B_9 – kwas foliowy, B_{12} – kobalamina), a także C (kwas askorbinowy), D_2 , E i K – mogą być również pozyskiwane z mikroalg [Yuan i in. 2024]. Odpowiednia podaż witamin jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego. Ich właściwy poziom może przyczyniać się do redukcji zmęczenia, łagodzenia objawów depresyjnych oraz zmniejszania ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego i nowotworów [Zhao i in. 2024].

Równie istotne dla zdrowia astronautów są minerały, które można pozyskiwać z mikroalg. Należą do nich m.in. miedź, żelazo, cynk, selen, fosfor oraz arsen [Santhakumaran 2020 i Shah 2016]. Długotrwałe przebywanie w warunkach mikrogravitacji prowadzi do zmniejszenia gęstości mineralnej kości, co zwiększa ryzyko złamań [Fiedler i in. 2024]. Odpowiednia suplementacja tych składników w diecie astronautów może zatem wspierać homeostazę mineralną i ograniczać negatywne skutki długotrwałego pobytu w przestrzeni kosmicznej.

Alternatywnym źródłem białka i energii są jadalne grzyby, które zawierają niezbędne aminokwasy, polisacharydy, błonnik oraz witaminy [Zhang i in. 2021].

Jadalne insekty również mogą stanowić cenne źródło białka i innych składników odżywczych, przyczyniając się do zapewnienia zdrowej i zbilansowanej diety dla astronautów. Przy zapewnieniu owadom adekwatnych warunków rozwoju jesteśmy w stanie delikatnie kontrolować ilość białek, tłuszczów, witamin oraz minerałów w trakcie trwania misji. Owady mogłyby być hodowane w specjalnych urządzeniach zapewniających im odpowiednie warunki do życia bądź w miniekosystemach wraz z roślinami [Ramos-Elorduy i in. 1997, Feng i in. 2018, Ishara 2025]. Pomimo że pod względem zawartości protein insekty różnią się znacząco między gatunkami (6,25 do 80,26% w suchej masie), są takie, które w porównaniu z mięsem wypadają bardzo dobrze, na przykład *Imbrasia oyemensis* z 31,18–56,68 g/100 g (białka), 15,68–27,95 g/100 g (tłuszczów), 5,92–6,93 g/100 g (minerałów), 11,94–28,57 g/100 g (węglowodany) [Orkusz 2021, Ishara 2025]. By zapewnić dzienną podaż białka, człowiek musi zjeść średnio 100 g insektów [Boulos i in. 2020], a mięsa ok. 180–250 g (wartości te zależą od rodzaju mięsa oraz wagi i aktywności osoby) [Pereira i Vincente 2012]. 100 g pieczonego mięsa zawiera: 14,5–20,2 g białka, 0,7–1,5 g tłuszczu i 0,5–1,5 g węglowodanów [Ayuso i in. 2024]. Jest wiele sposobów na przygotowanie insektów do spożycia, m.in. w postaci mąki, batonów proteinowych czy oleju [Liceaga 2021], daje to większą różnorodność w porównaniu z formami, w jakich podane może być mięso: pieczone, suszone czy z puszki [Tang i in. 2022].

Hodowla roślin

Uprawa roślin w przestrzeni kosmicznej znacząco różni się od metod stosowanych na Ziemi ze względu na specyficzne warunki, takie jak mikrogravitacja, ograniczona dostępność wody i brak naturalnego światła słonecznego. Obecność roślin na pokładzie statków kosmicznych może jednak stanowić istotne źródło pożywienia oraz tlenu dla załogi.

Jednym z rozwiązań dostosowania upraw do warunków kosmicznych jest tworzenie miniekosystemów, które zapewniają optymalne warunki dla wzrostu roślin, takie jak odpowiednia wilgotność i temperatura. Może to być osiągnięte poprzez zastosowanie warstwy wód gruntowych, które stabilizują poziom wilgoci w podłożu [Sato i in. 2024]. Systemy te umożliwiają ciągłą uprawę roślin – od wysiewu po zbiór, co stwarza możliwość ich ponownej uprawy w cyklach zamkniętych [Jia i in. 2024]. W przyszłości takie technologie mogą przyczynić się do samowystarczalności stacji kosmicznych, a nawet przyszłych kolonii pozaziemskich pod względem produkcji żywności.

Warto wspomnieć o jadalnych grzybach, które są bogate w substancje odżywcze, badania przeprowadzone przez Bach i in. [2017], gdzie badano zawartość kilku wybranych gatunków grzybów w tłuszczu, białku oraz błonniku. Z 9 zbadanych gatunków – *Agaricus bisporus* (Champignon), *A. bisporus* (Portobello), *A. brasiliensis*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii*, *P. ostreatus*, *P. ostreatus*) każdy może być uznany jako alternatywne źródło błonnika (24,4–46,62%) oraz białek (16,47–36,96%). Mają one dość niską zawartość tłuszczu (1,40–2,08%) – na poziomie chudych mięs. Gatunki te zawierają głównie minerały takie jak: fosfor, potas, żelazo, miedź oraz cynk. Znalaziono w nich wszystkie niezbędne do życia aminokwasy, gdzie najlepszym ich źródłem był *Pleurotus ostreatus* (β-glukan 1,58–16,91 mg/100g) [Bach

i in. 2017]. Hodowla grzybów w przestrzeni kosmicznej mogłaby polegać na posadzeniu ich w miniekosystemie lub w specjalistycznych donicach, gdzie będą miały zapewnione optymalne warunki wzrostu.

Kolejnym istotnym aspektem jest wykorzystanie lamp LED (ang. *light emitting diode*) jako alternatywy dla światła słonecznego. Diody LED emitują niewielką ilość ciepła, charakteryzują się niskim zużyciem energii oraz długą żywotnością. Dzięki możliwości precyzyjnego dostosowania długości fal świetlnych mogą one optymalnie stymulować fotosyntezę oraz wzrost roślin w warunkach kosmicznych [Jia i in. 2024].

Nie można również pominąć kluczowej roli mikroorganizmów we wzroście i funkcjonowaniu roślin. Choć interakcje te są dobrze poznane w warunkach ziemskich, wciąż istnieją luki w wiedzy dotyczącej tych procesów w warunkach kosmicznych [De Micco i in. 2023]. Niemniej jednak w badaniach nad miniekosystemami udało się zaobserwować obecność takich mikroorganizmów, jak bakterie z rodzajów: *Brevibacillus*, *Leptolyngbya*, *Rhodothermaceae*, *Anaerolineae*, *Acidimicrobiales*, *Comamonadaceae*, *Arthrobacter* czy *Agromyces* [Sato 2024].

Syntetyczne metody produkcji żywności

Biologia syntetyczna to interdyscyplinarna dziedzina nauki łącząca inżynierię genetyczną, biotechnologię oraz informatykę w celu projektowania i modyfikowania organizmów biologicznych w sposób przewidywalny i kontrolowany. Opiera się na iteracyjnym cyklu inżynierskim (ang. *iterative engineering cycle*), który obejmuje etapy projektowania, konstrukcji, testowania i optymalizacji (ang. *design-build-test-optimize*, DBTO). Dzięki temu możliwe jest systematyczne udoskonalanie organizmów biologicznych w celu uzyskania pożądaných właściwości. Technologie biologii syntetycznej znajdują już dziś zastosowanie w przemyśle fermentacyjnym, m.in. w produkcji alkoholu [Denby i in. 2018].

Mięso od tysięcy lat stanowi podstawowy element diety człowieka, dostarczając białek, tłuszczów oraz wielu niezbędnych składników odżywczych. Podczas długoterminowych misji kosmicznych jego brak może prowadzić do poważnych niedoborów żywieniowych, które – jeśli zostaną zignorowane – mogą mieć negatywne konsekwencje zarówno dla zdrowia fizycznego, jak i psychicznego astronautów.

Alternatywą dla tradycyjnego mięsa jest mięso analogowe, czyli półprodukt wykonany z bazy roślinnej o cechach jak najbardziej zbliżonych do prawdziwego mięsa. Jednak jego produkcja wymaga zaawansowanych procesów przetwórczych, co czyni je mało praktycznym rozwiązaniem w warunkach kosmicznych. Konieczność zastosowania dodatkowego sprzętu oraz specjalistycznego szkolenia załogi sprawia, że wykorzystanie „roślinnego mięsa” w eksploracji kosmosu i innych ekstremalnych środowiskach jest mało efektywne.

Natomiast tzw. mięso *in vitro*, hodowane w bioreaktorach z komórek tkanki mięśniowej, stanowi bardziej obiecującą alternatywę, mimo że znajduje się dopiero w fazie badań laboratoryjnych [Ben-Arye i in. 2020]. W obecnym stanie technologicznym uzyskujemy jedynie komórki mięśniowe, bez tłuszczu oraz innych składników naturalnie występujących w mięsie. W efekcie syntetyczne mięso różni się pod względem wyglądu, tekstury i smaku od mięsa pochodzenia zwierzęcego. Jednak dzięki rozwojowi komórek-

-fabryk, wykorzystujących biologię syntetyczną, możliwa jest synteza związków bioaktywnych, występujących naturalnie w mięsie, co pozwala na stopniowe udoskonalanie jego właściwości sensorycznych. Biologia syntetyczna umożliwia modyfikację mięsa in vitro w celu nadania mu odpowiedniej struktury, smaku i wartości odżywczych [Xueqin 2021].

W przyszłości, gdy technologia ta zostanie udoskonalona, może odegrać kluczową rolę w żywieniu załóg podczas długoterminowych misji kosmicznych. Mięso in vitro mogłoby być produkowane w warunkach kolonii pozaziemskich, a nawet w trakcie podróży między Ziemią a Marsem, zapewniając astronautom pełnowartościowe źródło białka.

Biologia syntetyczna umożliwia również produkcję mleka, stanowiącego kluczowy składnik codziennej diety. Jego dostępność w przestrzeni kosmicznej pozwoliłaby na lokalną produkcję serów, masła, lodów i wielu innych produktów mlecznych [Lv i in. 2021].

Główne składniki mleka, tj. białka mleczne, w tym kazeina oraz białka serwatkowe, zostały pomyślnie zsyntezowane przez *Escherichia coli* lub drożdże, hodowane na prostych, zdefiniowanych pożywkach [Caroli i in. 2009]. Przykładowo α s1-kazeina [Kim i in. 1999], β -kazeina [Choi i Jiménez-Flores 2001], κ -kazeina [Kang i Richardson 1988], α -laktoalbumina [Tapan 1999], β -laktoglobulina [Kim i in. 1997] oraz laktoferyna [Wang i in. 2002] były już z powodzeniem syntezowane w komórkach bakterii. Ponadto tłuszcze i inne kluczowe składniki mleka mogą być syntezowane przez mikroorganizmy, a następnie łączone w odpowiednich proporcjach, aby uzyskać syntetyczne mleko. Jedną z głównych zalet tej technologii jest możliwość modyfikowania składu mleka zgodnie z potrzebami załogi misji kosmicznych lub kolonistów na innych ciałach niebieskich [Xueqin 2021]. Dzięki odpowiednim modyfikacjom niektóre mikroorganizmy mogą syntezować fikobiliproteiny, takie jak fikocyjanina, fikoerytryna, fikoerytrocyjanina oraz allofikocyjanina. Związki te redukują stres oksydacyjny poprzez neutralizację reaktywnych form tlenu (ROS) oraz wykazują inne korzystne właściwości. Chronią przed promieniowaniem ultrafioletowym, a także działają przeciwbakteryjnie i przeciwnowotworowo [Lv i in. 2021].

Fikobiliproteiny mogą być produkowane w bioreaktorach, co czyni je wyjątkowo efektywnym rozwiązaniem w warunkach ograniczonej przestrzeni. Mikroorganizmy syntetyzujące te związki mają niskie wymagania hodowlane – wystarczy dostarczyć im odpowiednią pożywkę oraz niewielką ilość wody. Dzięki właściwościom ochronnym oraz łatwości hodowli stanowią doskonały dodatek do wzbogacania żywności, która mogłaby być wykorzystywana podczas długotrwałych misji kosmicznych [Yuan 2024].

Podsumowanie

Rozwój biotechnologii stanowi kluczowy element przyszłych misji kosmicznych, zwłaszcza w kontekście długoterminowych podróży i potencjalnej kolonizacji przestrzeni pozaziemskiej. Jednym z najważniejszych aspektów tych misji jest zapewnienie odpowiedniego systemu żywienia astronautów, który nie tylko dostarczy niezbędnych składników odżywczych, ale także ochroni ich zdrowie przed negatywnymi skutkami mikrogravitacji i promieniowania kosmicznego.

Wprowadzenie żywności funkcjonalnej wzbogaconej o biologicznie aktywne związki takie jak astaksantyna może stanowić skuteczną metodę przeciwdziałania uszkodzeniom DNA, stresowi oksydacyjnemu oraz stanom zapalnym. Ponadto mikroalgi wraz z grzybami oraz insektami mogą być cennym źródłem witamin, minerałów i białek niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu w ekstremalnych warunkach kosmicznych.

Równie istotnym elementem strategii żywieniowej w kosmosie jest hodowla roślin oraz grzybów jadalnych. Tworzenie zamkniętych miniekosystemów oraz wykorzystanie technologii LED do kontrolowania procesu fotosyntezy umożliwia uprawę roślin niezależnie od światła słonecznego. Tego rodzaju systemy mogą w przyszłości przyczynić się do samowystarczalności stacji kosmicznych i kolonii pozaziemskich. Wraz z ich rozwojem istnieje szansa, aby wprowadzić hodowlę insektów jadalnych, które by współgrały z florą miniekosystemu.

Biologia syntetyczna otwiera nowe możliwości w zakresie produkcji żywności na potrzeby misji kosmicznych, umożliwiając wytwarzanie pełnowartościowych składników odżywczych w kontrolowanych warunkach. Dzięki zastosowaniu iteracyjnego cyklu inżynierskiego (DBTO, z ang. *design-build-test-optimize*) możliwe jest optymalizowanie organizmów do syntezy kluczowych związków bioaktywnych.

Jednym z najbardziej obiecujących osiągnięć w tej dziedzinie jest produkcja mięsa *in vitro*, które może stanowić alternatywę dla tradycyjnych źródeł białka w przestrzeni kosmicznej. Mimo że obecnie syntetyczne mięso różni się teksturą i smakiem od naturalnego, postęp w dziedzinie komórek-fabryk pozwala na ulepszanie jego właściwości sensorycznych i odżywczych.

Innym istotnym kierunkiem badań jest produkcja mleka syntetycznego. Białka mleczne, takie jak kazeiny czy laktoalbuminy, mogą być skutecznie syntetyzowane przez mikroorganizmy, co otwiera drogę do lokalnej produkcji mleka i jego przetworów na pokładach statków kosmicznych oraz w koloniach pozaziemskich.

Dodatkowo mikroorganizmy mogą być modyfikowane w celu syntezy fikobiliprotein, które nie tylko wzbogacają żywność, ale również wykazują działanie przeciwutleniające, przeciwbakteryjne oraz ochronne przed promieniowaniem UV. Dzięki niskim wymaganiom hodowlanym organizmy te stanowią idealny wybór do zastosowania w przyszłych misjach kosmicznych.

Rozwój biotechnologii i biologii syntetycznej w kontekście eksploracji kosmosu pozwala nie tylko na tworzenie nowych źródeł pożywienia, ale także na personalizację składu odżywczego zgodnie z potrzebami astronautów. W przyszłości technologie te mogą stać się kluczowym elementem zapewnienia autonomicznej i zrównoważonej produkcji żywności w środowiskach pozaziemskich.

Podsumowując, biotechnologia oferuje szereg innowacyjnych rozwiązań, które mogą znacząco poprawić warunki życia astronautów oraz zwiększyć efektywność przyszłych misji kosmicznych. Dalsze badania nad hodowlą roślin, wykorzystaniem mikroorganizmów i produkcją żywności funkcjonalnej na pokładzie statków kosmicznych będą miały kluczowe znaczenie dla przyszłości eksploracji kosmosu.

Bibliografia

- Ayuso P., Quizhpe J., Yepes F., Miranzo D., Avellaneda A., Nieto G., Ros G., 2024. Improving the nutritional quality of protein and microbiota effects in additive- and allergen-free cooked meat products. *Foods* 13, 1792, <https://doi.org/10.3390/foods13121792>.
- Bach F., Helm C.V., Barba Ballettini M., Maciel G.M., Haminiuk C.W.I., Edible mushrooms: a potential source of essential amino acids, glucans and minerals. *Int. J. Food Sci. Technol.* 52(11), 2382–2392, <https://doi.org/10.1111/ijfs.13522>.
- Boulos S., Tännler A., Nyström L., 2020. Nitrogen-to-protein conversion factors for edible insects on the Swiss market: *T. molitor*, *A. domesticus*, and *L. migratoria*. *Front. Nutr.* 7(89), <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00089>.
- Ben-Arye T., Shandalov Y., Ben-Shaul S., Landau S., Zagury Y., Lanovici I., Lavon N., Levenberg S., 2020. Textured soy protein scaffolds enable the generation of three-dimensional bovine skeletal muscle tissue for cell-based meat. *Nat. Food* 1, 210–220, <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0046-5>.
- Caroli, A.M., Chessa, S., Erhardt, G.J., 2009. Invited review: milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *J. Dairy Sci.* 92(11), 5335–5352, <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2461>.
- Choi, B.-K., Jiménez-Flores, R., 2001. Expression and purification of glycosylated bovine κ -casein (L70S/P71S) in *Pichia pastoris*. *J. Agric. Food Chem.*, 49(4), 1761–1766, <https://doi.org/10.1021/jf001298f>.
- Delic N.C., Lyons J.G., Di Girolamo N., Halliday G.M., 2017. Damaging effects of ultraviolet radiation on the cornea. *Photochem. Photobiol.* 92(4), 920–929, <https://doi.org/10.1111/php.12686>.
- De Micco V., Amitrano C., Mastroleo F., Aronne G., Battistelli A., Carnero-Diaz E., De Pascale S., Detrell G., Dussap C.-D., Ganigué R., Mejdell Jakobsen Ø., Poulet L., Van Houdt R., Verseux C., Vlaeminck S.E., Willaert R., Leys N. 2023. Plant and microbial science and technology as cornerstones to Bioregenerative Life Support Systems in space. *npj Micrograv.* 9(69), <https://doi.org/10.1038/s41526-023-00317-9>.
- Denby C.M., Li R.A., Vu V.T., Costello Z., Lin W., Chan L.J.G., Williams J., Donaldson B., Bamforth C.W., Petzold C.J., Scheller H.V., Martin H.G., Keasling J.D., 2018. Industrial brewing yeast engineered for the production of primary flavor determinants in hopped beer. *Nat. Commun.* 9(1), 965, <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03293-x>.
- Feng Y., Chen, X.M., Zhao M., He Z., Sun L., Wang C.Y., Ding W.F., 2018. Edible insects in China: utilization and prospects. *Insect Sci.* 25, 184–198, <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12449>.
- Fiedler B., Jami M., Rakauskas T., Ahmed A.S., 2024. Impact of spaceflight on upper extremity orthopedic health. *Aerospace Med. Assoc.* 95(10), 777–783, <https://doi.org/10.3357/amhp.6482.2024>.
- Ishara J., Matendo R., Ng'ang'a J., Niassy S., Katcho K., Kinyuru J., 2025. Insights into the effects of geographical sourcing area on nutrient composition and sensory attributes of nine edible insects. *Sci. Rep.* 15, 11610, <https://doi.org/10.1038/s41598-025-90659-z>.
- Jia C., Zheng W., Liu F., Ding K., Yuan Y., Wang J., Xu D., Zhang T., Zheng H., 2024. Biological culture module for plant research from seed-to-seed on the Chinese Space Station. *Life Sci. Space Res.* 42, 47–52, <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2024.04.005>.
- Jing Y.W., Wang Y.X., Zhou D.W., 2022. Advances in the synthesis of three typical tetraterpenoids including beta-carotene, lycopene and astaxanthin. *Biotechnol. Adv.* 61, 108033, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.108033>.

- Ramos-Elorduy J., Pino-Moreno J.M., Escamilla Prado E., Alvarado Perez M., Lagunez Otero J., Ladron de Guevara O., 1997. Nutritional value of edible insects from the state of Oaxaca, Mexico. *J. Food Comp. Anal.* 10(2), 142–157, <https://doi.org/10.1006/jfca.1997.0530>.
- Kang, Y.C., Richardson, T., 1988. Molecular cloning and expression of bovine κ -casein in *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.*, 71, 29–40, [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(88\)79521-1](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(88)79521-1).
- Kim T.R., Goto Y., Hirota N., Kuwata K., Denton H., Wu S.Y., Sawyer L., Batt C.A., 1997. High-level expression of bovine beta-lactoglobulin in *Pichia pastoris* and characterization of its physical properties. *Prot. Eng.*, 10(11), 1339–1345, <https://doi.org/10.1093/protein/10.11.1339>.
- Kim Y.K., Yu D.Y., Kang H.A., Yoon S., Chung B.H., 1999. Secretory expression of human α s1-Casein in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9(2), 196–200.
- Liceaga A.M., 2021. Processing insects for use in the food and feed industry. *Curr. Op. Insect Sci.* 48, 32–36, <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.08.002>.
- Lv X., Wu Y., Gong M., Deng J., Gu Y., Liu Y., Li J., Du G., Ledesma-Amaro R., Liu L., Chen J., 2021. Synthetic biology for future food: research progress and future directions. *Future Foods* 3, 100025, <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100025>.
- Mussagy C.U., Dufossé L., 2023. A review of natural astaxanthin production in a circular bioeconomy context using *Paracoccus carotinifaciens*. *Biores. Technol.*, 369, 128499, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128499>.
- Nishida Y., Nawaz A., Hecht K., 2021. Astaxanthin as a novel mitochondrial regulator: a new aspect of carotenoids, beyond antioxidants, *Nutrients* 2022, 14(1), 107, <https://doi.org/10.3390/nu14010107>.
- Orkusz, A. 2021. Edible insects versus meat – nutritional comparison: knowledge of their composition is the key to good health. *Nutrients* 13, 1207, <https://doi.org/10.3390/nu13041207>.
- Patel A.K., Tambat V.S., Chen C.W., Chauhan A.S., Kumar P., Vadrade A.P., Huang C.Y., Dong C.D., Singhanian R.R., 2022. Recent advancements in astaxanthin production from microalgae: a review. *Biores. Technol.*, 364, 128030, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128030>.
- Pereira P., Vicente A., 2012. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet, *Meat Sci.* 93(3), 586–592, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.018>.
- Sato T., Abe K., Koseki J., Seto M., Yokoyama J., Akashi T., Terada M., Kadowaki K., Yoshida S., Yamashiki Y.A., Shimamura T., 2024. Survivability and life support in sealed mini-ecosystems with simulated planetary soils. *Sci. Rep.* 14, 26322, <https://doi.org/10.1038/s41598-024-75328-x>.
- Tapan K. C., Katsunori H., Takao Y., Munehito A., Shinji N., Tomoki P. T., Hidefumi U., Teikichi I., Kouhei T., Hiroshi K., Masaaki M., Kunihiro K., Izumi K., 1999. Effect of the Extra N-terminal Methionine Residue on the Stability and Folding of Recombinant α -Lactalbumin Expressed in *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* 285(3), 1179–1194, <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2362>.
- Santhakumaran P., Ayyappan S.M., Ray J.G., 2020. Nutraceutical applications of twenty-five species of rapid-growing green-microalgae as indicated by their antibacterial, antioxidant and mineral content, *Algal Research* 47, 101878, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101878>.
- Shah M.M.R., Liang Y.M., Cheng J.J., 2016. Astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus pluvialis*: from single cell to high value commercial products. *Front Plant Sci.* 7, <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00531>.
- Tang H., Rising H.H., Majji M., Brown R.D., 2022. Long-term space nutrition: a scoping review. *Nutrients* 14, 194, <https://doi.org/10.3390/nu14010194>.
- Wang S.H., Yang T.S., Lin S.M., Tsai M.S., Wu S.C., Mao S.J., 2002. Expression, characterization, and purification of recombinant porcine lactoferrin in *Pichia pastoris*. *Prot. Exp. Purif.* 25(1), 41–49, <https://doi.org/10.1006/prep.2001.1607>.
- Xie X., Zhong M., Huang X., Yuan X., Mahna N., Mussagy C.U., Ren M., 2024. Astaxanthin biosynthesis for functional food development and space missions. *Crit. Rev. Biotechnol.* 1–15, <https://doi.org/10.1080/07388551.2024.2410364>.

- Xueqin L., Yaokang W., Mengyue G., Jieying D., Yang G., Yanfeng L., Jianghua L., Guocheng D., Rodrigo L., Long L., Jian C., 2021. Synthetic biology for future food: research progress and future directions. *Fut. Foods* 3, 100025, 2666–8335, <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100025>.
- Yuan X., Zhong M., Huang X., Hussain Z., Ren M., Xie X., 2024. Industrial production of functional foods for human health and sustainability. *Foods* 13(22), 3546, <https://doi.org/10.3390/foods13223546>.
- Zhang Y., Wang D., Yuetong Chen, Liu T., Zhang S., Fan H., Liu H., Li Y., 2021. Healthy function and high valued utilization of edible fungi. *Food Sci. Human Wellness* 10(4), 408–420, <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.04.003>.
- Zhao S., Qian F., Wan Z., Chen X., Pan A., Liu G., 2024. Vitamin D and major chronic diseases, *Trends Endocrinol. Metab.* 35(12), 1050–1061, <https://doi.org/10.1016/j.tem.2024.04.018>.

Quality evaluation of almond beverage enriched with matcha

Ocena jakości napoju migdałowego wzbogaconego w matchę

Introduction

Matcha is a finely ground green tea manufactured from the leaves of the tea plant *Camellia sinensis*. Tea culture in Japan began in Kyoto and then spread to other regions, leading to the formation of diverse local varieties. Japanese practice of tea drinking dates back to the 8th century, while the first recorded tea ceremony took place at the imperial court in 729 [Kubo et al. 2025]. Matcha is deeply ingrained in Japanese culture, particularly in the tea brewing ritual, which is a symbolic representation of their heritage and identity. The tea ceremony, or „sado”, is a ritual practice that emphasizes aesthetics, mindfulness, and social etiquette [Surak 2011]. Matcha’s growing popularity extends beyond traditional tea preparation, as it is increasingly incorporated into a different type of dishes and drinks. The matcha is made by shading the tea plants before they are harvested, which enhances chlorophyll levels and increases the flavor signature profile [Devkota et al. 2021]. Tea leaves are further boiled, then dried and finely milled into powder using stone mills. Different grinding processes (cyclone, ball, and stone) affect the physico-chemical, and sensory characteristics of matcha, leading to variations in flavor and aroma [Huang et al. 2022].

Matcha is composed of a variety of biologically active components, such as caffeine, theanine, polyphenols, and amino acids, which all of them contributes to unique taste and health properties. The ratio of tea polyphenols to amino acids (TPA) is a crucial factor in determining the freshness and mildness of matcha [Luo et al. 2023]. Matcha is a product rich in flavonoids, which include flavonols and flavanols, types of polyphenols noted for their antioxidant and anti-inflammatory effects [Jakubczyk et al. 2020]. Matcha also contains a variety of phenolic acids, including gallic acid, which is noted for its antioxidant properties [Jakubczyk 2020]. Theanine, an amino acid found in significant concentrations in matcha, is known for its sedative effects and ability to enhance cognitive function. Matcha also contains a notable amount of caffeine, which functions synergistically with theanine to increase alertness and mental performance while also reducing anxiety [Kochman et al. 2020].

¹ University of Life Sciences in Lublin, Student Scientific Association of Food Analysts, juliabebacz0323@gmail.com

² University of Life Sciences in Lublin, Department of Analysis and Food Quality Assessment

Modern consumer preferences indicate a rising demand for alternatives to traditional dairy products. Almond beverage, is a common plant-based alternatives to cow's milk, is often used as a addition to coffee and tea drinks. Enriching an almond drink with matcha not only enhances the flavour but it also increases the beverage's nutritional value. Almonds are a natural source of healthy fats, protein, vitamin E, and minerals such as magnesium and calcium, which makes them capable of providing a complete, energizing drink when combined with matcha [Singar et al. 2024]. Compared to conventional caffeinated beverages such as coffee, the combination of matcha and almond drink offers a milder and longer-lasting boost to the organism. Due to the synergistic properties of caffeine and L-theanine, the beverage promotes increased productivity and improved concentration, making it an attractive alternative for individuals seeking healthy and functional solutions. Considering the increased profile of plant-based beverages and consumer awareness of the advantages of consuming matcha, further growth in interest in such products can be anticipated [Martins et al. 2016]. Further studies on the effects of regular matcha consumption in conjunction with plant-based beverages can provide valuable information about their impact on consumer health and well-being.

The aim of this study was to examine certain properties of almond beverage supplemented with 0.5% and 0.75% matcha powder. The study evaluated color analysis, antioxidant activity against ABTS^{•+} and DPPH[•], phenolic compound content, and consumer evaluation.

Materials and methods

The study used Lovege's almond vegetable beverage as a control, and two fortified variants were prepared – with 0.5% and 0.75% matcha powder addition (Ouritsu product). The matcha was added to the almond beverage and then left to dissolve thoroughly for 24 hours. After this time, analyses were performed.

Color measurement

The color of the matcha-enriched almond vegetable beverage was evaluated using the CIE Lab instrumental method with an NH310 colorimeter (EnviSense, Lublin, Poland) and a standard D65 light source, along with an 8 mm diameter measuring head. The instrument was calibrated with a white standard. The following parameters were evaluated: brightness (L^* 0 = black, 100 = white), greenness/redness (a^*), and yellowness/blueness (b^*).

In addition, the total color difference (ΔE) was calculated using the following formula:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

where: ΔL^* , Δa^* , and Δb^* represent the differences in L^* , a^* , and b^* values, respectively, between the reference sample and the test sample.

Antioxidant properties

Extraction of bioactive compounds

The extraction process of the bioactive compounds was carried out according to the procedure described by Antoniewska et al. [2018]. A 1 g matcha-enriched almond vegetable beverage and control sample were transferred to the Falcon tubes. 10 ml of solvent (ethanol: water in a 4 : 1 ratio, v/v) was added and shaking was carried out in a Multi Bio RS-24 laboratory shaker (Biosan, Riga, Latvia) for 2 hours at 150 rpm at room temperature. After shaking, samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. The resulting extract was stored in a freezer at -20°C until further analysis.

Determination of total polyphenol content (TPC)

The test was carried out according to the methodology of De Bruno et al. [2022]. 0.2 ml of the prepared extract, 3 ml of distilled water and 0.2 ml of Folin-Ciocalteu reagent were added to test tubes, mixed thoroughly and allowed to stand for 3 minutes. Then, 0.6 ml of sodium carbonate solution (100 g/l) was introduced and mixed again. The tubes were incubated in a thermostat at 40°C for 30 min. After incubation, the absorbance of the samples was measured at 765 nm using a UV-Vis spectrophotometer (Varian, Cary 50 Scan), with a blank sample as the reference. Results were expressed as gallic acid equivalent (mg GAE/100 g sample).

Determination of antioxidant activity against DPPH $^{\cdot}$

The determination was carried out according to the methodology of Baliyan et al. [1999], with minor modifications. 0.1 ml of the prepared extract and 2.9 ml of a 6 μM solution of DPPH $^{\cdot}$ in 75% methanol were added to test tubes, and the mixture was thoroughly vortexed. The tubes were kept in the dark at room temperature for 30 min. After this time, the absorbance was measured at 517 nm, using the blank sample as a reference. Results were expressed in millimoles of Trolox per gram of sample (mM Trolox/g).

Determination of antioxidant activity against ABTS $^{\cdot+}$

The determination was carried out according to the methodology of Re et al. [1999], with minor modifications. The radical solution was prepared by mixing ABTS $^{\cdot+}$ with potassium persulfate and then diluting it with distilled water to a concentration of 2.45 mM. The solution was left in the dark for 16 hours to allow the radicals to develop fully. After this time, the solution was diluted to achieve an absorbance of approximately 0.7 at 734 nm. 2.9 ml of the ABTS $^{\cdot+}$ solution and 0.1 ml of the prepared extract were added to the tubes, and the mixture was left in the dark for 30 minutes. The absorbance at 734 nm was then measured against a blank sample. Results are presented as millimoles of Trolox per gram of sample (mM Trolox/g).

Consumer evaluation

The consumer evaluation of the study beverages was conducted using a 9-point hedonic scale. The study involved 16 participants aged 20–35 years, including 11 women and 5 men. The prepared matcha-enriched almond vegetable beverage was divided into servings and coded using three-digit numbers. Respondents evaluated the quality of the

matcha beverage, considering parameters such as color, aroma, and taste. The rating scale had the following meanings: 9 – tremendously like, 8 – very like, 7 – moderately like, 6 – somewhat like, 5 – neither like nor dislike, 4 – somewhat dislike, 3 – moderately dislike, 2 – immensely dislike, 1 – tremendously dislike. Before each sample, participants rinsed their mouths with mineral water to cleanse their taste buds. The consumer survey was conducted with potential consumers with no experience in sensory evaluation who were explained in advance the purpose and method of the test. Participation in the study was voluntary, and all participants signed a written consent form.

Statistical analysis

All tests were performed in at least three replicates, and results were presented as mean values $\pm$ standard deviation (SD). Statistical analysis was performed using Statistica software (version 13.3, StatSoft, Krakow, Poland). One-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test (HSD) was used to compare means. Statistical significance was taken at $p < 0.05$.

Results and discussion

Color measurement

Figure 1 illustrates the overall look of the matcha samples after preparation. The color parameters obtained for the samples, along with ΔE , are listed in Table 1. Color analysis demonstrated that the addition of powdered matcha led to noticeable darkening of the product. The control sample exhibited the highest brightness ($L^* = 79.75 \pm 2.02$). The measured values of the a^* and b^* parameters reflected that the fortified samples were

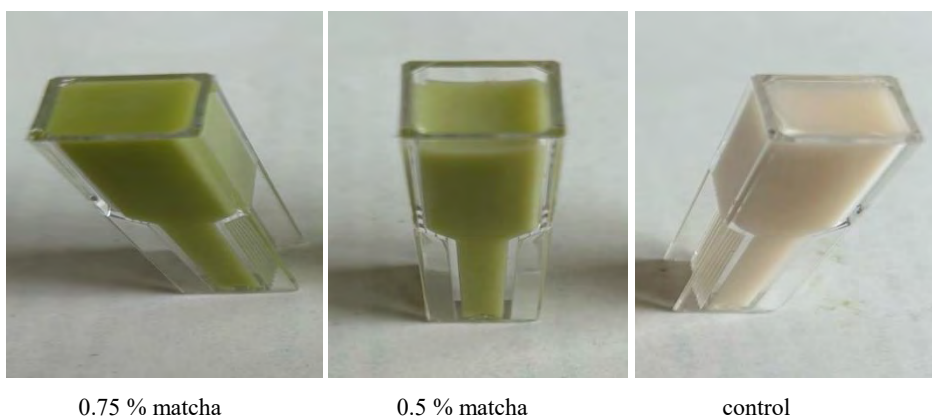


Fig. 1. General appearance of prepared samples of almond vegetable drink with matcha addition (own elaboration)

colored toward green. The effect obtained was expected due to the intense color of the matcha powder. A significant total color difference was observed between the control sample and those containing matcha, with values exceeding the threshold of 3 making them easily perceptible to the human eye [Laguna et al. 2011]. The greatest deviation occurred in the beverage with 0.75% matcha, as expected. Such a marked color transformation can be attributed to the substantial presence of bioactive compounds, especially natural pigments, in matcha green tea. Their concentration is closely related to the unique processing techniques used during the tea's production [Jyotismita et al. 2015].

Table 1. Results of color measurements for the tested product, with an average in respect of brightness (L*) and color (a*, b*)

Sample	L*	a*	b*	ΔE
Control	79.75 $\pm$ 2.02 ^a	7.71 $\pm$ 0.39 ^c	8.98 $\pm$ 0.19 ^c	—
0.5% matcha	69.90 $\pm$ 1.48 ^c	0.20 $\pm$ 0.45 ^b	22.39 $\pm$ 0.60 ^b	18.26
0.75% matcha	66.14 $\pm$ 1.48 ^b	0.11 $\pm$ 1.25 ^b	23.69 $\pm$ 1.28 ^a	21.44

Values denoted by the same letters in a column are not significantly different at $p < 0.05$ (Tuckey's post hoc test)

The results showing that the color transitions to green are consistent with the shade of powdered green tea, or matcha. In a study conducted by Najman et al. [2023], it was demonstrated that the parameter a* in the matcha test also indicated a tinting of the samples towards a green color. In this study, it was also proven that powdered matcha caused the product to darken.

Antioxidant activity

Our study measured the antioxidant properties using DPPH[•] and ABTS^{•+} scavenging activity methods, as well as total phenolic content (TPC; Tab. 2). The results demonstrated that the addition of matcha powder significantly enhanced the antioxidant activity of the fortified product. It was the highest capacity for scavenging free radicals observed in the beverage with a 0.75% matcha addition. The antioxidant activity of this product against ABTS^{•+} was 0.584 $\pm$ 0.019 mM Trolox, while against DPPH[•], it was 0.348 $\pm$ 0.004 mM Trolox. The addition of 0.75% matcha powder also significantly elevated the content of phenolic compounds. For beverage with 0.75% matcha, it was 98.56 $\pm$ 4.66 mg GEA/100 g. The lowest polyphenol content was 15,65 $\pm$ 0,92 mg GEA/100 g in the control sample.

In a study by Najman et al. [2023], the addition of matcha also increases antioxidant values. A survey by Jakubczyk et al. [2024], which evaluated beverages prepared with matcha on a milk and water basis, shows that matcha significantly increases the content of phenolic compounds.

Table 2. Evaluation of antioxidant activity and total polyphenol content

Analyses performed	Control	0.5% matcha	0.75% matcha
DPPH (mM TE)	0.021 $\pm$ 0.006 ^c	0.026 $\pm$ 0.025 ^b	0.348 $\pm$ 0.004 ^a
ABTS (mM TE)	0.046 $\pm$ 0.001 ^c	0.438 $\pm$ 0.020 ^b	0.584 $\pm$ 0.019 ^a
TPC (mg GAE/100 g)	15.65 $\pm$ 0.92 ^c	68.08 $\pm$ 0.92 ^b	98.56 $\pm$ 4.66 ^a

Values denoted by the same letters in a column are not significantly different at $p < 0.05$ (Tuckey's post hoc test)

According to the literature, the content of bioactive compounds and antioxidant activity in matcha can vary widely. These differences are influenced by numerous factors, including the species and type of tea, production processes, and the agro-climatic conditions of cultivation (such as the degree of shading and sunlight exposure during the plant's growth), as well as the conditions of tea harvesting [Kika et al. 2024]. The production process for green tea and matcha also plays a crucial role. For example, the final form of the product (leaves, bags, powder), the degree of fragmentation (milling), and storage conditions are significant. Additionally, the preparation methods of matcha beverages, including brewing time and temperature, significantly affect its antioxidant potential [Jakubczyk et al. 2024].

Consumer evaluation

The findings of the consumer evaluation are shown in Table 3. Statistically, there were no notable differences in the assessment of color, taste, smell, texture, or overall impression versus the control group beverage and the one with matcha added. In terms of color and aroma, the matcha-enriched samples received scores ranging from 7.38 to 7.75, indicating moderate liking. Starzomska et al. [2024] emphasize that higher doses of

Table 3. Consumer evaluation of tested plant-based beverages with matcha addition

Sample	Control	Vegetable beverage with 0.5% matcha added	Vegetable beverage with 0.75% matcha added
Color	7.00 $\pm$ 1.71 ^a	7.44 $\pm$ 1.09 ^a	7.75 $\pm$ 1.34 ^a
Taste	7.56 $\pm$ 1.21 ^a	6.38 $\pm$ 2.00 ^a	6.56 $\pm$ 2.22 ^a
Texture	8.13 $\pm$ 0.96 ^a	7.56 $\pm$ 1.41 ^a	7.88 $\pm$ 1.26 ^a
Smell	7.06 $\pm$ 1.18 ^a	7.38 $\pm$ 1.02 ^a	7.69 $\pm$ 1.01 ^a
Overall impressions	7.44 $\pm$ 0.96 ^a	6.75 $\pm$ 1.53 ^a	7.00 $\pm$ 1.97 ^a

Values denoted by the same letters in a column are not significantly different at $p < 0.05$ (Tuckey's post hoc test)

matcha may offer health benefits, but its intense taste may be less appealing to consumers. In the taste evaluation, the beverages with 0.5% and 0.75% matcha addition received scores of 6.38 ± 2.00 and 6.56 ± 2.22 , respectively, indicating that consumers somewhat liked them. The control sample was scored 7.65 ± 1.21 , but this difference was not shown to be statistically significant. In summary, the beverages designed were acceptable to consumers.

Conclusions

Based on the results obtained, the following conclusions were drawn:

1. The products obtained by adding matcha to almond beverage, compared to those without the addition, were characterized by a significantly an increased polyphenol content along with enhanced antioxidant activity.
2. Matcha-enriched beverages have entirely different colors, but consumers rated it and the rest of the characteristics at the same level.

In conclusion, plant-based almond drink with matcha addition is a promising substitute for conventional plant-based options drinks, combining the health benefits of both ingredients. Importantly, the addition of matcha does not significantly alter the sensory properties of the beverage, which means it may be well accepted by consumers. Nonetheless, further research is needed to refine the formulation, improve the stability of the product, and tailor its taste and texture to consumer preferences. Additionally extending the product's shelf life and ensuring its nutritional value remain key factors in consumer decision making. Optimizing the production process could also increase the beverage's appeal in the market and broaden its pool of potential consumers.

Bibliography

- Antoniewska A., Rutkowska J., Pineda M.M., Adamska A., 2018. Antioxidative, nutritional and sensory properties of muffins with buckwheat flakes and amaranth flour blend partially substituting for wheat flour. *LWT*, 89, 217–223, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.039>.
- Baliyan S., Mukherjee R., Priyadarshini A., Vibhuti A., Gupta A., Pandey R. P., Chang C. M., 2022. Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27, 1326, <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>.
- De Bruno A., Gattuso A., Romeo R., Santacaterina S., Piscopo A., 2022. Functional and sustainable application of natural antioxidant extract recovered from olive mill wastewater on shelf-life extension of basil pesto. *Appl. Sci.*, 12, 10965, <https://doi.org/10.3390/app122110965>.
- Devkota H.P., Gaire B.P., Hori K., Subedi L., Adhikari-Devkota A., Belwal T., Paudel K.R., Jha N.K., Singh S.K., Chellappan D.K., Hansbro P.M., Dua K., Kurauchi Y., 2021. The science of matcha: bioactive compounds, analytical techniques and biological properties. *Trends Food Sci. Technol.*, 118, 735–43, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.021>.
- Huang Y., Goh R.M.V., Pua A., Liu S.Q., Sakumoto S., Oh H.Y., Ee K.H., Sun J., Lassabliere B., Yu B., 2022. Effect of three milling processes (Cyclone-, Bead- and Stone-Millings) on the

- quality of matcha: physical properties, taste and aroma. *Food Chem.*, 372, 131202, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131202>.
- Jakubczyk K., Kochman J., Kwiatkowska A., Kalduńska J., Dec K., Kawczuga D., Janda K., 2020. Antioxidant properties and nutritional composition of matcha green tea. *Foods*, 9, 483, <https://doi.org/10.3390/foods9040483>.
- Jakubczyk K., Szymczykowska K., Kika J., Janda-Milczarek K., Palma J., Melkis K., Alshekh R., Maciejewska-Markiewicz D., 2024. Exploring the influence of origin, harvest time, and cultivation method on antioxidant capacity and bioactive compounds of matcha teas. *Foods*, 13, 1270, <https://doi.org/10.3390/foods13081270>.
- Jyotismita K., Chandan R., Arindam R., 2015. Determination of tannin content by titrimetric method from different types of tea. *J. Chem. Pharm. Res.*, 7, 238–241.
- Kika J., Jakubczyk K., Ligenza A., Maciejewska-Markiewicz D., Szymczykowska K., Janda-Milczarek K., 2024. Matcha green tea: chemical composition, phenolic acids, caffeine and fatty acid profile. *Foods*, 13, 1167, <https://doi.org/10.3390/foods13081167>.
- Kochman J., Jakubczyk K., Antoniewicz J., Mruk H., Janda K., 2020. Health benefits and chemical composition of matcha green tea: a review. *Molecules*, 26, 85, <https://doi.org/10.3390/molecules26010085>.
- Kubo N., Yokoyama H., Ohgushi T., 2025. Tea cultivars in Japan. In: Mérillon, JM., Rivière, C., Lefèvre, G. (eds), *Natural Products in Beverages. Reference Series in Phytochemistry*. Springer, Cham, 3–37, https://doi.org/10.1007/978-3-031-38663-3_25.
- Laguna L., Salvador, A., Sanz, T., Fiszman, S.M., 2011. Performance of a resistant starch rich ingredient in the baking and eating quality of short-dough biscuits. *LWT Food Sci. Technol*, 44, 737–746, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.034>.
- Luo Y., Zhang Y., Qu F., Qian W., Wang P., Zhang X., Zhang X., Hu J., 2023. Variations of main quality components of matcha from different regions in the Chinese market. *Front. Nutr.*, 10, 1153983, <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.115398>.
- Martins I.M., Chen Q., Chen C.Y.O., 2016. Emerging functional foods derived from almonds In: I.C.F.R. Ferreira, P. Morales and L. Barros (eds), *Wild plants, mushrooms and nuts*. Wiley, 445–69, <https://doi.org/10.1002/9781118944653.ch14>.
- Najman K., Sadowska A., Wolińska M., Starczewska K., Buczak K., 2023. The content of bioactive compounds and technological properties of matcha green tea and its application in the design of functional beverages. *Molecules*, 28, 7018, <https://doi.org/10.3390/molecules28207018>.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 26, 1231–37, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- Singar S., Kadyan S., Patoine C., Park G., Arjmandi B., Nagpal R., 2024. The effects of almond consumption on cardiovascular health and gut microbiome: a comprehensive review. *Nutrients*, 16, 1964, <https://doi.org/10.3390/nu16121964>.
- Starzomska D., Gajdzińska N., Basiura K., Salwa A., Rymaszewska K., Puchała J., 2024. The advantage of matcha green tea over other drinks: a comprehensive review. *Qual. Sport*, 32, 55912, <https://doi.org/10.12775/QS.2024.32.55912>.
- Surak K., 2011. From selling tea to selling Japaneseness: symbolic power and the nationalization of cultural practices. *Eur. J. Soc.*, 52, 175–208, <https://doi.org/10.1017/S0003975611000087>.

Łupek krośnieński z Wysoczan jako perspektywiczny materiał do zastosowania w rolnictwie i ogrodnictwie

Krosno slate from Wysoczany as a perspective raw material for use in agriculture and horticulture

Wstęp

Łupki krośnieńskie to utwory oligocenu, które charakteryzują się zmienną miąższością w obrębie kompleksów gruboławicowych [Machowski 2010]. W kontekście tej pracy najważniejsze znaczenie mają łupki o charakterze ilastym, głównie chlorytowo-illitowym, choć stwierdzono nawet wśród tych łupków wkładki bentonitowe [Gucwa i Koszarski 1960]. Łupki ilaste w Wysoczanach są częścią dolnych warstw krośnieńskich [Panna i in. 2014a]. Jak do tej pory były one badane pod kątem wytwarzania keramzytu, hydroizolacji i jako materiał do rekultywacji terenu. W przypadku hydroizolacji stwierdzono zbyt wysoki wskaźnik filtracji, co związane jest ze stosunkowo niskim udziałem smektytu.

Surowiec ten nie nadaje się więc na przykład do uszczelnień składowisk odpadów komunalnych i przemysłowych. Zagospodarowanie go w celu rekultywacji terenu nie przynosi natomiast korzyści gospodarczej i może być stosowane jedynie do pozbycia się zanieczyszczonego okruszami piaskowca materiału zalegającego na piaskowcu. W analizowanym przypadku stwierdzono, że łupek nie cechuje się naturalnymi predyspozycjami do pęcznienia w wysokich temperaturach i na ogół jego współczynnik termicznego pęcznienia nie przekracza 1,5. Może to być konsekwencją zbyt krótkiego przedziału temperatur, w którym faza ciekła wykazuje optymalną lepkość, pozwalającą utrzymać wydobywające się gazy np. z rozkładu siarczanów wewnątrz materiału [Kurdowski 2000]. Inną przyczyną może być zbyt niski udział skalenia sodowego i potasowego. Zauważono jednak, że materiał wykazuje stosunkowo niską temperaturę początku pęcznienia – 1232°C [Panna i in. 2015a]. Sugeruje to stosunkowo niskie wartości temperatury spiekania. W związku z tym w niniejszej pracy podjęto się próby wytworzenia kruszywa lekkiego typu agloporytowego w temperaturach 850–950°C. Takie kruszywo mogłoby być przykładowo zastosowane do upraw hydroponicznych [Singh 2024]

¹ Akademia Tarnowska, ul. Mickiewicza 8, 33-100 Tarnów, aleksandra.burza7@gmail.com

² Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

Charakterystyka surowcowa łupku przedstawiona w pracy Panny i in. [2014a] wskazuje na znaczny udział w jego składzie chemicznym wapnia, magnezu, żelaza, potasu (tab. 1) i siarki (w ilości 2%, stwierdzone na podstawie analizy AAS), co wskazuje na możliwość zagospodarowania tego surowca jako środka poprawiającego właściwości gleby oraz dostarczającego roślinom korzystnych makroelementów bez konieczności wzbogacania surowca innymi składnikami. Ponadto skład fazowy wskazuje na możliwość przetrzymywania znacznych ilości wody w minerałach ilastych, co wpływa na korzystne parametry retencyjne. Minerały te występują w drobnokrystalicznej formie płytkowej, co może w znaczący sposób aktywizować roztwarzanie substancji stałej w glebie i udostępniać makro- i mikroelementy roślinom [Panna i in. 2015b, Niedźwiecki i in. 2021].

Tabela 1. Analiza składu łupku Krośnieńskiego z Wysoczan (%)

SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	CaO	MgO	MnO	Na ₂ O	K ₂ O	P ₂ O ₅	Strata prażenia	Suma
44,30	13,00	4,51	0,60	10,60	5,50	0,10	0,73	3,00	0,10	18,03	100

Technika produkcji takiego preparatu opierałaby się głównie na procesie selektywnego składowania łupku w kopalni piaskowca, jego suszeniu i kruszeniu [Cyboron i in. 2024]. W pracy podjęto się próby otrzymania takiego preparatu i jego charakterystyki.

Material i metody

Środek poprawiający właściwości gleby

Reprezentatywną próbkę surowca ilastego z Wysoczan pobrano 11 października 2023 r. z kopalni piaskowca (ryc. 1). Następnie próbkę przeprowadzono w formę plastyczną* i zawałcowano ją do grubości 1 cm. W kolejnym kroku wysuszoną taflę stłuczono młotkiem i skruszono w kruszarce laboratoryjnej. Otrzymaną próbkę skierowano do Instytutu Nowych Syntez w Puławach i poddano badaniom normowym, opisanym w tabeli 2.

* Dodanie wody do surowca ilastego umożliwia jego formowanie, co wynika z charakterystycznej dla tej grupy surowców budowy wewnętrznej.

a)



b)



Ryc. 1. Kopalnia piaskowca, z której pobrano próbki łupku krośnieńskiego

Tabela 2. Zestawienie badań normowych przeprowadzonych na pobranej próbce surowca

Lp.	Badana cecha	Metoda badania	Procedura
1	Potas w przeliczeniu na K_2O	wagowa	PN-EN 15477:2009
2	Wapń całkowity w przeliczeniu na CaO	miareczkowa	PN-EN 15960:2011 PN-EN 16196:2013
3	Wapń rozpuszczalny w wodzie w przeliczeniu na CaO	miareczkowa	PN-EN 15961:2017-02 PN-EN 16196:2013
4	Magnez całkowity w przeliczeniu na MgO	plamieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa (FAAS)	PN-EN 15960:2011 PN-EN 16197:2013
5.	Siarka całkowita w przeliczeniu na SO_3	wagowa	PN-EN 15925:2011 PN-EN 15749:2023-01 metoda A
6.	Bor (B) całkowity	spektrofotometryczna	PN-EN 16964:2018-03 PN-EN 17041:2018-07
7.	Żelazo (Fe) całkowite	plamieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa (FAAS)	PN-EN 16964:2018-03 PN-EN 16965:2018-03

Lp.	Badana cecha	Metoda badania	Procedura
8.	Arsen (As)	emisyjna spektrometria atomowa ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-OES)	PB 35 wyd. III z 02.03.2020 PN-EN 16317+A1:2017-04 z wyłączeniem p. 8.2
9.	Kadm (Cd)		PB 35 wyd. III z 02.03.2020 PN-EN 16319+A1:2016-02 z wyłączeniem p. 8.2
10.	Ołów (Pb)		
11.	Rtęć (Hg)	absorpcyjna spektrometria atomowa z techniką amalgamacji	RMG zał. 3, p.4*
12.	Wartość pH	potencjometryczna	PN-EN 13037:2011
13.	Wartość przewodnictwa elektrycznego EC w 25°C	konduktometryczna	PN-EN 13038:2011
14.	Uziarnienie	wagowa	PN-EN 15428:2009

*RMG – Rozporządzenie Ministra Gospodarki z dnia 8 września 2010 r. w sprawie sposobu pakowania nawozów mineralnych, umieszczania informacji o składnikach nawozowych na tych opakowaniach, sposobu badania nawozów mineralnych oraz typów wapna nawozowego [Dz. U. nr 183 poz. 1229]

Agloporyt

Masę plastyczną uzyskaną z surowca z Wysoczan dotowano 10-, 20-, 30-procentowym dodatkiem odpadowej celulozy, wprowadzonej w celu poprawy porowatości i bilansu energetycznego procesu wypalania kruszywa. Próbkę wypalano w temperaturze 850°C, 900°C, 950°C w piecu laboratoryjnym. Próbkom, ze względu na ich parametry, przyporządkowano numery (tab. 3). Na otrzymanych próbkach wykonano podstawowe badania kruszyw lekkich, które zostały zaprezentowane i opisane.

Tabela 3. Numeracja próbek poddanych badaniom

Zawartość celulozy oraz temperatura wypału	Nr próbki
10%, 850°C	2/1/85
20%, 850°C	2/2/85
30%, 850°C	2/3/85
10%, 900°C	2/1/90
20%, 900°C	2/2/90
30%, 900°C	2/3/90
10%, 950°C	2/1/95
20%, 950°C	2/2/95
30%, 950°C	2/3/95

Oznaczenie gęstości objętościowej otrzymanego kruszywa

Gęstość objętościowa (pozorna) to masa przypadająca na jednostkę objętości materiału, uwzględniająca pory i inne wolne przestrzenie. Została ona określona za pomocą analizatora gęstości Geo-Pyc 1360 firmy Micromeritics w laboratorium Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie. Pomiar w tym urządzeniu polega na umieszczeniu kilku granул kruszywa w komorze wypełnionej drobnoziarnistym piaskiem kwarcowym o znanej objętości, a następnie sprasowaniem piasku z zadaną siłą, tak aby ten wypełnił dokładnie przestrzeń wokół granул kruszywa. Gęstość objętościowa jest stosunkiem wcześniej zmierzonej wagi granул i ich objętości.

Oznaczenie gęstości nasypowej otrzymanego kruszywa

Gęstość nasypowa to stosunek masy niezagęszczanego suchego materiału danej frakcji (np. kruszywa, cementu, materiałów proszkowych) do objętości naczynia, które on wypełnia. Pokazuje, jaką objętość zajmuje materiał sypki, uwzględniając pory, wolne przestrzenie wewnątrz oraz przestrzenie między ziarnami.

Gęstość nasypową oblicza się według poniższego wzoru zgodnie z normą PN-EN 1097-3:2000:

$$\rho_n = \frac{m}{V_c} \left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right) \quad (1)$$

w którym: ρ_n – gęstość nasypowa $\left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right)$,

m – masa granulatu ilastego (kg),

V_c – objętość naczynia miarowego (m^3).

Oznaczanie jamistości otrzymanego kruszywa

Jamistość materiału ziarnistego to procentowy udział wolnych przestrzeni między ziarnami w całkowitej objętości tego materiału. Jamistość oblicza się zgodnie z normą PN-EN 1097-3:2000, wykorzystując odpowiedni wzór:

$$j = \frac{\rho_o - \rho_n}{\rho_o} \cdot 100 (\%) \quad (2)$$

w którym: ρ_o – gęstość objętościowa $\left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right)$,

ρ_n – gęstość nasypowa $\left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right)$.

Oznaczenie nasiąkliwości otrzymanego kruszywa

Nasiąkliwość to zdolność materiału do absorbowania wody w ustalonych warunkach badawczych. Nasiąkliwość określa się zgodnie z normą PN-EN 1097-6:2002, przy użyciu wzoru:

$$n_w = \frac{G_2 - G_1}{G_1} \cdot 100 (\%) \quad (3)$$

w którym: G_1 – masa próbek suchych (g),
 G_2 – masa próbek nasyconych wodą (g).

Oznaczenie wytrzymałości na miażdżenie otrzymanego kruszywa

Wytrzymałość kruszywa na miażdżenie to odporność materiału na działanie siły nacisku o wartości 30 kN, wyrażona jako procentowy ubytek jego masy. Siła ta została odpowiednio dopasowana do rozmiaru cylindra (9 cm). Badanie wykonano zgodnie z normą PN-B-06714-40:1978, która zaleca użycie siły 50 kN przy cylindrze o średnicy 15 cm. Taka regulacja siły zapewnia uzyskanie identycznego nacisku na powierzchnię tłoka, jak przewidziano w normie. Wytrzymałość kruszywa na miażdżenie wyrażona jest wskaźnikiem rozkruszenia, który obliczono za pomocą poniższego wzoru:

$$X_R = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \cdot 100 (\%) \quad (4)$$

w którym: M_1 – masa próbek analitycznych przed badaniem (g),
 M_2 – masa próbek analitycznych po badaniu (g).

Badanie próbek obejmowało następujące etapy: odmierzenie określonej masy kruszywa, przeprowadzenie analizy granulometrycznej (sitowej) w celu oddzielenia frakcji poniżej 2 mm, ponowne zważenie przesianego materiału, przeprowadzenie testu wytrzymałości na miażdżenie za pomocą prasy, ponowne wykonanie analizy granulometrycznej (sitowej) w celu oddzielenia zmiażdżonej frakcji, zważenie pozostałego materiału, obliczenie wskaźnika wytrzymałości na miażdżenie.

Wyniki badań i dyskusja

Środek poprawiający właściwości gleby

Wyniki badań przedstawione w tabeli 4 korelują ze składem chemicznym łupku zaprezentowanym w pracy Panny i in. [2014a], przy czym odnotowuje się niską rozpuszczalność w wodzie makroelementów, co wynika ze związania tych pierwiastków w trwałych strukturach krystalicznych. Wskazuje to na długofalowe działanie środka i sugeruje wykorzystanie go do gleb kwaśnych, gdzie roztwarzanie składników jest intensyfikowane przez środowisko niskiego pH. Ponadto zawartość metali ciężkich jest o kilka rzędów wielkości niższa niż wartości graniczne przedstawione w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi [Dz.U. 2016, poz. 1395], co pozwala na spełnienie warunków dotyczących środków poprawiających właściwości gleb.

Tabela 4. Zestawienie wyników badań nad pobranym surowcem – łupkiem z Wysoczan

Lp.	Badana cecha (jednostka)	Wyniki badań
1.	Zawartość potasu (rozpuszczalnego w wodzie) w przeliczeniu na K ₂ O (% (m/m))	<(1,00 ±0,02)
2.	Zawartość wapnia całkowitego w przeliczeniu na CaO (% (m/m))	7,92 ±0,39
3.	Zawartość wapnia rozpuszczalnego w wodzie w przeliczeniu na CaO (% (m/m))	<(0,70 ±0,05)
4.	Zawartość magnezu całkowitego w przeliczeniu na MgO (% (m/m))	3,32 ±0,33
5.	Zawartość siarki całkowitej (obecnej w różnych postaciach) w przeliczeniu na SO ₃ (% (m/m))	1,15 ±0,05
6.	Zawartość boru (B) całkowitego (% (m/m))	0,006 ±0,001
7.	Zawartość żelaza (Fe) całkowitego (% (m/m))	2,75 ±0,33
8.	Zawartość arsenu (As; mg/kg)	9,30 ±2,05
9.	Zawartość kadmu (Cd; mg/kg)	0,80 ±0,16
10.	Zawartość ołowiu (Pb; mg/kg)	13,7 ±2,7
11.	Zawartość rtęci (Hg; mg/kg)	0,068 ±0,016
12.	Wartość pH	8,4 ±0,3
13.	Wartość przewodnictwa elektrycznego EC w 25°C (µS/cm)	696 ±14

Aglomority

Uzyskane kruszywa spełniają wartości graniczne opisane w normie PN-EN 13242 (tab. 5) . Ponadto z badań wynika, że dobierając odpowiednie parametry technologiczne, takie jak temperatura, ilość dodanej celulozy i skład granulometryczny materiału poddanego badaniu, można uzyskać konkretne parametry kruszywa.

Tabela 5. Właściwości uzyskanych próbek kruszywa aglomerytowego

Nr próbki	Gęstość objętościowa	Gęstość nasypowa	Jamistość	n _w (%)	Wskaźnik rozkruszenia (%)
2/1/85	1,23	0,95	0,23	14,4	9,6
2/2/85	1,11	0,92	0,17	18,2	14,4
2/3/85	1,05	0,87	0,17	23,1	21,8
2/1/90	1,28	0,95	0,26	12,8	9,2
2/2/90	1,26	0,93	0,26	18,4	12,3
2/3/90	1,11	0,81	0,27	27,2	19,8
2/1/95	1,31	1,01	0,23	12,1	8,4
2/2/95	1,28	0,99	0,23	15,9	11,3
2/3/95	1,24	0,92	0,26	23,7	18,7

Wnioski

Łupek krośnieński z Wysoczan z powodzeniem może zostać zastosowany do produkcji kruszywa lekkiego typu agloporytowego oraz środka poprawiającego właściwości gleby, czym potwierdzono postawioną w pracy tezę. W odniesieniu do pierwszego stwierdzono, że niemal wszystkie z uzyskanych kruszyw (wypalone w temperaturach 850°C, 900°C, 950°C z różnym udziałem odpadu celulozowego – 10%, 20%, 30%) spełniają normy dotyczące kruszyw budowlanych PN-EN 12620. Jedyną próbką, która wykazała nasiąkliwość ok. 27,2% była próbka wypalona w temperaturze 900°C o zawartości 30% odpadu celulozowego.

Wszystkie z badanych próbek spełniają wymagania normowe pod względem gęstości objętościowej, która nie powinna przekraczać 2 g/cm³ [Panna i in. 2014b]. Parametr ten, biorąc pod uwagę wyniki badań, może być w znacznym stopniu regulowany temperaturą wypału i ilością dodatku organicznego, pełniącego funkcję poryzatora (tab. 3). W pierwszym przypadku kluczową rolę odgrywają procesy spiekania i densyfikacji [Ozguven i Gunduz 2012]. Spiekanie wywołuje powierzchniowe łączenie się ziaren i tworzenie wspólnej dla sąsiadujących ziaren granicy międzyfazowej o zaburzonym uporządkowaniu atomowym [Lis i Pampuch 2000]. Proces densyfikacji z kolei polega na zacieśnianiu mikrostruktury i uchodzenia gazów z przestrzeni międzyziarnowych na skutek ich nadmiernej prężności w wysokich temperaturach. W związku z powyższym na skutek densyfikacji i spiekania obserwuje się spadek gęstości objętościowej dla tej samej zawartości poryzatora.

Próbki wykazały odporność na miażdżenie poniżej 22%, co pozwala zakwalifikować je jako pełnowartościowy dodatek do betonu. Jak wiadomo, odporność na kruche pękanie jest zależna od wielkości największego pora, który występuje w materiale, ponieważ kumuluje on naprężenia i wywołuje pękanie [Wojteczko i in. 2013]. W związku z tym najwyższą odporność wykazują próbki zawierające najmniejszą wartość dodatku celulozowego. Kolejną zależnością widoczną w tabeli 7 jest spadek wskaźnika rozkruszenia (co jest korzystne) dla próbek wypalanych w coraz wyższej temperaturze (porównując analogiczny udział celulozy). Ma to związek z porowatością i stopniem spieczenia materiału oraz pojawieniem się i krystalizacją nowych faz. Przykładem tego ostatniego jest pojawienie się mullitu igiełkowego, który powstaje przez rekrystalizację mullitu łuskowego w obecności fazy ciekłej [Lee i in. 2008].

Na podstawie wyników badań różnorodnych parametrów kruszywa agloporytowego wyciągnięto następujące wnioski:

- gęstości objętościowa i nasypowa maleją wraz ze wzrostem zawartości odpadu celulozowego, ponieważ pełni on funkcję poryzatora;
- gęstość objętościowa i nasiąkliwość rosną wraz ze wzrostem temperatury na skutek zjawisk densyfikacji i zapadania się porów;
- nasiąkliwość rośnie wraz ze spadkiem gęstości objętościowej, co mówi o charakterze porowatości w materiale (porowatość otwarta);
- odporność na miażdżenie rośnie wraz ze spadkiem porowatości, przy czym nie stwierdzono rozkładu wielkości porów, co ma największy wpływ na mechanizm kruchego pękania.

Najważniejsze wnioski z analizy przydatności łupku z Wysoczan do zagospodarowania w rolnictwie to:

- zawartość metali ciężkich, takich jak kadm, arsen, ołów i rtęć, jest bardzo niska – ich limit definiowany przez wymagania normowe jest kilkukrotnie wyższy;
- granulát posiada w swoim składzie chemicznym składniki odżywcze nierozpuszczalne w wodzie, dlatego charakter środka poprawiającego właściwości gleby ocenia się jako długotrwały w działaniu;
- granulát posiada korzystne uziarnienie z punktu widzenia dozowania go na polach uprawnych;
- korzystna jest podwyższona zawartość siarki w surowcu, z uwagi na zjawisko odsiarczenia gleb w Polsce.

W związku z powyższym kopalina ilasta z Wysoczan, do tej pory rozpatrywana jako odpad powydobywczy z kopalni piaskowca, może stać się atrakcyjnym surowcem mineralnym do produkcji kruszywa lekkiego typu agloporytowego oraz jako środek poprawiający właściwości gleby.

Bibliografia

- Cyboroń J., Dulian M., Panna W., 2024. Perspektywy wykorzystania wybranych surowców ilastych jako środków wspomagających uprawę roślin. W: M. Babicz, K. Kropiwek-Domańska (red.), Wybrane zagadnienia z zakresu rolnictwa, t. 4. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin, 7–18.
- Gucwa I., Koszarski L., 1960. Występowanie bentonitów w warstwach krośnieńskich dolnych w Zagórzku koło Sanoka. Kwart. Geol. 4(1), 180–192.
- Kurdowski W., 2000. Chemia materiałów budowlanych. Uczelniane Wydawnictwa Naukowo-Dydaktyczne AGH, Kraków.
- Lee W.E., Souza G.P., McConville C.J., Tarvornpanich T., Iqbal Y., 2008. Mullite formation in clays and clay-derived vitreous ceramics. J. Eur. Ceram. Soc. 28(2), 465–471.
- Lis J., Pampuch R., 2000. Spiekanie. Uczelniane Wydawnictwo Naukowo-Dydaktyczne, Kraków.
- Machowski, G. 2010. Parametry zbiornikowe mikroporowo-szczelinowanych piaskowców krośnieńskich w ropogazonocnej strefie centralnego synklinorium karpackiego [praca doktorska]. AGH Kraków.
- Niedźwiecki J., Wawer R., 2021. Poradnik dla rolników w zakresie poprawy retencji wodnej gleb. Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Państwowy Instytut Badawczy, Puławy.
- Ozguven A., Gunduz L., 2012. Examination of effective parameters for the production of expanded clay aggregate. Cem. Concr. Compos. 34(6), 781–787.
- Panna W., Wyszomirski P., Gasek K., Dudek R., Łabuz A., 2015a. Hot stage microscopy in determining the suitability of selected clay rocks from south-eastern Poland to manufacture lightweight aggregates. Cement Wapno Beton 20(2), 79–87.
- Panna W., Wyszomirski P., Gasek K., Dudek R., Łabuz A., 2015b. Ocena przydatności wybranych surowców ilastych południowo-wschodniej Polski do produkcji kruszyw lekkich na podstawie mikroskopii wysokotemperaturowej. Cement Wapno Beton 20(2), 79–87.
- Panna W., Wyszomirski P., Myszkowski R. 2014a. Charakterystyka surowcowa kopaliny ilasto-krzemionkowej ze złoża Dylągówka-Zapady (polskie Karpaty fliszowe). Gosp. Sur. Min./ Min. Resour. Manag. 30(2), 85–102.

- Panna W., Wyszomirski P., Myszkowski R. 2014b. Charakterystyka surowcowa odpadu eksploatacyjnego z kopalni piaskowca w Wysoczanach (woj. podkarpackie). Zesz. Nauk. IGSMiE PAN 88, 183–194.
- PB 35, Procedura badawcza PB 35 – Oznaczanie zawartości frakcji granulometrycznej nawozów pylistych i pyłowych. Wydanie III, 02.03.2020.
- PN-EN 15477:2009, Nawóz wapniowy i/lub magnezowy – Określanie zawartości wapnia rozpuszczalnego w kwasie cytrynowym. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2009.
- PN-EN 15960:2011, Wapno i wapno nawozowe – Oznaczanie reaktywności – Metoda z użyciem kwasu cytrynowego. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2011.
- PN-EN 16196:2013, Wapno nawozowe – Oznaczanie zawartości wapnia rozpuszczalnego w wodzie. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2013.
- PN-EN 15961:2017-02, Nawóz wapniowy i/lub magnezowy – Określanie zawartości wapnia rozpuszczalnego w kwasie solnym. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2017.
- PN-EN 16197:2013, Wapno nawozowe – Oznaczanie zawartości magnezu rozpuszczalnego w wodzie. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2013.
- PN-EN 15925:2011, Nawóz wapniowy i/lub magnezowy – Oznaczanie zawartości magnezu rozpuszczalnego w kwasie cytrynowym. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2011.
- PN-EN 15749:2023-01, Wapno nawozowe – Oznaczanie reaktywności – Metoda A. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2023.
- PN-EN 16964:2018-03, Wapno nawozowe – Oznaczanie zawartości wapnia rozpuszczalnego w kwasie azotowym. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2018.
- PN-EN 17041:2018-07, Nawóz wapniowy i/lub magnezowy – Oznaczanie zawartości magnezu rozpuszczalnego w kwasie azotowym. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2018.
- PN-EN 16965:2018-03, Wapno nawozowe – Oznaczanie zawartości wapnia rozpuszczalnego w kwasie solnym. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2018.
- PN-EN 16317+A1:2017-04, Nawóz wapniowy i/lub magnezowy – Oznaczanie zawartości metali ciężkich (z wyłączeniem p. 8.2). Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2017.
- PN-EN 16319+A1:2016-02, Nawóz wapniowy i/lub magnezowy – Oznaczanie zawartości pierwiastków śladowych (z wyłączeniem p. 8.2). Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2016.
- PN-EN 13037:2011, Substraty podłoża uprawowych – Oznaczanie odczynu (pH). Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2011.
- PN-EN 13038:2011, Substraty podłoża uprawowych – Oznaczanie przewodnictwa elektrycznego (EC). Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2011.
- PN-EN 15428:2009, Substraty podłoża uprawowych – Oznaczanie suchej masy i zawartości popiołu. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa, 2009.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 września 2016 r. w sprawie sposobu prowadzenia oceny zanieczyszczenia powierzchni ziemi (Dz.U. 2016, poz. 1395).
- Singh N., Raza J., Colangelo F., Farina I., 2024. Advancements in lightweight artificial aggregates: typologies, compositions, applications, and prospects for the future. Sustainability 16, 9329.
- Wojteczko K., Lach R., Pędzich Z., 2013. Pękanie podkrytyczne ceramiki kompozytowej Al_2O_3 -YAG. W: IX Konferencja i Zjazd Polskiego Towarzystwa Ceramicznego: Zakopane, 19–22 września 2013 r. Streszczenia, Z. Pędzich, M. Zarzecka-Napierała (red.). Polskie Towarzystwo Ceramiczne, Kraków, 143

Martyna Konopa¹, Karolina Bączkowska¹, Magdalena Klimek¹, Antonina Krawczyk^{1,2},
Wojciech Ospałek², Łukasz Wlazło²

Czystość mikrobiologiczna akcesoriów do makijażu

Microbiological cleanliness of makeup accessories

Wstęp

Makijaż towarzyszy ludzkości od czasów prehistorycznych. Z początku pełnił funkcje religijne, rytualne czy zaznaczenia swojego statusu społecznego [Witkowski i Lawrence 2011]. Współcześnie makijaż zmienił swoje zastosowanie i jest najczęściej wykonywany w celu poprawienia wyglądu. W przemyśle kosmetycznym dąży się do zapewnienia najwyższej jakości i bezpieczeństwa produktów aplikowanych bezpośrednio na skórę. Przeprowadzone badania wykazały, że przeciętna osoba dorosła używa 9 kosmetyków dziennie, a ponad 25% kobiet używa ponad 15 kosmetyków [Sedlewicz 2005]. Drogerijne półki wypełnione są kosmetykami, a korzystanie z nich ułatwiają różnego rodzaju akcesoria m.in. pędzle, gąbki czy puszki do pudru. O ile na opakowaniu każdego kosmetyku musi znajdować się opis sposobu użytkowania, data ważności bądź data trwałości po otwarciu, to ciężko jest znaleźć tego typu informacje na temat akcesoriów, pomimo że mają one bezpośredni kontakt ze skórą. Ze względu na swoje przeznaczenie, sposób użytkowania oraz budowę, akcesoria te stanowią idealne środowisko do rozwoju mikroorganizmów. Składniki kosmetyków w połączeniu z wydzielanymi przez skórę sebum oraz potem tworzą dla nich swoistą pożywkę [Grice i in. 2008]. Brak higieny oraz zaniedbania w kwestii czyszczenia akcesoriów do makijażu mogą mieć negatywny wpływ na stan skóry, a niekiedy prowadzić do wystąpienia chorób dermatologicznych. Dotychczas przeprowadzono niewiele badań bezpośrednio skupiających się na czystości mikrobiologicznej akcesoriów do makijażu, jednak istnieje wiele tych dotyczących skażenia mikrobiologicznego kosmetyków stosowanych m.in. w salonach kosmetycznych. Ich wyniki potwierdziły obecność takich bakterii, jak: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* spp. oraz bakterii z rodzaju *Enterococcus* i *Enterobacter* [Enemour i in. 2013].

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Studenckie Koło Naukowe Zagrożeń Zawodowych i Środowiskowych, martynawkonopa@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska

Celem badań była ocena czystości mikrobiologicznej akcesoriów do makijażu oraz identyfikacja znajdujących się na nich mikroorganizmów. Niniejsze badania mają również na celu zwrócenie uwagi na istotę czyszczenia i dezynfekcji używanych akcesoriów do makijażu.

Material i metody

Materiał do badań stanowiły akcesoria do wykonywania makijażu o różnym przeznaczeniu. Pierwszym z nich była gąbeczka do nakładania podkładu, używana codziennie od ok. trzech miesięcy, czyszczona wodą z mydłem w płynie i pozostawiana do wyschnięcia na wolnym powietrzu. Drugim był pędzel do aplikacji korektora używany raz na kilka tygodni, czyszczony kilka razy w ciągu roku, przechowywany w otwartym pojemniku na parapecie. Trzecim był pędzel do nakładania pudru sypkiego bądź prasowanego, używany kilka razy w ciągu tygodnia, czyszczony raz w tygodniu, przechowywany w kosmetyczce. Do mycia obu pędzli również używano wody z mydłem w płynie.

W opracowaniu metodyki badań wykorzystano informacje zawarte w Polskich Normach dotyczących badań mikrobiologicznych kosmetyków. Z uwagi na fakt, iż powyższe normy dotyczą wyrobów kosmetycznych, a nie akcesoriów, niektóre etapy wykonania analiz zostały zmodyfikowane, aby umożliwić badanie akcesoriów do wykonywania makijażu [PN-EN ISO 21148:2017-07, PN-EN ISO 16212:2017-08, PN-EN ISO 21149:2017-07, PN-EN ISO 18416:2016-01, PN-EN ISO 21150:2016-01, PN-EN ISO 22717:2016-01, PN-EN ISO 22718:2016-01].

Analiza ilościowa i jakościowa

W jałowych pojemnikach umieszczono badany materiał – gąbeczkę w całości, a w przypadku pędzli ścięto całe włosie przy użyciu sterylnych nożyczek. Próbkę inkubowano w bulionie Eugon LT100 (Biomaxima) przez 15 min w temperaturze 25°C, wstrząsając co 5 min. Następnie wykonano serię rozcieńczeń 10-krotnych, z których wykonano posiew metodą powierzchniową, po 100 µl na podłoża TSA (Biomaxima) oraz Sabourauda z chloramfenikolem (Biomaxima) w dwóch powtórzeniach. Wykonano także kontrole sterylności – podłoży mikrobiologicznych oraz bulionu. Płytki inkubowano w celu oznaczenia bakterii mezofilnych w temperaturze 37°C przez 48 h, a grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych w temperaturze 25°C przez 5 dni. Jednocześnie pojemniki z badanym materiałem pozostawiono do inkubacji (37°C, 24 h) w celu namnożenia mikroorganizmów i wykonania analizy jakościowej. Po namnożeniu materiał został naniesiony sterylną eżą na podłoża selektywne: Baird-Parker (Biomaxima), Cetrimide (Biomaxima), McConkey (BTL sp. z o.o.), Sabouraud z chloramfenikolem oraz na podłoża podstawowe TSA, które następnie inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 h. Na podłożach selektywnych wykonano kontrolę dodatnią wzrostu mikroorganizmów wzorcowych ATCC (ang. *american type culture collection*): dla podłoża McConkey – *Escherichia coli* (ATCC 35218), dla podłoża Baird-Parker – *Staphylococcus aureus* (ATCC

700699), dla podłoża Sabourauda *Candida albicans* (ATCC 10231), dla podłoża Cetrimide – *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) w celu porównania z nimi wzrostu mikroorganizmów pochodzących z próbek.

Barwienie metodą Grama

Barwienie metodą Grama wykonano za pomocą zestawu odczynników Biomaxima. Do barwienia wykorzystano czysty wzrost mikroorganizmów pochodzący z 24-godzinnej hodowli prowadzonej na podłożu TSA. Obserwację mikroorganizmów prowadzono pod mikroskopem Olympus BX40 w 1000-krotnym powiększeniu, przy zastosowaniu olejku immersyjnego.

Test na katalazę oraz koagulazę

Na podstawie wzrostu na podłożu selektywnym Baird-Parker oraz morfologii kolonii na podstawie barwienia metodą Grama wybrano kilka kolonii, które przesiano na podłoże TSA. Po 24-godzinnej inkubacji w temp. 37°C wykonano testy na katalazę oraz koagulazę. Test na katalazę wykonano poprzez umieszczenie pojedynczych kolonii w kropli wody utlenionej (3-proc. roztworze nadtlenu wodoru). Reakcję oceniano na podstawie obecności pęcherzyków tlenu – wynik dodatni (obecność katalazy) wskazywał na intensywne wydzielanie się gazu bezpośrednio po kontakcie z reagentem; brak reakcji oznaczał wynik ujemny. Test na koagulazę wykonano z użyciem zestawu Microgen Staph (Microgen Bioproducts) zgodnie z instrukcją producenta. Wynik dodatni stwierdzano na podstawie obecności aglutynacji (wyraźna ziarnistość lub tworzenie agregatów w mieszaninie bakterii z odczynnikiem), natomiast pozostanie mieszaniny jednorodną wskazywało na wynik ujemny.

Test na oksydazę

Na podstawie obecności wzrostu na podłożu selektywnym McConkeya wytypowano kolonie sugerujące przynależność do rodzaju *Enterobacteriaceae* (m.in. *Escherichia coli*). Kolonie o typowej morfologii dla bakterii fermentujących laktozę – różowe, gładkie, średniej wielkości – zostały przesiane na podłoże TSA. Po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C przeprowadzono test oksydazowy z użyciem odczynnika OXI-DASE Reagent (Biomerieux). Wynik dodatni oceniano na podstawie wystąpienia fioletowo-niebieskiego zabarwienia w ciągu 10–30 s; brak zmiany barwy oznaczał wynik ujemny.

Testy API (ang. *analytical profile index*)

Na podstawie wyników wcześniejszych testów biochemicznych (katalaza, koagulaza, oksydaza) oraz charakterystyki wzrostu na podłożach selektywnych (Baird-Parker, McConkey), wytypowano kolonie reprezentujące potencjalne bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne o zróżnicowanej aktywności enzymatycznej.

W przypadku bakterii, których wzrost i wygląd kolonii na podłożu Baird-Parker (czarne kolonie z jasną strefą przejaśnienia świadczą o aktywności lipolitycznej) oraz

dodatni wynik testu na katalazę i ewentualnie koagulazę sugerowały przynależność do rodzaju *Staphylococcus*, wykonano test API Staph (Biomerieux).

Dla mikroorganizmów rosnących na podłożu McConkey, u których stwierdzono różnice w fermentacji laktozy oraz wynik testu oksydazowego (ujemny lub dodatni), wykonano odpowiednio testy API E (dla Gram-ujemnych pałeczek fermentujących, np. *Enterobacteriaceae*) oraz API NE (dla pałeczek niefermentujących, np. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*).

Ankieta

Uzupełnieniem prowadzonych badań mikrobiologicznych była autorska ankieta w aplikacji Google Forms. Przeprowadzono ją w celu zebrania informacji na temat częstotliwości czyszczenia akcesoriów do makijażu, ich dezynfekcji oraz wymiany na nowe. Ankieta składała się z 12 pytań jednokrotnego lub wielokrotnego wyboru, natomiast 3 pytania wymagały krótkiej odpowiedzi. Ankietę wypełniły 204 osoby, w większości (ponad 97%) kobiety w przedziale wiekowym 18–24 lata (77,9%).

Wyniki i dyskusja

Analiza ilościowa i jakościowa

Badanie wykazało, że największe zanieczyszczenie mikrobiologiczne występowało w gąbeczce do makijażu – ogólna liczba bakterii wyniosła $1,41 \times 10^9$ jtk/g, a grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych $1,81 \times 10^6$ jtk/g. Najniższą liczbę drobnoustrojów stwierdzono w pędzlu do korektora – bakterie w liczbie 5×10^2 , a wzrostu grzybów nie zaobserwowano. Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawiono w tabeli 1.

Różnice w ilości mikroorganizmów znajdujących się w gąbeczce do makijażu i pędzlach mogą wynikać z ich zastosowania. Istotnym parametrem w określaniu właściwości kosmetyków jest ich aktywność wodna (a_w , ang. *water activity*). Woda niezwiązana ze składnikami kosmetyków jest biodostępna dla mikroorganizmów. Spadek aktywności wodnej spowalnia wzrost mikroorganizmów [Kerdudo i in. 2014]. Gąbki najczęściej używane są do nakładania produktów o formule płynnej bądź kremowej, natomiast pędzle do różnego rodzaju kosmetyków suchych lub sypkich – cieni do powiek, pudrów prasowanych, rozświetlaczy. Ze względu na swoją chłonność gąbki mogą również gromadzić dużą ilość wody podczas mycia i niedokładnie wysuszone stanowić idealne środowisko do rozwoju mikroorganizmów.

W analizie jakościowej wzrost na podłożu McConkey zaobserwowano w przypadku gąbeczki do makijażu. Wzrost w postaci różowych kolonii bez strefy precypitacji soli żółciowych, jak w przypadku szczepu wzorcowego *E.coli* (ATCC 35218), zakwalifikował mikroorganizmy do dalszej diagnostyki. Na podłożu Cetrimide również zaobserwowano wzrost tylko w przypadku próbek pochodzących z gąbeczki, nie był on jednak charakterystyczny dla *P. aeruginosa*, więc wykonano dalsze analizy w celu identyfikacji. Wzrost na podłożu Baird-Parker zaobserwowano w próbce gąbeczki oraz pędzla używanego do pudru. Ze względu na słaby wzrost w przypadku próbki pochodzącej z gąbeczki

oraz nietypowy wygląd kolonii dla pędzla zdecydowano o dalszej diagnostyce. W przypadku pędzla do korektora wzrost wystąpił tylko na podłożu TSA, z którego wybrano kolonie do identyfikacji. Nie zaobserwowano wzrostu na podłożu Sabourauda.

Tabela 1. Porównanie wyników analizy ilościowej mikroorganizmów w badanych próbkach z limitami mikrobiologicznymi drobnoustrojów mezofilnych w produktach kosmetycznych zgodnie z normą PN-EN ISO 17516:2014-11 Kosmetyki – Mikrobiologia – Limity Mikrobiologiczne

Aksesoria do makijażu	Ogólna liczba mikroorganizmów mezofilnych	Wynik (jtk/g)	Norma*	Limit
Gąbeczka	bakterie	$1,41 \times 10^9$	$\leq 1 \times 10^3$	przekroczony
	grzyby pleśniowe i drożdżopodobne	$1,81 \times 10^6$	$\leq 1 \times 10^3$	przekroczony
Pędzel do pudru	bakterie	$4,5 \times 10^3$	$\leq 1 \times 10^3$	przekroczony
	grzyby pleśniowe i drożdżopodobne	<10	$\leq 1 \times 10^3$	nieprzekroczony
Pędzel do korektora	bakterie	5×10^2	$\leq 1 \times 10^3$	nieprzekroczony
	grzyby pleśniowe i drożdżopodobne	<10	$\leq 1 \times 10^3$	nieprzekroczony

* W Polskiej Normie PN-EN ISO 17516:2014-11 wyróżnia się dwie kategorie kosmetyków. Do kategorii I zalicza się produkty przeznaczone dla dzieci poniżej 3 roku życia oraz te, które mają kontakt z oczami bądź błonami śluzowymi, natomiast do kategorii II wszystkie pozostałe kosmetyki. W tabeli podano normę dla produktów kategorii II. Dla kategorii I limit wynosi $\leq 1 \times 10^2$. Ze względu na fakt, iż norma dotyczy kosmetyków, a nie aplikatorów kosmetyków, trudno jest określić, do której z kategorii powinny być one zakwalifikowane, jednak należy mieć na uwadze, że gąbeczek, jak również różnego rodzaju pędzli można używać także w okolicy oczu czy ust

Barwienie Grama

Po przesianiu kolonii pochodzących z gąbeczki z podłoża Baird-Parker na podłoże TSA uzyskano wzrost dwóch typów kolonii – błyszczące, kremowe o gładkim brzegu i matowe o nieregularnym brzegu. Kolonie błyszczące w obrazie mikroskopowym były Gram-dodatnimi ziarenkowcami, natomiast matowe – Gram-dodatnimi laseczkami. Kolonie pochodzące z pędzla do pudru z podłoża Baird-Parker oraz z pędzla do korektora z podłoża TSA w obrazie mikroskopowym okazały się Gram-dodatnimi laseczkami.

Test na katalazę i koagulazę

Zidentyfikowane jako ziarenkowce kolonie poddano testowi na katalazę. W wyniku testu oznaczono je jako katalazo-dodatnie i koagulazo-ujemne.

Test na oksydazę

Wszystkie zbadane kolonie pochodzące z podłoża McConkey były oksydazo-ujemne i miały morfologię pałeczek Gram-ujemnych, co zostało potwierdzone barwieniem metodą Grama.

Z kolei kolonie z podłoża Cetrimide były oksydazo-dodatnie i również wykazywały obraz typowy dla pałeczek Gram-ujemnych.

Kolonie na podłożu Cetrimide były przezroczysto-kremowe, bez obecności zielonkawego lub fluorescencyjnego zabarwienia, które często towarzyszy wzrostowi bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, zwłaszcza *P. aeruginosa* i *P. fluorescens*.

Fluorescencja nie została oceniona z uwagi na brak lampy UV w laboratorium. Zapach nie był charakterystyczny – nie zaobserwowano woni typowej dla *Pseudomonas aeruginosa*.

Testy API

Wynik testu API Staph, wykonanego dla ziarenkowców Gram-dodatnich, pochodzących z gąbeczki wykazał, że jest to *Staphylococcus epidermidis*. *S. epidermidis* jest częścią naturalnej mikrobioty człowieka, występuje licznie na skórze i błonach śluzowych. W literaturze pojawia się wiele doniesień, iż ten mikroorganizm jest oportunistycznym patogenem, szczególnie niebezpiecznym dla osób starszych i o obniżonej odporności, wywołującym m.in. zapalenie wsierdza i układu moczowego, zakażenia ran pooperacyjnych czy sepsę. Niektóre szczepy wykazują oporność na wiele antybiotyków. Diagnostyka chorób wywołanych przez ten komensalny gatunek nierzadko jest bardzo trudna, ponieważ ze względu na jego powszechne występowanie w mikrobiomie człowieka może zostać pominięty przy ustalaniu właściwej przyczyny zakażenia [Burke i in. 2024].

Wyniki testu API E oraz API NE były niejednoznaczne i nie pozwoliły ustalić przynależności gatunkowej mikroorganizmów.

Wyniki analizy jakościowej są zgodne z Polską Normą dotyczącą limitów dla produktów kosmetycznych. Nie zaobserwowano wzrostu patogenów *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* oraz *C. albicans*.

Mycie i dezynfekcja

Kluczowym aspektem w kwestii utrzymania odpowiedniej higieny akcesoriów do makijażu jest regularność ich mycia i dezynfekcji, gdyż pozwala to na eliminację zanieczyszczeń i minimalizację rozwoju mikroorganizmów. Pomimo świadomości o konieczności czyszczenia gąbek oraz pędzli, wyniki przeprowadzonej ankiety wskazują, że 2,5% respondentów nie czyści akcesoriów wcale, a niecałe 16% osób myje je po każdym użyciu. Najczęstszą praktyką jest mycie akcesoriów do makijażu raz na kilka tygodni, co może sprzyjać rozwojowi patogenów. Ponad 43% ankietowanych zauważa negatywny wpływ brudnych aplikatorów do makijażu na stan swojej skóry.

Kolejnym równie ważnym aspektem jest dobór odpowiednich środków czyszczących, które powinny być dobrane odpowiednio do rodzaju akcesoriów, jak i charakteru zanieczyszczeń. Ponad 80% ankietowanych wskazało, że ich podstawową metodą czyszczenia jest stosowanie wody z mydłem, a niecałe 8% osób tylko opłukuje akcesoria wodą. W literaturze nie odnaleziono prac na temat skuteczności mycia akcesoriów do makijażu mydłem bez dodatkowych właściwości antybakteryjnych bądź przeznaczonymi do tego środkami do czyszczenia akcesoriów do makijażu. Dlatego nie można stwierdzić, czy taka metoda czyszczenia jest wystarczająco skuteczna i pozwala na bezpieczne użytkowanie akcesoriów do makijażu. Analiza wyników badań wykazała, że ponad 90% respondentów nie przeprowadza regularnej dezynfekcji akcesoriów do makijażu. Brak tego etapu w procesie czyszczenia, głównie w sytuacji, gdy akcesoria nie są regularnie wymieniane, może sprzyjać namnażaniu się mikroorganizmów. W badaniu dotyczącym skuteczności różnych metod dezynfekcji aplikatorów wielokrotnego użytku do makijażu stwierdzono, że 70-proc. etanol skutecznie eliminował 100% wzrostu bakterii, podczas gdy mydło bakteriobójcze znacząco redukowało liczbę kolonii bakteryjnych [Załęcki i in. 2021].

Respondenci odpowiedzieli również na pytanie dotyczące sposobu przechowywania swoich akcesoriów. Ponad 40% osób odpowiedziało, że umieszcza je w różnego rodzaju zamkniętych przestrzeniach, takich jak kosmetyczki, szuflady lub pudełka. Aby się namnażać, bakterie potrzebują odpowiednich warunków środowiska, m.in. temperatury, pH oraz wilgotności. Użytkownicy akcesoriów mogą często nieświadomie zapewnić to mikroorganizmom. Sposób przechowywania może mieć bardzo duży wpływ na zanieczyszczenie mikrobiologiczne aplikatorów. Schowanie gąbeczek czy pędzli po wykonanym makijażu do szafki zapewni wizualne odczucie czystej przestrzeni, jednak szczelnie zamknięte miejsca z ograniczonym przepływem powietrza i wysokim poziomem wilgotności tworzą idealne warunki do rozwoju mikroorganizmów. Tych zanieczyszczeń nie da się zauważyć gołym okiem i nieświadomy konsument może narazić swoją skórę na działanie patogenów [Qiu i in. 2022].

Wymiana akcesoriów do makijażu – nawyki i deklarowane praktyki

Na opakowaniach nowych gąbek bądź pędzli producenci z reguły nie podają informacji na temat sugerowanej częstotliwości ich wymiany. Odpowiednio częsta wymiana akcesoriów może mieć istotny wpływ na higienę osobistą użytkowników. Źródła internetowe podają, że gąbeczki warto wymieniać co ok. 3 miesiące ze względu na utratę sprężystości, szorstkość i wzrost chłonności, co prowadzi do strat kosztownych kosmetyków do makijażu [Beautyblender 2025]. Mimo to wiele użytkowników nie stosuje się do tych zaleceń. Analiza wyników pokazuje, że większość osób, które odpowiedziały na ankietę, zdaje sobie sprawę z negatywnego wpływu używania zanieczyszczonych akcesoriów, ale pomimo tej świadomości ponad 10% badanych wymienia gąbeczkę dopiero, gdy ta ulegnie zniszczeniu, a tylko ok. 2,5% badanych robi to co tydzień lub co 2 tygodnie.

Wnioski

Badania wykazały, że wszystkie wykorzystane do analiz akcesoria były zanieczyszczone. Należy zwracać szczególną uwagę na sposób czyszczenia akcesoriów do makijażu i nie pomijać tego etapu w codziennej pielęgnacji. Mikroorganizmy wyizolowane z gąbeczki mogą być potencjalnie chorobotwórcze. Niewielka liczba dostępnych źródeł w literaturze na temat poprawnego użytkowania i czystości mikrobiologicznej akcesoriów kosmetycznych stwarza potrzebę prowadzenia dalszych badań w tym zakresie i zwiększania świadomości konsumentów na temat zagrożeń płynących z zaniedbania higieny w tym obszarze.

Bibliografia

- Beautyblender, 2025. 7 signs it's time to replace your beautyblender. Dostępne na: <https://beautyblender.com/blogs/beauty-101/when-to-replace-your-beautyblender> [dostęp: 4.04.2025].
- Burke Ó., Zeden M.S., O'Gara J.P., 2024. The pathogenicity and virulence of the opportunistic pathogen *Staphylococcus epidermidis*. Virulence 15(1), 2359483, <https://doi.org/10.1080/21505594.2024.2359483>.
- Enemuor S., Ojih M., Isah S., Oguntibeju O., 2013. Evaluation of bacterial and fungal contamination in hairdressing and beauty salons. Afr. J. Microbiol. Res. 7(14), 1222–1225, <https://doi.org/10.5897/ajmr12.917>.
- Grice E.A., Kong H.H., Renaud G., Young A.C., Bouffard G.G., Blakesley R.W., Wolfsberg T.G., Turner M.L., Segre J.A., 2008. A diversity profile of the human skin microbiota. Genome Res. 18(7), 1043–1050, <https://doi.org/10.1101/gr.075549.107>.
- Kerdudo A., Fontaine-Vive F., Dingas A., Faure C., Fernandez X., 2014. Optimization of cosmetic preservation: water activity reduction. Int. J. Cosmet. Sci. 37(1), 31–40, <https://doi.org/10.1111/ics.12164>.
- PN-EN ISO 16212:2017-08. Kosmetyki – Mikrobiologia – Oznaczanie liczby drożdży i pleśni.
- PN-EN ISO 17516:2014-11. Kosmetyki – Mikrobiologia – Limity Mikrobiologiczne.
- PN-EN ISO 18416:2016-01. Kosmetyki – Mikrobiologia – Wykrywanie obecności *Candida albicans*.
- PN-EN ISO 21148:2017-07. Kosmetyki – Mikrobiologia – Ogólne wytyczne badań mikrobiologicznych.
- PN-EN ISO 21149:2017-07. Kosmetyki – Mikrobiologia – Zliczanie i wykrywanie mezofilnych bakterii tlenowych.
- PN-EN ISO 21150:2016-01. Kosmetyki – Mikrobiologia – Wykrywanie obecności *Escherichia coli*.
- PN-EN ISO 22717:2016-01. Kosmetyki – Mikrobiologia – Wykrywanie obecności *Pseudomonas aeruginosa*.
- PN-EN ISO 22718:2016-01. Mikrobiologia – Wykrywanie obecności *Staphylococcus aureus*.
- Sedlewicz L.B., 2005. Cosmetic preservatives: friend or foe? SKINmed 4(2), 98–100, <https://doi.org/10.1101/gr.075549.10710.1111/j.1540-9740.2005.03965.x>.

- Qiu Y., Zhou Y., Chang Y., Liang X., Zhang H., Lin X., Qing K., Zhou X., Luo Z., 2022. The effects of ventilation, humidity, and temperature on bacterial growth and bacterial genera distribution. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 19(22), 15345, <https://doi.org/10.3390/ijerph192215345>.
- Witkowski J.A., Parish L.C., 2001. You've come a long way baby: a history of cosmetic lead toxicity. *Clin. Dermatol.* 19, 367–370, [https://doi.org/10.1016/S0738-081X\(01\)00196-1](https://doi.org/10.1016/S0738-081X(01)00196-1).
- Załęcki P., Twardowska J., Nowicka D., Andrzejewski W., 2021. Effectiveness of the Disinfection of reusable make-up applicators-initial experiences. *J. Cosmet. Sci.* 72(2), 163–171.

Teraźniejszość, przyszłość i szanse dla bakteriofagów w przemyśle spożywczym

Present, future and potential for bacteriophages in food industry

Wstęp

Bezpieczeństwo żywności oraz rosnące zagrożenie ze strony patogenów bakteryjnych stanowią kluczowe wyzwania dla współczesnego przemysłu spożywczego. Konwencjonalne metody konserwacji, takie jak obróbka termiczna, środki chemiczne czy antybiotyki, mogą prowadzić do utraty wartości odżywczych, negatywnie wpływać na jakość sensoryczną produktów oraz przyczyniać się do narastania oporności bakterii na antybiotyki. W tym kontekście bakteriofagi zyskują coraz większe zainteresowanie jako naturalne i wysoce specyficzne narzędzie kontroli mikrobiologicznej w łańcuchu żywnościowym [Żaczek i in. 2015, Gildea i in. 2022]. Fagi wykazują obiecujące zastosowanie w różnych aspektach przemysłu spożywczego – od biokontroli patogenów w surowcach i produktach gotowych, poprzez ich wykorzystanie w aktywnych opakowaniach, aż po potencjalne zastosowanie w rolnictwie jako alternatywa dla środków ochrony roślin [Żaczek i in. 2015, Vonasek i in. 2018, Wagh i in. 2023].

Mimo ich potencjału, skuteczność fagów w przemyśle spożywczym napotyka pewne wyzwania, w tym konieczność optymalizacji metod aplikacji, stabilności w różnych warunkach środowiskowych oraz ryzyko oporności bakterii na fagoterapię. Rozwiązaniem może być enkapsulacja fagów w biopolimerowych matrycach opakowaniowych, co pozwala na ich kontrolowane uwalnianie i wydłużenie aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Ponadto nowoczesne strategie obejmują inżynierię fagów oraz ich synergistyczne połączenie z innymi naturalnymi środkami przeciwdrobnoustrojowymi, np. kwasami organicznymi czy olejkami eterycznymi [Akhtar i in. 2017, Alves i in. 2019, López i in. 2021, Maung i in. 2024].

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie aktualnych osiągnięć w zakresie zastosowania bakteriofagów w przemyśle spożywczym oraz identyfikacja kluczowych wyzwań związanych z ich implementacją. Rozwój technologii fagowych stanowi obiecującą ścieżkę dla poprawy bezpieczeństwa żywności, redukcji strat spowodowanych skażeniami mikrobiologicznymi oraz ograniczenia stosowania antybiotyków w produkcji żywności [Żaczek i in. 2015, Maung i in. 2024, Chahar i in. 2025].

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów „Biom”, maciejkozakiewicz47@gmail.com

Bakteriofagi w produkcji rolniczej

Bakteriofagi, jako precyzyjne narzędzia zwalczania bakterii chorobotwórczych, zyskują coraz większe znaczenie w rolnictwie i przemyśle spożywczym. Ich kluczowe zalety obejmują wysoką selektywność działania, brak wpływu na smak, teksturę oraz wartość odżywczą produktów, a także bezpieczeństwo dla ludzi i środowiska [Żaczek i in. 2015]. Sprawcami poważnych chorób roślin uprawnych są bakterie z rodzaju *Xanthomonas*. Charakteryzują się one zdolnością do wytwarzania egzopolisacharydu – gumy ksantanowej [McNeil i in. 2001, Balogh i in. 2008]. Wśród najbardziej problematycznych patogenów z tego rodzaju wyróżnia się: *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* oraz *X. axonopodis* pv. *citrumelo*. Rak cytrusowy ze względu na swoją łatwość rozprzestrzeniania się oraz trudności w zwalczaniu tradycyjnymi metodami stanowi jedno z najważniejszych wyzwań fitosanitarnych w sadownictwie cytrusowym [Balogh i in. 2008]. Ze względu na trudności w zwalczaniu patogenów z rodzaju *Xanthomonas*, w tym sprawców raka cytrusowego, coraz większe zainteresowanie budzą alternatywne metody ochrony roślin takie jak bakteriofagi, które znalazły zastosowanie m.in. w ograniczaniu infekcji nektarynek. Opryskiwanie tych roślin bakteriofagami w godzinach porannych lub wieczornych minimalizuje ich degradację spowodowaną promieniowaniem UV [Balogh i in. 2008, Żaczek i in. 2015]. Jednym z kluczowych wyzwań w stosowaniu terapii fagowych jest oporność bakterii, wynikająca m.in. z modyfikacji receptorów lub mechanizmów CRISPR-Cas [Jaglan i in. 2024]. Dlatego rekomenduje się stosowanie koktajli fagowych o szerokim spektrum działania oraz ich łączenie z innymi metodami ochrony roślin takimi jak aktywatory odporności roślin. Przykładem skuteczności tej strategii jest fag F8, którego zastosowanie na nektarynkach zakażonych *X. campestris* zmniejszyło rozwój choroby o 92% w warunkach kontrolowanych [Balogh i in. 2008, Żaczek i in. 2015, Jaglan i in. 2024].

Badania Balogh i in. [2008] przeprowadzone na drzewkach grejpfruta odm. Duncan wykazały, że koktajle fagowe (10^8 – 10^9 Plaque Forming Units (PFU)/mL) aplikowane w wodzie redukowały objawy infekcji skuteczniej niż te podawane w roztworze mleka (0,75%), pomimo krótszej przeżywalności fagów na powierzchni liści. W Argentynie stosowanie bakteriofagów (dwa razy w tygodniu, 10^6 PFU/ml) istotnie zmniejszało liczbę zmian chorobowych ($P < 0,001$), ale było mniej efektywne niż stosowanie preparatów miedziowych. Głównym ograniczeniem okazało się promieniowanie UV, które znacząco obniżało przeżywalność fagów na powierzchni roślin. W celu zwiększenia ich stabilności testowano formułacje ochronne: mleko i mleko z dodatkiem sacharozy, jednak ich zastosowanie ograniczało skuteczność fagów poprzez utrudnioną interakcję z patogenem [Balogh i in. 2008].

Nawozy organiczne dostarczają glebie cennych składników odżywczych, ale jednocześnie mogą wprowadzać śladowe ilości antybiotyków oraz geny oporności. Zastosowanie bakteriofagów w glebie pozwala na selektywną eliminację patogennych bakterii, bez wpływu na korzystne mikroorganizmy – jak te z grupy *Rhizobia* – które odgrywają kluczową rolę w wiązaniu azotu atmosferycznego [Rathod i in. 2024].

W badaniach nad zakażeniami drobiu przez *Salmonella* spp. zastosowanie koktajli fagowych zredukowało liczbę bakterii w jelitach kurcząt o 2,19–2,53 log₁₀ Colony Forming Units (CFU)/g. W przypadku *Escherichia coli* – aerozolowe podanie bakteriofagów

obniżyło śmiertelność zakażonych kurcząt z 50% do 20%. W przypadku infekcji *Clostridium perfringens*, główny czynnik etiologiczny martwiczego zapalenia jelit u drobiu, koktajl fagowy INT-401 zmniejszył śmiertelność aż o 92% [Gildea i in. 2022]. Wyniki badań podkreślają potencjał bakteriofagów jako skutecznej alternatywy dla antybiotyków w profilaktyce i terapii zakażeń bakteryjnych u drobiu.

Produkty zwierzęce są istotnym źródłem zagrożeń mikrobiologicznych dla zdrowia publicznego. *Listeria monocytogenes*, wywołująca listeriozę, często występuje w niepasteryzowanym mleku. Jej eliminacja jest kosztowna ze względu na odporność na zasolenie, suszenie i zdolność tworzenia biofilmów [Elaffy i in. 2022]. Bakteriofagi razem z olejkami eterycznymi, stanowią obiecującą alternatywę dla tradycyjnych metod eliminacji patogenów [Akhtar i in. 2017]. Olejki eteryczne wykazują silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe [Van Harrel i in. 2017, Paudel i in. 2019]. Dodatkowo posiadają status GRAS (ang. *generally recognized as safe*), co potwierdza ich bezpieczeństwo i skuteczność w dekontaminacji żywności [Cui i in. 2016, Somrani i in. 2020, dos Santos i in. 2022].

Zastosowanie bakteriofagów w przemyśle

W przemyśle mleczarskim bakteriofagi można stosować po pasteryzacji lub podczas fermentacji, skutecznie ograniczając namnażanie *L. monocytogenes*, minimalizując ryzyko skażenia produktów. Aby ocenić skuteczność tej strategii, Maung i in. [2024] przeprowadzili badanie dotyczące wpływu bakteriofagów i olejku cynamonowego na przeżywalność *L. monocytogenes* w pasteryzowanym mleku w różnych warunkach temperaturowych (4°C i 30°C). Do zanieczyszczonych próbek wprowadzono bakteriofagi (vB_LmoS-PLM1–PLM9) wyizolowane z różnych części tuszy kurczaka. Najwyższą aktywność lityczną wykazał fag vB_LmoS-PLM9. Następnie zastosowano olejki cynamonowe pochodzące z *Cinnamomum cassia* (C.c) oraz *C. burmannii* (C.b), a także ich mieszaninę. Wykorzystanie samego faga vB_LmoS-PLM9 (ang. *multiplicity of infection*, MOI = 100) zmniejszyło liczbę żywych komórek *L. monocytogenes* o 1,4 log₁₀ po 2 h, jednak po 1 dniu liczba komórek powróciła do poziomu kontrolnego. Z kolei w próbkach z dodatkiem olejków cynamonowych (0,125%) nie zaobserwowano namnażania bakterii przez 24 h. Mieszanina olejków i bakteriofagów doprowadziła do redukcji liczby komórek o 2,3 i 1,5 log₁₀ po 2 h, jednocześnie zapobiegając ponownemu namnażaniu się bakterii. W temperaturze 4°C, liczba żywych komórek *L. monocytogenes* zmniejszyła się o 1 log po 1 dniu i nie wzrosła przy zastosowaniu samych bakteriofagów (MOI = 100). Olejki cynamonowe (0,125%) skutecznie hamowały namnażanie bakterii przez 168 h. Połączenie bakteriofagów (MOI = 100) i olejków cynamonowych (0,125% każdego) sukcesywnie redukowało liczbę żywych komórek *L. monocytogenes*, osiągając poziom poniżej granicy wykrywalności po 4–5 dniach.

Wyniki wskazują, że synergiczne działanie bakteriofagów i olejku cynamonowego stanowi skuteczną strategię eliminacji *L. monocytogenes*, szczególnie w warunkach chłodniczych, co może znaleźć praktyczne zastosowanie w przemyśle mleczarskim [Maung i in. 2024].

Zastosowanie bakteriofagów w przemyśle mleczarskim nie ogranicza się tylko do mleka. Mogą być one wykorzystywane również w produkcji serów, gdzie enterotoksyczne szczepy *E. coli* (ETEC) stanowią, podobnie jak *L. monocytogenes*, poważne zagrożenie mikrobiologiczne [Maung i in. 2024, Chahar i in. 2025].

W badaniach nad nowym bakteriofagiem EC BD, wyizolowanym z odchodów bydłych, Chahar i in. [2025] wykazali jego wysoką skuteczność w redukcji *E. coli* ETEC w różnych produktach mlecznych. Oceniano jego aktywność lityczną wobec szczepu H10407. Wzrost liczby bakterii w próbkach po 6 dniach inkubacji w 4°C wyniósł $5,1 \pm 0,06 \log_{10}$ CFU/mL. Zastosowanie faga EC BD skutkowało redukcją liczby komórek w zależności od wartości MOI, przy czym najmniejszą redukcję o $1,1 \pm 0,05 \log_{10}$ CFU/mL zaobserwowano przy MOI = 10, a największą o $5,1 \pm 0,09 \log_{10}$ CFU/mL przy MOI = 100.

Podobne wyniki uzyskano w próbkach sera, gdzie redukcja wyniosła odpowiednio o $0,9 \pm 0,05$, oraz o $5,2 \pm 0,09 \log_{10}$ CFU/mL, co wskazuje na całkowite zahamowanie wzrostu bakterii przy MOI = 100 zarówno w mleku, jak i w serze.

Fag EC BD nie wykazał właściwości toksycznych, co potwierdza jego bezpieczeństwo jako potencjalnego środka konserwującego, jednocześnie wykazywał wysoką trwałość w warunkach chłodniczych, co potwierdza jego przydatność w ochronie produktów mlecznych [Chahar i in. 2025].

Podobnie jak produkty mleczne, jajka stanowią kluczowy element diety, jednak są podatne na skażenie patogenami. Chen i in. [2025] ocenili skuteczność bakteriofaga Salmp-p7, wyizolowanego ze ścieków hodowlanych, w eliminacji *Salmonella enteritidis* w płynie jajecznym. Wprowadzenie faga do skażonych próbek przechowywanych w 4°C i 25°C wykazało znaczącą redukcję liczby bakterii: w 4°C liczba *S. enteritidis* stopniowo malała, osiągając maksymalny spadek o $4,4 \log_{10}$ CFU/mL po 12 h, w 25°C redukcja również była istotna w porównaniu do próby kontrolnej, osiągając maksimum $1,3 \log_{10}$ CFU/mL po 12 h. Bakteriofag Salmp-p7 w zakresie temperatur 30–50°C zachował pełną aktywność, tracąc jedynie 0,85 log przy 60°C, natomiast powyżej 70°C ulegał dezaktywacji. Skuteczność faga pozostawała niezmienną w szerokim zakresie pH 4–12, podczas gdy wartości pH 2–3 oraz pH 13 prowadziły do utraty jego aktywności. Odporność faga na wahania temperatury i pH potwierdza jego przydatność w przemyśle. Może służyć jako skuteczna metoda kontroli mikrobiologicznej w produkcji jaj, bez utraty skuteczności w standardowych warunkach przetwórstwa [Chen i in. 2025].

Wykorzystanie bakteriofagów w opakowaniach żywności

Dostarczanie bakteriofagów w opakowaniach żywności może odbywać się poprzez bezpośrednią aplikację lub unieruchomienie fagów w materiałach opakowaniowych, co pozwala na ich kontrolowane uwalnianie. W przypadku metod bezpośrednich, takich jak natryskiwanie lub zanurzanie produktów spożywczych w roztworach fagowych, konieczne jest stosowanie wysokich stężeń wirusów w celu osiągnięcia skuteczności przeciwdrobnoustrojowej [Ackermann 2007]. Aby wydłużyć działanie fagów i ograniczyć

konieczność ich wielokrotnej aplikacji, stosuje się metody ich unieruchamiania w materiałach opakowaniowych, co pozwala na stopniowe uwalnianie wirionów. Do najczęściej stosowanych technik unieruchamiania bakteriofagów należą: odlewanie cienkich filmów – fagi wprowadza się do roztworów biopolimerowych, takich jak alginian sodu czy białko serwatkowe, a następnie suszy, tworząc cienkie warstwy aktywne [Vonasek i in. 2018]; metoda zanurzania lub natryskiwania – produkty spożywcze są pokrywane roztworami fagowymi, które po wyschnięciu tworzą ochronne warstwy przeciwdrobnoustrojowe [Sezer i in. 2022]; ekstruzja – bakteriofagi są wbudowywane w polimery termoplastyczne, np. polikaprolakton (PCL), co umożliwia ich integrację z opakowaniami w trakcie przetwarzania w stanie stopionym [Choi i in. 2021]; technika *layer-by-layer* (LbL) – sekwencyjne nanoszenie warstw biopolimerów i fagów zwiększa stabilność strukturalną i funkcjonalność powłok przeciwdrobnoustrojowych [Wagh i in. 2023].

Badania wskazują, że kinetyka uwalniania fagów w systemach żywnościowych jest znacznie wolniejsza niż w środowiskach wodnych, a w niektórych przypadkach jadalne powłoki mogą całkowicie hamować ich aktywność [López de Dicastillo i in. 2021]. Owoce o niskim pH takie jak truskawki (pH 3,5) obniżały liczebność fagów o 1,1 log₁₀ PFU/g [Sezer i in. 2022]. Filmy z alginianu sodu uwalniały 5,5 log₁₀ PFU/mL w buforze w ciągu 3 min, ale w przypadku mięsa uwalniało się zaledwie 0,03% wirionów, co potwierdza ograniczoną dyfuzję fagów w matrycach stałych [Alves i in. 2019].

Enkapsulacja bakteriofagów stanowi skuteczną metodę ochrony fagów przed czynnikami środowiskowymi, takimi jak temperatura, pH czy enzymy trawienne. Badania nad skutecznymi metodami enkapsulacji prowadzili Korchei i Kadla [2013]. Badacze wykazali, że fagi T4 enkapsulowane w alginianie zachowywały żywotność przez kilka tygodni w temperaturze 4°C. Ma i in. [2012] opracowali mikrosfery z węgla wapnia i alginianu – system ochronny dla faga K, który ograniczał degradację wirionów w warunkach kwaśnego pH. W przypadku pH 2,5 enkapsulowane fagi wykazywały jedynie 0,17 log₁₀ redukcji żywotności po 2 h, podczas gdy fagi nieenkapsulowane traciły aż 2,4 log₁₀. Kamali i in. [2022] opracowali metodę enkapsulacji fagów w liposomach i w chitozanie. Autorzy dowiedli, że filmy chitozanowe zawierające fagi w liposomach przyczyniły się do redukcji *E. coli* O157:H7 w wołowinie o 57,66%, co potwierdza skuteczność tej technologii w poprawie bezpieczeństwa żywności.

Podsumowanie

Bakteriofagi stanowią obiecujące narzędzie w walce z patogenami bakteryjnymi w przemyśle spożywczym jako alternatywa dla tradycyjnych metod konserwacji i przeciwdrobnoustrojowych strategii ochrony żywności. Ich specyficzność działania, naturalne pochodzenie oraz możliwość integracji z nowoczesnymi technologiami, takimi jak aktywne opakowania, enkapsulacja czy inżynieria fagowa, czynią je atrakcyjnym rozwiązaniem w kontekście poprawy bezpieczeństwa żywności.

Mimo licznych zalet, skuteczność bakteriofagów w aplikacjach spożywczych wiąże się z wyzwaniami, takimi jak ich stabilność w zmiennych warunkach środowiskowych,

ograniczona zdolność penetracji matryc żywnościowych czy możliwość rozwoju oporności bakterii. Właściwy dobór metod aplikacji, nośników biopolimerowych oraz strategii synergistycznych, np. z kwasami organicznymi czy olejkami eterycznymi, może znacząco zwiększyć ich efektywność.

W przyszłości dalszy rozwój technologii enkapsulacji oraz inżynierii fagowej pozwoli na poprawę stabilności i skuteczności bakteriofagów w przemyśle spożywczym. Ponadto standaryzacja metod ich wdrażania oraz uregulowania prawne umożliwią szersze wykorzystanie fagów jako bezpiecznych i ekologicznych środków kontroli patogenów w produkcji i przechowywaniu żywności.

Bibliografia

- Ackermann, H.W., 2007. 5500 phages examined in the electron microscope. *Arch. Virol.* 152(2), 227–243, <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0849-1>.
- Akhtar M., Viazis S., Christensen K., Kraemer P., Diez-Gonzalez F., 2017. Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes*. *Food Cont.* 75, 108–115, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.035>.
- Alves D., Marques A., Milho C., Costa M.J., Pastrana L.M., Cerqueira M.A., Sillankorva S.M., 2019. Bacteriophage ΦIBB-PF7A loaded on sodium alginate-based films to prevent microbial meat spoilage. *Int. J. Food Microbiol.* 291, 121–127, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.020>.
- Balogh B., Canteros B.I., Stall R.E., Jones J.B., 2008. Control of citrus canker and citrus bacterial spot with bacteriophages. *Plant Dis.* 92(7), 1048–1052, <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-7-1048>.
- Chahar M., Rana A., Gupta V.K., Singh A., Singh N., 2025. Application of a novel lytic phage to control enterotoxigenic *Escherichia coli* in dairy food matrices. *Int. J. Food Microbiol.* 426, 3–6, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110924>.
- Chen M., Yu T., Cao X., Pu J., Wang D., Deng H., 2025. Isolation and characterization of *Salmonella enteritidis* bacteriophage Salmp-p7 isolated from slaughterhouse effluent and its application in food. *Arch. Microbiol.* 207(7), 3–12, <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04206-x>.
- Choi I., Yoo D.S., Chang Y., Kim S.Y., Han J., 2021. Polycaprolactone film functionalized with bacteriophage T4 promotes antibacterial activity of food packaging toward *Escherichia coli*. *Food Chem.* 346, 128883, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128883>.
- Cui H.Y., Zhou H., Lin L., Zhao C.T., Zhang X.J., Xiao Z.H., Li C.Z., 2016. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil and its application in milk. *J. Anim. Plant Sci.* 26, 541–582.
- Elafify M., Elabbasy M.T., Mohamed R.S., Mohamed E.A., Saad Eldin W.F., Darwish W.S., El-drehny E.I., Shata R.R., 2022. Prevalence of multidrug-resistant *Listeria monocytogenes* in dairy products with reduction trials using rosmarinic acid, ascorbic acid, clove, and thyme essential oils. *J. Food Qual.* 2022, 1–12, <https://doi.org/10.1155/2022/009227>.
- Gildea L., Ayariga J.A., Robertson B.K., 2022. Bacteriophages as biocontrol agents in livestock food production. *Microorganisms* 10(11), 2126, <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112126>.
- Jaglan AB, Verma R, Vashisth M, Virmani N, Bera BC, Vaid RK, Anand T. A novel lytic phage infecting MDR *Salmonella enterica* and its application as effective food biocontrol. *Front Microbiol.* 2024 Aug 15;15:1387830. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1387830

- Kamali S., Yavarmanesh M., Habibi Najafi M.B., Koocheki A., 2022. Development of whey protein concentrate/pullulan composite films containing bacteriophage A511. *Food Packag. Shelf Life* 33, 100902, <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100902>.
- Korchei R., Kadla J., 2013. Incorporation of T4 bacteriophage in electrospun fibres. *J. Appl. Microbiol.* 114(5), 1425–1434, <https://doi.org/10.1111/jam.12158>.
- López de Dicastillo C., Settler-Ramírez L., Gavara R., Hernández-Muñoz P., López Carballo G., 2021. Development of biodegradable films loaded with phages with antilisterial properties. *Polymers* 13(3), 327, <https://doi.org/10.3390/polym13030327>.
- Lu Y.T., Ma Y., Wong C.W., Wang S., 2022. Characterization and application of bacteriophages for the biocontrol of shiga-toxin producing *Escherichia coli* in Romaine lettuce. *Food Control* 138, 109109, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109109>.
- Ma Y., Pacan J.C., Wang Q., Sabour P.M., Huang X., Xu Y., 2012. Enhanced alginate microspheres as a means of oral delivery of bacteriophage for reducing *Staphylococcus aureus* intestinal carriage. *Food Hydrocoll.* 26(2), 434–440, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.008>.
- Maung A.T., Abdelaziz M.N.S., Mohammadi T.N., Lwin S.Z.C., El-Telbany M., Zhao J., Wang C., Lin Y., Shen C., Zayda M., Masuda Y., Honjoh K., Miyamoto T., 2024. Single and combined application of bacteriophage and cinnamon oils against pathogenic *Listeria monocytogenes* in milk and smoked salmon. *Int. J. Food Microbiol.* 421, 1–5, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110797>.
- McNeil D., Romero S., Kandula J., Stark C., Stewart A., Larsen S., 2001. Bacteriophages: a potential biocontrol agent against walnut blight (*Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*). *N. Z. Plant Prot.* 54, 220–224, <https://doi.org/10.30843/nzpp.2001.54.3743>.
- Paudel S.K., Bhargava K., Kotturi H., 2019. Antimicrobial activity of cinnamon oil nanoemulsion against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on melons. *LWT-Food Sci. Technol.* 111, 682–687, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.087>.
- Rathod V., Banerjee R., 2024. Microbial Bioremediation of heavy metals in industrial effluents. *Indian J. Microbiol.* 64, 1–12, <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01204-x>.
- dos Santos I.R., Mia A., Martin I., Gottardo F.M., Rodriguez L.B., Borges K.A., Furuta T.Q., Cordoba J.J., 2022. Antimicrobial activity of essential oils and natural plant extracts against *Listeria monocytogenes* in a dry-cured ham-based model. *J. Sci. Food Agric.* 102, 1729–1735, <https://doi.org/10.1002/jsfa.11475>.
- Sezer B., Tayyarcı E.K., Boyacı I.H., 2022. The use of bacteriophage-based edible coatings for the biocontrol of *Salmonella* in Strawberries. *Food Control* 135, 108812.
- Somrani M., Inglis M.C., Debbah H., Absil F., Palop A., 2020. Garlic, onion, and cinnamon essential oil antibacterial effect against *Listeria monocytogenes*. *Foods* 9(5), 567, <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/5/567>.
- Van Harel S., Ross K., Devlieghere F., Samper I., 2017. Combined use of cinnamon essential oil and MAP/vacuum packaging to increase the microbial and sensorial shelf life of lean pork and salmon. *Food Packag. Shelf Life* 12, 51–58, <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.02.004>.
- Vonasek E.L., Choi A.H., Sanchez J., Nitin N., 2018. Incorporating phage therapy into WPI dip coatings for applications on fresh whole and cut fruit and vegetable surfaces. *J. Food Sci.* 83(7), 1871–1879, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14189>.
- Wagh R.V., Priyadarshi R., Rhim J.W., 2023. Novel bacteriophage-based food packaging: an innovative food safety approach. *Coatings* 13(3), 609, <https://doi.org/10.3390/coatings13030609>.
- Żaczek M., Weber-Dąbrowska B., Górski A., 2015. Phages in the global fruit and vegetable industry. *J. Appl. Microbiol.* 118(3), 537–556, <https://doi.org/10.1111/jam.12700>.

Zastosowanie metody Six Sigma jako narzędzia zarządzania jakością w optymalizacji procesów produkcyjnych

Using the Six Sigma method as a quality management instrument
in optimizing production processes

Wstęp

W XXI w. produkcja staje w obliczu wyzwań, które wynikają z rosnących wymagań i oczekiwań klientów. Doskonalenie systemów produkcyjnych jest kluczowe dla osiągnięcia lepszych wyników ekonomicznych, jak i zwiększenia konkurencyjności. Konsument oczekuje wysokiej jakości oraz bardziej spersonalizowanych produktów. Przedsiębiorstwa są więc zmuszone do wytwarzania produktów o wyższej jakości przy jednoczesnym obniżeniu kosztów i skróceniu czasu produkcji, co generuje presję na szybsze przystosowanie do dynamicznych zmian rynkowych oraz optymalizacji wydatków. W rezultacie firmy poszukują innowacyjnych metod zarządzania jakością oraz ciągłego doskonalenia procesów produkcyjnych. Natomiast problemy występujące w różnych procesach mają zróżnicowany charakter i mogą obejmować: przestoje maszyn, wzrost wadliwości czy nawet trudności w spełnieniu wymagań klienta. W związku z występującymi błędami i problemami w procesie produkcyjnym, skuteczne staje się więc identyfikowanie przyczyn źródła problemu i ich eliminowanie. Zatem koncepcja Six Sigma zyskuje na znaczeniu w przedsiębiorstwach jako podejście, które pomaga w minimalizowaniu marnotrawstwa, skutecznym rozwiązywaniu problemów, jak również tworzeniu wartości dla klienta.

Six Sigma jest metodą zarządzania jakością koncentrującą się na pomiarze skuteczności działań oraz wzroście efektywności. Metoda została opracowana w latach 90. XX w. przez firmę Motorola, której prezesem wówczas był Bob Gavin. Gavin postawił sobie za cel przezwyciężenie kryzysu swojej firmy, spowodowanego konkurencją ze strony nowych japońskich produktów. Jego głównym zamiarem było podniesienie poziomu jakości oferowanych przez Motorolę produktów i usług, co miało skutkować przewagą nad konkurencją.

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Studenckie Koło Naukowe Zarządzania i Ekonomii

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Inżynierii Produkcji, Katedra Energetyki i Środków Transportu, Zakład Logistyki i Zarządzania Przedsiębiorstwem, emilia.osmolska@up.lublin.pl

³ Politechnika Lubelska, Wydział Mechaniczny, Katedra Informatyzacji i Robotyzacji Produkcji

Koncepcja Six Sigma jest związana z TQM (ang. *total quality management*). Jej celem jest poprawienie wyników finansowych poprzez planowanie, kontrolowanie i analizowanie przebiegu pracy w sposób, który zminimalizuje zużycie zasobów i zwiększy zadowolenie klientów. W metodzie tej stosuje się wiele narzędzi statystycznych oraz biznesowych. Opiera się na sześciu zasadach, tj.: orientacja na klienta, procesowe podejście do zarządzania i usprawnień, proaktywno-dynamiczny styl zarządzania, współpraca bez barier oraz ukierunkowanie na perfekcję i ograniczenie błędów. Six Sigma jest silnie związana z redukcją zmienności procesów, dążąc do stanu, gdzie prawdopodobieństwo wystąpienia wad jest niskie [Gollinger-Trajako i Podsiadło 2012, Ingaldi 2019].

Six Sigma w kontekście produkcji

Metoda Six Sigma skupia się na danych statystycznych i ściśle zdefiniowanych procesach produkcyjnych, co umożliwia osiągnięcie wysokiej jakości produktów przy obniżeniu kosztów produkcji. Głównym założeniem metody jest dążenie do osiągnięcia poziomu 3,4 defektów na milion możliwości (DPMO, z ang. *defects per million opportunities*), co odpowiada poziomowi sigma sześć. Oznacza to, że procesy są zminimalizowane do takiego stopnia, iż prawdopodobieństwo wystąpienia błędu jest znikome. Zgodnie z założeniami metody, nieodłącznym elementem analizy procesów jest uwzględnienie ich naturalnej zmienności, która może prowadzić do rozproszenia wyników w czasie. Fundamentalnym priorytetem tej metodologii jest konsekwentne spełnianie wymagań klientów. W tym kontekście, klient jest rozumiany szeroko, nie tylko jako odbiorca finalnego produktu, lecz także wszyscy zainteresowani, będący odbiorcami poszczególnych czynności, procesów oraz operacji – wewnątrz i na zewnątrz organizacji. Należy pamiętać, że klient nie jest ostatecznym odbiorcą w łańcuchu, jednak „jeśli zatroszczysz się o klienta lepiej niż konkurencja, to biznes zatroszczy się o ciebie” [Lis i Rataczak 2014, Tochwin 2021].

W kontekście produkcji zastosowanie metody wiąże się ze współczynnikami związanymi z jakością, jak np. ograniczenie „braków” – nieodwracalnych błędów powodujących niemożliwość użycia detalu w dalszej produkcji. Wypracowanie i utrzymywanie wysokich współczynników jakościowych (KPI, z ang. *key performance indicators*) umacnia pozycję producenta, dzięki czemu przedsiębiorstwa osiągają lepsze wyniki finansowe. Kolejnym ważnym aspektem jest stabilność konsumpcji materiałów i narzędzi, dzięki czemu można poprawić wykorzystanie zasobów. Wypracowanie i utrzymywanie wysokich współczynników jakościowych (KPI) umacnia pozycję producenta, dzięki czemu przedsiębiorstwa osiągają lepsze wyniki finansowe. Kolejnym ważnym aspektem jest stabilność konsumpcji materiałów i narzędzi, dzięki czemu można poprawić wykorzystanie zasobów. Koncepcja Six Sigma zakłada więc zorientowanie na redukcję wadliwości w procesach produkcyjnych [Doroszewicz i Tyszkiewicz 2017a].

Six Sigma bazuje na DMAIC (z ang. *define, measure, analyze, improve, control*) oraz DMADV (z ang. *define, measure, analyze, design, verify*). Obydwa podejścia polegają na analizie danych, co umożliwia podjęcie decyzji opartej na faktach i rzetelnych

informacjach, a nie na przypuszczeniach czy intuicji. W przypadku zarządzania łańcuchem dostaw, gdzie czas dostawy jest bardzo istotny, metoda ma kluczowe znaczenie w optymalizacji procesów logistycznych, w których minimalizuje straty związane z przestojami oraz redukuje opóźnienia [Golińska 2022].

DMAIC i narzędzia Six Sigma

Jak już wspomniano, metodyka DMAIC stanowi kluczowy element koncepcji Six Sigma, „[j]est usystematyzowanym i rygorystycznym podejściem do doskonalenia procesu, składającym się z pięciu faz” [Doroszewicz i Tyszkiewicz 2017b]. Jest ona rozwinięciem i uszczegółowieniem cyklu PDCA (z ang. *plan-do-check-act*) zaproponowanego przez W. Edwardsa Deminga.

Metoda DMAIC składa się z pięciu faz. W fazie **definiowania** identyfikuje się problem, określa cel oraz kluczowe cechy jakości (CTQ) z perspektywy klienta. W **pomiarze** ocenia się bazową wydajność procesu, wykorzystując narzędzia takie jak MSA, SPC i karty kontrolne. Faza **analizy** koncentruje się na analizie danych przy użyciu narzędzi statystycznych oraz jakościowych, takich jak diagram Ishikawy i metoda 5Why. W **poprawie** wprowadza się rozwiązania eliminujące błędy i redukujące zmienność procesu, wykorzystując m.in. Poka-Yoke i FMEA. Ostatnia faza, **nadzorowanie**, zapewnia trwałość usprawnień przez monitorowanie procesu, kontrolę i szkolenia personelu. Wśród kluczowych narzędzi wspierających metodykę DMAIC znajdują się diagram Ishikawy oraz diagram Pareto-Lorenza. Ten pierwszy znany również jako wykres rybiej ości, pozwala na systematyczne badanie zależności przyczynowo-skutkowych oraz klasyfikuje potencjalne przyczyny problemów. Natomiast diagram Pareto-Lorenza jest oparty na zasadzie Pareto (80/20), która wspiera działania poprzez wskazanie nielicznych przyczyn, jakie mają wpływ na występowanie problemów [Chruściel 2022, Saihi 2023].

W metodzie Six Sigma wykorzystuje się również analizę FMEA i statystyczne sterowanie procesem (SPC). Analiza przyczyn skutków i wad (FMEA) jest wykorzystywana do identyfikacji potencjalnych awarii, ich przyczyn, skutków w procesie lub produkcji. Zapobiega wystąpieniu problemów poprzez ocenę ryzyka związanego z różnymi wadami. Z kolei SPC (statystyczne sterowanie procesem) to zbiór technik wykorzystywanych do monitorowania i kontrolowania procesów produkcyjnych [Chugani i in. 2017, Juchniewicz 2017, Ingaldi 2019].

Materiał i metody

Celem badania była analiza znajomości przez pracowników skuteczności zastosowania metody Six Sigma w optymalizacji procesów produkcyjnych. Podstawę wykonanego badania stanowił autorski kwestionariusz, który został wypełniony przez respondentów. Ankieta była anonimowa. Wykonano badania reprezentacyjne, gdzie zbiorowość próbna stanowiła statystyczną reprezentację całej zbiorowości.

Badanie zostało przeprowadzone w okresie od 20 lutego do 20 marca 2025 r. z wykorzystaniem autorskiego kwestionariusza ankietowego, przygotowanego w narzędziu Google Forms.

Kwestionariusz został opracowany w oparciu o cztery kluczowe pytania:

1. Jakie jest postrzeganie skuteczności metody Six Sigma w optymalizacji procesów produkcyjnych wśród pracowników firm produkcyjnych?
2. Które narzędzia Six Sigma w optymalizacji produkcji są uważane za najbardziej przydatne przez pracowników firm produkcyjnych?
3. Jakie są najczęściej identyfikowane problemy w procesach produkcyjnych?
4. Czy istnieje związek między tymi problemami a potencjalnym zastosowaniem metody Six Sigma?

W badaniu wzięło udział 60 respondentów zatrudnionych w różnych działach firm produkcyjnych, w tym na stanowiskach takich jak: szef kontroli jakości, specjalista ds. jakości, kierownik jakości, pracownik produkcyjny, lider, inspektor kontroli jakości, inżynier produkcji, kierownik ds. zapewnienia jakości oraz koordynator lean manufacturing.

Wśród uczestników znalazło się 30 kobiet oraz 30 mężczyzn. Ankietowani to głównie osoby z wyższym wykształceniem – 61%, następnie osoby ze średnim wykształceniem – 33%, dalej osoby z podstawowym wykształceniem – 3% oraz z wykształceniem zawodowym – 1%.

Odpowiedzi na pytania analizowano za pomocą Google Forms, obliczając procentowe rozkłady odpowiedzi. Wyniki przedstawiono w formie wykresów oraz opisowych podsumowań, co pozwoliło na identyfikację trendów i zależności w odpowiedziach respondentów. Dzięki temu skonstruowano wnioski dotyczące postrzegania Six Sigmy wśród pracowników produkcyjnych różnych branż.

Analiza wyników oraz dyskusja

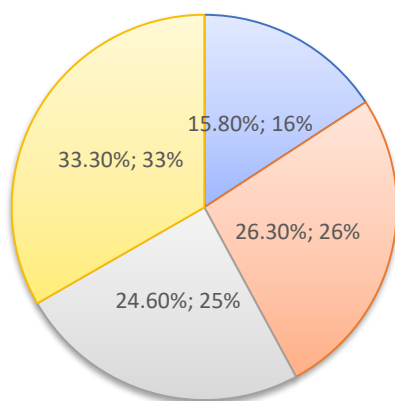
Pomimo szerokiego zastosowania Six Sigma w przemyśle, istnieje potrzeba zrozumienia, jak koncepcja ta jest postrzegana wśród pracowników firm produkcyjnych, którzy są bezpośrednio zaangażowani w jej wdrożenia oraz stosowanie. Pozwoli to na uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania: Czy Six Sigma rzeczywiście jest uważana za skuteczne narzędzie optymalizacji procesów? Które narzędzia są przydatne? Jakie problemy w procesach produkcyjnych są najczęściej identyfikowane? Te pytania stanowiły punkt wyjścia do przeprowadzenia analizy.

W badaniu ankietowym respondenci mogli podać swój staż pracy w przedsiębiorstwie, dzięki czemu mieli odmienne perspektywy na temat zastosowania oraz przydatności Six Sigmy (ryc. 1).

W ankiecie było najwięcej pracowników ze stażem pracy powyżej 10 lat (33,3%), następnie 1–5 lat (26,3%), 6–10 lat (24,6%) oraz do 1 roku doświadczenia (15,8%). Dłu-

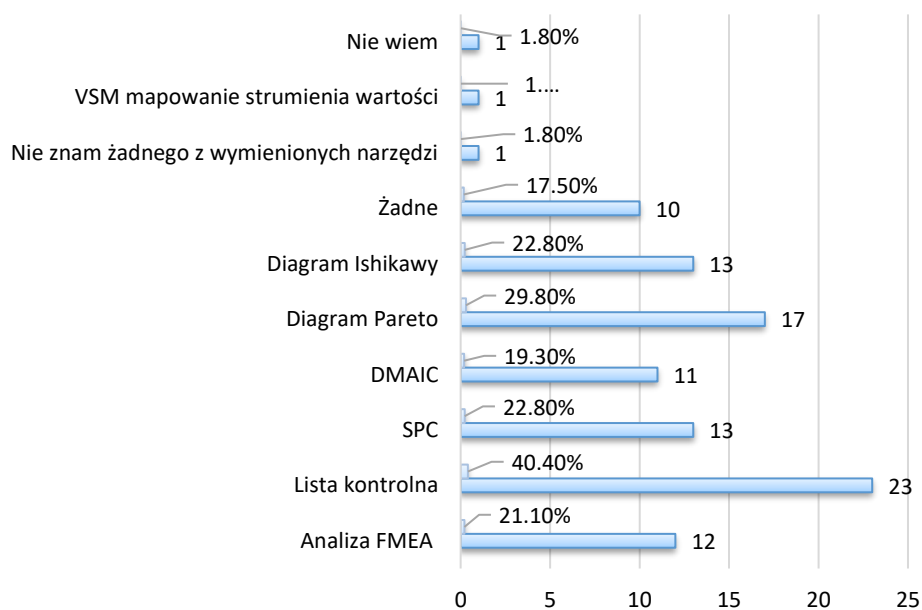
goletni pracownicy mogli obserwować wdrożenia metody w dłuższej perspektywie, natomiast młodzi pracownicy mogą kierować się przede wszystkim wiedzą teoretyczną.

W dalszej części analizy skupiono się na tym, jakie narzędzia Six Sigmy są najbardziej przydatne w optymalizacji produkcji. Uzyskane wyniki zaprezentowano na rycinie 2.



■ Do 1 roku ■ 1-5 lat ■ 6-10 lat ■ Powyżej 10 lat

Ryc. 1. Staż pracy respondentów z różnych branż produkcyjnych

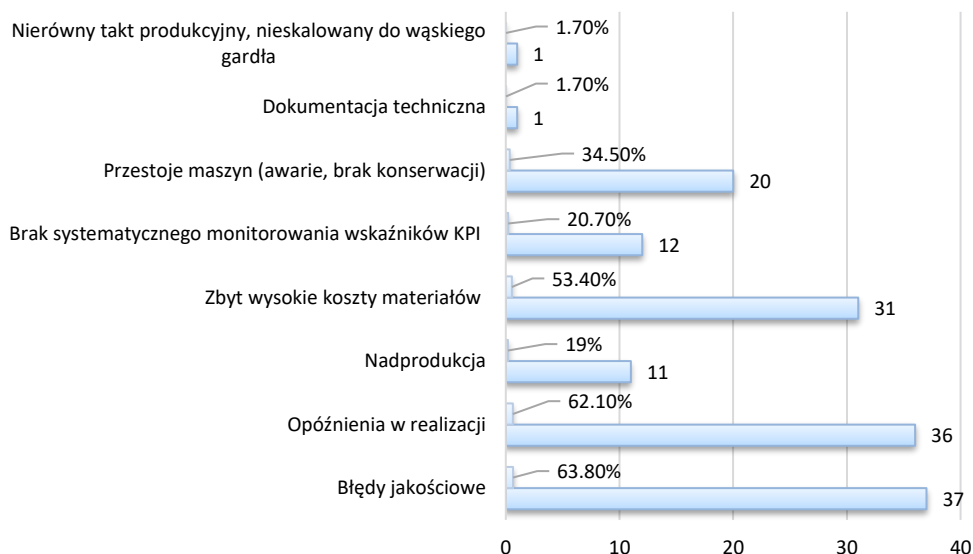


Ryc. 2. Odpowiedzi respondentów na pytanie: „Jakie narzędzia są skuteczne w optymalizacji produkcji?”

W odpowiedzi na pytanie: „Jakie narzędzia uważa Pan/i za najbardziej przydatne w procesie optymalizacji produkcji?” najczęściej zostały wskazywane narzędzia takie jak: lista kontrolna (40,4%), diagram Pareto (29,8%), SPC (statystyczne sterowanie procesem; 22,8%) oraz diagram Ishikawy (22,8%). Respondenci również w dużej mierze wskazali przydatne narzędzia takie jak: Analiza FMEA (ang. *failure mode and effects analysis*), DMAIC (ang. *define, measure, analyze, improve, control*), jak również VSM (mapowanie strumienia wartości). Co bardzo ważne, w badaniu zaobserwowano, że aż 17,5% ankietowanych uważa, iż takie narzędzia są nieprzydatne w optymalizacji produkcji. Wybór pracowników odzwierciedla ich praktyczne podejście do optymalizacji procesów. Pozwala bowiem na skoncentrowanie się na najważniejszych problemach, zapewniając systematyczność, spójność, a także uwzględniając ciągłe monitorowanie i poprawę procesów. Zespół Antonego [2012] przeprowadził udane wdrożenie metodologii Six Sigma w wysoce precyzyjnym i krytycznym procesie produkcji wyrobów motoryzacyjnych. Podejście Six Sigma – definiuj, mierz, analizuj, poprawiaj, kontroluj – zaowocowało zmniejszeniem liczby problemów związanych z tolerancją i poprawiło wydajność pierwszego przejścia z 85% do 99,4%. Wdrożenie metodologii Six Sigma miało znaczący wpływ finansowy na rentowność firmy.

Analizując kolejną część pytań badawczych, można ocenić, jakie są najczęściej identyfikowane problemy w procesach produkcyjnych oraz jaki jest ich związek z zastosowaniem Six Sigma. W ankiecie respondenci wskazali najczęstsze problemy występujące w procesie produkcyjnym (ryc. 3). Wśród udzielonych odpowiedzi dominowały: błędy jakościowe (63,6%), opóźnienia w realizacji (62,1%), zbyt wysokie koszty materiałów (53,4%) oraz przestoje maszyn (awarie, brak konserwacji; 34,5%). Respondenci również wskazywali problemy związane z brakiem systematycznego monitorowania kluczowych wskaźników (KPI; 20,7%) oraz nadprodukcją (19%). Co ciekawe, zaobserwowano, że istnieje związek między tymi problemami a potencjalnym zastosowaniem metody. Six Sigma, poprzez narzędzia i podejście oparte na danych, umożliwia skuteczną reakcję i zapobieganie wadom. Również może minimalizować przestoje, jak i poprawić komunikację między działami, aby zapobiec opóźnieniom występującym w realizacji zamówień.

W literaturze przedmiotu podkreśla się skuteczność metody Six Sigma w doskonaleniu procesów produkcyjnych, zwłaszcza w branżach o wysokim poziomie wymagań jakościowych. Przykładem może być studium przypadku przedstawione przez Midor [2017], dotyczące zastosowania Six Sigma w przedsiębiorstwie produkującym elektryczne systemy wspomagania kierowcy dla sektora motoryzacyjnego. Celem podjętych działań była minimalizacja odrzutów komponentów związanych z pomiarem wysokości chipa na płycie kontrolera. W wyniku zastosowania podejścia Six Sigma, obejmującego m.in. analizę systemu pomiarowego, ocenę powtarzalności wyników oraz weryfikację wpływu powłoki ochronnej i deformacji płytki PCB, zidentyfikowano kluczową przyczynę odchylenia.

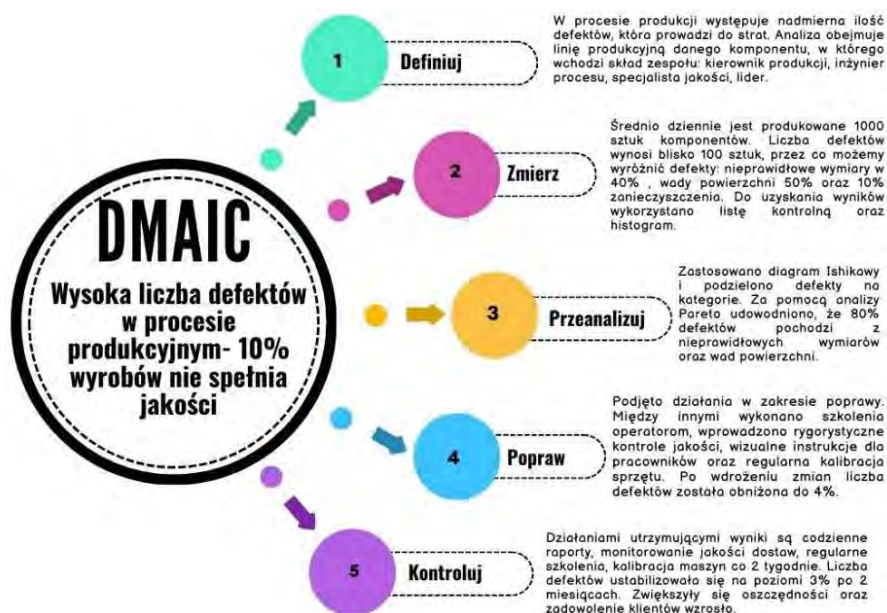


Ryc. 3. Wskazane przez respondentów najczęstsze problemy występujące w procesach produkcyjnych

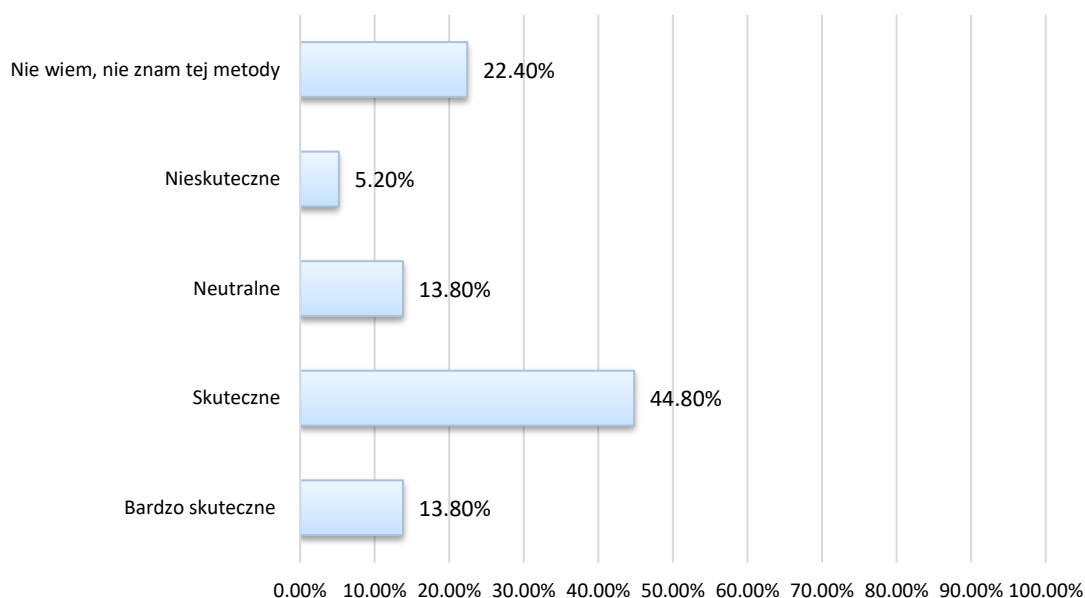
Ważnym aspektem była analiza bezpośredniej skuteczności jednej z najważniejszych metodyki Six Sigma, czyli DMAIC. W badaniu przytoczono przykład odnośnie analizowanego problemu: *Wysoka liczba defektów w procesie produkcyjnym – 10% wyrobów nie spełnia jakości*. Rozwiązanie przedstawiono w postaci infografiki (ryc. 4), w której przeanalizowano wszystkie etapy DMAIC (definiuj, mierz, przeanalizuj, popraw, kontroluj). Na jej podstawie respondenci oceniali skuteczność metody w rozwiązaniu analizowanego problemu.

Respondentom zadano pytanie: „Jak ocenia Pan/i skuteczność zastosowanego podejścia DMAIC w rozwiązaniu analizowanego problemu?” (ryc. 5). W odpowiedzi na nie, ponad 40% pracowników uznało zastosowanie DMAIC za skuteczne. Ponad 13% stwierdziło, że metoda jest bardzo skuteczna, natomiast 13% uznało analizę za neutralną. W oparciu o wiedzę pracowników 5% osób wskazało, że DMAIC nie jest skuteczną metodą i nie rozwiązuje analizowanego problemu. Natomiast aż 22% ankietowanych stwierdziło, że nie zna tej metody.

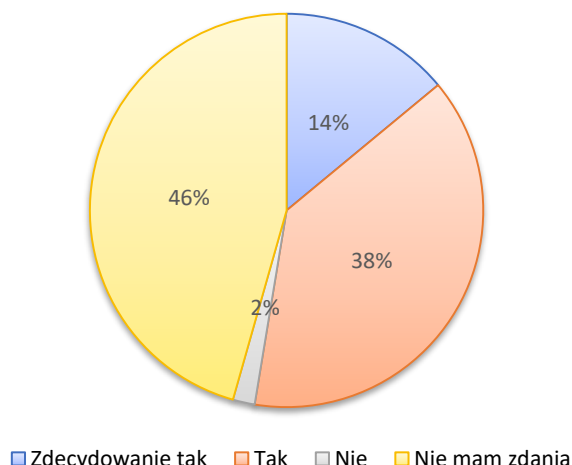
W badaniu ankietowym zadano pytanie odnośnie skuteczności Six Sigma w optymalizacji procesów produkcyjnych (ryc. 6). Badani potwierdzili, że Six Sigma jest postrzegana przez większość pracowników jako skuteczne narzędzie optymalizacji procesów produkcyjnych. Aż 52,6% (38,6% „tak” oraz 14% „zdecydowanie tak”) respondentów odpowiedziało pozytywnie na jej przydatność w doskonaleniu procesów. Zdecydowanie cieszy się znaczącym uznaniem wśród pracowników, co potwierdza jej rzeczywistą przydatność. Jednak duży niepokój budzi odpowiedź „nie mam zdania” w ilości aż 46%.



Ryc. 4. Zastosowanie podejścia DMAIC w występującym problemie w procesie produkcyjnym



Ryc. 5. Odpowiedzi respondentów na pytanie: „Jak ocenia Pan/i skuteczność zastosowanego podejścia DMAIC w rozwiązaniu analizowanego problemu?”



Ryc. 6. Odpowiedzi respondentów na pytanie: „Czy na podstawie przeprowadzonej ankiety może Pan/i stwierdzić, że metoda Six Sigma jest dobrym narzędziem w optymalizacji procesów produkcyjnych?”

Wnioski i podsumowanie

Six Sigma jest usystematyzowanym narzędziem do zarządzania jakością, które skupia się na zniwelowaniu zmienności w procesach w celu osiągnięcia doskonałej jakości. Organizacje, które wdrażają tę metodę dążą do znacznego zwiększenia efektywności, zmniejszenia kosztów oraz uzyskania wysokiej satysfakcji klienta. Warto zaznaczyć, że kluczowym narzędziem jest DMAIC, który rozwiązuje problemy i udoskonala procesy produkcyjne. W poszczególnych fazach wykorzystuje się również karty kontrolne, diagram Pareto, analizę FMEA oraz diagram Ishikawy.

W przeprowadzonym badaniu można zauważyć, że zarówno zaangażowanie, jak i świadomość pracownika mają istotny wpływ na znaczenie metody Six Sigma w optymalizacji procesów produkcyjnych. Nie jest to wyłącznie zadanie kadry zarządzającej wyższego szczebla – skuteczne wdrażanie Six Sigmy wymaga aktywnego uczestnictwa pracowników na wszystkich poziomach organizacji. Dzięki temu wiedza i umiejętności w tym zakresie są postrzegane jako cenne kompetencje, wspierające rozwój zawodowy. Pomimo że metoda Six Sigma jest uznawana za skuteczne narzędzie poprawy efektywności w przemyśle produkcyjnym, jej potencjał nie jest jeszcze w pełni wykorzystywany. Kluczowym wyzwaniem pozostaje potrzeba lepszego szkolenia pracowników. Przedsiębiorstwa powinny rozważyć wdrożenie kompleksowych programów szkoleniowych, regularne przeglądy skuteczności stosowanych metod oraz promowanie kultury ciągłego doskonalenia. Dalsze badania mogłyby skupić się na szczegółowej analizie barier we wdrażaniu Six Sigmy w różnych branżach produkcyjnych oraz na opracowaniu modeli wdrożeńowych dostosowanych do specyfiki poszczególnych sektorów przemysłu.

Bibliografia

- Antony J., Gijo, E. V., Childe, S. J., 2012. Case study in Six Sigma methodology: manufacturing quality improvement and guidance for managers. *PPC* 23(8), 624–640, <https://doi.org/10.1080/09537287.2011.576404>.
- Antony J., McDermott O., Powell D., Sony M., 2022. The evolution and future of lean Six Sigma 4.0. *TQM J.* 35(4), 1030–1047, <https://doi.org/10.1108/TQM-04-2022-0135>.
- Chruściel, P., 2022. Schemat rozwiązywania problemów na przykładzie przedsiębiorstwa produkcyjnego z branży opakowań przemysłowych. *Manag. Qual./Zarz. Jakość*, 4(4), 58–73.
- Chugani N., Kumar V., Garza-Reyes J.A., Rocha-Lona L., Upadhyay A., 2017. Investigating the green impact of Lean, Six Sigma and Lean Six Sigma: a systematic literature review. *Int. J. Lean Six Sigma* 8(1), 7–32, <https://doi.org/10.1108/IJLSS-11-2015-0043>.
- Doroszewicz S., Tyszkiewicz A., 2017a. Systemowe podejście do zarządzania jakością według koncepcji Six Sigma. *Stud. Pr. Kol. Zarz. Fin.* (158), 157–178.
- Doroszewicz S., Tyszkiewicz A., 2017b. Schemat rozwiązywania problemów na przykładzie przedsiębiorstwa produkcyjnego z branży opakowań przemysłowych. *Stud. Pr. Kol. Zarz. Fin.* (158), 157–178.
- Golińska E., 2022. Ewolucja sposobów rozwiązywania problemów jakościowych w branży motoryzacyjnej. *Zaawans. Met. Narz. Inż. Przem., Inż. Prod.*, 129–148.
- Gollinger-Trajako M., Podsiadło J., 2012. Lean Six Sigma – metodologia usprawniająca i optymalizująca procesy oraz struktury produkcyjne. W: T. Sikora, M. Giemza (red.), *Praktyka zarządzania jakością w XXI wieku*. Kraków, 535–554.
- Ingaldi M., 2019. Wprowadzenie do metody Six Sigma. *Zesz. Nauk. Qual. Prod. Impr.* 1(10), 119–130.
- Juchniewicz M., 2017. Koncepcje doskonalenia organizacji – ewolucja, krytyka, perspektywy rozwoju. *Pr. Nauk. Uniw. Ekon. Wrocław*. 463, 34–45.
- Lis M., Ratajczak S., 2014. Six Sigma jako metoda doskonalenia jakości przedsiębiorstw w okresie rosnącej globalizacji. *Zesz. Nauk. Wyż. Szk. Humanitas Zarz.* 2, 45–48.
- Midor K., 2017. Zastosowanie Six Sigma w procesie produkcyjnym – studium przypadku. *Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Transgraniczna wymiana doświadczeń w inżynierii produkcji z zastosowaniem metod matematycznych”*, 7–9.6.2017, Politechnika Śląska. Dostępne na: <https://ipmm.polsl.pl/> [Data dostępu: 10.04.2024].
- Saihi A., Awad M., Ben-Daya M., 2023. Quality 4.0: leveraging Industry 4.0 technologies to improve quality management practices—a systematic review. *J. Qual. Reliab. Manag.* 40(2), 628–650. <https://doi.org/10.1108/IJQRM-09-2021-0305>
- Tochwin D., 2021. Zastosowanie metody Six Sigma w celu doskonalenia procesów produkcyjnych. *Akad. Zarz.* 5(1), s. 30–43.

Black cumin seed oil (*Nigella sativa* seed oil) as a valuable raw material in cosmetics, pharmaceuticals, and the food industry

Olej z nasion czarnuszki siewnej (*Nigella sativa* seed oil) jako cenny surowiec w kosmetyce, farmacji i przemyśle spożywczym

Introduction

Black cumin seed oil (*Nigella sativa* seed oil) is a lipid extract obtained from the seeds of *Nigella sativa* L., a species belonging to the Ranunculaceae family (*Ranunculaceae* Juss.). This herb occurs in various climate zones and is distributed across Asia, North Africa, and Europe, both in the wild and under cultivation. The oil is a rich source of unsaturated fatty acids, primarily linoleic (omega-6) and oleic (omega-9), along with saturated ones such as palmitic and stearic acids. Additionally, it contains numerous bioactive compounds, including thymoquinone, anthraquinones, phytosterols, saponins, and B vitamins, which contribute to its strong anti-inflammatory, antibacterial, and antiviral properties. Due to these beneficial effects, *N. sativa* oil is widely utilized in dermatology and cosmetology, particularly for acne-prone and sensitive skin, as well as in photoprotective formulations. Furthermore, it is employed in treating skin allergies, neurodermatitis, and fungal infections. In aromatherapy, it is valued for alleviating symptoms of colds and upper respiratory infections. Beyond medicinal applications, this oil is also incorporated into the food industry for its bioactive components and potential health benefits.

The aim of this paper was to review the available literature on *N. sativa* seed oil, with a focus on its composition and potential applications. Special attention was given to the botanical characteristics of the plant, the bioactive constituents of the oil, and its practical applications in the cosmetic, pharmaceutical, and food industries.

Plant morphology and cultivation

Nigella sativa L. is an annual, herbaceous plant belonging to the Ranunculaceae family (*Ranunculaceae* Juss.), native to Southwest Asia and widely cultivated across various regions of the world. Over time, it has been naturalized in parts of North Africa and Europe, particularly in the Eastern Mediterranean. Its seeds, commonly referred to as

¹ University of Life Sciences in Lublin, Student Biology Research Group, Section of Biocosmetology, zuzannalab@gmail.com

² University of Life Sciences in Lublin, Department of Botany and Plant Physiology

black cumin or black seed, are valued for their diverse bioactive properties and wide-ranging applications [Borusiewicz and Janeczko 2015, Adamska and Ochocka 2016].

The plant has an erect and branched stem, typically reaching a height of 10–60 cm. Its leaves are pinnately dissected, delicate, and light green, with narrow segments measuring 2–3 cm in length. They are arranged alternately or in opposite pairs along the stem, with the lower leaves being smaller, while the upper ones are elongated and nearly sessile [Datta et al. 2012, Tembhurne et al. 2014, Kowalcze 2021]. It has a taproot that extends to a depth of approximately 25 cm. The flowers of *N. sativa* are located at the tips of branches and reach up to 3 cm in diameter. They are hermaphroditic and pedicellate, with five or more petals that are white or pale blue. The sepals are smaller than the petals, bilabiate, and contain bifid nectaries. The flowers possess numerous stamens arranged in a single whorl. Following pollination, the fruit matures into a capsule-like structure composed of partially fused, elongated follicles that taper into free, beak-like tips. The seeds measure 2–4 mm in length and up to 1 mm in diameter, with a distinctive three-angled shape and a deep black color. They are highly aromatic, with a bitter-sweet, pungent, and spicy flavor. Obliquely ovate in form, they are laterally compressed and taper to a sharp point. Their surface is irregular and densely covered with fine protuberances [Wolski et al. 2017, Pandey et al. 2024].

N. sativa is cultivated during the winter season. This plant flowers from May to September, with seed harvesting taking place in September [Tembhurne et al. 2014, Adamska and Ochocka 2016]. It grows in diverse climates, favoring cool, humid conditions for flowering and seed formation. It thrives in sandy loam soil rich in microbial activity, with an optimal pH of 7.0–7.5. Well-drained or sloped soils in moderate to high-rainfall areas are appropriate. Land preparation requires plowing, followed by 2–3 harrowings and leveling [Datta et al. 2012]. *N. sativa* seeds remain viable for 2–3 years and require darkness and an optimal temperature of 17–18°C for germination. They are sown at a depth of 1.5 cm, with row spacing of 30–40 cm, at a rate of 5–20 kg per hectare. Harvesting is conducted early in the morning or late in the evening to minimize seed loss. Proper drying and storage in a dry, dark environment are essential to prevent spoilage. Seed yield ranges from 60 to 150 kg/ha, depending on soil fertility, weather conditions, and cultivation practices [Wolski et al. 2017].

Black cumin oil can be obtained through cold pressing, Soxhlet extraction, or microwave-assisted extraction (MAE). However, cold-pressed oil is more prone to rapid oxidation compared to solvent-extracted alternatives. Nonetheless, it retains the activity of all active substances contained in the seeds [Kiralan et al. 2014, Kaźmierska et al. 2020].

Bioactive compounds in black cumin seed oil

Black cumin seed oil possesses a distinctively bitter flavor, a deep brown shade, and a warm, spicy aroma [Kaźmierczak et al. 2018]. The percentage of oil in *N. sativa* seeds ranges from 18.02% to 41.20%, with its composition being influenced by the sowing time and the geographical origin of the seeds [Wolski et al. 2017]. The composition of the oil

is rich in essential fatty acids, with linoleic acid – omega-6 (59.53%) as the dominant polyunsaturated fatty acid. It also contains oleic acid – omega-9 (23.99%), palmitic acid (13.05%), and smaller amounts of stearic, arachidic, and alpha-linolenic acids [Obiedzińska and Waszkiewicz-Robak 2012]. Eicosadienoic acid, which is rarely found in nature, is present in the oil, with its concentration ranging from 2.6% to 3% [Ciesielska-Figlon et al. 2019].

The fixed oil derived from *N. sativa* seeds is a rich source of glycolipids, phospholipids, and biologically active phytosterols. Additionally, the seeds themselves contain significant amounts of proteins and saponins [Abbas et al. 2024]. Cumin seeds are a notable source of B and E vitamins, along with various essential dietary minerals, particularly iron [Srinivasan 2018].

Total phenol content in cold-pressed oil can reach up to 36.05 mg gallic acid/kg oil. The benzoic acid presence is approximately 4.15 µg/g of oil while the cinnamic acid content is 0.03 µg/g [Kiralan et al. 2014]. The seed oil is composed of various compounds, including cholesterol, campesterol, stigmasterol, β-sitosterol, α-spinasterol and nigellone [Dinakaran et al. 2016]. Anthraquinones, especially thymoquinone, are among the most valuable components of *N. sativa* seed oil. In cold-pressed oil, the concentration of thymoquinone varies between 3.48 and 8.73 mg/g [Obiedzińska and Waszkiewicz-Robak 2012, Kaźmierska et al. 2020]. Furthermore, the oil also contains additional biologically active compounds of significant value, including thymohydroquinone, p-cymene (7–15%), carvacrol (6–12%), 4-terpineol (2–7%), t-anethole (1–4%), α-pinene and thymol [Ciesielska-Figlon et al. 2019].

The use of black cumin oil in cosmetics

Black cumin seed oil is considered as a drying oil due to its high polyunsaturated fatty acids content, exceeding 50%. It is a raw material with low comedogenic potential. This property makes it especially effective for the care of oily and acne-prone skin [Kaźmierska et al. 2020, Litwinek et al. 2020, Schafer et al. 2022].

N. sativa seed oil exhibits a broad spectrum of biological activities, including potent antioxidant aspects that protect against free radicals and may mitigate oxidative stress. Moreover, it is characterized by strong anti-inflammatory effects, enhancing its therapeutic potential [Datta et al. 2012, Jopkiewicz 2018]. Black seed oil reveals strong antimicrobial properties, making it useful for managing inflammatory skin disorders, neurodermatoses, allergies, and fungal infections. Additionally, it supports skin barrier function by strengthening lipid membranes and is beneficial in the treatment of eczema and boils [Sharma et al. 2009, Nizioł-Łukaszewska and Bujak 2016].

The bioactive compounds present in black cumin seeds contribute to maintaining skin elasticity. Black cumin seed oil demonstrates soothing features, attributed to its thymoquinone content [Shantanu et al. 2010, Kaźmierska et al. 2020]. What is more, the oil possesses functions that make it suitable for facial cleansing applications. It is also incorporated into photoprotective formulations, particularly for sensitive and irritation-prone skin. The sun protection factor of *N. sativa* seed oil exceeds a value of 2. Furthermore, its

bioactive constituents are integrated in the perfumery industry for fragrance development [Eid et al. 2017, Kaźmierczak et al. 2018]. Black seed oil is widely utilized in the formulation of liquid makeup products, such as foundations, concealers, liquid lipsticks, and lip glosses, enhancing their cosmetic and skincare aspects [Rubinowska 2021]. Black cumin seed oil represents a valuable additive in oral hygiene products and toothpaste due to its potent antibacterial properties against cariogenic bacteria and its high content of phenolic compounds [Sudhir et al. 2016]. It can be applied in hair care products suitable for all hair types, where it helps to enhance shine and improve overall hair appearance. Additionally, it plays a role in reducing hair loss [Eid et al. 2017, Radzievska et al. 2019].

Research indicates that black seed oil suppresses the synthesis of fibrinolytic compounds in HT1080 fibrosarcoma cells, presenting valuable prospects for dermatological and cosmetic applications [Kaźmierczak et al. 2018].

The use of black cumin oil in pharmaceutical

Black cumin can be used in pharmacology and medicine. Phytomedicine is becoming increasingly popular because people believe that natural substances work better on the body and are less harmful [Yimer et al. 2019]. In traditional methods, it was known to apply mixed black cumin seed oil with beeswax to the skin to treat skin problems (e.g. psoriasis), heal skin burns. The mixture was also used to maintain skin youthfulness and hydration [Ramadan 2007]. In addition, black cumin and preparations made from it were used in the treatment of respiratory, digestive, colds and immune system diseases as well as liver and skin problems. Nowadays, black seed oil is still used as a healing agent in Asia and the Middle East [Jurczak and Reguła 2018].

Studies suggest the effective use of black cumin seed oil in the treatment of asthma, atopic dermatitis and allergic rhinitis. In addition, black cumin is a raw material that has anti-diabetic effects, because the extract from its seeds affects insulin secretion [Srinivasan 2018]. Linoleic acid found in cold-pressed black cumin oil is an important nutrient, which is why it is used in infant formulas. It is also used in topical skin preparations to treat skin diseases [Whelan and Fritsche 2013]. Another acid, oleic acid, supports wound healing, has a beneficial effect on the course of cancer therapy, autoimmune diseases, has antimicrobial and anti-inflammatory effects [Sales-Campos et al. 2013]. Cold-pressed oil has antimicrobial properties because it inhibits the growth of a significant portion of microorganisms. It works most effectively against Gram-negative and Gram-positive bacteria, as well as yeast [Ramadan et al. 2012, Srinivasan 2018]. Black cumin is also an analgesic raw material. Studies have shown that administration of black cumin oil has an analgesic and anti-inflammatory effect on rats [Srinivasan 2018]. Thymoquinone (one of the most important ingredients) has antioxidant, anti-cancer, anti-diabetic effects [Adamska i Ochocka 2016]. Thymoquinone also has antibacterial properties that can be used in antibiotics. It supports immune responses in terms of T cells and NK cells [Hassanien et al. 2015]. Additionally, black cumin has a positive effect on brain function. Studies involving rats have shown that the administration of black cumin affects the ability to

learn and improves memory in these animals. Another effect was an anti-anxiety effect on rats [Srinivasan 2018].

The use of black cumin oil in the food industry

Consuming plant materials, such as their seeds, increases the nutritional and functional properties of food. Traditionally fragments of plants and their oily seeds were used as food additives to improve their taste [Ramadan 2007]. Consumers are looking for natural food additives that increase the value of a meal but can also act as natural preservatives [Ramadan et al. 2012].

The use of black cumin in cooking has been known for a long time. Its seeds are characterized by a strong, sharp, peppery taste. The seeds were used in drinks (coffee, tea), bread and salads. They have been used for years as a spice for many dishes [Ramadan et al. 2012]. The essential oil obtained from the seeds can be used as an addition to baked goods, such as bread or cheese [Hassanien et al. 2015].

The rich composition of black seed oil allows it to be classified as a functional food. Black cumin seeds contain about 40% oil [Mazaheri et al. 2019], over 26% protein, over 28% fat and over 24% carbohydrates. They are also characterized by the presence of vitamins and numerous minerals (e.g. iron, zinc, phosphorus) [Srinivasan 2018]. They have also fatty acids (linolenic, arachidonic, eicosadienoic acids) [Ramadan et al. 2012, Adamska and Ochocka 2016]. The oil produced from the seeds is also a source of phytosterols, which can, for example, lower cholesterol levels. The tocopherols contained in the oil are natural antioxidants for the body [Mazaheri et al. 2019].

Black cumin oil can act as a natural preservative in food products. For instance, studies have shown that using this oil in mayonnaise not only improves its stability but also has a positive effect on taste and shelf-life due to its natural antioxidant compounds [Ozdemir et al. 2018]. The obtained results indicate the potential for the development and future commercialization of innovative formulations enriched with natural antioxidant compounds derived from *N. sativa*.

Black seed oil holds potential for enhancing functional dairy products. In research by Abedi et al. [2019], *N. sativa* seed oil enriched with thymoquinone was microencapsulated via spray-drying and added to yogurt. The fortified yogurt preserved desirable sensory attributes while providing additional health benefits, suggesting the value of black seed oil in developing functional fermented products.

Summary

To sum up, black cumin seed oil constitutes a valuable source of essential fatty acids, such as linoleic and oleic acids, alongside a diverse array of biologically active compounds, including thymoquinone, and polyphenols. Due to its pronounced antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and immunomodulatory properties, this oil has found extensive application in the cosmetic, pharmaceutical, and food industries. It is

highly effective in the care of sensitive and acne-prone skin. What is more, it exhibits therapeutic properties for various skin diseases. The oil is a valuable substance in the treatment of asthma, allergic rhinitis, diabetes, and even cancer. It increases the functional properties of food and serves as a natural preservative.

References

- Abbas M., Gururani M.A., Ali A., Bajwa S., Hassan R., Batool S.W., Imam M., Wei D., 2024. Antimicrobial properties and therapeutic potential of bioactive compounds in *Nigella sativa*: a review. *Molecules* 29(4914), 1–34. <https://doi.org/10.3390/molecules29204914>.
- Abedi A.S., Rismanchi M., Shahdoostkhany M., Mohammadi A., Hosseini H., 2016. Microencapsulation of *Nigella sativa* seeds oil containing thymoquinone by spray-drying for functional yogurt production. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51(10), 2280–2289, <https://doi.org/10.1111/ijfs.13208>.
- Adamska A., Ochocka R.J., 2016. *Nigella sativa* źródłem związków bioaktywnych. *Post. Fitoter.* 17(2), 97–105.
- Borusiewicz M., Janeczko Z., 2015. *Nigella sativa* L. – roślinny surowiec o właściwościach plejotropowych. *Post. Fitoter.* 16(4), 223–236.
- Ciesielska-Figlon K., Daca A., Lisowska K.A., 2019. Olej z nasion czarnuszki siewnej (*Nigella sativa*) jako produkt immunomodulujący. *Post. Fitoter.* 1(2019), 35–40, <https://doi.org/10.25121/PF.2019.20.1.35>.
- Datta A. K., Saha A., Bhattacharya A., Mandal A., Paul R., Sengupta S., 2012. Black cumin (*Nigella sativa* L.) – a review. *J. Plant. Dev. Sci.* 4(1), 1–43.
- Dinakaran S., Sridhar S., Eganathan P., 2016. Chemical composition and antioxidant activities of black seed oil (*Nigella sativa* L.). *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 7(11), 4473–4479, [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7\(11\).4473-79](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7(11).4473-79).
- Eid A.M., Elmarzugi N.A., Abu Ayyash L.M., Sawafta M.N., Daana H.I., 2017. A review on the cosmeceutical and external applications of *Nigella sativa*. *J. Trop. Med.* 2017(7092514), 1–6, <https://doi.org/10.1155/2017/7092514>.
- Hassanien M.F., Assiri A.M., Alzohairy A.M., Oraby H.F., 2015. Health-promoting Value and food applications of black cumin essential oil: an overview. *J. Food Sci. Technol.* 52, 6136–6142, <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1785-4>.
- Jopkiewicz S., 2018. Rola wybranych olejów roślinnych w profilaktyce chorób i utrzymaniu zdrowia. In: K. Pujer (ed.), *Problemy nauk medycznych i nauk o zdrowiu*, vol 4. Exante, Wrocław, 47–54.
- Jurczak R., Reguła J., 2018. Właściwości prozdrowotne czarnuszki siewnej i jej znaczenie w leczeniu dny moczanowej. *For. Zaburzeń Metab.* 9(3), 95–102.
- Kaźmierczak A., Wcisło-Dziadecka D., Zmarzły N., 2018. Zdrowie z natury –czarnuszka siewna w produktach kosmetycznych i leczniczych. *Post. N. Med.* 31(1A), 61–64, <https://doi.org/10.25121/PNM.2018.31.1A.61>.
- Kaźmierska A.D., Bolesławska I., Przysławski J., 2020. Wpływ diety oraz fitoterapii w leczeniu trądziku pospolitego. *Farm. Pol.* 76(7), 373–380, <https://doi.org/10.32383/farmpol/126231>.

- Kiralan M., Özkan G., Bayrak A., Ramadan M.F., 2014. Physicochemical properties and stability of black cumin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods. *Ind. Crops. Prod.* 57(2014), 52–58, <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.026>.
- Kowalcze K., 2021. Dwa gramy zdrowia - *Nigella sativa*, czyli czarnuszka siewna w profilaktyce i terapii. In: U. Strugała, K. Mozgiel-Wiecha, I. Bendkowska (eds), *Problemy nauk medycznych dawniej i dziś*. ArchaeGraph, Łódź, 123–140.
- Litwinek A., Zmysłowska W., Oczkowska U., 2020. Naturalne oleje roślinne w pielęgnacji skóry. In: S.K. Burma (ed.), *Rol' innovatsiy v transformatsiyi obrazu suchasnoyi nauky*. Kyiv, 155–159.
- Mazaheri Y., Torbati M., Azadmard-Damirchi S., Savage G.P., 2019. A Comprehensive review of the physicochemical, quality and nutritional properties of *Nigella sativa* oil. *Food Rev. Int.* 35(4), 342–362, <https://doi.org/10.1080/87559129.2018.1563793>.
- Nizioł-Lukaszewska Z., Bujak T., 2016. Ocena właściwości kosmetyków myjących zawierających ekstrakt wodny z czarnuszki siewnej (*Nigella sativa* L.). In: A. Kiełtyka-Dadasiewicz (ed.), *Rośliny w nowoczesnej kosmetologii*. Wyd. Akad. WSSP, Lublin, 93–105.
- Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B., 2012. Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*. 1(80), 27–44.
- Ozdemir N., Kantekin-Erdogan M.N., Tat T., Tekin A., 2018. Effect of Black Cumin Oil on the oxidative stability and sensory characteristics of mayonnaise. *J. Food Sci. Technol.* 55(4), 1562–1568, <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3075-4>.
- Pandey R., Pandey B., Bhargava A., 2024. Morphological and Anatomical Studies in *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *J. Appl. Hort.* 26(2), 159–164, <https://doi.org/10.37855/jah.2024.v26i02.30>.
- Radzewska I., Melnyk O., Pushnova A., Geredchuk A., 2019. Use of oil of black cumin in the composition of the product for hair. *NUFT* 25(6), 165–172, <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2019-25-6-22>.
- Ramadan M.F., 2007. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa* L.): an overview. *Int. J. Food Sci. Technol.* 42(10), 1208–1218, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01417.x>.
- Ramadan M.F., Asker M.M.S., Tadros M., 2012. Antiradical and antimicrobial properties of cold-pressed black cumin and cumin oils. *Eur. Food Res. Technol.* 234(5), 833–844, <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1696-9>.
- Rubinowska K., 2021. Naturalne surowce pochodzenia roślinnego w kosmetykach do makijażu, od starożytności do współczesności. In: M. Chwil, B. Denisow (eds), *Wybrane Aspekty Biokosmetologii*. WUP, Lublin, 9–21.
- Sales-Campos H., Reis de Souza P., Crema Peghini B., Santana da Silva J., Ribeiro Cardoso C., 2013. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. *Mini-Rev. Med. Chem.* 13(2), 201–210, <https://doi.org/10.2174/138955713804805193>.
- Schafer N., Sobczyk M., Burczyk D., Balwierz R., Skotnicka-Graca U., 2022. Możliwości zastosowania olejów roślinnych w pielęgnacji skóry trądzikowej. *Aesth. Cosmetol. Med.* 11(2), 49–54, <https://doi.org/10.52336/acm.2022.007>.
- Shantanu K., Prashant G., Ammar A., Ashwini W., Amol S., 2010. Formulation and in-vitro determination of sun protection factor of *Nigella sativa* Linn. seed oil sunscreen cream. *Int. J. Pharmtech. Res.* 2(4), 2194–2197.

- Sharma N.K., Ahirwar D., Jhade D., Gupta S., 2009. Medicinal and phamacological potential of *Nigella sativa*: a review. *Ethnobot. Leaflets* 7, 11.
- Srinivasan K., 2018. Cumin (*Cuminum cyminum*) and black cumin (*Nigella sativa*) seeds: traditional uses, chemical constituents, and nutraceutical effects. *Food Qual. Saf.* 2(1), 1–16.
- Sudhir S.P., Deshmukh V.O., Verma H.N., 2016. *Nigella sativa* seed, a novel beauty care ingredient: a review. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 7(8), 3185–3196, [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7\(8\).3185-96](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7(8).3185-96).
- Tembhurne S.V., Feroz S., More B.H., Sakarkar D.M., 2014. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa* (Kalonji) Seeds. *J. Med. Plants Res.* 8(3), 167–177.
- Whelan J., Fritsche K., 2013. Linoleic acid. *Adv. Nutr.* 4(3), 311–312, <https://doi.org/10.3945/an.113.003772>.
- Wolski T., Najda A., Wolska-Gawron K., 2017. Zawartość lipidów i olejku eterycznego oraz właściwości biologiczne nasion czarnuszki siewnej (*Nigella sativa* L.). *Post. Fitoter.* 18(3), 235–241, <https://doi.org/10.25121/PF.2017.18.3.235>.
- Yimer E.M., Tuem K.B., Karim A., Ur-Rehman N., Anwar F., 2019. *Nigella sativa* L. (black cumin): a promising natural remedy for wide range of illnesses. *J. Evid. Based Comp. Altern. Med.* 2019(1528635), 1–16, <https://doi.org/10.1155/2019/1528635>.

Pistacje (*Pistachio vera* L.) – właściwości prozdrowotne i zagrożenia dla zdrowia

Pistachios (*Pistachio vera* L.) – health benefits and health risks

Wstęp

Orzechy są chętnie spożywane przez wiele osób jako przekąska lub stosowane jako dodatek do żywności i potraw. Niektórzy uważają je za niezdrowe ze względu na wysoką kaloryczność, obecność substancji antyżywnościowych oraz ciężkostrawność [Ciemniewska-Żytkiewicz i in. 2014]. Inni wręcz przeciwnie – widzą wiele ich walorów prozdrowotnych, związanych z wartością odżywczą i zawartością związków biologicznie aktywnych takich jak: NNKT, błonnik pokarmowy, tokoferole, fitosterole i związki fenolowe [EFSA 2011]. FDA (ang. Food and Drug Administration) rekomenduje codzienne spożycie orzechów na poziomie ok. 42 g. Pojęcie orzechy obejmuje: orzechy brazylijskie, laskowe, włoskie, arachidowe, makadamia, nerkowca, pekan, piniowe, migdały oraz pistacje, które stały się w ostatnim czasie bardzo popularne. Choć z botanicznego punktu widzenia pistacje są nasionami, z powodu podobieństw do innych orzechów pod względem wartości odżywczych oraz powszechnego użycia tego terminu w kontekście kulinarnym i dietetycznym w niniejszym rozdziale będziemy odnosić się do pistacji w kontekście “orzech”. Orzechy można jeść jako szybką przekąskę, dodawać do różnych potraw, takich jak surówki, sałatki, jogurty, pieczywo [Biernat i in. 2014] bądź produktów cukierniczych w postaci masła, kremu, mas czy też nadzienia dubajskiego.

Celem rozdziału jest przedstawienie właściwości prozdrowotnych oraz zagrożeń dla zdrowia związanych ze spożywaniem pistacji.

Ogólna charakterystyka pistacji

Pistacje pochodzą z zachodniej Azji, skąd w wyniku handlu rozpowszechniły się na Bliskim Wschodzie, w krajach śródziemnomorskich oraz Europie. Spożywano je już w czasach neandertalczyków, czyli 300 tys. lat temu, czego dowodem są zwęglone resztki tych orzechów znalezione w jaskini Kebara w Izraelu i szczątki pistacji z szóstego tysiąclecia p.n.e. w Afganistanie i w południowo-wschodnim Iranie. Ze starożytnego Imperium

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Studenckie Koło Naukowe Gastronomów „Gastronaucci”, karolina-mal@wp.pl

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii. Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Zakład Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością

Perskiego dotarły na Zachód. Służyły też jako lekarstwo, afrodyzjak i odtrutka. Do Włoch dotarły z Syrii w okresie rzymskim, około I w. n.e. i trafiły do południowej Europy i Afryki Północnej. Były też sprowadzane przez amerykańskich handlarzy w latach 80. XIX w. [Mandalari i in. 2022]. Według FAOSTAT [2025] światowa produkcja pistacji w 2023 r. wyniosła 1 303 461 ton. Ponad połowa (52%) światowej produkcji pistacji odbywa się w Ameryce Północnej w Stanach Zjednoczonych (676 tys. ton). Pozostałą część (47%) produkuje się w Azji, głównie w Iranie (308 tys. ton) i w Turcji (176 tys. ton).

Pistacje należą do rodziny Anacardiaceae, obejmującej m.in. orzechy nerkowca, mango, sumaka oraz trujący bluszcz. *Pistacia vera* L. jako jedyna wytwarza wystarczająco duże, jadalne orzechy, by były akceptowane na rynku. Jej owoce to owalne, czerwono-nawe, mięsiste pestkowce, znane jako orzeszki pistacjowe lub potocznie pistacje. Inne gatunki i podgatunki tej rośliny produkują mniejsze orzechy [Barghchi i Alderson 1989], a pozostałe odmiany pistacji są zazwyczaj wykorzystywane do produkcji oleju i drewna, w agroleśnictwie oraz stolarstwie [Mandalari i in. 2022].

Zbiór pistacji, polegający na mechanicznym potrząsaniu drzewami, przypada na koniec sierpnia lub początek września i trwa od 6 do 8 tygodni w sezonie. Pistacje są suszone przez 4–6 godzin do osiągnięcia 9–10% wilgotności w pionowych suszarniach zbożowych, a następnie są dosuszane w silosach, przez 24 godziny na każdy procent redukcji, do 5–7% wilgotności. Prażenie pistacji poprawia aromat, teksturę, barwę, konsystencję i akceptację konsumenta [Mandalari i in. 2022].

Wartość odżywcza pistacji

Pistacje (*Pistacia vera* L.) wyróżniają się na tle innych orzechów nie tylko swoim kolorem, ale też właściwościami odżywczymi. Są źródłem nienasyconych kwasów tłuszczowych, białka, węglowodanów, błonnika pokarmowego, niezbędnych mikroelementów, witamin, związków fenolowych i naturalnych przeciwutleniaczy [Khadiwi i in. 2025]. Ciemniowska-Żytkeiwicz i in. [2014] porównali w swojej pracy wartość odżywczą dziesięciu najbardziej popularnych rodzajów orzechów: arachidowych, brazylijskich, laskowych, makadamia, migdałów, nerkowców, pekanów, piniowych, włoskich i pistacji. Na podstawie wyników ich analizy poniżej przedstawiono, jak na tle innych orzechów pod względem żywieniowym prezentują się pistacje. Są one drugimi po nerkowcach najmniej kalorycznymi orzechami – ich 100 g dostarcza 553 kcal. Przy czym kaloryczność ta wynika głównie z wysokiej zawartości tłuszczu (średnio 45%). Jednak profil kwasów tłuszczowych (FA) w pistacjach jest zdominowany przez jednonienasycone kwasy (MUFA), które stanowią 56% wszystkich kwasów tłuszczowych, z czego nieco ponad połowę (52%) stanowi kwas oleinowy. Dodatkowo orzechy te zawierają wielonienasycone kwasy (PUFA) n-6 (30%) oraz n-3 (0,44%). Kwas linolenowy (C18:2) stanowi 30%, co lokuje je na piątej pozycji wśród orzechów. Więcej tego kwasu zawierają orzechy włoskie (57,46%), pekany (50,31%), piniowe (45,41%) oraz arachidowe (44,6%). Stosunek kwasu linolowego do α -linolenowego w pistacjach wynosi 69 : 1, co jest niepożądane w kontekście odżywiania [Ciemniowska-Żytkeiwicz i in. 2014].

Ponadto pistacje zawierają 27,51% węglowodanów, ok. 20,3% białka, 10,3% błonnika pokarmowego [Brufau i in. 2006, Biernat i in. 2014, Ciemniowska-Żytkiewicz i in. 2014]. Wysoka zawartość węglowodanów plasuje je na drugim miejscu po nerkowcach, które zawierają ich 30,19%. Jednocześnie pistacje zawierają największą ilość cukrów prostych spośród orzechów analizowanych przez Ciemniowską-Żytkiewicz i in. [2014], wynoszącą 7,66%. Tylko orzechy arachidowe (25,8%) i migdały (21,22%) zawierają więcej białka niż pistacje. Natomiast wysoka zawartość błonnika czyni je drugim po migdałach (12,2%) źródłem tego cennego składnika w diecie. Pistacje są więc zdrowym wyborem, bogatym w białko, błonnik i węglowodany, a jednocześnie niskokalorycznym [Ciemniowska-Żytkiewicz i in. 2014].

Pod względem zawartości witamin na tle innych orzechów pistacje również wypadają bardzo dobrze. Wśród orzechów badanych przez Ciemniowską-Żytkiewicz i in. [2014] zawierają najwięcej witaminy B₆ (1,7 mg/100 g). Tylko orzechy laskowe (6,3 mg/100 g) zawierają więcej witaminy C niż pistacje (5,6 mg/100 g). Podobnie tylko makadamia (1,2 mg/100 g) ma więcej witaminy B₁ (0,87 mg/100 g), a pekany (ok. 56 mg/100 g) więcej witaminy retinolu (21 mg/100 g). Na uwagę zasługuje fakt, że orzechy laskowe, piniowe i włoskie tej ostatniej witaminy zawierają tylko 1 mg/100 g. Pistacje jako jedyne orzechy zawierają β-karoten w ilości 0,4 mg/100 g oleju. W pistacjach nie wykryto α-tokoferolu, ale za to cechują się najwyższą zawartością β- i γ-tokoferolu (29,3 mg/100 g oleju). Zawierają również tokoferole o silnym działaniu przeciwutleniającym, należące do naturalnych antyoksydantów, które hamują procesy autooksydacji poprzez interakcję z wolnymi rodnikami [Kornsteiner i in. 2006, Ciemniowska-Żytkiewicz i in. 2014]. Pistacje jako czwarte wśród badanych orzechów zawierają dużo witaminy E (7,3 mg/100 g oleju). Witamina E wraz z β-karotenem neutralizują szkodliwe działania wolnych rodników i nadtlenków lipidowych. Pozostałe witaminy występują w pistacjach w mniejszych ilościach i, podobnie jak pozostałe orzechy, nie zawierają witamin B₁₂ i D [Ciemniowska-Żytkiewicz i in. 2014].

Pistacje plasują się na trzeciej pozycji pod względem zawartości steroli (110 mg na 100 g oleju) i fenolowych związków przeciwutleniających (867 mg/100 g oleju). Sterole obniżają stężenie cholesterolu i mają właściwości antyoksydacyjne. Olej pozyskiwany z orzechów jest bogaty w związki fenolowe, które nie tylko wpływają na ich stabilność oksydacyjną, ale także poprawiają profil sensoryczny i wartość żywieniową tych produktów. Pistacje mają wysoką zawartość izoflawonów oraz fitoestrogenów. Stężenie fitosteroli wyrażone w mg na 100 g produktu w pistacjach wynosi 280. Do cennych składników orzechów należą karotenoidy o silnych właściwościach antyoksydacyjnych, takie jak luteina i zeaksantyna. Chronią oczy przed zmianami zwyrodnieniowymi i zaburzeniami funkcji poznawczych [Goluch i in. 2019]. Niepowtarzalny kolor orzechów pistacjowych wynika z połączenia żółtych katechin, luteiny i zeaksantyny, zielonego chlorofilu i fioletowego z antocyjanów z zewnętrznej części nasienia [Mandalari 2022].

Ze wszystkich badanych przez Ciemniowską-Żytkiewicz i in. [2014] orzechów pistacje zawierają najwięcej wapnia (105 mg/100 g) i potasu (1025 mg/100 g), ale najmniej magnezu (122 mg/100 g). Jako piąte w kolejności po nerkowcach (6,68 mg/100 g), orzechach piniowych (5,53 mg/100 g), laskowych (4,7 mg/100 g) i arachidowych (4,58 mg/100 g) zawierają dużo żelaza (3,92 mg/100 g). Również zawartość fosforu (490

mg/100 g) stawia je na trzecim miejscu po orzechach brazylijskich (725 mg/100 g) i nerkowcach (593 mg/100 g).

Prozdrowotne działanie pistacji

Rodzaj i ilość spożywanych orzechów powinny być dobierane indywidualnie, z uwzględnieniem wieku, płci, stanu fizjologicznego, aktywności fizycznej oraz ogólnego stanu zdrowia [Goluch i in. 2019]. Orzechy stanowią ważny element zdrowej diety, wspierając zrównoważony sposób odżywiania. Pistacje są coraz bardziej popularnymi orzechami i znaczącym źródłem przeciwutleniaczy, takich jak: polifenole, antocyjany, a także innych biologicznie aktywnych składników.

Orzechy są szczególnie rekomendowane w celu poprawy kondycji skóry, np. u nastolatków w walce z trądzikiem, a u kobiet w okresie menopauzalnym w leczeniu łysienia, spłycaaniu zmian skórnych związanych z procesem starzenia oraz poprawą stanu struktury włosów oraz płytki paznokci [Zdrojewicz i in. 2015, Goluch-Koniuszy 2016]. Ta grupa artykułów spożywczych jest zalecana także kobietom planującym zajście w ciążę [Dhanashree i in. 2016]. Zaleca się, aby osoby starsze spożywały orzechy ze względu na ich neuroprotektoryjne efekty. Stwierdzono, że obecność orzechów w jadłospisie MIND (ang. *Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay*) sprzyja zapobieganiu chorobom układu nerwowego o charakterze degeneracyjnym oraz wspomaga procesy poznawcze ośrodkowego układu nerwowego [Cherian i in. 2019]. W przypadku zaburzeń metabolicznych związanych z cukrzycą typu 2 i w celach profilaktycznych zaleca się codzienne spożycie orzechów w ilości 30–60 g lub 56 g w przypadku kontroli glikemii [Stróżyk i Pachocka 2017].

Po analizie wpływu orzechów na gospodarkę lipidową oraz funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego, uznano je za grupę produktów zalecanych w diecie DASH (ang. *Dietary Approaches to Stop Hypertension*) mającej na celu obniżenie ciśnienia tętniczego. Dieta DASH rekomenduje ich spożycie w ilości 4–5 porcji tygodniowo przy dziennym zapotrzebowaniu energetycznym wynoszącym 2000 kcal [Padma 2014]. W 2019 r. Komisja Eat-Lancet przedstawiła wytyczne dotyczące (uniwersalnej) zdrowej diety referencyjnej, której celem jest ograniczenie śmiertelności na świecie, w których zaleca spożycie 50 g orzechów dziennie przy diecie zawierającej 2500 kcal [Willett i in. 2019]. | Z danych FDA (ang. Food and Drug Administration) wynika, że konsumpcja ok. 42,5 g orzechów na dzień, jako element diety ubogiej w tłuszcze nasycone i cholesterol, może obniżyć ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego. Jednocześnie orzechy nie powinny dostarczać więcej niż 4 g tłuszczów nasyconych z 50 g. Wymogi te, obok orzechów włoskich, najlepiej spełniają pistacje. Fitosterole, pełniące rolę przeciwutleniaczy, obniżają stężenie aterogennych frakcji cholesterolu LDL i redukują prawdopodobieństwo uszkodzenia DNA [Zdrojewicz i in. 2015].

Wielu diabetykom i osobom z nadwagą lub otyłością towarzyszy przekonanie, że powinny unikać orzechów z powodu ich wysokiej kaloryczności. Niemniej jednak liczne badania wskazują, że osoby te mogą czerpać istotne korzyści zdrowotne z włączenia orzechów do swojej diety. Pistacje zawierają tłuszcze wielonienasycone, które z jednej strony

są bardziej podatne na utlenianie niż tłuszcze nasycone, ale jednocześnie wykazują silniejsze działanie termogeniczne, co przyczynia się do ograniczenia gromadzenia tłuszczu [Lippi i in. 2016].

Pistacje mają również wysoką zawartość błonnika, co może pomóc w zmniejszeniu wartości wskaźnika masy ciała (BMI) [Buscemi i in. 2018]. Dodatkowo dostarczają duże ilości białka, co wpływa na zwiększenie uczucia pełności i redukcję spożycia pokarmu. Podobnie jak w przypadku innych produktów proces gryzienia pistacji może tłumić uczucie głodu. Co więcej badania wykazują, że pewna ilość tłuszczu zawartego w pistacjach nie jest wchłaniana, ponieważ tłuszcze w ich ścianach komórkowych nie są absorbowane w jelicie [Baer i in. 2012]. Reasumując, w porównaniu ze standardowym spożyciem w diecie, odpowiednia dawka suplementacji pistacjami przyczynia się do redukcji BMI bez zwiększenia masy ciała, co wspiera przekonanie, że włączenie pistacji do diety jest korzystne dla zdrowia.

Niższy poziom lizyny w porównaniu z poziomem argininy może zmniejszać ryzyka rozwoju miażdżycy oraz hipercholesterolemii. Najniższy stosunek tych aminokwasów odnotowano w orzechach makadamia (0,13), orzechach laskowych (0,19) oraz orzechach włoskich (0,20). Niestety pistacje cechuje najwyższy stosunek lizyny do argininy (0,57), a tuż za nimi są orzechy nerkowca (0,44) [Brufau i in. 2006, Ciemniowska-Żytikiewicz i in. 2014].

Pistacje oraz ich ekstrakty mają pozytywny wpływ na funkcje poznawcze, działają neuroprotektoryjnie, a także przeciwlękowo. Spożycie pistacji przywraca równowagę mikrobioty jelitowej, stymulując rozwój bakterii takich jak: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Turicibacter* i *Romboutsia*. Badania wykazały, że osoby dorosłe w stanie przedcukrzycowym, które przez cztery tygodnie spożywały 57 g pistacji dziennie, doświadczyły znaczącej zmiany profilu metabolitów mikrobioty jelitowej w moczu. Inne badania pokazały, że spożywanie 42 g orzechów drzewnych przez 12 tygodni wpływa na metabolizm tryptofanu i mikroorganizmów u osób z nadwagą i otyłością [Derbyshire i in. 2023].

Zagrożenia związane z konsumpcją pistacji

Pistacje, obok kukurydzy, orzechów ziemnych, nasion bawełny i orzechów brazylijskich, charakteryzują się największą podatnością na zanieczyszczenie mikotoksynami [Lendzion i in. 2010]. Najczęściej dochodzi do tego bezpośrednio po zbiorze i podczas przechowywania w niewłaściwych warunkach [Miśniakiewicz 2008]. Z danych dostępnych w systemie RASFF (ang. *Rapid Alert System for Food and Feed*) w okresie od 8 stycznia 2020 r. do 28 marca 2025 r. wynika, że zgłoszono 423 powiadomienia dotyczące zanieczyszczenia pistacji [RASFF 2025]. Pistacje były zanieczyszczone głównie aflatoksyną B1 (365 przypadków) lub/i ochratoksyną A (21 przypadków) lub/i [bakteriami – red.] *Salmonella* spp. (20 przypadków) i/lub *Listeria monocytogenes* (2 przypadki). Najwięcej zgłoszeń dotyczyło pistacji pochodzących z Iranu (146 zgłoszeń), następnie z Turcji (120 zgłoszeń) i ze Stanów Zjednoczonych (102 zgłoszenia). W 334 przypadkach z powodu ryzyka zidentyfikowania podjęto decyzję o odrzuceniu zanieczyszczonych partii pistacji na granicy.

Inny rodzaj zagrożeń to zagrożenia chemiczne, związane z technologią produkcji pistacji. W czasie procesu ich prażenia powstają produkty utleniania nienasyconych tłuszczów i tworzenia AGE (ang. *Advanced Glycation End-products*). Związki te uszkadzają struktury łącznotkankowe w organizmie, co może prowadzić do: zwężenia tętnic (miażdżycy), zmętnienia soczewki w oku, uszkodzenia połączeń nerwowych prowadzących do demencji oraz zniszczenia tkanki chrzęstnej stawów [Zdrojewicz i in. 2015]. Do systemu RASSF [RASFF 2025] we wskazanym powyżej okresie wpłynęło tylko jedno zgłoszenie o zanieczyszczeniu estrami glicydowymi czekolady z kunafą i pistacjami pochodzącej ze Zjednoczonych Emiratów Arabskich. W tym przypadku podjęto decyzję o powiadomieniu informacyjnym.

Podsumowanie

Z perspektywy wartości odżywczej pistacje stanowią istotny komponent diety o wysokim potencjale prozdrowotnym. Zawierają w swoim składzie wiele składników potrzebnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu oraz posiadają udowodnione naukowo właściwości prozdrowotne. Są uważane za bezpieczne dla zdrowia, a ich jakość jest monitorowana przez służby w Unii Europejskiej w ramach systemu RASFF.

Bibliografia

- Baer D.J., Gebauer S.K., Novotny J.A., 2012. Measured energy value of pistachios in the human diet. *Br. J. Nutri* 107(1), 120–125, <https://doi.org/10.1017/S0007114511002649>.
- Barghchi M., Alderson P.G., 1989. Pistachio (*Pistacia vera* L.) W: Y.P.S. Bajaj (red.), Tress II. *Biotechnology in agriculture and forestry*, vol. 5. Springer, Berlin–Heidelberg, 68–98, https://doi.org/10.1007/978-3-642-61535-1_6.
- Biernat J., Drzewicka M., Łożna K., Hyla J., Bronkowska M., Grajeta H., 2014. Skład kwasów tłuszczowych orzechów i nasion dostępnych aktualnie w handlu w kontekście prozdrowotnych zaleceń żywieniowych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 47(2), 121–129.
- Brufau G., Boatella J., Rafecas M., 2006. Nuts: source of energy and macronutrients. *Br. J. Nurs.* 96(Suppl.2), 24–28, <https://doi.org/10.1017/BJN20061860>.
- Buscemi J., Pugach O., Springfield S., Jang J., Tussing-Humphreys L., Schiffer L., Fitzgibbon M.L., Stolley M. R., 2018. Associations between fiber intake and Body Mass Index (BMI) among African-American women participating in a randomized weight loss and maintenance trial. *Eat. Behav.* 29, 48–53, <https://doi.org/10.1016/j.eatbeh.2018.02.005>.
- Cherian L., Wang Y., Fakuda K., Leurgans S., Aggarwal N., Morris M., 2019. Mediterranean-Dash Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) diet slows cognitive decline after stroke. *J. Prev. Alzheimer's Dis.* 6(4), 267–273, <https://doi.org/10.14283/jpad.2019.28>.
- Ciemińska-Żytkiewicz H., Krygier K., Bryś J., 2014. Wartość odżywcza orzechów oraz ich znaczenie w diecie. *Post. Tech. Przetw. Spoż.* 1, 90–96.

- Derbyshire E., Higgs J., Feeney M.J., Carughi A., 2023. Believe it or 'Nut': Why it is time to set the record straight on nut protein quality: Pistachio (*Pistacia vera* L.) focus. *Nutrients* 15(9), 2158. <https://doi.org/10.3390/nu15092158>.
- Dhanashree N., Anuradha S., Ketan S., 2016. Effect of diet and nutrient intake on women who have problems of fertility. *Int. J. Pure App. Biosci.* 4(4), 198–204, <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.2330>
- EFSA, 2011. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to nuts and essential fatty acids (omega-3/omega-6) in nut oil (ID 741, 1129, 1130, 1305, 1407) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J.* 9(4), 2032, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2032>.
- FAOSTAT, 2025. Pistachios 2023. Dostępne na: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> [dostęp: 29.03.2025]
- Goluch Z., Harfan G., Lis S., 2019. Znaczenie orzechów w diecie człowieka. *Nauki Inż. Technol.* 4(35), 9–27, <https://doi.org/10.15611/nit.2019.04.01>.
- Goluch-Koniuszy Z.S., 2016. Nutrition of women with hair loss problem during the period of menopause. *Menopause Rev.* 15(1), 56–61, <https://doi.org/10.5114/pm.2016.58776>.
- Khadiji A., Nikoogoftar-Sedghi M., Tunç Y., 2025. Agronomic characteristics, mineral nutrient content, antioxidant capacity, biochemical composition, and fatty acid profile of Iranian pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars. *BMC Plant Biol.* 25(68), <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06094-9>.
- Kornsteiner M., Wagner K.H., Elmadfa I., 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chem.* 98, 381–387, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.033>
- Lendzion E., Postupolski J., Rybińska K., Kurpińska-Jaworska J., Szczesna M., Karłowski K., 2010. System RASFF jako element strategii bezpieczeństwa żywności w zakresie mikotoksyn. *Bromat. Chem. Toksykol.* 43(4), 533–538.
- Lippi G., Cervellin G., Mattiuzzi C., 2016. More pistachio nuts for improving the blood lipid profile. Systematic review of epidemiological evidence. *Acta Biomed.* 87(1), 5–12.
- Mandalari G., Barreca D., Gervasi T., Roussel M.A., Klein B., Feeney M.J., Carughi A., 2022. Pistachio nuts (*Pistacia vera* L.): production, nutrients, bioactives and novel health effects. *Plants* 11, 18. <https://doi.org/10.3390/plants11010018>.
- Miśniakiewicz M., 2008. Biologiczne zanieczyszczenia żywności. Mikotoksyny. *Zesz. Nauk. UE w Krakowie* 781, 113–129.
- Padma V., 2014. DASH diet in preventing hypertension. *Adv. Biol. Res.* 8(2), 94–96, <https://doi.org/10.5829/idosi.abr.2014.8.2.8272>.
- RASFF, 2025. Dostęp na: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search> [dostęp: 29.03.2025]
- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności *Dz.U. L* 31 z 1.2.2002, p. 1–24.
- Stróżyk A.K., Pachocka L., 2017. The role of nuts consumption in the primary and secondary prevention of type 2 diabetes. *Clin. Diabetol.* 6(1), 26–33, <https://doi.org/10.5603/DK.2017.0005>.
- Willet W., Rockström J., Loken B., Springmann M., Lang T., Vermeulen S., Garnett T., Tilman D., DeClerck F., Wood A., Jonell M., Clark M., Gordon L.J., Fanzo J., Hawkes C., Zurayk R.,

Rivera J.A., Vries W.D., Sibanda M.L., Afshin A., Chaudhary A., Herrero M., Agustina R., Branca F., Lartey A., Fan S., Crona B., Fox E., Bignet V., Troell M., Lindahl T., Singh S., Cornell S.E., Reddy K.S., Narain S., Nishtar S., Murray C.J.L., 2019. Food in the Anthropocene: the EAT-Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *Lancet* 393(10170), 447–492, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)31788-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)31788-4).

Zdrojewicz Z., Starostecka E., Królikowska N., Kuźnicki P., 2015. The influence of contained components in nuts on the man organism. *Borgis – Med. Rodz.* 3, 124–130.

Opakowania żywności jako potencjalne źródło bisfenol A

Food packaging as a potential source of bisphenol A

Wstęp

Bisfenol A (BPA) to organiczny związek chemiczny z grupy fenoli o nazwie 2,2-bis(4-hydroksyfenilo)propan. Został otrzymany po raz pierwszy w 1891 r. przez rosyjskiego chemika Alexandra Dianina w wyniku kondensacji dwóch cząsteczek fenolu z acetonem [Podgórska 2015]. BPA jest szeroko stosowany na całym świecie, a materiały zawierające BPA, takie jak tworzywa poliwęglanowe i żywice epoksydowo-fenolowe, mogą być składnikami opakowań żywności. Tych pierwszych używa się m.in. do produkcji naczyń stołowych (talerze, kubki, dzbanki), naczyń do kuchenek mikrofalowych, pojemników do przechowywania i pojemników na wodę wielokrotnego użycia oraz rur dostarczających pitną wodę. Z kolei te drugie wykorzystuje się jako wewnętrzne ochronne powłoki metalowych puszek do żywności i napojów oraz jako powłoka na metalowych pokrywkach szklanych słoików i butelek [EFSA 2007].

Związki chemiczne takie jak BPA stosowane w opakowaniach żywności mogą migrować w bardzo małych ilościach do żywności i napojów. Z tego powodu Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (ang. European Food Safety Authority, EFSA) regularnie dokonuje przeglądu ich bezpieczeństwa, biorąc pod uwagę nowe dane naukowe. Z racji potencjalnych zagrożeń zdrowotnych jego obecność w materiałach opakowaniowych do żywności podlega ścisłym regulacjom prawnym.

W 2015 r., zgodnie z zapisami unijnego rozporządzenia REACH [2006], BPA został zidentyfikowany jako substancja budząca szczególne obawy (ang. *substance of very high concern*, SVHC). Od 5 stycznia 2021 r. każdy podmiot dostarczający wyroby zawierające SVHC w stężeniu powyżej 0,1% wagowego na rynku jest zobligowany do przekazywania ECHA (ang. European Chemicals Agency) informacji o tych wyrobach do bazy SCIP (ang. *substances of concern in articles as such or in complex objects/products*). Ze względu na wysokie ryzyko pod koniec grudnia 2024 r. Komisja Europejska przyjęła zakaz stosowania BPA w materiałach przeznaczonych do kontaktu z żywnością.

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Studenckie Koło Naukowe Gastronomów „Gastronaucci”, skoko1998@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Zakład Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością

Celem pracy była ocena aktualnej wiedzy na temat narażeń konsumentów żywności na bisfenol A na podstawie informacji z systemu RASFF oraz przegląd aktualnych komunikatów i aktów prawnych związanych ze stosowaniem BPA w materiałach przeznaczonych do kontaktu z żywnością.

Główne źródła narażenia

Z racji masowego stosowania bisfenolu A niemal każdy obywatel UE jest narażony na działanie tej substancji. W grudniu 2013 r. Parlament Europejski i Rada Unii Europejskiej przyjęły program ramowy w zakresie badań naukowych i innowacji na lata 2014–2020 Horyzont 2020 [<https://instrumentyfinansoweue.gov.pl/>]. Z badań przeprowadzonych w ramach tego projektu wynika, że BPA jest substancją powszechnie występującą. Niepokój budzi fakt, że aż u 92% badanych spośród 3000 Europejczyków z 11 krajów w moczu wykryto BPA, którego poziom przekraczał próg bezpieczeństwa ustanowiony przez EFSA [<https://ec.europa.eu>]. Jednym z głównych źródeł narażenia na bisfenol A są opakowania do żywności. Substancja ta wnika do organizmu z pożywieniem, do którego dostała się wskutek migracji z opakowania [<https://www.gov.pl/web/psse-krakow...>, Sungur i in. 2014]. Zwłaszcza uszkodzone opakowanie zwiększa szanse przenikania BPA do żywności. Migracja jest zwiększona także w czasie podgrzewania żywności np. w kuchence mikrofalowej lub pasteryzacji/sterylizacji w puszkach [Takao i in. 2002]. Należy unikać podgrzewania żywności w opakowaniach z tworzyw sztucznych wielokrotnego użytku, gdyż może to prowadzić do uszkodzenia polimeru i przechodzenia tej substancji do pożywienia [Łopacka i in. 2015]. Bisfenol A jest związkiem chemicznym o niskiej rozpuszczalności w wodzie, jednak w produktach zawierających cukier i tłuszcz wykazuje bardzo wysoką rozpuszczalność [Mercea 2009]. Poza opakowaniami żywności źródłem narażenia mogą być również: kurz z wykładzin podłogowych, paski kart kredytowych, etykiety logistyczne, papier termiczny, w tym paragony sklepowe, syntetyczne materiały meblowe, elektronika, kleje i farby [<https://echa.europa.eu/>, Petrosyan 2019]. BPA może dostawać się do organizmu człowieka nie tylko przez układ pokarmowy, ale również przez skórę i układ oddechowy [<https://www.gov.pl/web/psse-krakow...>, Gromiec 2018].

Wpływ bisfenolu A na zdrowie człowieka

Bisfenol A wykazuje negatywne skutki dla organizmu poprzez upośledzenie układu endokrynnego, zakłócając wydzielanie, transport i metabolizm hormonów. BPA klasyfikowany jest jako ksenoestrogen, co oznacza, że jego struktura chemiczna przypomina żeński hormon estrogen, który hamuje tworzenie się testosteronu na drodze syntezy. Udo- wodniono także jego niekorzystny wpływ na układ rozrodczy. Kobiety, które miały styczność z BPA, są narażone na trudności z zajściem w ciążę, występowanie zespołu policy- stycznych jajników oraz raka jajnika. Na szkodliwe działanie BPA jest również narażone nienarodzone dziecko podczas życia płodowego, jeśli związek ten wnikał do organizmu

jego matki, a następnie do organizmu dziecka poprzez barierę łożyskową. Obecność bisfenolu A jest związane z występowaniem różnych schorzeń, takich jak cukrzyca, otyłość, zespół metaboliczny, nowotwory. U kobiet może przyczyniać się do rozwoju nowotworów piersi, macicy i jajników, zaś u mężczyzn może mieć negatywny wpływ na jakość nasienia oraz zwiększać ryzyko raka prostaty. Dodatkowo istnieją obawy, że BPA może prowadzić do uszkodzenia oczu, wywoływać reakcje alergiczne w kontakcie ze skórą oraz podrażniać drogi oddechowe [Rudkowski 2013, Popowicz i in. 2014, Łaszczyca i in. 2015, Kulik-Kupka i in. 2017, Ma i in. 2019, Antonowicz i in. 2021, Groh i in. 2021]. Najnowsze badania sugerują [<https://food.ec.europa.eu>], że BPA może również oddziaływać na układ odpornościowy, co może prowadzić do rozwoju zaburzeń autoimmunologicznych.

Sposoby wykrywania bisfenolu A

Bisfenol A nawet w minimalnej ilości wpływa toksycznie na ludzki organizm, dlatego podjęte zostały metody udoskonalające wykrywanie tego związku. Na początku lat 90. XX w. górna granica wykrywalności BPA z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem elektrotechnicznym wynosiła 0,2 ng/ml, a z użyciem spektrometrii mas – 0,1 ng/ml. Dzięki rozwojowi technologii i możliwości połączenia chromatografii cieczowej lub chromatografii gazowej ze spektrometrią mas BPA jest wykrywalny na poziomie 0,01 ng/ml. Równie skuteczna jest metoda fluorescencyjna lub techniki ELISA połączone z HPLC. Jednak za najdokładniejszą metodę pomiaru śladowych ilości BPA uznaje się spektrometrię mas z zastosowaniem rozcieńczenia izotopowego [Sun i in. 2004].

Istnieją pewne ograniczenia w oznaczaniu BPA. Przykładowo BPA można oznaczyć w moczu, lecz – przez jego sprzężoną formę z glukuronidem lub siarczanem – w procesie detekcji konieczne jest użycie enzymów, odpowiednio glukuronidazy lub sulfatazy. Ponadto wszelkie pojemniki używane w procesie pobierania próbek i oznaczania BPA powinny być wykonane ze szkła lub materiału wolnego od bisfenolu [Podgórska 2015].

System RASFF na straży bezpieczeństwa zagrożeniem bisfenolem A

System RASFF (ang. *rapid alert system for food and feed*) to system wczesnego ostrzegania o niebezpiecznej żywności i paszach, który służy do wymiany informacji pomiędzy organami urzędowej kontroli w Europie, będącymi członkami tego systemu. Do systemu wprowadzane są informacje o żywności, paszach i materiałach do kontaktu z żywnością, potencjalnie niebezpieczne dla zdrowia ludzi, zwierząt lub środowiska i działaniach następczych w wyniku zidentyfikowania takich produktów. Zgodnie z Rozporządzeniem 178/2002 informacje dotyczące powiadomień alarmowych, informacyjnych i o odrzuceniu na granicy, przekazywane w ramach systemu RASFF, udostępniane

są do wiadomości publicznej na stronie internetowej RASFF [<https://www.gov.pl/web/gis/rasff>].

Na stronie RASFF Window [<https://webgate.ec.europa.eu/>], do 20 marca 2025 r., opublikowano 17 powiadomień dotyczących wykrycia bisfenolu A. Pierwsze opisane zdarzenie miało miejsce 3 czerwca 2020 r., ostatnie 20 września 2024 r. Dwanaście z nich dotyczyło obecności BPA w materiałach przeznaczonych do kontaktu z żywnością: w misce z Indii, w szklanym dzbanku z Niemiec, pochodzących z Chin aluminiowych butelkach do picia i kubku niekapkowym dla dzieci, w puszkach po napojach z Polski i z Albanii, w nożu z Grecji, w formie poliwęglanowej z Włoch, w recyklingowych serwetkach z Niemiec. Pięć zgłoszeń wynikało z obecności bisfenolu A w żywności: w serze feta z Grecji, w paście ze szprota w puszcze z Łotwy, w śmietanie kokosowej w puszcze i w mleku kokosowym w puszcze z Tajlandii oraz w groszku konserwowym z Polski. Spośród wszystkich 17 powiadomień 11 miało charakter poważny. Przy czym 9 było powiadomieniami alarmowymi, zaś pozostałe 8 powiadomieniami informacyjnymi.

Prace EFSA nad bezpieczeństwem związanym z bisfenolem A

Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności swoją pierwszą ocenę ryzyka związanego z BPA opublikował w listopadzie 2006 r. [EFSA 2007]. W kolejnych latach wydał dalsze opinie naukowe na temat BPA związane z jego toksykokinetyką [EFSA 2008] oraz toksycznością neurorozwojową [EFSA 2010], zakazując stosowania BPA w produkcji poliwęglanowych butelek do karmienia niemowląt. W styczniu 2015 r. EFSA opublikowała nową kompleksową ocenę toksyczności i narażenia na BPA. Ekspertki EFSA na podstawie analizy wyników wieloletnich badań drastycznie obniżyli tolerowany poziom dziennego pobrania z 50 mikrogramów na kilogram masy ciała ($\mu\text{g/kg}$ masy ciała/dzień) do 4 $\mu\text{g/kg}$ masy ciała/dzień [EFSA 2015]. Aby zapewnić skuteczną, przejrzystą i rygorystyczną metodologicznie ponowną ocenę bezpieczeństwa, EFSA podjął się zadania opracowania protokołu szczegółowo opisującego *a priori* podejście i metodologię przeprowadzania identyfikacji i charakterystyki zagrożeń związanych z BPA. Ogólnym celem była ocena czy dowody naukowe, publikowane od 2013 r. i wcześniej nieocenione przez EFSA, nadal potwierdzają obecne tymczasowe tolerowane dzienne spożycie dla BPA wynoszące 4 $\mu\text{g/kg}$ masy ciała [EFSA 2017]. Jednocześnie wprowadzono zakaz stosowania BPA w plastikowych butelkach i opakowaniach żywności dla niemowląt i dzieci poniżej 3. r.ż. oraz bardziej rygorystyczne limity dotyczące BPA w tworzywach sztucznych przeznaczonych do kontaktu z żywnością, jak również do materiałów powlekanych takich jak metalowe puszki. BPA ma także wiele innych zastosowań. Od stycznia 2020 r., na mocy rozporządzenia REACH [2006], zakazane jest stosowanie go w paragonach z papieru termicznego. W kwietniu 2023 r. EFSA opublikował ponowną ocenę bezpieczeństwa BPA stosowanego w materiałach przeznaczonych do kontaktu z żywnością, znacznie zmniejszając tolerowane dzienne pobranie (TDI) określone w poprzedniej ocenie przeprowadzonej w 2015 r. z 4 μg na 0,2 ng na kilogram masy ciała [EFSA 2023]. W dniu 19 grudnia 2024 r. Komisja Europejska przyjęła zakaz stosowania bisfenolu A w materiałach

przeznaczonych do kontaktu z żywnością [Rozporządzenie (UE) 2024/3190] uwzględniono najnowszą ocenę ryzyka EFSA [<https://food.ec.europa.eu>], która potwierdziła potencjalnie szkodliwy wpływ BPA na układ odpornościowy. Zakaz oznacza, że BPA nie będzie dozwolony w produktach, które mają kontakt z żywnością lub napojami, takich jak powłoki na metalowych puszkach, plastikowych butelkach wielokrotnego użytku, chłodziarkach do dystrybucji wody i innych przyborach kuchennych. Przy czym w przypadku większości produktów będzie obowiązywał 18-miesięczny okres wycofywania produktów oraz bardzo ograniczone wyjątki w przypadku braku alternatywy, aby dać branży czas na dostosowanie się i uniknięcie zakłóceń w łańcuchu żywnościowym. Zakaz obejmuje również inne bisfenole, które są szkodliwe dla układu rozrodczego i hormonalnego [<https://food.ec.europa.eu>].

Powstał projekt „SNA-BPA”, który jest wczesną reakcją na potencjalne ograniczenie stosowania BPA. Jego celem jest zapewnienie wsparcia dla przedsiębiorstw zainteresowanych rozwiązaniami zastępującymi bisfenole (A, S i F) i pomoc w znalezieniu ich bezpieczniejszych zamienników. Na stronie internetowej projektu można znaleźć najnowsze wiadomości o zastępowaniu BPA, dokumentację techniczną, odpowiedzi na często zadawane pytania, sprawozdania oraz informacje o aktualnych aktach prawnych. Wszystkie te informacje opracowane są w formie przejrzystej tabeli podsumowującej [<https://substitution-bp.ineris.fr/en>].

Podsumowanie

Bisfenol A jest wysoce niebezpiecznym, ale zarazem szeroko stosowanym związkiem w opakowaniach mających kontakt z żywnością. Prace wielu naukowców oraz EFSA nad jednoznacznym potwierdzeniem jego szkodliwego wpływu na zdrowie ludzi trwały blisko 20 lat. Zakończyły się one przyjęciem przez Komisję Europejską aktu prawnego zakazującego stosowania bisfenolu A w materiałach przeznaczonych do kontaktu z żywnością. Jednocześnie już w 2012 r. na stronie internetowej ECHA [<https://echa.europa.eu>] wystartował projekt SNA-BPA. Ze względu na ogromne zaangażowanie zainteresowanych podmiotów: naukowców, przedsiębiorców, EFSA, ECHA oraz UE jest szansa na szybkie zastąpienie tego niebezpiecznego związku innym o wysokim stopniu bezpieczeństwa.

Bibliografia

- Antonowicz K., Osmala-Kurpiewska W., Piekut A., 2021. Świadomość rodziców na temat zagrożenia zdrowia dzieci wynikającego z narażenia na wybrane substancje chemiczne przechodzące z opakowań z tworzyw sztucznych do żywności. *Med. Og. Nauk. Zdr.* 27(3), 297–305, <https://doi.org/10.26444/monz/140158>.
- EFSA, 2007. Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food. Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane. *EFSA J.* 428, 1–75, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.428>.

- EFSA, 2008. Scientific opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission on the toxicokinetics of bisphenol A. *EFSA J.* 759, 1–10.
- EFSA, 2010. EFSA Panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF). Scientific Opinion on bisphenol A: evaluation of a study investigating its neurodevelopmental toxicity, review of recent scientific literature on its toxicity and advice on the Danish risk assessment of bisphenol A. *EFSA J.* 8(9), 1829, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1829>.
- EFSA, 2015. FSA CEF Panel (EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids). Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: executive summary. *EFSA J.* 13(1), 3978, 6–14, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3978>.
- EFSA (European Food Safety Authority), Gundert-Remy U., Bodin J., Bosetti C., FitzGerald R.E., Hanberg A., Hass U., Hooijmans C., Rooney A.A., Rousselle C., van Loveren H., Wölfle D., Barizzzone F., Croera C., Putzu C., Castoldi A.F., 2017. Bisphenol A (BPA) hazard assessment protocol. EFSA supporting publication, 14(12), EN-1354, 76, <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.EN-1354>.
- EFSA CEP Panel (EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids), Lambré C., Barat Baviera J.M., Bolognesi C., Chesson A., Cocconcelli P.S., Crebelli R., Gott D.M., Grob K., Lampi E., Mengelers M., Mortensen A., Rivière G., Silano V., Steffensen I.-L., Tlustos C., Vernis L., Zorn H., Batke M., Bignami M., Corsini E., FitzGerald R., Gundert-Remy U., Halldórsson T., Hart A., Ntzani E., Scanziani E., Schroeder H., Ulbrich B., Waalkens-Berendsen D., Woelfle D., Al Harraq Z., Baert K., Carfi M., Castoldi A.F., Croera C., Van Loveren H., 2023. Scientific Opinion on the re-evaluation of the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA J.* 21(4), 6857, 392, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.6857>.
- Gao H., Yang B.J., Li N., Feng L.M., Shi X.Y., Zhao W.H., Liu S.J., 2015. Bisphenol A and hormone-associated cancers: current progress and perspectives. *Medicine (Baltimore)*, 94(1), e211, <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000211>.
- Groh K.J., Geueke B., Martin O., Maffini M., Muncke J., 2021. Overview of intentionally used food contact chemicals and their hazards. *Environ. Int.* 150, 106225, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106225>.
- Gromiec J., 2018. 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo) propan – frakcja wdychana. Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 4(98), 5–41, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.7948>.
- <https://ec.europa.eu/newsroom/sante/items/859180/en> [dostęp: 20.03.2025]
- <https://echa.europa.eu/pl/safer-alternatives-for-bisphenol-a> [dostęp: 20.03.2025]
- https://food.ec.europa.eu/food-safety-news-0/commission-adopts-ban-bisphenol-food-contact-materials-2024-12-19_en [dostęp: 20.03.2025, 25.09.2025]
- <https://instrumentyfinansoweuc.gov.pl/program-horyzont-2020/> [dostęp: 20.03.2025]
- <https://substitution-bp.ineris.fr/en> [dostęp: 20.03.2025]
- <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/> [dostęp: 20.03.2025]
- <https://www.gov.pl/web/psse-krakow/bisfenol-a---zastosowania-i-zagrozenia> [dostęp: 20.03.2025]
- <https://www.gov.pl/web/gis/rasff> [dostęp: 20.03.2025]
- Kulik-Kupka K., Nowak J., Korzonek-Szlacheta I., Zubelewicz-Szkodzińska B., 2017. Wpływ dysruptorów endokrynnych na funkcje organizmu. *Post. Hig. Med. Dośw. (online)*. 71, 1231–1238, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.7748>.
- Łaszczyca D., Paradowska P., Makarova K., 2015. Zanieczyszczenie środowiska bisfenolem A. *Prospect. Pharm. Sci.* 13(1), 1–5, <https://doi.org/10.56782/pps.106>.

- Łopacka J., Lipińska A., Rafalska U., 2015. Zmiany zachodzące w materiale opakowaniowym i w żywności w trakcie obróbki mikrofalowej. *Probl. Hig. Epidemiol.* 96(1), 77–83.
- Ma Y., Liu H., Wu J., Yuan L., Wang Y., Du X., Wang R., Marwa P.W., Petlulu P., Chen X., Zhang H., 2019. The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environ. Res.* 176, 108575, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108575>.
- Mercea P., 2009. Physicochemical processes involved in migration of bisphenol a from polycarbonate. *J. Appl. Polym. Sci.* 112, 579–593, <https://doi.org/10.1002/app.29421>.
- Petrosyan K., 2019. Produkty z tworzyw sztucznych – wykorzystanie i zagrożenia. *Zesz. Stud. Ruchu Nauk. Uniw. Jana Kochanowskiego Kielcach* 28(2), 87–96.
- Podgórska I., 2015. Bisfenol A. Dostępne na: <http://www.e-biotechnologia.pl/Artykuly/Bisfenol-A/> [dostęp: 20.03.2024]
- Popowicz R., Lesiów T., 2014. Zasady działania innowacyjnych opakowań aktywnych w przemyśle żywnościowym. *Nauki Inż. Technol.* 1(12), 82–99, <https://doi.org/10.15611/nit.2014.1.06>.
- REACH, 2006. Rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), utworzenia Europejskiej Agencji Chemikaliów, zmieniające dyrektywę 1999/45/WE oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 793/93 i rozporządzenie Komisji (WE) nr 1488/94, jak również dyrektywę Rady 76/769/EWG i dyrektywę Komisji 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/WE i 2000/21/WE. *Dz.U. L* 396 z 30.12.2006, 1–794.
- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności. *Dz.U. L* 31 z 1.2.2002, p. 1–24.
- Rozporządzenie Komisji (UE) 2024/3190 z dnia 19 grudnia 2024 r. w sprawie stosowania bisfenolu A (BPA) oraz innych bisfenoli i pochodnych bisfenoli ze zharmonizowaną klasyfikacją pod względem szczególnych niebezpiecznych właściwości w niektórych materiałach i wyrobach przeznaczonych do kontaktu z żywnością, zmieniające rozporządzenie (UE) nr 10/2011 oraz uchylające rozporządzenie (UE) 2018/213 *Dz.U. L*, 2024/3190, 31.12.2024.
- Rudkowski Z., 2013. Narażenie środowiskowe i wpływ na zdrowie dzieci chemikaliów zawartych w materiałach plastikowych. *Med. Srod.* 16(1), 7–15.
- Sun Y., Irie M., Kishikawa N., Wada M., Kuroda N., Nakashim K., 2004. Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column switching and fluorescence detection. *Biomed. Chromatogr.* 18(8), 501–507, <https://doi.org/10.1002/bmc.345>.
- Sungur Ş., Koroğlu M., Özkan A., 2014. Determination of bisphenol a migrating from canned food and beverages in markets. *Food Chem.* 142, 87–91, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.034>.
- Takao Y., Lee H.C., Kohra S., Arizono K., 2002. Release of bisphenol A from food can lining upon heating. *J. Health Sci.* 48(4), 331–334

Ziele wąkroty azjatyckiej (*Centella asiatica* L.) jako źródło cennych związków aktywnych

The herb of *Centella asiatica* L. as a source of valuable active compounds

Wstęp

Wąkrota azjatycka (*Centella asiatica* L.), znana również jako gotu kola, jest rośliną należącą do rodziny selerowatych (Apiaceae) [Karlłowicz-Bodalska i in. 2013, Shukuroval i in. 2021]. Występuje w krajach strefy międzyzwrotnikowej i podzwrotnikowej [Simka 2023]. Preferuje stosunkowo zacienione stanowiska i tereny podmokłe, takie jak brzegi rzek, stawy, łąki i lasy [Shukuroval i in. 2021]. Można ją spotkać w krajach południowo-wschodniej Azji, głównie w Indiach, Chinach, Japonii, Malezji i Indonezji, lecz również na Madagaskarze, w Australii oraz w Ameryce Północnej i Południowej [Karlłowicz-Bodalska i in. 2013, Wyszowska-Kolatko 2019].

C. asiatica jest rośliną o długiej historii stosowania w tradycyjnej medycynie, indyjskiej oraz chińskiej, szczególnie w systemie ajurwedy. Od tysięcy lat wykorzystuje się ją jako naturalny środek wspomagający leczenie wielu schorzeń [Ganie i in. 2022]. Stosuje się ją m.in. w terapii nadciśnienia, choroby wrzodowej przewodu pokarmowego, egzemy, łuszczycy, a nawet trądu. Roślina ta jest szczególnie ceniona za swoje właściwości wspomagające regenerację skóry, przyspieszające gojenie ran oraz wspierające funkcje układu nerwowego i mózgu [Chandrika i Kumara 2015]. Związki aktywne w niej zawarte odpowiadają za działanie przeciwzapalne, przeciwutleniające oraz stymulujące syntezę kolagenu, dzięki czemu wąkrota znajduje zastosowanie w leczeniu blizn, rozstępów, oparzeń, a także w kosmetyce jako składnik preparatów przeciwstarzeniowych i poprawiających elastyczność skóry [Orhan 2012].

Surowcem pozyskiwanym z wąkroty azjatyckiej mogą być zarówno liście, jak i cała roślina. Jej skład chemiczny jest zróżnicowany i często uwarunkowany od miejsca występowania [Markiewicz 2020]. Główną grupę związków występujących w ziele wąkroty azjatyckiej są pentacykliczne saponiny triterpenowe. Ponadto obecne są również kwasy triterpenowe, flawonoidy, kwasy fenolowe, polisacharydy, monosacharydy, fitosterole, aminokwasy oraz witaminy [Wyszowska-Kolatko 2019]. Spośród triterpenów wymienia się kwas azjatkowy, kwas madekasowy, azjatykozyd, madekasozyd – jako najważniejsze metabolity wtórne, odpowiedzialne za wielokierunkowe działanie biologiczne. Oprócz terpenoidów *C. asiatica* charakteryzuje się wysoką zawartością fenoli, w tym flawonoidów spośród których najważniejsze to kwercetyna, katechina, rutyna oraz

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Międzywydziałowe Koło Naukowe „Herba Medica”, magdalenapalik@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Warzywnictwa i Zielarstwa

apigenina, które działają jako silne przeciwutleniacze [Orhan 2012]. Według Zainol i in. [2008] najwyższe stężenie związków aktywnych występuje w liściach wąkroty. Najnowsze dane literaturowe wskazują, iż skład chemiczny wąkroty jest uzależniony od warunków suszenia, ponieważ w trakcie usuwania wody z rośliny dochodzi do zmian szlaków metabolicznych centellozydów [Ryu i in. 2025].

Ziele wąkroty azjatyckiej jest powszechnie znane i wykorzystywane jako środek kosmetyczny lub leczniczy w schorzeniach dermatologicznych. Jednak obecnie coraz częściej jest stosowana jako środek adaptogeny. W niniejszej pracy podjęto próbę oceny jakości surowca dostępnego na polskim rynku, który zawiera także rekomendację do użytku wewnętrznego jako środek wzmacniający organizm. Celem pracy była ocena zawartości metabolitów wtórnych w suszonym ziele wąkroty azjatyckiej dostępnym na polskim rynku, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości flawonoidów, fenolokwasów oraz polifenoli. Analiza surowca miała także na celu ocenę działania antyoksydacyjnego ekologicznego ziele wąkroty dostępnego na polskim rynku. Analiza ta została przeprowadzona dwoma metodami: metodą niwelowania wolnych rodników DPPH oraz zdolnością do redukcji jonów żelaza (metoda FRAP). W przeprowadzonych badaniach dokonano także oceny zawartości suchej masy w ziele wąkroty.

Materiał i metody

Materiał roślinny

Materiał roślinny stanowiło komercyjnie dostępne w Polsce wysuszone, ekologiczne ziele wąkroty azjatyckiej (*Centella asiatica* L.), pochodzące spoza Unii Europejskiej, firmy Dary Natury (Koryciny, Polska).

Oznaczenie zawartości flawonoidów

Ilościowe oznaczanie zawartości flawonoidów przeprowadzono metodą spektrofotometryczną z wykorzystaniem spektrofotometru Hitachi model U-2900 UV-Vis (Krefeld, Niemcy). Naważkę surowca o masie 1,0 g ekstrahowano mieszaniną rozpuszczalników składającą się z acetonu, 25% kwasu solnego i wodnego roztworu urotropiny pod chłodnicą zwrotną przez 30 min. Proces powtórzono dwukrotnie z wykorzystaniem acetonu jako rozpuszczalnika, przy czym czas ogrzewania wynosił 10 min. Uzyskane wyciągi przesączono do kolby miarowej i uzupełniono do ilości 100 ml acetonem. Następnie przeprowadzono proces ekstrakcji związków octanem etylu. Uzyskane ekstrakty wykorzystano do przygotowania roztworów przeznaczonych do badania spektrofotometrycznego. Absorbencję mierzono przy długości fali 425 nm, stosując jako odnośnik roztwór porównawczy, czyli mieszaninę odczynników niezawierającą chlorku glinu. Analizę wykonano w trzech powtórzeniach. Ogólną procentową zawartość flawonoidów wyrażono w mg/g powietrznie suchego surowca (p.s.s.) jako ekwiwalent kwercetyny.

Oznaczenie zawartości fenolokwasów

Zawartość fenolokwasów oznaczono w roztworze uzyskanym po trzykrotnej ekstrakcji metanolem próbki materiału roślinnego o masie 1,0 g. Uzyskane wyciągi przesączono do kolby i odparowano rozpuszczalnik. Następnie pozostałość rozpuszczono

w wodzie i przeznaczono do dalszej analizy z zastosowaniem odczynnika Arnova (Pol-Aura, Warszawa, Polska). Uzyskany wyciąg analizowano metodą spektrofotometryczną, zgodnie z metodyką podaną w Farmakopei Polskiej X [2014]. Absorbancję mierzono przy długości fali 490 nm wobec mieszaniny odczynników bez wyciągu. Całkowita zawartość kwasów fenolowych została wyrażona w mg/g powietrznie suchego surowca (p.s.s.) w przeliczeniu na kwas kawowy.

Oznaczenie zawartości polifenoli

Całkowitą zawartość polifenoli oznaczano metodą Folina-Ciocalteu na podstawie zdolności związków polifenolowych do reakcji barwnej z odczynnikiem Folina-Ciocalteu. Wodny ekstrakt roślinny z dodatkiem odczynnika Folina-Ciocalteu, węgla sodu i wody inkubowano w termostacie w temperaturze 40°C przez 30 min, aż do uzyskania stabilnego niebieskiego zabarwienia. Po zakończeniu inkubacji absorbancję zmierzono przy długości fali 765 nm, zawartość związków oznaczono jako ekwiwalent kwasu galusowego (mg GAL/g p.s.s.).

Oznaczenie suchej masy

W celu oznaczenia suchej masy odważono na wadze analitycznej (z dokładnością 0,0001 g) 1 g ziela wąkroty w wysuszonym naczynku wagowym, a następnie suszono w 105°C przez 3–5 h. Po 2–3 h próbkę przeniesiono do ekсыkatora, schłodzono przez 30 min i zważono. Suszenie kontynuowano aż do uzyskania stałej masy (ubytek ≤ 2 mg). Suchą masę obliczono z różnicy między ciężarem badanej próby przed wysuszeniem i po nim, a następnie wynik wyrażono w procentach.

Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej metodą neutralizacji rodnika DPPH

Aktywność antyoksydacyjną oznaczono metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl). Ekstrakt do badań przygotowano poprzez odważenie próbki o masie 2 g i dodaniu 25 ml metanolu. Tak przygotowany surowiec poddano maceracji przez 24 h. Po upływie czasu ekstrakt przesączono do kolb miarowych (25 ml) i uzupełniono do kreski. Tak przygotowany ekstrakt wykorzystano do oznaczania aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH. Pomiar przeprowadzono określając stopień redukcji wolnych rodników DPPH. Absorbancję mierzono przy długości fali 517 nm, stosując 100-proc. metanol jako odnośnik. Analizę przeprowadzono zgodnie z metodą opisaną przez Yena i Chen [1995], a wyniki wyrażono jako procent inhibicji DPPH według wzoru podanego przez Rossi i in. [2003]:

$$(\%DPPH) = 100 - (A_T/A_R \times 100),$$

gdzie:

A_T – absorbancja badanej próby,

A_R – absorbancja ślepej próby.

Oznaczenie aktywności metodą FRAP

Aktywność antyoksydacyjną oznaczono również metodą FRAP (ang. ferric reducing antioxidant parameter), która polega na określeniu zdolności badanych ekstraktów

do redukcji jonów Fe(III) do Fe(II). Do probówek miarowych dodano 3 ml świeżo przygotowanego odczynnika FRAP, a następnie 100 µl ekstraktu. Probki inkubowano w temperaturze 40°C przez 10 min. Po upływie tego czasu dokonano pomiaru absorbancji przy długości fali 593 nm wobec próby ślepej przygotowanej z metanolem. Zdolność antyoksydacyjną obliczono na podstawie równania obliczonego z krzywej wzorcowej i wyrażono jako równoważnik troloxu (mg TE/g).

Wyniki i dyskusja

Oznaczenie zawartości flawonoidów

Przeprowadzone badania wykazały, że w suszonym ziele wąkroty azjatyckiej zawartość flawonoidów wynosiła 1,84 mg/g p.s.s. (tab. 1). Co jest tożsame z wynikami uzyskanymi przez Zainola i in. [2009], gdzie zawartość flawonoidów wynosiła 1,66 mg/g, gdzie surowiec był suszony z wykorzystaniem suszarki z obiegiem powietrza. Podczas gdy w badaniach przeprowadzonych przez Rashida i in. [2023] zawartość flawonoidów określono na poziomie 211,34 mg QE/g w ekstrakcie metanолоwym, 193,68 mg QE/g w ekstrakcie octanowym, 52 mg QE/g w eterze naftowym i 17 mg QE/g w chloroformie. Jednak w badaniach wykorzystano ekstrakty uzyskane z wysuszonego i sproszkowanego ziele. Również Quyen i in. [2020], stosując ekstrakcję wodą i etanolem sproszkowanego suszonego ziele, uzyskali wyniki na poziomie 30,09 ± 2,67 mg QE/g oraz 23,03 mg QE/g odpowiednio. Różnice w zawartości flawonoidów mogą wynikać z różnic w sposobie przygotowania surowca (substancja roślinna sproszkowana lub rozdrobniona) oraz jakości surowca użytego do analizy. W badaniu Zainola i in. [2009] analizowano wpływ różnych metod suszenia na zawartość flawonoidów w liściach, ogonkach i korzeniach wąkroty azjatyckiej. Zawartość flawonoidów w liściach wynosiła: 24,90 mg/g podczas wykorzystania procesu liofilizacji, 16,60 mg/g z zastosowaniem suszarki próżniowej oraz 1,66 mg/g z wykorzystaniem suszarki z obiegiem powietrza.

Oznaczenie zawartości fenolokwasów

W prezentowanych badaniach zawartość fenolokwasów w *C. asiatica* wyniosła 4,84 mg/g p.s.s. (tab. 1), co sugeruje stosunkowo wysoką aktywność przeciwutleniającą tego surowca. Wyniki te są nieco wyższe niż wartości raportowane w literaturze naukowej. W badaniach przeprowadzonych przez Twardowską [2019] stwierdzono obecność pięciu kwasów fenolowych chlorogenowego, rozmarynowego, neochlorogenowego, p-kumarowego i o-kumarowego, a także kwasu cynamonowego, których suma po przeliczeniu wynosiła 2,97 mg/g. Uzyskana w niniejszym badaniu wyższa zawartość fenolokwasów może wskazywać na większy potencjał antyoksydacyjny analizowanego materiału.

Oznaczanie całkowitej zawartości polifenoli

W przeprowadzonym badaniu zawartość polifenoli ogółem (TPC) w suszonym, niesproszkowanym ziele *C. asiatica* wynosiła 13,11 mg GAL/g p.s.s. (tab. 1). Uzyskany wynik wskazuje na wysoką zawartość związków fenolowych w badanym materiale.

W badaniu Rashida i in. [2023], w którym ekstrakty przygotowano z wysuszonej i sproszkowanej rośliny, uzyskano znacznie wyższe wartości TPC dla różnych frakcji rozpuszczalnikowych, odpowiednio ekstrakt chloroformowy: 155,46 ±0,52 mg GAE/g; ekstrakt z zastosowaniem octanu etylu: 116,59 ±0,57 mg GAE/g; ekstrakt metanolowy: 88,62 ±0,41 mg GAE/g; ekstrakt eterowy: 34,76 ±0,21 mg GAE/g. Tak wysoka zawartość związków fenolowych może być wynikiem zarówno zastosowania ekstraktów, jak i drobno zmielonego surowca, co zwiększa powierzchnię kontaktu z rozpuszczalnikiem i ułatwia ekstrakcję. Natomiast w badaniu Quyen i in. [2020], w którym również zastosowano ekstrakty z suchych, sproszkowanych liści, zawartość polifenoli ogółem wynosiła 2,82 ±1,68 mg GAE/g (ekstrakt wodny) oraz 2,14 ±0,29 mg GAE/g dla ekstraktu etanolowego. Wysoka zawartość związków polifenolowych (13,11 mg GAE/g p.s.s.) w ziele wąkroty wskazuje, iż surowiec dostępny na polskim rynku charakteryzuje się bogactwem związków o właściwościach antyoksydacyjnych.

Tabela 1. Średnia zawartość metabolitów wtórnych oznaczonych w ziele wąkroty azjatyckiej

Oznaczone związki Materiał roślinny	Flawonoidy (mg/g p.s.s.)		Fenolokwasy (mg/g p.s.s.)		Polifenole (mg kwasu galusowego/g p.s.s.)		Sucha masa (%)	
	Średnia	SD*	Średnia	SD	Średnia	SD	Średnia	SD
Ziele wąkroty	1,84	0,12	4,84	0,07	13,11	0,85	81,60	0,85

*SD – odchylenie standardowe

Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej metodą neutralizacji rodnika DPPH

W prezentowanych badaniach aktywność antyoksydacyjna metanolowego ekstraktu przygotowanego z suszonego, niesproszkowanego ziele *C. asiatica*, oznaczona metodą DPPH, wyniosła 68,28% (tab. 2). Podczas gdy w badaniach Nurlaily i in. [2012] z wykorzystaniem ekstraktu o stężeniu 1000 µg/ml zdolność zmiatania wolnych rodników DPPH wynosiła dla ekstraktu wodnego 79,4%, natomiast dla ekstraktu metanolowego 77,3% i 65,7% ekstraktu etanolowego. W badaniach przeprowadzonych przez Dewi i Maryani [2015] procent inhibicji przy stężeniu 200 µg/ml wynosił dla frakcji octanu etylu (EtOAc) – 92,99%, ekstraktu przygotowanego z 70% etanolem – 31,21%, frakcji butanolowej – 11,81%, frakcji n-heksanowej – 7,06%. Pomimo niższego stężenia (200 µg/ml), frakcja EtOAc wykazała bardzo wysoką aktywność niszczenia wolnych rodników, co świadczy o jej dużym potencjale antyoksydacyjnym.

Oznaczenie aktywności metodą FRAP

W przeprowadzonym oznaczeniu aktywności przeciwutleniającej metodą FRAP uzyskano wartość równą 195,49 mg Tr/g p.s.s. dla suszonych, niesproszkowanych liści *C. asiatica* (tab. 2). Wynik ten świadczy o wysokiej zdolności redukcyjnej badanej próbki i znacząco przewyższa dane uzyskane w innych badaniach dostępnych w literaturze. Dla porównania, w badaniach przeprowadzonych przez Wildayati i in. [2024], aktywność

przeciwutleniająca określona metodą FRAP mieściła się w zakresie od $1,04 \pm 0,06$ do $3,51 \pm 0,10$ mg Tr/g po przeliczeniu na masę troloxu. Również w badaniu Kandasamy i in. 2023, wartość FRAP dla ekstraktu etanolowego z liści *Centella asiatica* wynosiła $66,6 \pm 0,3$ mg Tr/g, co potwierdza wyraźnie niższy potencjał redukcyjny w porównaniu do analizowanej próbki.

Tabela 2. Średnia aktywność antyoksydacyjna metanolowego ekstraktu otrzymanego z ziela wąkroty azjatyckiej oznaczona metodą neutralizacji rodnika DPPH oraz metodą FRAP

Metody Pomiaru	DPPH (%)		FRAP (mg Tr/g p.s.s.)	
	Średnia	SD*	Średnia	SD*
Surowiec				
Ziele wąkroty azjatyckiej	68,27	1,49	195,49	16,98

*SD – odchylenie standardowe

W przeprowadzonych badaniach dokonano także oceny zawartości wody w badanej substancji roślinnej. Średnia zawartość suchej masy została oznaczona na poziomie 81,60%, co sugeruje trwałość i stabilność substancji roślinnej. Zawartość wody w powietrznie suchym surowcu wynosiła 18,4%.

Ruiz-Rodriguez i in. [2014] badali owoc tarniny i głogu jednoszyjkowego z wykorzystaniem metod neutralizacji rodnika DPPH i redukcji jonów żelaza – metodą FRAP. Autorzy nie wskazali jednoznacznie, która z metod byłaby najlepsza, gdyż uzyskane przez nich wyniki różniły się istotnie. Sugerują oni jednak, że metoda DPPH może mieć większe znaczenie w oznaczaniu aktywności witaminy C, istotnego antyoksydantu, natomiast FRAP do oznaczania ogólnej zawartości polifenoli.

Podsumowanie

Wąkrota azjatycka jest rośliną o bogatym składzie chemicznym oraz licznych właściwościach biologicznych. Gotu kola jest powszechnie stosowana w tradycyjnej medycynie chińskiej i japońskiej jako środek wspomagający prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Przeprowadzone badania wykazały, że *Centella asiatica* zawiera cenne związki bioaktywne i znaczną aktywność przeciwutleniającą. Jednak w badanych próbkach z suszonych, niesproszkowanych liści działanie antyoksydacyjne zarówno w oznaczeniach DPPH, jak i całkowitej zawartości flawonoidów była w większości przypadków niższa w porównaniu z wynikami uzyskanymi w innych badaniach, w których stosowano ekstrakty z surowca drobno zmielonego oraz ekstrahowanego selektywnymi rozpuszczalnikami. Warto jednak podkreślić, że zawartość polifenoli ogółem oraz aktywność przeciwutleniająca oznaczona metodą FRAP w prezentowanych badaniach była wyższa niż w części dostępnych danych literaturowych, co może wskazywać na korzystny wpływ zastosowanej metody przygotowania próbki. Obecność metabolitów wtórnych potwierdza potencjał tej rośliny jako naturalnego źródła bioaktywnych substancji. Ponadto z przeprowadzonych badań wynika, iż surowiec dostępny na polskim rynku charakteryzuje się dobrym składem oraz wysoką aktywnością antyoksydacyjną, pomimo iż nie jest pozyskiwany na

terenie Polski. Otrzymane wyniki mogą stanowić punkt wyjścia do dalszych badań, w tym między innymi zastosowania bardziej wydajnych metod analitycznych oraz przeprowadzenia analiz zawartości metabolitów wtórnych w rozdrobnionym (zmielonym) surowcu, co może zwiększyć przydatność surowca w przemyśle farmaceutycznym jako surowca adaptogennego i w przemyśle kosmetycznym – szczególnie w produktach o działaniu ochronnym, regenerującym i łagodzącym.

Bibliografia

- Chandrika U.G., Kumara P.A.P., 2015. Gotu Kola (*Centella asiatica*): nutritional properties and plausible health benefits. *Adv. Food Nutr. Res.*, 76, 125–157, <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2015.08.001>.
- Dewi R.T., Maryani F., 2015. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory compounds of *Centella asiatica*. *Proc. Chem.*, 17, 147–152, <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.130>.
- Ganie I.B., Ahmad Z., Shahzad A., Zaushintsena A., Neverova O., Ivanova S., Wasi A., Tahseen S., 2022. Biotechnological intervention and secondary metabolite production in *Centella asiatica* L. *Plants* 11(21), 2928, <https://doi.org/10.3390/plants11212928>.
- Kandasamy A., Aruchamy K., Rangasamy P., Varadhaiyan D., Gowri C., Oh T.H., Ramasundaram S., Athinarayanan B., 2023. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Centella asiatica* extracts: an experimental and theoretical investigation of flavonoids. *Plants* 12(20), 3547, <https://doi.org/10.3390/plants12203547>.
- Karłowicz-Bodalska K., Han S., Han T., Miranowicz M., Bodalska A., 2013. *Centella asiatica* (L.) Urban, syn. *Hydrocotyle asiatica* L. – chemistry and activity. *Post. Fitoter.* 4, 225–235.
- Markiewicz W., 2020. Miodla indyjska i wąkrota azjatycka – mało znane rośliny występujące w preparatach weterynaryjnych. *Życie Wet.* 95(5), 303–307.
- Nurlaily A., Noor Baitee A.R., Musalmah M., 2012. Comparative antioxidant and anti-inflammatory activity of different extracts of *Centella asiatica*(L.) Urban and its active compounds, asiaticoside and madecassoside. *Med. Health* 7(2), 62–72.
- Orhan I.E., 2012. *Centella asiatica* (L.) Urban: from traditional medicine to modern medicine with neuroprotective potential. *Evid.-Based Complement. Alternat. Med.* 1, 946259, <https://doi.org/10.1155/2012/946259>.
- Quyen N.T.C., Quyen N.T.N., Quy N.N., Quan P.M., 2020. Evaluation of total polyphenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Centella asiatica*. In *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 991(1), 012020, <https://doi.org/10.1088/1757-899X/991/1/012020>.
- Farmakopea Polska X., 2014. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Medycznych i Produktów Biobójczych. Warszawa, Polska.
- Rashid M.H.O., Akter M., Uddin J., Islam S., Rahman M., Jahan K., Sadik G., 2023. Antioxidant, cytotoxic, antibacterial and thrombolytic activities of *Centella asiatica* L.: possible role of phenolics and flavonoids. *Clin. Phytosci.* 9(1), 1–9, <https://doi.org/10.1186/s40816-023-00353-8>.
- Rossi M., Giussani E., Morelli R., Scalzo R., Nani R.C., Torreggiani D., 2003. Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice. *Food Res. Int.* 36, 999–1005, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.07.002>.
- Ruiz-Rodríguez B.M., De Ancos B., Sánchez-Moreno C., Fernández-Ruiz V., de Cortes Sánchez-Mata M., Cámara M., Tardío J., 2014. Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants. *Fruits* 69(1), 61–73, <https://doi.org/10.1051/fruits/2013102.3>.

- Ryu D.H., Cho J.Y., Hamayun M., Lee S.H., Cha H.H., Jung J.H., Kim H.Y., 2025. Optimizing drying time for *Centella asiatica* (L.) Urban: metabolomic insights into dehydration effects on primary and secondary metabolites. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 12(1), 26, <https://doi.org/10.1186/s40538-025-00745-7>.
- Shukuroval M.K., Myint D., Yi S.S., Saw O.M., Watanabe K.N., 2021. Morphological description and ethnobotanical review of the orphan crop Myin-Hkwa (*Centella asiatica* L.) from Myanmar. *Front. Sustain. Food Syst.* 5, 680862, <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.680862>.
- Simka W., 2023. *Centella asiatica* (L.) Urb. and its application in cosmetology. *Aesth. Cosmetol. Med.*, 12(5), 175–179, <https://doi.org/10.52336/acm.2023.022>.
- Twardowska A., 2019. Badania nad akumulacją wybranych metabolitów wtórnych w kulturach in vitro *Centella asiatica* (L.) Urban [praca magisterska]. Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
- Wildayati W., Suparto I.H., Rafi M., 2024. Metabolite profile and antioxidant capacity of *Centella asiatica* leaves extract with different extraction methods. *al Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia Terapan*, 11(1), 29-35, <https://doi.org/10.15575/ak.v11i1.34127>.
- Wyszkowska-Kolatko M., 2019. Ocena aktywności biologicznej in vitro wyciągów z wąkroty azjatyckiej. Doctoral dissertation, Wydział Farmaceutyczny.
- Yen G.C., Chen H.Y., 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 27–32, <http://dx.doi.org/10.1021/jf00049a007>.
- Zainol M.K., Abdul-Hamid A., Abu Bakar F., Pak Dek S., 2009. Effect of different drying methods on the degradation of selected flavonoids in *Centella asiatica*. *Int. Food Res. J.* 16(4), 531–537.
- Zainol N.A., Voo S.C., Sarmidi M.R., Aziz R.A., 2008. Profiling of *Centella asiatica* (L.) urban extract. *Malaysian J. Anal. Sci.*, 12(2), 322–327.
- Zeng W., Li H., Liu S., Luo Z., Chen J., Zhou J., 2025. Biosynthesis and bioactivities of triterpenoids from *Centella asiatica*: Challenges and opportunities. *Biotechnol. Adv.*, 108541, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2025.108541>.

Ocena zawartości składników aktywnych oraz potencjału antyoksydacyjnego preparatów z miodli indyjskiej (*Azadirachta indica* A. Juss)

Active compounds content and antioxidant activity assessment of neem

Wstęp

Miodla indyjska (*Azadirachta indica* A. Juss) to tropikalne, wiecznie zielone drzewo znane pod nazwą melia indyjska (syn. *Melia azadirachta* L.) lub neem, pochodzące z subkontynentu indyjskiego [Czarniecka 2018, Markiewicz 2020] i Mjanmy [Islas i in. 2020]. *A. indica* nazywana jest przez wielu „wiejską apteką” lub „boskim drzewem” ze względu na liczne właściwości prozdrowotne [Islas i in. 2020]. Każda część tej rośliny, w tym liście, kwiaty, nasiona, owoce, guma, korzenie i kora, jest bogata w związki aktywne. Właściwości lecznicze zostały opisane szczególnie dla ekstraktów z liści neem. Wykazano, że ekstrakty te wykazują działanie immunomodulujące, przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe, przeciwwrzdodowe, przeciwgrzybicze, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe [Uzzaman 2020, Wyllie i Merrell 2022]. Głównymi związkami aktywnymi zidentyfikowanymi w liściach są składniki olejku eterycznego, którego w roślinie jest ok. 0,13%. Olejek eteryczny odpowiada za charakterystyczny zapach liści [Asghar i in. 2022, Assefa i Dagnaw 2022]. Najnowsze badania wskazują, iż w ekstrakcie etanolowym otrzymanym z liści występują flawonoidy, terpenoidy, związki fenolowe, saponiny oraz alkaloidy [Rajarajan i in. 2025]. Ponadto analiza ekstraktu metanolowego techniką LC–MS/MS wykazała, iż dominującymi związkami w ekstrakcie z liści *A. indica* są związki flawonoidowe, szczególnie rutozyd-3-O-kwercetyny, kwercymerytryna i kwercetyna, które należą do związków o silnych właściwościach antyoksydacyjnych i przeciwzapalnych [Mohanasundaram i Antoneyraj 2025, Royani i in. 2025].

Celem badań było określenie profilu polifenolowego oraz potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów otrzymanych z preparatów zielarskich z miodli indyjskiej (*Azadirachta indica* A. Juss) dostępnych na polskim rynku. Do badań wybrano suszone na powietrzu, rozdrobnione liście produkowane przez firmę Niem-Handel (Niemcy) oraz proszek z liści neem firmy Aurospirul. Oba preparaty zalecane są zarówno do użytku we-

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Międzywydziałowe Koło Naukowe „Herba Medica”, dominikapalyska212@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Warzywnictwa i Zielarstwa

wewnętrznego, do przygotowywania nalewek (rozdrobione liście), do bezpośredniego spożycia (proszek), jak i do przygotowywania kosmetyków (rozdrobione liście). W badaniach starano się określić skład fitochemiczny preparatów, zwłaszcza zawartość flawonoidów, fenolokwasów, polifenoli, oraz dokonać oceny ich potencjalnych właściwości prozdrowotnych. Współcześnie liście neem cieszą się bardzo dużą popularnością i są coraz częściej stosowane nie tylko jako gotowy produkt kosmetyczny, ale również jako półprodukt stosowany do samodzielnego wykonania kosmetyku oraz jako suplementy diety. Dlatego też zdecydowano się wykonać badania preparatów dostępnych na polskim rynku – w celu weryfikacji ich składu jakościowego oraz możliwości stosowania jako produktów leczniczych o właściwościach antyoksydacyjnych. Choć skład fitochemiczny oraz właściwości antyoksydacyjne ekstraktów z liści *Azadirachta indica* zostały już częściowo poznane, nadal istnieje przestrzeń badawcza związana z ich zastosowaniem w nowoczesnych formułach kosmetycznych. Wkład badań w rozwój nowoczesnej ekologicznej kosmologii widoczny jest w analizie bioaktywności tego surowca w kontekście aktualnych standardów kosmologicznych.

Charakterystyka

Drzewo neem pochodzi z subkontynentu indyjskiego i jest rośliną z rodziny mahońwiatych (Meliaceae) [Willcox i Chamberlain 2004, Sujarwo i in. 2016]. Jego nazwa pochodzi z perskiego słowa *azadi*, oznaczającego „wolny” i *diracht*, czyli „drzewo”, co zatem w pełnym tłumaczeniu brzmi „wolne drzewo z Indii” [Markiewicz 2020]. W Indiach jest nazywane neem, co wywodzi się od sanskryckiego *nimba*, oznaczającego „łagodzenie chorób”. W Afryce Wschodniej drzewo to jest znane jako *mwarobaini*, co odnosi się do popularnego przekonania, że roślina może wyleczyć aż 40 chorób [Willcox i Chamberlain 2004]. Roślina ta może osiągać wysokość 15–20 m oraz obwód do 2,5 m. Jej liście mają długość 20–40 cm, a kwiaty wydzielające słodki zapach mają barwę białą lub kremową. Owoce o długości 1–2 cm, są bezwłose, zielonożółte [Markiewicz 2020]. Miodla indyjska jest rośliną miododajną, a jej owoce można zbierać dopiero po trzecim roku od posadzenia drzewa [Czarniecka 2018]. Wszystkie części drzewa zawierają cenne składniki odżywcze, takie jak węglowodany, białka i minerały, a jego kora ma różne ko-lory w zależności od wieku rośliny i jej lokalizacji – młodsze gałęzie są jaśniejsze, a dojrzały pień może przybierać barwę od szarej do szaroczarnej [Markiewicz 2020].

Wykorzystanie w przemyśle kosmetycznym

W kosmetykach najczęściej wykorzystuje się olej z nasion neem (*Azadirachta indica seed oil*) oraz ekstrakt z liści (*Azadirachta indica leaf extract*). Miodla indyjska jest bogata w złożone, wielofunkcyjne fitozwiązki o różnej stabilności i zdolności penetracji w głąb skóry. Do najważniejszych należą m.in. azadirahtyna, nimbina, nimbidyna, gedunina, flawonoidy oraz triterpenoidy, które odpowiadają za szerokie spektrum właściwości biologicznych, w tym działanie przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwutleniające oraz rozjaśniające skórę. Dlatego ekstrakty są stosowane w kremach do twarzy i innych

kosmetykach do wybielania skóry [Anandhapriyan i Srinivasaprabhu 2024]. *A. indica* wykazuje szeroki zakres właściwości leczniczych i prozdrowotnych, co zostało szczegółowo opisane w przeglądzie autorstwa Kumar i in. [2025]. Roślina ta zawiera liczne związki bioaktywne, w tym limonoidy, flawonoidy, triterpenoidy i tetranortriterpenoidy, które odpowiadają za jej aktywność farmakologiczną. Udokumentowane zostały m.in. jej właściwości przeciwdrobnoustrojowe, przeciwcukrzycowe, hepatoprotekcyjne, immunomodulujące i przeciwnowotworowe. Autorzy podkreślają również potencjał neem w leczeniu chorób skóry, infekcji pasożytniczych, a także jego zastosowanie jako środka wspomagającego gojenie ran i ochronę wątroby. Tak szerokie spektrum aktywności czyni miódle indyjską cennym surowcem w fitoterapii i medycynie tradycyjnej. Warto zaznaczyć, że niektóre frakcje neem, m.in. ekstrakt z kory i mieszaniny bark/seed, zostały zakazane w kosmetykach na rynku europejskim od 2023 r. ze względu na potencjalne działanie toksyczne. Obecnie w Unii Europejskiej legalnie stosowane są wyłącznie olej z nasion i ekstrakt z liści, pod warunkiem spełniania wymogów bezpieczeństwa dla produktów kosmetycznych [Rozporządzenie 1223/2009]. Udowodniono, że *A. indica* ma duży potencjał ochrony przeciwsłonecznej. Wartości SPF (współczynnika ochrony przeciwsłonecznej) in vitro kremów zawierających olej *A. indica* były wyższe niż w przypadku komercyjnego kremu, co wskazało tę roślinę jako alternatywę dla produkcji wielofunkcyjnych kremów przeciwsłonecznych. Ponadto krem nie był szkodliwy dla flory bakteryjnej skóry [Baby i in. 2022, Dwivedi 2024, Ni Putu Ratna i in. 2024]. Aktywne składniki miodli indyjskiej, takie jak limonoidy, flawonoidy i diterpenoidy w badaniu na zwierzętach okazały się skuteczne w walce z nadmierną melanogenezą w komórkach czerniaka B16. Dzięki temu neem można skutecznie wykorzystać w leczeniu ciemnych plam występujących po leczeniu trądziku [Akihisa i in. 2021].

Ekstrakty z miodli mają duży potencjał do wykorzystania jako naturalne składniki do różnych celów pielęgnacji i oczyszczania włosów, takich jak łupież, wszy i inne pasożyty skóry głowy. Dzięki obecności polifenoli, które są również silnymi przeciwutleniaczami, mogą pomóc w walce z wolnymi rodnikami, hamować stres oksydacyjny i starzenie się włosów [Sang i in. 2023]. Kwiaty neem ze względu na właściwości przeciwzapalne i przeciwdrobnoustrojowe, wykorzystywane są szczególnie w przypadku chorób skóry. Pasty lub ekstrakty z kwiatów są stosowane na skórę głowy, aby stymulować wzrost włosów i leczyć łupież, maseczki na twarz w celu leczenia trądziku, redukcji niedoskonałości i oczyszczania skóry [Mohanasundaram i Antoneyraj 2025]. Gebremedhin i in. [2020] w swoich badaniach wykazali, że *A. indica* ma dobrą aktywność przeciwłupieżową. Zarówno wyciągi etanolowe, jak i wodne wykazały znaczącą aktywność przeciwko grzybowi *Malassezia globosa* i *Malassezia restricta*, które to stanowią jedną z głównych przyczyn łupieżu. Zaobserwowano, że aktywność przeciwgrzybicza szampoonów wzrastała wraz ze zwiększaniem stężenia ekstraktu w formułacji. Najwyższą skuteczność wykazano dla preparatu zawierającego 8% ekstraktu, co wskazuje na zależność efektu przeciwgrzybiczego od jego zawartości. Badane stężenia wynosiły: 2%, 4%, 6% oraz 8% [Ginting i in. 2023].

Material i metody

Materiał do badań stanowiły wysuszone rozdrobnione liście neem pochodzące z Indii produkowane przez firmę Niem-Handel (Niemcy) oraz sproszkowane liście *A. indica* firmy Aurospirul zawierające w swoim składzie 100% czysty, certyfikowany, organiczny proszek. Produkty te zakupiono w internetowych sklepach zielarskich dostępnych na polskim rynku. Analizy zawartości flawonoidów i fenolokwasów przeprowadzono z wykorzystaniem metod spektrofotometrycznych określonych w Farmakopei Polskiej z wykorzystaniem spektrofotometru Hitachi model U-2900 UV-Vis (Krefeld, Niemcy). Badania zostały wykonane w trzech powtórzeniach. Oceniono zawartość flawonoidów, fenolokwasów i polifenoli oraz określono zawartość suchej masy. Ponadto dokonano oceny aktywności antyoksydacyjnej z zastosowaniem metody neutralizacji rodników DPPH i ABTS oraz FRAP.

Oznaczanie zawartości flawonoidów przeprowadzono zgodnie z metodą podaną w Farmakopei Polskiej V [1990]. W celu oznaczenia zawartości wykonano ekstrakcję surowca (próbka 1 g, temp. 60°C) mieszaniną rozpuszczalników, składającą się z acetonu (20 ml), 25% kwasu solnego (2 ml) oraz urotropiny (1 ml). Proces ekstrakcji powtórzono dwukrotnie z zastosowaniem 20 ml acetonu. Przygotowane roztwory przesączono i wykorzystano do dalszych badań. W tym celu określenia zawartości flawonoidów uzyskane roztwory połączono z chlorkiem glinu, kwasem octowym i metanolem, a następnie zmierzono absorbancję przy długości fali $\lambda = 425$ nm. Zawartość flawonoidów obliczono, posługując się poniższym wzorem i wyrażono jako miligram kwercetyny na gram powietrznie suchego surowca (mg/g p.s.s.):

$$X = (A \cdot k)/m$$

gdzie:

A – absorbancja badanego roztworu,

k – przelicznik dla kwercetyny $k = 0,875$,

m – masa odważki surowca (g).

Zawartość fenolokwasów oznaczono metodą Arnova, zgodnie z metodyką podaną w Farmakopei Polskiej X [2014]. W celu oznaczenia zawartości fenolokwasów przeprowadzono potrójną ekstrakcję w temperaturze 70°C metanolem próbki surowca (1g). Następnie uzyskane ekstrakty połączono i odparowano rozpuszczalnik. Pozostałość rozpuszczono w wodzie i wodne ekstrakty przygotowane z ziela i proszku neem zmieszano z kwasem solnym, odczynnikiem Arnova i wodorotlenkiem sodu w celu dokonania pomiaru ilościowego związków. Pomiar absorbancji wykonano przy długości fali $\lambda = 490$ nm. Zawartość fenolokwasów obliczono jako miligram kwasu kawowego na gram powietrznie suchego (mg/ g p.s.s.) surowca zgodnie z poniższym wzorem:

$$X = (A \cdot k)/m$$

gdzie:

A – absorbancja badanego roztworu,

k – przelicznik dla kwasu kawowego $k = 3,5087$,
m – masa odważki surowca (g).

Oznaczanie polifenoli przeprowadzono dla wodnych ekstraktów otrzymanych w toku analizy zawartości fenolokwasów przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu. Do oznaczenia zawartości polifenoli metodą Folina-Ciocalteu do roztworów wodnych dodano odczynnik Folina-Ciocalteu oraz węglan sodu, a następnie inkubowano. Absorbancję mierzono przy długości fali $\lambda = 765$ nm. W toku analizy przygotowano także rozcieńczenia kwasu galusowego, z których wykreślono krzywą kalibracyjną którą następnie wykorzystano do obliczenia ogólnej zawartości związków polifenolowych. Zawartość polifenoli wyrażono jako miligram ekwiwalentu kwasu galusowego na gram surowca (mg GAL/g).

Oznaczenie suchej masy wykonano metodą suszarkową. Do jej określenia przygotowano trzy naważki suszonego zieleń oraz proszku miódli indyjskiej o wadze ok 1 g. Surowiec umieszczono we wcześniej przygotowanych, wysuszonych i zważonych naczynkach wagowych. Gotowe naważki przeniesiono do suszarki termicznej i ogrzewano w temperaturze 105°C. Suszenie kontynuowano aż do uzyskania stałej masy (ubytek ≤ 2 mg). Zawartość suchej masy obliczono z różnicy między ciężarem badanej próby przed wysuszeniem i po nim, natomiast wynik wyrażono w procentach.

Oznaczenie aktywności zmiatania rodników DPPH wykonano według metody podanej przez Yena i Chen [1995], a wyliczenie procentu inhibicji DPPH według wzoru podanego przez Rossi i in. [2003]. Zasada oznaczenia polega na kolorymetrycznym pomiarze stopnia zredukowania ilości rodników DPPH. Rodnik DPPH w roztworze alkoholu ma barwę purpurową z maksimum absorbancji przy długości fali $\lambda = 515$ nm. W czasie reakcji wychwytuje on elektrony od substancji antyutleniającej i przechodzi do słabo zabarwionego produktu, powodując zmianę barwy mieszaniny reakcyjnej na żółtą. Pomiaru absorbancji dokonano spektrofotometrycznie dla metanolowych roztworów otrzymanych przez 24-godziną macerację w temperaturze pokojowej rozdrobnionych liści oraz proszku miódli (po 2 g) przy długości fali $\lambda = 517$ nm wobec metanolu (100%).

Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej metodą FRAP polega na określeniu zdolności redukcji jonów Fe^{3+} do jonów Fe^{2+} , które są kompleksowane przez TPTZ (2,4,6-tris(2-pirydylo)-1,3,5-triazyn) z wytworzeniem intensywnego, niebieskiego zabarwienia o maksimum absorbancji przy $\lambda = 593$ nm. W celu przeprowadzenia oznaczenia do próbek miarowych dodano odczynnik FRAP w ilości 3 ml oraz 100 μ l ekstraktu. Następnie próbki poddano inkubacji w temperaturze 40°C przez 10 min. Zdolność antyoksydacyjną metanolowych ekstraktów określono jako równoważnik troloxu i wyrażono w mg Tr/g surowca przez obliczenie z krzywej wzorcowej wyznaczonej dla roztworu wzorca – troloxu. Pomiaru dokonano wobec ślepej próby przygotowanej z metanolem przy długości fali $\lambda = 593$ nm.

Wyniki i dyskusja

W wyniku przeprowadzonych analiz wykazano, iż liście miodli indyjskiej charakteryzują się dużą zawartością związków aktywnych, o potencjalnym działaniu przeciwutleniającym. Średnia zawartość flawonoidów w suszonych, rozdrobnionych liściach wynosiła 9,32 mg/g p.s.s., fenolokwasów – 2,89 mg/g p.s.s., a polifenoli – 13,04 mg kwasu galusowego/g p.s.s. (tab. 1). Związki te odgrywają istotną rolę w neutralizacji wolnych rodników oraz ochronie komórek przed stresem oksydacyjnym.

W badanej próbce proszku miodli indyjskiej odnotowano nieco niższą zawartość flawonoidów wynoszącą 8,99 mg/g p.s.s. w porównaniu z zawartością w liściach, jednak różnica ta nie jest istotna statystycznie. W przypadku proszku uzyskano statystycznie istotne różnice w zawartości fenolokwasów oraz polifenoli w stosunku do zawartości odnotowanych w liściach. Zawartość fenolokwasów w proszku wyniosła 5,29 mg/g p.s.s. natomiast zawartość polifenoli w liściach była znacznie wyższa – 35,84 mg kwasu galusowego/g p.s.s.

Tabela 1. Średnia zawartość metabolitów wtórnych w liściach oraz proszku miodli indyjskiej dostępnych na polskim rynku

Rodzaj surowca	Oznaczone metabolity			
	Flawonoidy (mg/g p.s.s.)	Fenolokwasy (mg/g p.s.s.)	Polifenole (mg kwasu galusowego/g p.s.s.)	Sucha masa (%)
Liście	9,32a ±0,35	2,89b ±0,08	13,04d ±1,20	85,83 ±0,19
Proszek	8,99a ±3,34	5,29c ±0,31	35,84e ±0,97	87,96 ±0,19

Dane dotyczące danej zawartości metabolitów wtórnych w kolumnach oznaczonych tą samą małą literą nie różnią się znacząco od siebie

W badaniach Widiyana i Illian [2022] ekstrakty etanolowe i octanu etylu otrzymane z liści miodli indyjskiej wykazały znacznie wyższą zawartość flawonoidów, odpowiednio 118,57 mg/g oraz 74,17 mg/g w przeliczeniu na ekwiwalent kwercetyny. Sugeruje to, że zarówno zastosowany rozpuszczalnik (etanol), jak i analizowana część rośliny mają istotny wpływ na ilość wyizolowanych związków fenolowych. Ponadto Moyo i in. [2015] wykazali, że ekstrakt metanolowy z liści miodli indyjskiej zawierał 104,9 mg/g flawonoidów (w przeliczeniu na ekwiwalent rutyny) oraz 85,9 mg/g polifenoli, co również znacząco przewyższa wartości uzyskane dla całego ziele w niniejszym badaniu.

Zawartość suchej masy w próbkach wynosiła odpowiednio 85,83% dla liści oraz 87,96% dla proszku (tab. 1). Nie zaobserwowano istotnych wahań wartości w czasie trwania eksperymentu, co wskazuje na trwałość składników bioaktywnych w analizowanych próbkach.

Dane literaturowe wskazują na pewne różnice w zawartości suchej masy w liściach tej rośliny. Bhosale i in. [2021] odnotowali wyższą wartość suchej masy w proszku z liści miodli – 96,85%. Ogunsipe i in. [2020] wykazali, że proszek z liści miodli zawierał 88,73% suchej masy, co jest bardzo zbliżone do uzyskanych wyników w prezentowanym badaniu (85,83–87,96%). Z badań wynika, że preparaty dostępne na polskim rynku charakteryzują się bardzo dobrymi parametrami zawartości wody, co świadczy o prawidłowym pozyskiwaniu i przechowywaniu surowca.

Ponadto wyniki testów antyoksydacyjnych metodą DPPH i FRAP wykazały, że ekstrakt otrzymany z liści miodli indyjskiej posiada wyższą zdolność do redukcji wolnych rodników niż proszek i były to istotne różnice. Wartość procentu inhibicji DPPH na poziomie 78,99% (tab. 2) potwierdza wysoką aktywność zmiatania wolnych rodników przez liście, natomiast niższa wartość dla proszku (65,88%) wskazuje na mniejszą, choć wciąż znaczącą aktywność. W przypadku testu FRAP, ekstrakt z liści wykazał ponad dwa razy istotnie większą zdolność do redukcji jonów żelaza (153,36 mg Tr/g p.s.s.) w porównaniu z proszkiem (76,75 mg Tr/g p.s.s.; tab. 2), co może świadczyć o większym potencjale redukcyjnym nieprzetworzonego surowca.

Tabela 2. Średnia aktywność antyoksydacyjna ekstraktów metanolowych z liści i proszku *A. indica* oznaczona metodą DPPH i FRAP

Surowiec	DPPH (%)	FRAP (mg Tr/g p.s.s.)
Liście	78,99a ±0,42	153,36c ±22,81
Proszek	65,88b ±0,68	76,75d ±17,41

Dane dotyczące danej aktywności w wierszach/kolumnach oznaczonych tą małą literą nie różnią się znacząco od siebie

Porównując uzyskane wyniki z danymi literaturowymi, Diatta i in. [2019] stwierdzili, że ekstrakt hydroetanolowy z liści miodli osiągnął wartość IC_{50} w teście neutralizacji DPPH równą 9,9 µg/ml, co również potwierdza silne właściwości przeciwutleniające tej rośliny. Z kolei Hossain i in. [2014] wykazali, że ekstrakt etanolowy z korzeni miodli cechuje się wysoką zawartością polifenoli (238,81 mg/g EKG) oraz wartością IC_{50} (13,81 µg/ml), potwierdzającą skuteczność w neutralizacji wolnych rodników.

Fan i in. [2022] ocenili aktywność antyoksydacyjną różnych frakcji ekstraktu z *Azadirachta indica* metodą FRAP. Najwyższą zdolność redukcji żelaza wykazała frakcja n-heksanowa (3,86 mg Fe^{2+} /g), przewyższając standardy BHT (2,50 mg Fe^{2+} /g) i kwas askorbinowy (3,14 mg Fe^{2+} /g). Pozostałe frakcje (etylooctanowa, wodna, całkowita) wykazały umiarkowaną aktywność w granicach 2,15–2,33 mg Fe^{2+} /g, co potwierdza obecność związków o właściwościach przeciwutleniających, zwłaszcza we frakcjach niepolarnych. Z kolei Ahmed i in. [2023] zbadali aktywność antyoksydacyjną ekstraktów liści *A. indica* również metodą FRAP. Ekstrakty etanolowy i wodny wykazały zbliżone właściwości redukujące, osiągając odpowiednio 57,52 i 57,87 µM Trolox przy stężeniu

800 µg/ml. Choć wartości te były niższe niż dla kwasu askorbinowego (139,97 µM Trolox), badania potwierdzają obecność związków o istotnym potencjale antyoksydacyjnym w liściach miodli.

Zróźnicowanie wyników między badaniami może być związane z rodzajem badanego materiału roślinnego, metodą ekstrakcji oraz użytym rozpuszczalnikiem. Niemniej jednak liście miodli indyjskiej wykazują istotny potencjał przeciwutleniający, co czyni je wartościowym surowcem do zastosowania w suplementacji i kosmetyce.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych analiz potwierdzono, że miodla indyjska (*Azadirachta indica*) stanowi cenne źródło metabolitów wtórnych, takich jak flawonoidy, fenolokwasy i polifenole, które wykazują silne właściwości przeciwutleniające. Szczególnie wysoką aktywność antyoksydacyjną zaobserwowano dla liści rośliny, co sugeruje ich wyższy potencjał biologiczny w porównaniu z przetworzonym proszkiem. W niniejszych badaniach wykorzystano liście i proszek miodli pochodzące z Indii. Planowane są dalsze badania mające na celu ocenę zawartości składników aktywnych i ocenę aktywności antyoksydacyjnej proszku przygotowanego tuż przed badaniem z dostępnych liści neem, w celu określenia czy sposób rozdrobnienia oraz przechowywanie surowca mają wpływ na zawartość składników aktywnych. Z badań wynika, że miodla indyjska może być potencjalnie zastosowana w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym, zwłaszcza jako składnik produktów o działaniu przeciwstarzeniowym, ochronnym i regenerującym.

Uzyskane dane mogą stanowić punkt wyjścia do dalszych badań nad wykorzystaniem miodli indyjskiej jako naturalnego źródła substancji bioaktywnych, wspierających zdrowie i pielęgnację skóry w sposób bezpieczny i skuteczny.

Bibliografia

- Ahmed M., Marrez D.A., Mohamed Abdelmoeen N., Abdelmoneem Mahmoud E., Ali M.A.S., Decsi K., Tóth Z., 2023. Studying the antioxidant and the antimicrobial activities of leaf successive extracts compared to the green-chemically synthesized silver nanoparticles and the crude aqueous extract from *Azadirachta indica*. *Processes* 11(6), 1644.
- Akihisa T., Zhang J., Manosroi A., Kikuchi T., Manosroi J., Abe M., 2021. Limonoids and other secondary metabolites of *Azadirachta indica* (neem) and *Azadirachta indica* var. *siamensis* (Siamese neem), and their bioactivities. *Stud. Nat. Prod. Chem.* 68, 29–65.
- Anandhapriyan M., Srinivasaprabhu D.K., 2024. Skin health and complexion improvement benefits of selected ayurvedic medicinal plants. *Int. J. Ayurveda Pharm. Res.* 44–54, <https://doi.org/10.47070/ijapr.v12i7.3291>.
- Asghar H.A., Abbas S.Q., Arshad M.K., Jabin A., Usman B., Aslam M., Asghar A., 2022. Therapeutic potential of *Azadirachta indica* (Neem) – a comprehensive review. *Sch. Int. J. Tradit. Complement. Med.* 5(3), 47–64, <https://doi.org/10.36348/sijtc.2022.v05i03.001>.
- Assefa H., Dagnaw T., 2022. Studies on antimicrobial properties of neem (*Azadirachta indica*) seed oil. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 10(2), 244–252, <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2022/10.2.244.252>.

- Baby A.R., Freire T.B., Marques G.A., Rijo P., Lima F.V., Carvalho J.C.M.D., Rojas J., Magalhães W.V., Velasco M.V.R., Morocho-Jácome A.L., 2022. *Azadirachta indica* (Neem) as a potential natural active for dermocosmetic and topical products: a narrative review. *Cosmetics* 9(3), 58, <https://doi.org/10.3390/cosmetics9030058>.
- Bhosale T., Chavan M.K., Sabale T.D., Dr Lavar V., 2021. Proximate analysis of *Azadirachta indica* & *Moringa oleifera* L. leaves as feed additives for ruminants. *Pharm. J. Innov. SP*, 10, <https://doi.org/10.22271/tpi>.
- Czarniecka A., 2018. Miodla indyjska (*Azadirachta indica*) – znaczenie gospodarcze oraz zastosowanie w kosmetyce i lecznictwie. *Herbalism* 4(1), 120–132, <https://doi.org/10.12775/HERB.2018.010>.
- Diatta K., Diatta W., Fall A. D., Dieng S. I. M., Mbaye A. I., Akpoto-Kougblenou A. A. J., Bassène E., 2019. Contribution to the study of leaves *Azadirachta indica* A. Juss (*Meliaceae*): evaluation of the antioxidant activity. *J. Drug Deliv. Ther.* 9(4-s), 6–11.
- Dwivedi A.K., 2024. Spectrophotometric evaluation of sun screen potential of *Azadirachta Indica*. *Int. J. Pharm. Sci.* 2(2), 184–189, <https://doi.org/10.5281/zenodo.10634571>.
- Fan M.X., Chen G.L., Guo M.Q., 2022. Potential antioxidative components in *Azadirachta indica* revealed by bio-affinity ultrafiltration with SOD and XOD. *Antioxidants* 11(4), 658.
- Farmakopea Polska V., 1990. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych. Warszawa, Polska.
- Farmakopea Polska X., 2014. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych. Warszawa, Polska.
- Gebremedhin G., Tesfay T., Chaithanya K.K., Kamalakaraao K., Kamalakaraao K., 2020. Phytochemical screening and in vitro anti-dandruff activities of bark extracts of neem (*Azadirachta indica*). *Drug Invent. Today* 13, 707–713.
- Ginting M., Septiana L., Ginting G.A.B., 2023. Activity test of neem leaf (*Azadirachta Indica* A. Juss) anti-dandruff shampoo on fungus (*Malassezia Furfur*). *Int. Arch. Med. Sci. Public Health* 4(2), 17–26, <https://doi.org/10.53806/iamsph.v4i2.636>.
- Hossain M.D., Sarwar M.S., Dewan S.M.R., Hossain M.S., Shahid-Ud-Daula A.F.M., Islam M.S., 2014. Investigation of total phenolic content and antioxidant activities of *Azadirachta indica* roots. *Avicenna J. Phytomed.* 4(2), 97–102.
- Islas J.F., Acosta E., Zuca G., Delgado-Gallegos J.L., Moreno-Treviño M.G., Escalante B., Moreno-Cuevas J.E., 2020. An overview of Neem (*Azadirachta indica*) and its potential impact on health. *J. Funct. Foods* 74, 104171, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104171>.
- Markiewicz W., 2020. Miodla indyjska i wąkrota azjatycka – mało znane rośliny występujące w preparatach weterynaryjnych. *Życie Weter.* 95(5), 303–307.
- Moyo M., Mukanganyama S., Zininga T., 2015. Evaluation of antioxidant activity and phytochemical composition of ethanol extract of *Azadirachta indica* leaves. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 4(4), 1–5.
- Kumar D., Shandilya S., Anuraj, 2025. A review on *Azadirachta indica* (Neem) and its phytochemistry and medicinal potentials. *Asian J. Res. Bot.* 8(1), 131–138. <https://doi.org/10.9734/ajrib/2025/v8i1249>.
- Mohanasundaram P., Antoneyraj M.S., 2025. A systematic review of neem flower (*Azadirachta indica*): a promising source of bioactive compounds with pharmacological and immunomodulating properties. *Tradit. Med. Res.* 10(7), 41, <https://doi.org/10.53388/TMR20241025001>.
- Ni Putu Ratna K., Afifah F.N., Kartika T., Prianto A.H., 2024. Neem Oil (*Azadirachta indica* A. Juss) as a potential natural active compound in cosmetic properties title. In: Arung, E.T., et al.

- Biomass-based Cosmetics. Springer, Singapore, 325–350, https://doi.org/10.1007/978-981-97-1908-2_14.
- Ogunsipe M.H., Doloruntola O., Agbede J., Igbanan, F., 2020. Influence of *Azadirachta indica* as phyto-genic feed supplement on the growth performance and immunomodulatory response of broiler chickens. *J. Biol. Nat.*, 12(1), 57–66.
- Rajarajan K., Sahu S., Gangwar N., Arunachalam A., Handa A. K., Anuragi H., 2025. Phenotypic characterization of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) germplasm accessions for high oil yield and associated traits. *Plant Genet. Res.* 23(4), 271–274, <https://doi.org/10.1017/S147926212500005X>.
- Rossi M., Giussani E., Morelli R., Scalzo R., Nani R.C., Torreggiani D., 2003. Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice. *Food Res. Int.* 36, 999–1005, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.07.002>.
- Royani A., Hanafi M., Mubarak N.M. Aigbodion V.S., Manaf A., 2025. Exploitation of *Azadirachta indica* extracts for multifunctional: antibacterial, anticorrosive, antioxidant activities, and its chemical constituents. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 22, 1549–1566, <https://doi.org/10.1007/s13762-024-05717-2>.
- Rozporządzenie 1223/2009 dotyczące produktów kosmetycznych, 2025. <https://sip.lex.pl/akty-prawne/dzienniki-UE/rozporzadzenie-1223-2009-dotyczace-produktow-kosmetycznych-wersja-67916860> [dostęp: 20.07.2025]
- Sang S.H., Akowuah G.A., Liew K.B., Lee S.K., Keng J.W., Lee S.K., Keng J.W., Lee S.K., Yon J.A.L., Tan C.S., Chew Y.L., 2023. Natural alternatives from your garden for hair care: revisiting the benefits of tropical herbs. *Heliyon* 9(11), <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21876>.
- Sujarwo W., Keim A. P., Caneva G., Toniolo C., Nicoletti M., 2016. Ethnobotanical uses of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.; *Meliaceae*) leaves in Bali (Indonesia) and the Indian subcontinent in relation with historical background and phytochemical properties. *J. Ethnopharmacol.*, 189, 186–193.
- Uzzaman S., 2020. Pharmacological activities of neem (*Azadirachta indica*): a review. *Int. J. Pharmacogn. Life Sci.*, 1(1), 38–41.
- Widiyana A.P., Illian D.N., 2022. Phytochemical analysis and total flavonoid content on ethanol and ethyl acetate extract from neem (*Azadirachta indica* Juss.) leaves utilizing UV–Vis spectrophotometric. *J. Farm. Sains Prakt.* 8(1), 36–42.
- Wylie M.R., Merrell D.S., 2022. The antimicrobial potential of the neem tree *Azadirachta indica*. *Front. Pharmacol.* 13, 891535.
- Yen G.C., Chen H.Y., 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43, 27–32, <http://dx.doi.org/10.1021/jf00049a007>.

Effect of the addition of the spirulina (*Arthrospira platensis*) on selected properties of sponge cake

Wpływ dodatku spiruliny (*Arthrospira platensis*)
na wybrane właściwości ciasta biszkoptowego

Modernisation and advances in food technology are increasing rapidly every year. Nowadays, the food sector is focused on creating products whose composition and health-promoting qualities meet the expectations of increasingly demanding consumers. The growing trend towards healthy lifestyles prompts manufacturers to enrich food products with superfood additives. One such supplement that counts as a superfood is spirulina (*Arthrospira platensis*). It represents one of the most extensively studied and well-characterised microalgal species. *Arthrospira* are filamentous, spiral, photosynthetic cyanobacteria that naturally inhabit saline waters in regions of tropical climate [Markou et al. 2023]. They are among the most intensively produced microalgae in the world – *Arthrospira* accounts for over 30% of global biomass production [Costa et al. 2019]. Spirulina is known and used in the food industry mainly for its high protein content (55–70%), which is highly digestible (85–95%). It is also recognised as a valuable source of other compounds with high biological value, including B vitamins, provitamin A, vitamin E and minerals (e.g. potassium, phosphorus, calcium, sodium, magnesium, iron, zinc) [Podgórska-Kryszczuk 2024].

The functional potential of spirulina and its use in food production is due to the constantly discovered health-promoting benefits of spirulina [Lafarga et al. 2020]. Therefore, it can be considered a promising ingredient for the development of functional food. The market for these foods has been growing steadily in recent years. Examples of products enriched with spirulina are: ayran, biscuits, bread, breadsticks, chicken mortadella, crostini, extruded snacks, ice cream, kefir, pasta, ricotta cheese, wheat crackers, white chocolate, vegan basil pesto and yoghurt [Podgórska-Kryszczuk 2024]. This confirms that the potential for enrichment and demand for such products are high. Sponge cake can also be a suitable matrix for food fortification, mainly due to the ease of self-preparation or low price.

The objective of the following research was to investigate selected properties of sponge cake fortified with spirulina powder (1 and 3%). Analyses included colour evalu-

¹ University of Life Sciences in Lublin, Student Scientific Association of Food Analysts, ramotowskida@gmail.com

² University of Life Sciences in Lublin, Department of Analysis and Food Quality Assessment

ation, antioxidant activity using the ABTS and DPPH methods, content of phenolic compounds and flavonoids, texture profile analysis, and consumer evaluation of the produced products.

Materials and methods

Sponge cake preparation

The sponge cakes were prepared in two variants, with different additions of spirulina (1% and 3%) partially replacing wheat flour. The control sponge cake was prepared without the addition of spirulina. Sponge cakes were prepared according to the cold method: the egg yolks were separated from the whites, then the whites were beaten with a hand mixer on the highest power, sugar was gradually added and whipped until the sugar was completely dissolved. The egg yolks were added to the whites and mixed until smooth. Sifted wheat flour mixed with spirulina in the case of the 1% and 3% variants was added to the thus-prepared mass in portions and mixed gently until combined. The dough prepared this way was poured into moulds and baked in an oven preheated to 180°C for 20 min. The quantities of ingredients for each cake variant are presented in Table 1.

Table 1. Recipe for sponge cakes

Ingredient	C*	S1%	S3%
Wheat flour (g)	80.0	79.2	78.4
Sugar (g)	80.0	80.0	80.0
Eggs (pcs)	2	2	2
Spirulina (g)	–	0.8	1.6

*C – control; S1%, S3% – sponge cake with appropriate amount of spirulina

Colour measurements

The colour was measured using an EnviSense NH310 colourimeter (EnviSense, Lublin, Poland). Colour differences were recorded on the CIE L*a*b* scale. The colour parameters were determined by: L* – lightness (0 – black, 100 – white), a* (–a* green, +a* red) and b* (–b* blue, +b* yellow). In addition, the total colour difference (ΔE) [Zielińska and Pankiewicz 2020] was calculated using the following formula:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

where: ΔL^* , Δa^* , and Δb^* are differences in the L*, a*, and b* values, respectively, between the reference sample and the test sample.

The whiteness index (WI) was calculated using the measured L^* , a^* , and b^* values as follows:

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

Antioxidant properties

Extraction of bioactive compounds

The sponge cake samples (1 g) were crushed in a laboratory mortar and shaken with 10 mL of 4 : 1 ethanol/water (v/v) for 120 min in a laboratory shaker. Next, the samples were centrifuged at 3000 g for 10 min. The supernatant was stored at -18°C until the next day for further analysis [Zielińska and Pankiewicz 2020].

ABTS radical scavenging activity

The ABTS assay was performed following the method of Re et al. [1999], with minor adjustments to the amounts of the antioxidant solution. A 2.9 mL volume of the ABTS $^{\cdot+}$ solution was combined with 0.1 mL of each sample. Absorbance was recorded at 734 nm after 3 minutes of reaction, using deionised water as the blank. The scavenging effect was calculated using the following formula:

$$\text{Scavenging activity (\%)} = [1 - (A \text{ sample}/A \text{ control})] \times 100$$

where: A sample is the absorbance of the mixture of sample and ABTS $^{\cdot+}$; A control is the absorbance of the control (ABTS $^{\cdot+}$ solution). The results were expressed as Trolox equivalent antioxidant activity (TEAC) values (μM Trolox).

DPPH radical scavenging activity

The DPPH assay was conducted based on the method of Brand-Williams et al. [1995], with minor modifications. A 0.1 mL sample was combined with 0.9 mL of a 6 μM DPPH $^{\cdot}$ solution in 75% methanol. Absorbance was measured at 515 nm after 3 minutes of reaction, with 75% methanol as the blank. The scavenging effect was calculated using the same procedure as the ABTS scavenging activity.

Total phenolic content (TPC)

TPC of various samples was measured using the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method [Singleton and Rossi 1965]. In brief, 0.2 mL of the extract was mixed with 3 mL of distilled water and 0.2 mL of Folin-Ciocalteu reagent. After vortex mixing, 0.6 mL of saturated sodium carbonate was added, and the mixture was incubated at 40°C for 30 minutes. The absorbance was then measured at 765 nm. The results were reported as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per 100 grams of sample.

Total flavonoids content (TFC)

TFC was assessed spectrophotometrically, following the procedure outlined by Karadeniz et al. [2005]. In a 10 mL volumetric flask, 1 mL of the prepared extract, 5 mL of distilled water, and 0.3 mL of a 5% sodium nitrate (III) aqueous solution were added. The obtained solution was agitated on a vortex and permitted to rest for 5 minutes. Subsequently, 0.6 mL of a 10% aluminium chloride hexahydrate solution in water was introduced, remixed, and allowed to stand for 5 minutes. Subsequently, 2 mL of sodium hydroxide solution (1 M) was introduced and completed with distilled water up to the measuring line. The absorbance of the prepared samples was recorded at 510 nm compared to the blank. TFC was represented as milligrams of epicatechin (EPI) in 100 grams of the sample.

Instrumental texture profile analysis (TPA)

The test was carried out on sponge cakes cut into a cuboid measuring 4×2 cm and 1.5 cm high. The samples were penetrated using a cylindrical probe with a diameter of 6 mm to a depth of 5 mm, at a head travel speed of 1mm/s, with a contact force of 3 g. The following parameters were determined: hardness, cohesiveness, springiness, gumminess and chewiness. The results were recorded in the Texture Pro computer software.

Consumer evaluation

The sponge cake was divided into portions and coded with a three-digit number, and then subjected to consumer evaluation by 66 consumers between the ages of 18 and 47 (42 women and 24 men). Two methods were used in the experiment. Preference was investigated using a 9-point hedonic scale in which individual ratings were described in detail (1: dislike extremely, 5: neither like nor dislike, 9: like extremely) [Lim et al. 2011]. A ranking method was also used in which consumers ranked the samples from best (1) to worst (3). The ranking method assigned points for each place (1st place –3 points, 2nd place – 2 points, 3rd place – 1 point). Plain water was used to rinse the mouth before each trial. The organoleptic evaluation of confectionery with spirulina was authorised by the University Ethical Committee for Scientific Research with Human Participation of the University of Life Sciences in Lublin, dated 12.02.2025, resolution number: UKE/45/2025.

Statistical analysis

All assays were performed in at least three replicates. All data are presented as means plus standard deviation. The results were statistically analysed using Statistica 13.3 (Statsoft, Krakow, Poland) and Excel 2019 (Microsoft, Washington, DC, USA). An analysis of variance (ANOVA) was carried out to compare the results, and the significance of differences between group means was determined using Tukey's post hoc test. All statistical hypotheses were verified at the significance level of $p < 0.05$.

Results and discussion

Colour measurements

The colour measurements of the crumb of the sponge cakes were performed in the CIE L*a*b* colour space, and ΔE and the whiteness index (WI) were also calculated. The results are presented in Table 2. The colours of the resulting cakes with the spirulina addition changed significantly compared to the control (Fig. 1). Increasing the addition of the microalgae decreased the brightness (L^*) and increased the greenness (a^*), blueness (b^*) and ΔE . The WI decreased from 64.41 in the control sample to 50.21 in the sample with the highest addition.

Table 2. Colour determinants of sponge cake

Determinant	C*	S1%	S3%
L^*	$76.76 \pm 1.06^{a*}$	67.15 ± 0.86^b	56.14 ± 1.02^c
a^*	3.59 ± 0.33^a	0.34 ± 0.13^b	-0.63 ± 0.06^c
b^*	26.71 ± 0.86^a	21.66 ± 0.78^c	23.56 ± 0.74^b
ΔE	–	11.33	21.28
WI	64.41	60.65	50.21

* Means labelled with identical letters do not differ significantly at $p < 0.05$ (Tukey's post hoc test);

*C – control; S1%, S3%, – sponge cake with appropriate amount of spirulina * mean in terms of lightness (L^*) and colour (a^* – greenness; b^* – blueness), ΔE – the total colour difference, WI – whiteness index

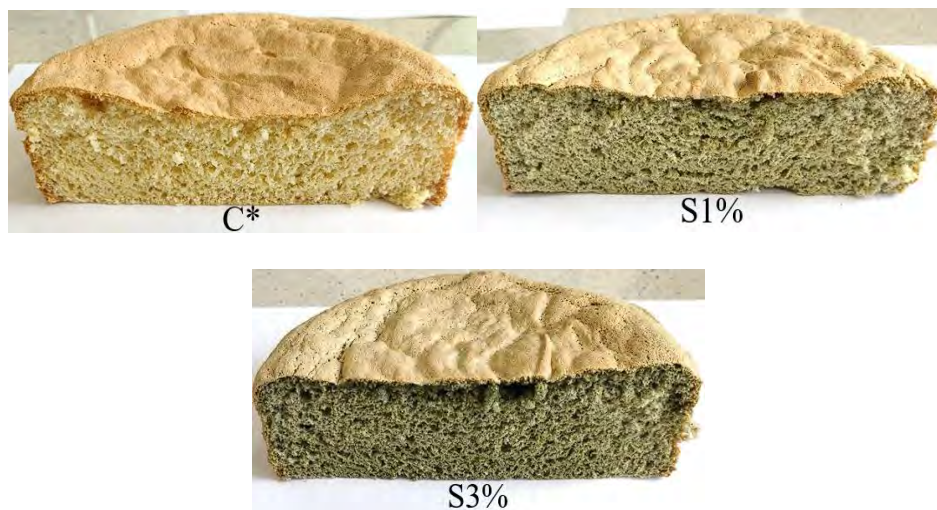


Fig. 1. Sponge cakes prepared with different amounts of spirulina *C – control; S3%, S1%, – sponge cake with appropriate amount of spirulina (phot. D. Ramotowski)

Other studies confirm the results obtained during the colourimeter test. The addition of spirulina to sponge cakes in a study by Seung-Hye et al. [2024] resulted in a statistically significant reduction in L*a*b* values.

Antioxidant properties, total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC)

The results of the antioxidant activity assays against ABTS^{•+} and DPPH[•], as well as TPC and TFC are described in Table 3. The antioxidant activity against ABTS^{•+} showed no significant difference for the control and the sponge cake with 1% microalgae addition (147.14 ± 7.46 and 146.64 ± 2.43 μ M TE, respectively). In comparison, the activity in the 3% sample was significantly higher, reaching 200.51 ± 2.90 μ M TE. In the case of activity against DPPH, it was 14.40 ± 1.54 μ M TE for the control sample, 17.60 ± 2.24 μ M TE for the 1% sample, and 19.90 ± 0.50 μ M TE for the 3% sample. The enrichment of products with microalgae, not only spirulina, leads to an increase in antioxidant properties. Research by Abdel-Moatamed et al. [2024] has shown that adding *Chlorella vulgaris*, like spirulina in this study, significantly increases the antioxidant activity of sponge cake. This can be attributed to high phytochemicals and biologically active substances such as flavonoids, sterols and other phenolic compounds.

Table 3. Antioxidant properties, TPC and TFC of sponge cakes

Performed analyses	C*	S1%	S3%
ABTS (μ M TE)	$147.14 \pm 7.46^{b*}$	146.64 ± 2.43^b	200.51 ± 2.90^a
DPPH (μ M TE)	14.40 ± 1.54^b	17.60 ± 2.24^{ab}	19.90 ± 0.50^a
TPC (mg GAE/100 g)	78.85 ± 1.08^b	83.03 ± 1.84^b	95.91 ± 1.75^a
TFC (mg EPI/100 g)	46.15 ± 1.13^b	52.78 ± 1.59^a	53.83 ± 0.18^a

* Means labelled with identical letters do not differ significantly at $p < 0.05$ (Tukey's post hoc test);

*C – control; S1%, S3%, – sponge cake with appropriate amount of spirulina

Incorporation of the tested microalgae into the sponge cake enhanced its total phenolic content (78.85 ± 1.08 mg GAE/100 g for the control and 95.91 ± 1.75 mg GAE/100 g for the 3% sample). Total flavonoid content also increased from 46.15 ± 1.13 mg EPI/100 g in the control sample to 53.83 ± 0.18 mg EPI/100 g of sponge cake in the 3% sample. A study by Zangeneh et al. [2020] also demonstrated increasing levels of phenolic compounds in sponge cake with the addition of spirulina.

Instrumental texture profile analysis (TPA)

The texture of food is a vital determinant influencing dietary behaviour. Moreover, textural properties serve as indicators of both freshness and overall food quality, thereby influencing consumer acceptance and preferences. A sponge cake, like a muffins, should

exhibit a soft, tender, and delicate crumb, reflecting low hardness and chewiness, alongside high elasticity [Marzec et al. 2023]. Performed tests indicate a significant decrease in the cake's hardness, gumminess, and chewiness with increasing addition of spirulina (Tab. 4).

Table 4. Texture of sponge cakes with added microalgae

Parameter	C*	S1%	S3%
Hardness (g)	71.00 ±4.24 ^{a*}	57.67 ±4.51 ^a	39.00 ±7.94 ^b
Cohesiveness	0.73 ±0.01 ^a	0.76 ±0.02 ^a	0.76 ±0.02 ^a
Springiness (mm)	4.60 ±0.01 ^a	4.53 ±0.13 ^a	4.45 ±0.07 ^a
Gumminess (g)	52.00 ±4.24 ^a	44.33 ±4.16 ^a	29.00 ±6.93 ^b
Chewiness (mJ)	2.35 ±0.21 ^a	1.97 ±0.21 ^a	1.27 ±0.29 ^b

* Means labelled with identical letters do not differ significantly at $p < 0.05$ (Tukey's post hoc test);

*C – control; S1%, S3%, – sponge cake with appropriate amount of spirulina

Marzec et al. [2023] reported that addition of *Chlorella vulgaris* led to decreased hardness and chewiness in muffins. Such differences may be caused by the dilution of gluten [Goswami et al. 2015]. Fortification of products with spirulina powder affects the TPA results not only for cakes. According to Sanjari et al. [2018], the addition of spirulina to baguette bread resulted in significant reductions in various texture characteristics, including stiffness, chewiness, porosity, and elasticity.

Consumer evaluation

Organoleptic characteristics and consumer acceptability are as crucial as the bioactive value of novel food. In the current study, replacing part of the flour with spirulina did not significantly change the quality characteristics tested, with the exception of the external appearance of the sponge cakes with the addition of microalgae (Fig. 2). The external appearance was rated highest for the control cake (8.29 ± 0.92), and the cakes with 1% and 3% additions scored lower (7.18 ± 1.59 , 7.11 ± 1.76 , respectively). The dough with 3% added microalgae scored highest for smell (7.47 ± 1.92) and taste (7.95 ± 1.39). When the samples were ranked by preference, the cake with 3% spirulina addition scored the highest (138), and the cake with the 1% addition scored the lowest (124). The obtained results indicate that sponge cakes with spirulina additives do not differ in quality from cakes without the additive, and are even rated higher, so that they could be marketed.

Confectionery products with spirulina from other studies also scored well in organoleptic tests. A research by Gün et al. [2022] showed that biscuits with spirulina (4%) had the most attractive taste and colour. Consistent with these findings, Batista et al. [2017] observed that cookies containing 2% and 6% *Chlorella*, as well as spirulina, were found acceptable by the panellists.

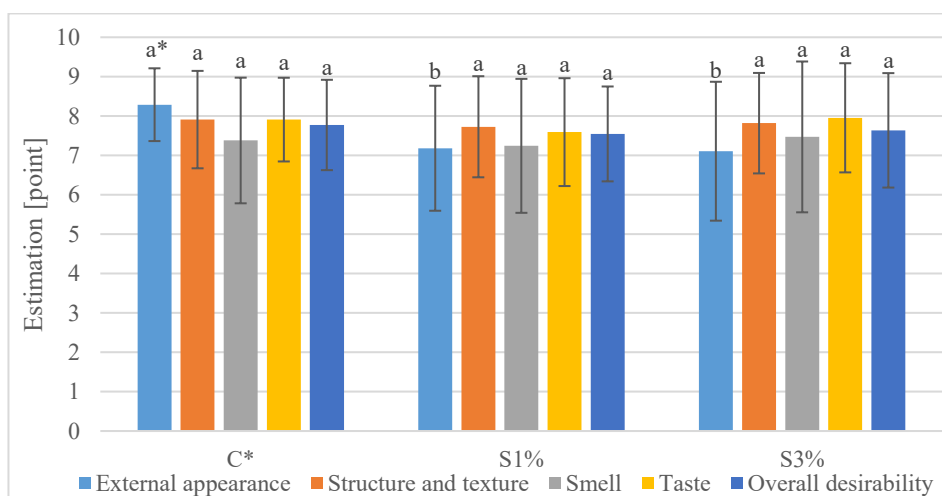


Fig. 2. Consumer evaluation of sponge cakes depending on the addition of spirulina. *C – control; S1%, S3% – sponge cakes with the appropriate amount of spirulina; * within a given quality discriminant, means labelled with identical letters do not differ significantly at $p < 0.05$ (Tukey's post hoc test)

Conclusions

As a result of the study, the following conclusions were drawn:

1. The addition of spirulina to the sponge cake increased its antioxidant activity and the content of phenolic compounds and flavonoids compared to products without the addition of spirulina.
2. The sponge cakes with microalgae were characterised by a different colour, which consumers rated lower than the control sample. However, the external appearance of all cakes was acceptable.
3. The properties of the spirulina-added baked goods obtained indicate that they could be successfully marketed.

Bibliography

- Abdel-Moatamed B., Elfakhrany A., Elneairy N., Shaban M., Roby M., 2024. The effects of adding *Chlorella vulgaris* on sponge cake quality and nutritional value. *Labyrinth Fayoum J. Sci. Interdisc. Stud.* 3(1), 21–27. <https://doi.org/10.21608/ifjsis.2024.301080.1083>
- Batista A.P., Niccolai A., Fradinho P., Fragoso S., Bursic I., Rodolfi L., Biondi N., Tredici M. R., Sousa I., Raymundo A., 2017. Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. *Algal Res.* 26, 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.07.017>

- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Costa J.A.V., Freitas B.C.B., Rosa, G.M., Moraes, L., Morais, M.G., Mitchell, B.G., 2019. Operational and economic aspects of *Spirulina*-based biorefinery. *Biores. Technol.* 292, 121946. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121946>
- Goswami D., Gupta R.K., Mridula D., Sharma M., Tyagi S.K., 2015. Barnyard millet based muffins: physical, textural and sensory properties. *LWT Food Sci. Technol.* 64(1), 374–380. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.060>
- Gün D, Çelekli, A., Bozkurt H., 2022. Optimization of biscuit enrichment with the incorporation of *Arthrospira platensis*: nutritional and sensory approach. *J. Appl. Phycol.* 34, 1555–1563. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02702-5>
- Karadeniz F., Burdurlu H.S., Koca N., Soyer Y., 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in turkey. *Turk. J. Agric. For.* 29(4), 297–303.
- Lafarga T., Fernández-Sevilla J.M., González-López C., Acien-Fernández F.G., 2020. *Spirulina* for the food and functional food industries. *Food Res. Int.* 137, 109356. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109356>
- Lim H.S., Park S.H., Ghafoor K., Hwang S.Y., Park J., 2011. Quality and antioxidant properties of bread containing turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivated in South Korea. *Food Chem.* 124(4), 1577–1582. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.016>
- Markou G., Kougia E., Arapoglou D., Chentir I., Andreou V., Tzovenis I., 2023. Production of *Arthrospira platensis*: effects on growth and biochemical composition of long-term acclimatization at different salinities. *Bioengineering* 10(2), 233. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10020233>
- Marzec A., Kramarczuk P., Kowalska H., Kowalska J., 2023. Effect of type of flour and microalgae (*Chlorella vulgaris*) on the rheological, microstructural, textural, and sensory properties of vegan muffins. *Appl. Sci.* 13(13), 7632. <https://doi.org/10.3390/app13137632>
- Podgórska-Kryszczuk I., 2024. *Spirulina* – an invaluable source of macro- and micronutrients with broad biological activity and application potential. *Molecules* 29(22), 5387. <https://doi.org/10.3390/molecules29225387>
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Sanjari S., Sarhadi H., Shahdadi F., 2018. Investigating the effect of *Spirulina platensis* microalgae on textural and sensory properties of baguette bread. *J. Nutr. Food Sec.* 3(4), 218–225. <https://doi.org/10.18502/jnfs.v3i4.166>
- Seung-Hye K., Joung-Lan J., Hyun-Chul J., 2024. Antioxidant activities and physicochemical properties of sponge cake with spirulina powder. *FoodService Ind. J.* 20(6), 69–81.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Zangeneh N., Barzegar H., Alizadeh Behbahani B., Mehrnia M.A., 2020. Investigation of the effect of different *Spirulina platensis* levels on nutritional, physicochemical and sensory properties of sponge cake. *Iran. Food Sci. Technol. Res. J.*, 16(2), 207–220. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v16i2.81859>
- Zielińska E., Pankiewicz U., 2020. Nutritional, physiochemical, and antioxidative characteristics of shortcake biscuits enriched with *Tenebrio molitor* flour. *Molecules* 25(23), 5629. <https://doi.org/10.3390/molecules25235629>

Badanie właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych oraz pH płynów do higieny intymnej dla kobiet

Study of the bactericidal and fungicidal properties as well as the pH of feminine intimate hygiene washes

Wstęp

Obecnie ludzie coraz większą uwagę zwracają na swój wygląd oraz higienę osobistą. Szczególnie w dobie pandemii nastąpił wzrost świadomości wpływu higieny na zdrowie. Wraz ze zwiększeniem zapotrzebowania na produkty higieniczne producenci poszerzają ofertę, wprowadzając na rynek produkty, które nie zakłócają lub są korzystne dla mikrobiomu skóry poszczególnych partii ciała [Carvalho i in. 2023, Kosmetyczna Polska 2024]. Kiedyś do utrzymania czystości całego ciała stosowano tylko jeden produkt – mydło. Obecnie, znając budowę i właściwości skóry różnych części ciała, projektuje się odpowiednie środki do ich pielęgnacji.

Światowy rynek kosmetyczny rozwija się dynamicznie. Według danych Statista w latach 2023–2028 tempo tego rozwoju będzie nieco większe niż w poprzednich dwóch latach. Kosmetyki do makijażu mają być segmentem o najwyższym średnim tempie wzrostu, ale największy udział w rynku niezmiennie pozostanie przy produktach pielęgnacyjnych [Bochner 2024]. Z danych Centrum Analiz PKO BP wynika, że również polska branża kosmetyczna odnotowuje dynamiczny rozwój [Polski rynek kosmetyczny 2024...]. Prognozy sugerują, że do 2028 r. rynek ten będzie rozwijał się w średniorocznym tempie ok. 5,2% i osiągnie 6,2 mld euro. Warto podkreślić, że Polska jest piątym (po Niemczech, Francji, Włoszech i Hiszpanii) największym rynkiem kosmetyków w UE, a w latach 2014–2023 polski rynek wzrósł aż o 75,3%, co było drugim wynikiem w UE [Kosmetyczna Polska 2024].

W grupie produktów pielęgnacyjnych znajdują się produkty do higieny intymnej, których ilość i różnorodność z roku na rok wzrasta. Są one przeznaczone do mycia, zapobiegania infekcjom oraz przywracania naturalnego pH okolic intymnych [Guglielminetti i Benvenuti 2015]. Stworzono je, by chronić najbardziej wrażliwe miejsca przed różnego rodzaju infekcjami bakteryjnymi i grzybiczymi. Zdaniem Domagalskiej [2020]

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Studenckie Koło Naukowe Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Sekcja Ekologicznej Produkcji Żywności, w.rolkowska@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła

³ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobioinżynierii, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej

przy projektowaniu preparatów do mycia okolic intymnych dla kobiet należy mieć na uwadze zarówno budowę zewnętrznych narządów płciowych (naskórek z przydatkami skóry – gruczołami łojowymi, gruczołami potowymi i włosami), jak i bliskość błony śluzowej (co ważne – przez błony śluzowe znacznie efektywniej zachodzi wchłanianie, dlatego płyny do higieny intymnej po użyciu należy dokładnie spłukiwać). Na całej tej powierzchni bytują specyficzne mikroorganizmy, tworzące dynamiczne, wrażliwe mikrośrodowisko. Wśród nich do 95% stanowi *Lactobacillus*, czyli Gram-dodatnia pałeczka kwasu mlekowego [Pagan i in. 2021, Długosz i in. 2024]. Ich rolą jest utrzymanie odpowiedniego pH pochwy, które powinno być kwasowe (pH 3,6–4,5), oraz zapobieganie zakażeniom poprzez produkcję czynników przeciwwzapalnych [Chen i in. 2017, Fuchs i in. 2024]. Bakterie te cechuje zdolność do hydrolizy glikogenu – polisacharydu występującego w cewach gruczołowych pochwy – który w wyniku ich działania ulega hydrolizie do kwasu mlekowego. W ten sposób dochodzi do zakwaszenia środowiska pochwy do pH<4,5, co stanowi ochronę przed kolonizacją narządu rodowego przez bakterie chorobotwórcze [Pytko i in. 2019]. Ponadto bakterie z grupy LAB wytwarzają bakteriocyny – substancje białkowe wykazujące znaczące działanie bakteriobójcze i/lub bakteriostatyczne [Goderska i in. 2012]. Zmniejszenie populacji ochronnych gatunków *Lactobacillus* i wzrost pH okolic intymnych z równoczesnym zwiększeniem liczebności organizmów fakultatywnych i beztlenowych w mikrośrodowisku pochwy sprzyja kolonizacji przez bakterie chorobotwórcze i rozwojowi infekcji [Holdcroft i in. 2023].

Jedną z najczęstszych przyczyn zaburzeń pH stref intymnych są niewłaściwe praktyki higieniczne [Saraf i in. 2021]. Rutynowe, codzienne mycie tych okolic jest pożądane [Chen i in. 2017], jednak podstawowym błędem jest stosowanie nieodpowiednich płynów i żeli, nierzadko przeznaczonych do innych części ciała [Holdcroft i in. 2023]. Rynek oferuje obecnie szeroką gamę produktów dedykowanych do higieny okolic intymnych dla kobiet, mężczyzn i dzieci. Ich odpowiednie pH zapewnia obecność kwasu mlekowego, cytrynowego, dehydrooctowego lub układu buforującego: kwas mlekowy/mleczan sodu. Ponadto zawierają surfaktanty (odpowiedzialne za właściwości myjące), alantoinę (działa przeciwwzapalnie i łagodząco), bisabolol (działa łagodząco i antyseptycznie), panthenol (działa łagodząco i przyspiesza gojenie się ran), glukany (działające nawilżająco), mocznik (o działaniu nawilżającym i bakteriostatycznym), różnorodne wyciągi roślinne (m.in. z rumianku, lukrecji, zielonej herbaty, nagietka, babki lancetowatej i wiele innych), olejki eteryczne (np. z drzewa herbacianego czy lawendy) oraz układ konserwujący (choć dostępne są także produkty bez konserwantów) [Ursynowska 2016, Domagalska 2020]. Tym, co powinno wyróżniać preparaty do higieny intymnej dla kobiet od innych kosmetyków myjących jest ich pH, odpowiadające odczynowi, w zakresie którego bakterie *Lactobacillus* działają ochronnie. Niestety wielu producentów nie podaje wartości tego parametru na opakowaniach swoich wyrobów, co znacznie utrudnia świadomy wybór i nabywanie tego typu kosmetyków stosownie do potrzeb.

Celem pracy była ocena działania przeciwdrobnoustrojowego (w stosunku do wzorcowych bakterii Gram-dodatnich: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* i Gram-ujemnych: *Escherichia coli* oraz bakterii kwasu mlekowego i grzybów: *Candida tropicalis* i *Saccharomyces cerevisiae*) oraz pomiar pH pięciu wybranych płynów do higieny intymnej dla kobiet dostępnych w większości drogerii stacjonarnych.

Material i metody

Badania wykonano metodą dyfuzyjno-krażkową. W teście oceniano wrażliwość następujących mikroorganizmów: *Escherichia coli* ATCC 11303, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 12598, bakterii kwasu mlekowego wchodzących w skład synbiotyku firmy „Multilac” zawierającego następujące gatunki bakterii: *Lactococcus lactis* LI-23, *Lactobacillus plantarum* LP-115, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus* ST-21, *Bifidobacterium breve* BB-03, *Lactobacillus casei* Lc-11, *Bifidobacterium bifidum* Bb-02, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* oraz *Lactobacillus acidophilus* LA-14), drożdży (*Saccharomyces cerevisiae* BY4741 o genotypie Mat a his3 Δ 11eu 2 Δ 0met15 Δ 0ura3 Δ 0) i drożdżaków (*Candida tropicalis*). Wykorzystane w badaniach mikroorganizmy pochodziły z kolekcji Katedry Mikrobiologii Środowiskowej oraz Katedry Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności UP w Lublinie. Bakterie kwasu mlekowego w formie preparatu Multilac zostały ożywione poprzez ich zawieszenie w pożywce MRS oraz hodowli w temp. 35°C.

Młode, 24-godzinne hodowle, rozcieńczono w buforze fosforanowym (PBS), tak aby uzyskać zawiesinę o gęstości około 10^6 jtk/ml w przypadku drożdży/drożdżaków i ok. 10^8 jtk/ml w przypadku bakterii (co odpowiada 0,5 w skali McF). Mikroorganizmy wysiano metodą wgłębną, polegającą na wymieszaniu 1000 μ L zawiesiny komórek z ostudzoną do temperatury 45–48°C pożywką. W teście zastosowano następujące pożywki: Müller-Hinton agar (MHA) dla *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, MRS dla bakterii kwasu mlekowego oraz pożywkę YPD o składzie: ekstrakt drożdżowy 1%, pepton 1%, glukoza 2%, agar 2% dla drożdży (*C. tropicalis* i *S. cerevisiae*). W zastygniętej, zaszczipionej pożywce wycięto po 4 studzienki o średnicy 5 mm. Do każdej z nich dodano odpowiednio po 5, 10, 15 i 20 μ L badanych preparatów kosmetycznych, a na środek wyłożono krążek ze standardowymi antybiotykami (Biomaxima, Lublin, Poland), jako kontrolę pozytywną testu. W przypadku bakterii zastosowano streptomycynę (300 μ g), a w przypadku drożdży – nystatynę (100 IU). Szalki z hodowlami bakterii były inkubowane w cieplarni w temperaturze 35°C przez 24 godziny w przypadku *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* i przez 48 godzin w przypadku bakterii kwasu mlekowego. Inkubację *C. tropicalis* i *S. cerevisiae* prowadzono w temperaturze 28°C przez 3 doby.

Po inkubacji mikroorganizmów z preparatami kosmetycznymi zmierzono strefy zahamowania wzrostu wokół studzienek i krążków antybiotykowych. Doświadczenie wykonano w dwóch powtórzeniach, a wyniki przedstawiono jako średnie z dwóch pomiarów.

Badanie odczynu testowanych produktów przeprowadzono za pomocą pH-metru CP-505 firmy Elmetron.

Wyniki i dyskusja

Z przeprowadzonych badań wynika, że badane płyny do higieny intymnej charakteryzowały się zróżnicowanym zakresem działania w stosunku do testowanych bakterii i grzybów (tab. 1, ryc. 1). Relatywnie najszerszym spektrum bakteriobójczego i grzybobójczego działania odznaczał się Lactacyd. Zahamował wzrost prawie wszystkich bakte-

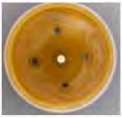
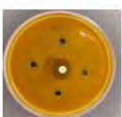
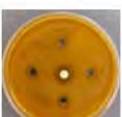
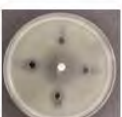
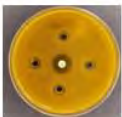
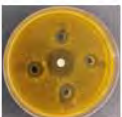
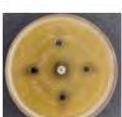
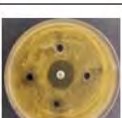
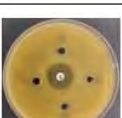
rii (poza *E. coli*) oraz obydwu badanych grzybów. Strefa zahamowania wzrostu *C. tropicalis* była porównywalna z działaniem na te grzyby nystatyny, zastosowanej jako pozytywna kontrola (średnica strefy zahamowania wzrostu 16 mm). Identyczną wielkość strefy zahamowania wzrostu (16 mm) stwierdzono w przypadku *S. cerevisiae*, przy czym działanie Lactacydu na te drożdże było zdecydowanie słabsze w porównaniu do działania antybiotyku. Preparat ten silnie hamował także wzrost bakterii *B. cereus*, w przypadku których strefa zahamowania wzrostu była największa w porównaniu do innych bakterii i wynosiła (po zastosowaniu go w największej objętości, tj. 20 µl) 14 mm (tab. 1, ryc. 1).

Tabela 1. Wymiary średnich stref zahamowania wzrostu (w mm) dla badanych bakterii i grzybów, wywołanych działaniem badanych płynów do higieny intymnej

Produkt	Objętość preparatu w studzience (µL)	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	Bakterie kwasu mlekowego	<i>C. tropicalis</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Sielanka	5	10	13	5	9	6	5
	10	12	14	5	10	10	5
	15	12	14	5	10	12	5
	20	13	15	5	10	12	5
	A	14	20	19	16	17	25
Yope	5	5	9	5	13	12	5
	10	10	12	9	14	12	5
	15	11	12	10	14	13	5*
	20	11	14	10	14	14	5*
	A	17	18	15	15	18	23
Your Kaya	5	5	13	6	7	5*	5
	10	5	15	7	10	5*	5*
	15	5	17	10	13	5*	5*
	20	5	19	10	13	5*	5*
	A	23	30	22	23	15	21
Facelle	5	5	17	14	15	5	5
	10	5	17	14	15	5	5*
	15	6	20	15	16	6	5*
	20	6	20	15	19	7	5*
	A	25	33	24	27	16	21
Lactacyd	5	5	10	8	9	6	6
	10	5	12	9	10	6	6
	15	5	14	9	10	11	12
	20	5	14	9	10	16	16
	A	15	17	18	17	16	25

Objaśnienia: A – antybiotyk; * – brak wyraźnej strefy zahamowania wzrostu, ale widoczny słabszy wzrost mikrokolonii wokół studzienki

Oddziaływanie tego preparatu na pozostałe bakterie było zdecydowanie słabsze, chociaż nadal wyraźne. Jego silne grzybobójcze i bakteriobójcze działanie związane było najprawdopodobniej z wysokim pH tego preparatu (według deklaracji producenta wynosi ono 8), a według naszych pomiarów – 8,31 (tab. 2). Wysoka wartość pH wynika prawdopodobnie z obecności trietanolaminy (*Triethanolamine*), będącej regulatorem pH, której zawartość w formule preparatu deklaruje producent.

	Sielanka	Yope	YourKaya	Facelle	Lactacyd
<i>E. coli</i>					
<i>B. cereus</i>					
<i>S. aureus</i>					
Bakterie mlekowe					
<i>C. tropicalis</i>					
<i>S. cerevisiae</i>					

Ryc. 1. Zdjęcia stref zahamowania wzrostu badanych płynów do higieny intymnej

Produktami o relatywnie szerokim zakresie działania były płyny do higieny intymnej marki Yope oraz Sielanka, które hamowały wzrost bakterii (choć w różnym zakresie) oraz drożdży *C. tropicalis* (tab. 1, ryc. 1). Yope działał także na *S. cerevisiae*. Wprawdzie nie indukował stref zahamowania wzrostu, ale spowalniał proliferację drożdży, co

przejawiało się w formie wzrostu mikrokolonii przy najwyższych dawkach tego preparatu. Według deklaracji producenta jest to produkt przeznaczony dla kobiet ciężarnych, u których występuje wysoka skłonność do podrażnień, generujących wysokie ryzyko powstania zakażeń grzybiczych i bakteryjnych [Urtnowska 2016]. Uzyskane wyniki potwierdzają skuteczność działania płynów Yope i Sielanka w eliminacji drożdżaków *Candida*. Podstawowa różnica między preparatami dotyczy ich oddziaływania na *S. aureus*. Płyn Sielanka nie wpływał hamująco na wzrost tego mikroorganizmu, natomiast Yope już tak w sposób zależny od dawki. Warto podkreślić, że obydwa te preparaty miały pH przyjazne dla odczynu kobiecych okolic intymnych, bowiem mieściło się ono w zakresie 3,85–3,87 (tab. 2).

Tabela 2. Wyniki pomiarów pH badanych płynów do higieny intymnej

Preparat	Sielanka	Yope	Your Kaya	Facelle	Lactacyd
Wartości pH	3,87	3,85	5,08	4,48	8,31

Kolejne dwa preparaty Your Kaya i Facelle oddziaływały w zasadzie tylko na bakterie, bowiem w przypadku *S. cerevisiae* i *C. tropicalis* odnotowano jedynie słabszy wzrost mikrokolonii, a nie wyraźne strefy zahamowania wzrostu (tab. 1, ryc. 1). Szersze spektrum działania bakteriobójczego stwierdzono w przypadku Facelle, ponieważ hamował on wzrost wszystkich analizowanych bakterii. Jego szerokie spektrum działania bakteriobójczego może być efektem sumującego się wpływu zawartego w nim kwasu mlekowego (*Lactic Acid*), ekstraktu rumianku (*Chamomilla Recutita Flower Extract*), mocznika (*Urea*) działającego bakteriostatycznie, benzoesu sodu (*Sodium Benzoate*), sorbinianu potasu (*Potassium Sorbate*) oraz kwasu cytrynowego (*Citric Acid*) i cytrynianu sodu (*Sodium Citrate*) jako regulatorów pH. W przeciwieństwie do preparatu Facelle produkt Your Kaya nie wpływał na wzrost *E. coli*.

Zagadnienia związane z higieną okolic intymnych są istotne z medycznego, społecznego, a także kulturowego punktu widzenia [Chen i in. 2017]. Środki do higieny intymnej stanowią ważny element w utrzymaniu czystości narządów płciowych, kontroli zapachu oraz szeroko pojętego zdrowia, zarówno jednostki, jak i publicznego. Wiele badań naukowych porusza tego typu zagadnienia. Z badań Skowrona i in. [2022] wynika, że stosowanie płynów do higieny intymnej to praktyka, która może dawać lepsze efekty w zapobieganiu infekcjom dróg rodnych u kobiet w porównaniu do chusteczek do higieny intymnej ze względu na wyższe stężenie substancji aktywnych. Chen i in. [2011], badając skuteczność żelu do higieny intymnej z dodatkiem nanocząstek srebra w zapobieganiu bakteryjnym zapaleniu pochwy, stwierdzili, że bakterie *Staphylococcus aureus* charakteryzowały się największą wrażliwością na testowany żel, natomiast bakterie *E. coli* były najbardziej odporne na działanie badanego środka. Fashemi i in. [2013] badali wpływ produktów dopochwowych dostępnych bez recepty na żywotność *Lactobacillus crispatus*

(bakterii wchodzącej w skład prawidłowego mikrobiomu pochwy) i markery prozapalne komórek nabłonka pochwy. Uzyskane przez nich wyniki sugerują, że niektóre produkty dopochwowe dostępne bez recepty mogą być szkodliwe dla tych bakterii a dodatkowo mogą zmieniać środowisko immunologiczne pochwy. Natomiast badania Hung i in. [2020] wykazały, że wybrane dopochwowe środki nawilżające i lubrykanty hamują wzrost laboratoryjnych i klinicznych szczepów *E. coli*, ale wykazują słabsze działanie w stosunku do *L. crispatus*. Uzyskane przez nas wyniki oraz dane innych autorów wskazują, że higiena intymna kobiet powinna być wspierana produktami odpowiednio zaprojektowanymi i przetestowanymi, o cechach takich jak: hipoalergiczność, odpowiednie pH, łagodne działanie myjące, selektywne działanie bakteriobójcze/bakteriostatyczne i grzybobójcze (hamowanie proliferacji bakterii i grzybów patogennych, brak wpływu na składniki prawidłowego mikrobiomu okolic intymnych). Nie powinny one wysuszać ani podrażniać skóry sromu i nabłonka pochwy. W wielu przypadkach prawidłowa higiena intymna może pomóc w zapobieganiu lub łagodzeniu uciążliwych objawów infekcji tych narządów oraz poprawić ogólne samopoczucie.

Silne właściwości przeciugrzybicze i przeciwbakteryjne płynów do higieny intymnej są związane z pH. Preparat Lactacyd o silnie zasadowym odczynie ($\text{pH} = 8,31$) hamował wzrost zarówno grzybów, jak i bakterii testowych. Takie wysokie pH ogranicza wzrost zarówno grzybów drożdżowych (dla których optymalna wartość tego parametru wynosi około 4–5 [Jezińska-Tys i Frąc 2006]), jak i badanych bakterii (optymalne pH dla większości bakterii wynosi około 7 [Madigan 2003]). Preparaty o niższym pH, tj. w granicach 4 (Sielanka, Yope) oraz 5 (Your Kaya i Facelle) miały niewielki wpływ na rozwój grzybów, ale hamowały rozwój bakterii. Należy jednak zauważyć, że zakres hamowania wzrostu bakterii był różny dla tych preparatów, co prawdopodobnie wynika z ich specyficznego składu chemicznego. Każdy z nich skutecznie ograniczał wzrost bakterii *B. cereus*, którego szczepy mogą kolonizować narządy rodne kobiet stosujących tampony lub kubeczki menstruacyjne [Chiaruzzi i in. 2020]. Efektywnie hamowały również namnażanie testowanych bakterii kwasu mlekowego (tab. 1, ryc. 2), co mogłoby być niepokojące, gdyby nie fakt, że nie są to mikroorganizmy rezydentne okolic intymnych. Bakterie wchodzące w skład preparatu Multilac są dedykowane do środowiska przewodu pokarmowego człowieka i różnią się cechami ilościowo-jakościowymi od bakterii zdolnych do kolonizacji kobiecych okolic intymnych, w tym pochwy i okolic odbytu, występujących w tych środowiskach naturalnie [Dębski i in. 2012, Pagan i in. 2021, Saraf i in. 2021]. Preparat Sielanka nie hamował wzrostu *S. aureus*, a w przypadku produktów Your Kaya i Facelle obserwowano brak lub niewielki wpływ na wzrost *E. coli*.

Podsumowanie i wnioski

Badania wykazały, że testowane płyny do higieny intymnej charakteryzowały się zróżnicowanym spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego. Oznaczone pH tych produktów wskazuje, że są one godne polecenia do codziennej pielęgnacji okolic intymnych. Odczyn czterech produktów mieścił się w przedziale pH zapewniającym homeostazę mikrobioty tych partii ciała. Natomiast produkt firmy Lactacyd, którego formuła zakłada

działanie przeciwwgrzybicze, charakteryzował się odczynem zasadowym (pH 8,31). Produkt ten odznaczał się najszerszym spektrum działania bakteriobójczego i grzybobójczego, bowiem zahamował wzrost większości testowanych bakterii (wyjątek stanowiła *E. coli*) oraz obydwu badanych grzybów. Pozostałe cztery testowane płyny do codziennej pielęgnacji okolic intymnych odznaczały się zróżnicowaną zdolnością hamowania wzrostu bakterii i niewielkim wpływem na rozwój grzybów.

Przeprowadzone badania, choć obejmujące niewielki ułamek szerokiej oferty płynów do higieny intymnej wskazują, że ich producenci mają na uwadze to, by były to preparaty o pH zgodnym z pH kobiecych okolic intymnych (choć nie zawsze informacja o wartości tego parametru znajduje się na opakowaniu) i szerokim spektrum biobójczego działania. W przypadku kosmetyków do specjalnych potrzeb ich składniki zapewniają działanie skierowane na określone mikroorganizmy. Produkty te mogą zatem efektywnie wspomagać kobiecą troskę o czystość i pielęgnację okolic intymnych.

Bibliografia

- Bochner K., 2024. Statista, PKO BP: Światowy rynek kosmetyków. Prognozy do 2028 roku, <https://www.wiadomoscikosmetyczne.pl/rynek-kosmetyczny/swiatowy-rynek-kosmetykow-prognozy-do-2028-roku-2501142> [dostęp: 17.03.2025]
- Carvalho M.J., Oliveira A.L.S., Santos Pedrosa S., Pinto M., Pinto-Ribeiro I., Madureira A.R., 2023. Skin Microbiota and the Cosmetic Industry. *Microb. Ecol.* 86(1), 86–96, <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02070-0>
- Chen Y., Bruning E., Rubino J., Eder S.E., 2017. Role of female intimate hygiene in vulvovaginal health: Global hygiene practices and product usage. *Womens Health (Lond.)*, 13(3), 58–67, <https://doi.org/10.1177/1745505717731011>
- Chen M., Pan X., Wu H., Han K., Xie X., Wedge D.E., Repka M.A., Wu C., 2011. Preparation and anti-bacterial properties of a temperature-sensitive gel containing silver nanoparticles. *Die Pharmazie – An International Journal of Pharmaceutical Sciences* 66(4), 272–277, <https://doi.org/10.1691/ph.2011.0158>
- Chiaruzzi M., Barbry A., Muggeo A., Tristan A., Jacquemond I., Badiou C., Cluzeau L., Bourdeau S., Durand T., Engelmann A., Bosquet D., Bes M., Prigent-Combaret C., Thioulouse J., Muller D., Lina G., 2020. Vaginal Tampon Colonization by *Staphylococcus aureus* in Healthy Women. *Appl. Environ. Microbiol.* 86(18), e01249-20, <https://doi.org/10.1128/AEM.01249-20>
- Dębski R., Heczko P.B., Jakimiuk A., Kotarski J., Paszkowski T., Poręba R., 2012. Opinia Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotycząca stosowania preparatów *inVag®*, *proVag®* i *proVag żel®* w ginekologii i położnictwie. *Ginekol. Pol.* 83(3), 233–236.
- Długosz J., Millan N., Sędek Ł., 2024. The influence of intimate hygiene on vaginal microbiota and health. *Post. Hig. Med. Dośw.* 78(1), 37–44, <https://doi.org/10.2478/ahem-2024-0003>
- Domagalska B.W., 2020. Kosmetyki do higieny intymnej. *Świat Przem. Kosm.* 1, 73–75.
- Fashemi B., Delaney M.L., Onderdonk A.B., Fichorova R.N., 2013. Effects of feminine hygiene products on the vaginal mucosal biome. *Microb. Ecol. Health Dis.* 24, 19703, <https://doi.org/10.3402/mehd.v24i0.19703>
- Fuchs A., Hassan S., Bienia S., Nieckula J., Cnota W., 2024. Kluczowa rola mikrobiomu a zapalenie pochwy. Dostępne na: <https://www.opiekaokoloporodowa.pl/artukul/kluczowa-rola-mikrobiomu-a-zapalenia-pochwy> [dostęp: 18.03.2025]

- Goderska K., Rychlik T., Andrzejewska E., Szkaradkiewicz A., Czarnecki Z., 2012. Antagonistyczny wpływ *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 na bakterie patogenne izolowane od ludzi. Żywn. Nauka Technol. Jakość 3(82), 114–131.
- Guglielminetti M.L., Benvenuti C., 2015. Antifungal activity of pH and plant extract active ingredients in feminine intimate cleansers. Global J. Microbiol. Res. 3(3), 150–154.
- Holdcroft A.M., Ireland D.J., Payne M.S., 2023. The vaginal microbiome in health and disease – what role do common intimate hygiene practices play? Microorganisms 11(2), 298, <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020298>.
- Hung K.J., Hudson P.L., Bergerat A., Hesham H., Choksi N., Mitchell C., 2020. Effect of commercial vaginal products on the growth of uropathogenic and commensal vaginal bacteria. Sci. Rep. 10(1), 7625, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63652-x>.
- Jezierska-Tys S., Frąc M., 2006. Mikrobiologia rolnicza: przewodnik do ćwiczeń. Wyd. Akademii Rolniczej, Lublin.
- Kosmetyczna Polska, 2024. Raport o stanie branży kosmetycznej Polskiego Związku Przemysłu Kosmetycznego i WiseEuropa – Warszawskiego Instytutu Studiów Ekonomicznych i Europejskich, Warszawa.
- Madigan M.T., 2003. Anoxygenic phototrophic bacteria from extreme environments. Photosyn. Res. 76, 157–171.
- Pagan L., Ederveen R.A.M., Huisman B.W., Schoones J.W., Zwittink R.D., Schuren F.H.J., Rissmann R., Pick J.M.J., van Poelgeest M.I.E., 2021. The human vulvar microbiome: a systematic review. Microorganisms 9(12), 2568, <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122568>
- Polski rynek kosmetyczny 2024 – eksport, trendy i prognozy do 2028 roku [Raport PKO BP]. Dostępne na: <https://przemyslkosmetyczny.pl/arttykul/polski-rynek-kosmetyczny-2024-eksport-trendy-i-prognozy-do-2028-roku-raport-pko-bp/> [dostęp: 2.04.2025]
- Pytka M., Kordowska-Wiater M., Jarocki P., 2019. Microbiome of the women's genital system. Adv. Microbiol. 58(3), 227–236, <https://doi.org/10.21307/PM-2019.58.3.227>.
- Saraf V.S., Sheikh S.A., Ahmad A., Gillevet P.M., Bokhari H., Javed S., 2021. Vaginal microbiome: normalcy vs dysbiosis. Arch. Microbiol. 203, 3793–3802, <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02414-3>.
- Skowron K., Grudlewska-Buda K., Wiktorczyk-Kapischke N., Wałęcka-Zacharska E., Kraszevska Z., Bernaciak Z., Kotlarek A., Budzyńska A., Gospodarek-Komkowska E., 2022. Effect of intimate hygiene fluids on the number of *Listeria monocytogenes* isolated from women. Med. Res. J. 7(1), 24–31, <https://doi.org/10.5603/MRJ.a2022.0005>.
- Ursynowska K., 2016. Przegląd wybranych kosmetyków dla kobiet w ciąży i po porodzie dostępnych w drogeriach. Kosmetol. Estet. 5(5), 451–457.
- Wasiela M., Pieczara A., Hanke W., Kalinka J., 2001. Porównanie częstości występowania bacterial vaginosis między I i III trymestrem ciąży. Ginekol. Prakt. 9, 111–114.

Badanie właściwości biobójczych oraz pomiar pH toników do twarzy

Study of biocidal properties and pH measurement of facial toners

Wstęp

Funkcjonujemy w świecie, w którym wygląd człowieka jest podstawą licznych ocen i uprzedzeń. Dla wielu z nas fizyczność jest interpretowana jako ucieleśnienie cech osobowości, stylu życia, wykonywanego zawodu oraz wartości i przekonań [Czernecka 2019]. Wszechobecne media dostarczają licznych wzorców ciała, jego prezencji i kształtowania fizycznej atrakcyjności oraz obowiązujących kanonów piękna i urody [Jakubowska 2009]. Priorytetem we wspieraniu codziennego wyglądu stały się kosmetyki, które są nie tylko artykułami podstawowej pielęgnacji, ale też m.in. sposobem na zwiększenie samooceny czy pewności siebie. Jednocześnie wraz z postępem technologii i wiedzą na temat potrzeb urody powstają kosmetyki, których zadaniem jest nie tylko poprawa wyglądu, ale także świadoma pielęgnacja skóry [Sadsyam i in. 2023].

Rynek kosmetyków pielęgnacyjnych tak na świecie, jak i w Polsce jest zróżnicowany pod względem struktury asortymentowej [Berg i in. 2023, Polski Związek Przemysłu Kosmetycznego 2024]. Ich nabywcy mają do wyboru kremy do pielęgnacji twarzy, oczu, toniki, peelingi, maseczki, żele do mycia twarzy, płyny do demakijażu, a także kosmetyki do pielęgnacji ciała: kremy do rąk, stóp, balsamy oraz peelingi [Stewart 2011]. W 2022 r. światowy rynek kosmetyczny wygenerował ok. 430 mld dolarów przychodu i oczekuje się, że osiągnie ok. 580 mld dolarów do 2027 r. [Berg i in. 2023].

Jednym z kluczowych produktów codziennej kosmetycznej rutyny jest tonik do twarzy, którego stosowanie może przynieść liczne korzyści dla skóry. Toniki do twarzy to płynne formuły stosowane do odświeżania i oczyszczania twarzy, a także równoważe-

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Studenckie Koło Naukowe Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Sekcja Ekologicznej Produkcji Żywności, w.rolkowska@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobioinżynierii, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej

³ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła

nia pH skóry, która ma tendencję do przyjmowania odczynu zasadowego po zastosowaniu kosmetyków do demakijażu i mycia [Sadsyam i in. 2023, Nasikin i in. 2024]. Zazwyczaj zawierają różne naturalne składniki. W przypadku normalnych typów skóry tonik zawiera środki nawilżające, które przywracają nawilżenie po zastosowaniu środków do mycia twarzy. Etanol w składzie toniku może służyć jako rozpuszczalnik, środek konserwujący i środek przeciwdrobnoustrojowy. Pomaga w rozpuszczaniu składników aktywnych lub substancji nierozpuszczalnych w wodzie. Tonik polecany jest zazwyczaj osobom o cerze normalnej lub tłustej. Stężenie etanolu stosowanego do skóry normalnej jest ograniczone do nie więcej niż 10%, gdyż zapewnia to pożądaną efekt terapeutyczny [Febriyanti i in. 2024]. Ważnymi składnikami toników są olejki eteryczne, przeciwutleniające, witaminy i ekstrakty roślinne [Anurukvorakun i Numnim 2023]. Obecnie toniki są uzupełniane o składniki o funkcjach innych niż oczyszczanie twarzy, takie jak łagodzące podrażnienia, działające antyseptycznie, czy zwężające pory skóry.

Podstawową funkcją toników jest ochrona skóry po oczyszczeniu, ponieważ są w stanie przywrócić jej pH do naturalnego poziomu [Nasikin i in. 2024]. Naturalne pH skóry twarzy wynosi między 4,5 a 5,75. To pozwala zachować lub odbudować barierę hydrolipidową, dzięki której skóra może być zasiedlana tylko przez określone gatunki drobnoustrojów, a co za tym idzie utrzymać jej zdrowy wygląd. Uszkodzona bariera hydrolipidowa nie pełni należycie swojej funkcji, co predysponuje do rozwoju stanów zapalnych i pogorszenia kondycji skóry [Bárány i in. 2000, Passeron i in. 2020, Kur i Janowska 2022]. Wpływ na pH skóry mają stosowane środki pielęgnacyjne, mydła, detergenty, opatrunki okluzyjne, a także preparaty antybakteryjne. Kosmetyki, zwłaszcza te o silnych właściwościach oczyszczających i antybakteryjnych, mogą powodować dysbiozę, czyli zakłócenie naturalnej równowagi mikrobiomu skóry [Pawłowska i Hudemowicz 2024]. Takimi kosmetykami są żele, płyny do mycia twarzy, a także peelingi. Zmienione wartości pH obserwuje się także w przypadkach współistnienia innych chorób ogólnych i dermatoz [Kmieć 2016].

Mając na uwadze to, że w skład toników do twarzy wchodzi alkohol (głównie jako konserwanty i rozpuszczalniki substancji biologicznie aktywnych pochodzących z materiału roślinnego) zbadano potencjał przeciwdrobnoustrojowy pięciu toników do twarzy. W ramach prezentowanych badań oznaczono także ich odczyn (pH).

Material i metody

Do badań wybrano 5 toników do twarzy przeznaczonych do różnych rodzajów skóry/cery dostępnych w drogeriach stacjonarnych. W tabeli 1 zamieszczono ich charakterystykę z uwzględnieniem przeznaczenia, deklarowanego przez producenta działania oraz składu INCI. Zakupione toniki do czasu przeprowadzenia badań przechowywano w nieotwartych opakowaniach.

Tabela 1. Charakterystyka toników wybranych do badań [oprac. wł. na podst. informacji zamieszczonych na opakowaniach oraz na stronach internetowych drogerii Rossmann, Hebe i Natura]

Nazwa	Przeznaczenie	Działanie (według deklaracji producenta)	Skład INCI
Apis Vitamin C Flow	cera z przebarwieniami	odświeżenie, rozświetlenie, wsparcie mikrobiomu, regeneracja, zdrowy koloryt skóry	Aqua, Glycerin, Citrus Aurantium Dulcis Fruit Water, Sodium Hyaluronate, D-panthenol, Magnesium Ascorbyl Phosphate, Pyrus Cydonia Seed Extract, Calendula Officinalis Meristem Cell Culture, Cocamidopropyl Betaine, Phenoxyethanol, Caprylyl Glycol, PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Parfum
Solverx Sensitive Skin	Skóra wrażliwa	nawilżanie, przeciwzapalne, łagodzący podrażnienia, przyspiesza odnowę naskórka	Aqua, Polysorbate 20, Benzyl Alcohol, Panthenol, Glycyrrhiza Glabra Root Extract, Achillea Millefolium Extract, Polyglyceryl-4-Caprate, Lactobionic Acid, Disodium EDTA, Hyaluronic Acid, Allatoin, Dehydroacetic Acid, Parfum
Ziaja tonik ogórek	cera normalna, tłusta i mieszana	odświeżanie, nawilżanie, tonizowanie, oczyszczanie, wygładzenie, odświeżenie/ bez alkoholu, pH naturalne	Aqua (Water), Propylene Glycol, Cucumis Sativus (Cucumber) Fruit Extract, Panthenol, PPG-26-Buteth-26, PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Phenoxyethanol, Ethylhexylglycerin, Parfum (Fragrance), Amyl Cinnamal, Linalool, Linalyl Acetate, Citric Acid
Face-Boom Izo tonik w piance z ultrastabilną witaminą C	dla każdego typu skóry, w tym problematycznej	normalizujący, tonizujący, kojący, nawilżający, przywraca równowagę, szybko rewitalizuje, odświeża cerę	Aqua (Water), Propanediol, Glycerin, Glyceryl Glucoside, Prunus Persica (Peach) Flower Extract, Zinc PCA, Sodium Hyaluronate, Hyaluronic Acid, Butylene Glycol, Mineral Salts, Polyglutamic Acid, Sodium PCA, 3-O-Ethyl Ascorbic Acid, Caprylyl/Capryl Glucoside, Sodium Phytate, Citric Acid, 1,2-Hexanediol, Benzyl Alcohol, Sodium Benzoate, Potassium Sorbate, Parfum (Fragrance), Citrus Aurantium Bergamia (Bergamot) Peel Oil, Limonene, Linalool, Hexyl Cinnamal, Benzyl Salicylate
Isana Tonik pielęgnacyjny	skóra normalna i mieszana	reguluje, odświeża, odżywia pH neutralne	Aqua, Alcohol Denat., Glycerin, Decyl Glucoside, Aloe Barbadensis Leaf Juice, Allantoin, Cucumis Sativus Fruit Extract, Caprylyl/Capryl Glucoside, Parfum, Butylene Glycol, Citric Acid, Disodium EDTA

Badania mikrobiologiczne zostały wykonane metodą dyfuzyjno-krażkową. W teście oceniano wrażliwość następujących mikroorganizmów: bakterii Gram-ujemnych (*E. coli* ATCC 11303), Gram-dodatnich (*Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 12598), bakterii kwasu mlekowego, które naturalnie występują w ludzkim przewodzie pokarmowym (w formie synbiotyku zawierającego 9 szczepów bakterii: *Lactococcus*

lactis LI-23, *Lactobacillus plantarum* LP-115, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus* ST-21, *Bifidobacterium breve* BB-03, *Lactobacillus casei* Lc-11, *Bifidobacterium bifidum* Bb-02, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* oraz *Lactobacillus acidophilus* LA-14), drożdżaków (*Candida tropicalis*) i drożdży (*Saccharomyces cerevisiae* BY4741 o genotypie Mat a his3 Δ11eu 2 Δ0met15 Δ0ura3 Δ0). Wykorzystane w badaniach mikroorganizmy pochodziły z kolekcji Katedry Mikrobiologii Środowiskowej oraz Katedry Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności UP w Lublinie. Bakterie kwasu mlekowego zakupiono w formie synbiotyku firmy „Multilac”.

Inokula przygotowano przez zawieszenie mikroorganizmów pochodzących z młodych, 24-godzinnych hodowli płynnych w buforze fosforanowym (PBS), tak aby uzyskać zawiesinę o gęstości około 10^6 jtk/ml w przypadku drożdży/drożdżaków i ok. 10^8 jtk/ml w przypadku bakterii (co odpowiada 0,5 w skali McF). Mikroorganizmy wysiano metodą wgłębną, polegającą na wymieszaniu 1000 μL zawiesiny komórek z ostudzoną do temp. 45-48°C pożywką. W cieście zastosowano następujące pożywki: Mueller-Hinton agar (MHA) dla *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, MRS dla bakterii kwasu mlekowego oraz pożywkę YPD o składzie: ekstrakt drożdżowy 1%, pepton 1%, glukoza 2%, agar 2% dla drożdżaków i drożdży (*C. tropicalis* i *S. cerevisiae*). W zestalonej, zaszczerpionej pożywce wycięto, za pomocą sterylnej korkobora, cztery studzienki o średnicy 5 mm. Do poszczególnych studzienek dodano odpowiednio po 5, 10, 15 i 20 μL badanych preparatów kosmetycznych. Na środku każdej szalki z zaaplikowanym tonikiem wyłożono krążek ze standardowym antybiotykiem (Biomaxima, Lublin, Poland) jako kontrolę pozytywną testu. W przypadku bakterii zastosowano krążki ze streptomycyną (300 μg), a dla grzybów – z nystatyną (100 IU). Szalki z hodowlami bakterii były inkubowane w cieplarni w temperaturze 35°C – *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* przez 24 godziny, a bakterie kwasu mlekowego przez 48 godzin. Grzyby *C. tropicalis* i *S. cerevisiae* inkubowano w temperaturze 28°C przez 3 doby. Po inkubacji zmierzono strefy zahamowania wzrostu wokół studzienek i krążków antybiotykowych. Badania wykonano w dwóch powtórzeniach, a wyniki przedstawiono jako średnie z dwóch pomiarów (zaokrąglone do pełnych milimetrów).

Zmierzono także pH testowanych toników przy pomocy pehametru CP-505 firmy Elmetron.

Wyniki przedstawiono w tabelach i na zdjęciach, które są reprezentatywne dla obu przeprowadzonych doświadczeń.

Wyniki i dyskusja

Z przeprowadzonych badań wynika, że cztery toniki: Ziaja, Solverx, FaceBoom oraz Apis nie wpływały na wzrost testowanych mikroorganizmów, natomiast tonik Isana hamował (proporcjonalnie do zastosowanej dawki) wzrost bakterii *B. cereus*, *S. aureus*, bakterii kwasu mlekowego oraz drożdżaków *Candida* (tab. 2, ryc. 1). W związku z tym, że żaden z producentów nie deklarował właściwości przeciwdrobnoustrojowych tych preparatów był to wynik dość niespodziewany. Takiego efektu można było w większym

Tabela 2. Wymiary średnic stref zahamowania wzrostu (w mm) dla badanych bakterii i grzybów spowodowanych działaniem testowanych toników

Produkt	Objętość preparatu w studzience (μL)	Średnica stref zahamowania wzrostu (mm)					
		<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	Bakterie kwasu mlekowego	<i>C. tropicalis</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Ziaja	5	5	5	5	5	5	5
	10	5	5	5	5	5	5
	15	5	5	5	5	5	5
	20	5	5	5	5	5*	5
	A	13	15	18	17	20	24
Solverx	5	5	5	5	5	5	5
	10	5	5	5	5	5	5
	15	5	5	5	5	5	5
	20	5	5	5	5	5	5
	A	15	16	17	18	15	22
Isana	5	5	12	9	11	10	5
	10	5	15	9	12	11	5
	15	5	17	11	13	13	5
	20	5	19	12	14	14	5
	A	21	26	21	15	19	26
FaceBoom	5	5	5	5	5	5	5
	10	5	5	5	5	5	5
	15	5	5	5	5	5	5
	20	5	5	5	5	5	5
	A	24	26	25	26	16	23
Apis	2,5	5	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5	5
	7,5	5	5	5	5	5	5
	10	5	5	5	5	5	5
	A	23	25	24	22	14	23

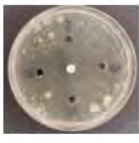
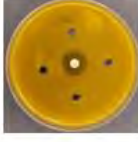
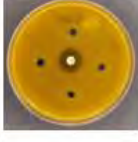
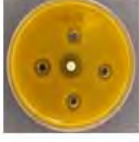
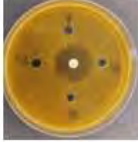
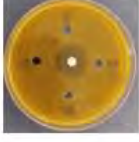
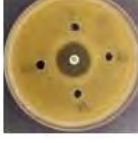
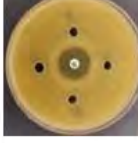
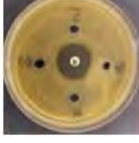
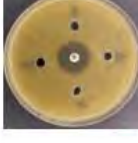
Objaśnienia: A – antybiotyk; * brak wyraźnej strefy zahamowania wzrostu, ale widoczny słabszy wzrost mikrokolonii wokół studzienki

stopniu oczekiwać od produktu firmy FaceBoom, który według zamieszczonej przez producenta informacji miał być odpowiedni także dla cery problematycznej, czyli skłonnej do podrażnień oraz bardziej podatnej na infekcje.

Badane kosmetyki miały m.in. nawilżać (Ziaja, Solverx, FaceBoom), tonizować (Ziaja, FaceBoom), odświeżać skórę (Apis, Ziaja, FaceBoom, Isana), łagodzić i koić podrażnienia (Solverx, FaceBoom) oraz, co najważniejsze, wspierać mikrobiom poprzez wyrównywanie pH skóry (tab. 1). Ponadto miały także dodatkowe działanie w zależności od składu (np. Apis przez zawartość witaminy C miał rozjaśniać, a tonik Ziaja dzięki zawartości ekstraktu z miąższu ogórka miał wygładzać skórę twarzy). Codzienna pielęgnacja skóry przy użyciu środków myjących i tonizujących jest ważnym elementem zachowania równowagi jej mikrobiomu [Carvalho i in. 2023]. Mikrobiom wspiera skórę w utrzymaniu właściwego pH, co odgrywa kluczową rolę dla jej właściwych funkcji. Zaburzenie równowagi w składzie ilościowym i jakościowym mikrobiomu przyczynia się do obniżenia funkcji barierowych skóry oraz do rozwoju chorób skórnych [Lambers i in. 2006, Adamczyk i in. 2018, Carvalho i in. 2023].

Tonik Isana najsilniej hamował wzrost *B. cereus*, bowiem strefa zahamowania wzrostu tych bakterii wynosiła (po zastosowaniu go w największej objętości, tj. 20 µl) 19 mm (tab. 2, ryc. 1). Bakterie z rodzaju *Bacillus* występują powszechnie w glebie i powietrzu, skąd bez trudu przenoszą się do różnych produktów spożywczych. Są one głównie przyczyną zatruc pokarmowych chociaż w literaturze przedmiotu znane są przypadki zakażenia skóry tym patogenem w wyniku skaleczeń kamieniami, cierniami i ukąszeniami owadów [Pitt i in. 2014].

Oddziaływanie produktu Isana na bakterie kwasu mlekowego i *C. tropicalis* było zdecydowanie słabsze, a strefa zahamowania wzrostu w obu przypadkach wynosiła 14 mm. Jeszcze mniejszą skuteczność w hamowaniu wzrostu tonik ten wykazywał w stosunku do *S. aureus*, gdzie średnica strefy zahamowania wzrostu przy najwyższej dawce tego produktu wynosiła 12 mm. Jak podają Lambers i in. [2006] *S. aureus* jest typowym przykładem potencjalnie patogennych mikroorganizmów tzw. przejściowych (tymczasowo przebywają na skórze, nie są zdolne do namnażania się i przebywania przez dłuższy czas na jej powierzchni). Zaburzenia w równowadze ekologicznej środowiska człowieka oraz obniżenie naturalnej odporności populacji stwarzają niebezpieczeństwo zakażeń nie tylko ze strony drobnoustrojów chorobotwórczych, ale także oportunistycznych [Półtoranos i Czuba 2020]. Gong i in. [2006] podają, że *S. aureus* ma szczególną zdolność kolonizowania skóry pacjentów z egzemą i atopowym zapaleniem skóry [Gong i in. 2006, Blanchet-Réthoré i in. 2017]. Według Różalskiej i in. [2013] w większości statystyk epidemiologicznych analizujących zakażenia ran, w tym typu SSI (ang. *surgical site infections*) zaznacza się przeważający udział *S. aureus* i innych bakterii.

	Ziaja	Solverx	Isana	FaceBoom	Apis
<i>E. coli</i>					
<i>B. cereus</i>					
<i>S. aureus</i>					
Bakterie mlekowe					
<i>C. tropicalis</i>					
<i>S. cerevisiae</i>					

Ryc. 1. Zdjęcia stref zahamowania wzrostu badanych mikroorganizmów indukowanych przez testowane toniki

Z tabeli 3 wynika, że pH badanych toników oscylowało w granicach 5,18–6,11, co jest odpowiednie dla skóry twarzy. Najniższe pH miał produkt Isana, a najwyższe – tonik Solverx. Kosmetyki FaceBoom, Apis i Ziaja charakteryzowały się zbliżonymi wartościami pH.

Tabela 3. Wyniki pomiarów pH testowanych toników

Produkt	Ziaja	Solverx	Isana	FaceBoom	Apis
Wartość pH	5,56	6,11	5,18	5,36	5,47

Zastosowanie toników do twarzy stanowi ważny etap w pielęgnacji skóry twarzy. Stosuje się je zwykle po oczyszczeniu twarzy, a przed nałożeniem odpowiedniego kremu. Mają one za zadanie usunąć pozostałości środka użytego do mycia lub demakijażu, przywrócić naturalne pH skóry, a także usunąć zanieczyszczenia hydrofobowe (nadmiar łoju – sebum), złuszczoną warstwę zrogowaciałą naskórka oraz – jak podają niektórzy autorzy – nadmiar mikroorganizmów [Panda i Dasch 2024]. Ponadto toniki zawierające wyciągi roślinne mogą działać nawilżająco i ściągająco. Zamykając pory skóry, normalizują ilość wydzielanego łoju [Anurukvorakun i Numnim 2023]. Uzyskane przez nas wyniki wskazują, że większość toników nie wykazuje właściwości przeciwdrobnoustrojowych nawet podczas długotrwałego oddziaływania na mikroorganizmy (jak w warunkach naszego doświadczenia). Tym bardziej mało prawdopodobne są tego typu efekty po krótkotrwałej aplikacji tego preparatu na skórę twarzy (co ma miejsce podczas rutynowego użycia toniku). Jednak jeden z badanych przez nas produktów kosmetycznych z tej kategorii wykazywał szerokie spektrum właściwości przeciwbakteryjnych oraz silne, ale wybiórcze, właściwości przeciwrzybicze. Hamował on wzrost drożdżaków *Candida tropicalis*, ale był zupełnie obojętny dla drożdży *S. cerevisiae*. Trudno efekty te wiązać tylko z niskim pH tego produktu, gdyż inne badane preparaty miały pH w podobnym zakresie, a nie wykazywały takich właściwości biologicznych. Być może są one wynikiem obecności alkoholu denaturowanego, który jest wymieniany na drugiej pozycji w składzie tego preparatu co sugeruje, że ma on duży udział procentowy w tym produkcie. O właściwościach przeciwdrobnoustrojowych toników donoszą także inni autorzy. Panda i Dasch [2024] stwierdzili, że jeden z 9 badanych przez nich toników wykazywał silne właściwości bakteriobójcze względem izolatów bakterii skórnych. Dane te sugerują, że składniki toników mogą oddziaływać na naturalne zespoły mikroorganizmów skóry twarzy, co może prowadzić do zachwiania równowagi mikrobiologicznej w tym środowisku i skutkować różnego typu problemami skórnymi [Mim i in. 2024].

Podsumowanie

Z przeprowadzonych badań wynika, że testowane toniki to doskonałe środki równoważące pH skóry twarzy i w większości nie wykazują biobójczego działania wobec wybranych gatunków mikroorganizmów testowych, co może wskazywać na brak negatywnego oddziaływania na mikrobiom skóry. Jednakże ich skład i wynikające z niego właściwości powinny być ściślej monitorowane w celu określenia poziomu ich bezpie-

czeństwa w stosunku do mikroorganizmów wzorcowych oraz mikroorganizmów typowych dla skóry ludzkiej twarzy. Potencjalne efekty przeciwdrobnoustrojowe powinny być przez producentów tych preparatów wyraźnie wskazywane w charakterystyce produktu.

Bibliografia

- Adameczyk K., Garnarczyk A.A., Antończak P.P., 2018. Mikrobiom skóry. *Dermatol. Rev.* 105, 285–297, <https://doi.org/10.5114/dr.2018.75584>.
- Anurukvorakun O., Numnim S., 2023. Development and clinical efficacy evaluation of facial toner containing *Houttuynia cordata* Thunb. *Cosmetics* 10(5), 133, <https://doi.org/10.3390/cosmetics10050133>.
- Bárány E., Lindberg M., Lodén M., 2000. Unexpected skin barrier influence from nonionic emulsifiers. *Int. J. Pharm.* 195(1–2), 189–195, [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(99\)00388-9](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(99)00388-9).
- Berg A., Hudson S., Klitsch K., Lesko M., Amed P.I., 2023. The beauty market in 2023: A special state of fashion report. McKinsey & Company. Dostępne na: <https://www.mckinsey.com/industries/retail/our-insights/the-beauty-market-in-2023-a-special-state-of-fashion-report#/> [dostęp: 23.03.2025].
- Blanchet-Réthoré S., Bourdès V., Mercenier A., Haddad C.H., Verhoeven P.O., Andres P., 2017. Effect of a lotion containing the heat-treated probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 on *Staphylococcus aureus* colonization in atopic dermatitis. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 10, 249–257, <https://doi.org/10.2147/CCID.S135529>.
- Carvalho M.J., Oliveira A.L.S., Santos Pedrosa S., Pinto M., Pinto-Ribeiro I., Madureira A.R., 2023. Skin Microbiota and the Cosmetic Industry. *Microb. Ecol.* 86(1), 86–96, <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02070-0>.
- Czernecka J., 2019. The positive and negative impact of appearance on various spheres of life—the opinions of women and men of different ages. *Acta Univ. Lodz. Folia Sociol.* 70, 85–102, <http://dx.doi.org/10.18778/0208-600X.70.06>.
- Febriyanti W.E., Kristiningrum N., Wulandari L., 2024. The determination of ethanol levels in facial freshener using the NIR spectroscopy and chemometric method. *Braz. J. Anal. Chem* 11(42), 33–40, <http://dx.doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.AR-96-2022>.
- Gong J.Q., Lin L., Lin T., Hao F., Zeng F.Q., Bi Z.G., Yi D., Zhao B., 2006. Skin colonization by *Staphylococcus aureus* in patients with eczema and atopic dermatitis and relevant combined topical therapy: a double-blind multicentre randomized controlled trial. *Br. J. Derm.* 155(4), 680–687, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2006.07410.x>.
- Jakubowska H., 2009. Rozwój społeczeństwa konsumpcyjnego. W: E. Piechorowska (red.), *Socjologia ciała*. Wyd. Nauk. UAM, Poznań, 32–42.
- Kmieć M.L., 2016. Znaczenie pomiarów parametrów czynnościowych skóry w ocenie funkcji bariery naskórkowej. *J. Health Stud. Med.* 2, 23–50.
- Kur K., Jankowska B., 2022. Wiedza klientów gabinetów kosmetycznych na temat błędów w pielęgnacji skóry twarzy. W: B. Jankowiak, E. Krajewska-Kułak (red.), *Holistyczny wymiar opieki wobec osób z chorobami skóry i błon śluzowych*. Tom I. Wyd. Uniwersytetu Medycznego, Białystok, 173–190.
- Lambers H., Piessens S., Bloem A., Pronk H., Finkel P., 2006. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int. J. Cosmet. Sci.* 28(5), 359–370, <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.2006.00344.x>.

- Mim M.F., Sikder M.H., Chowdhury M.Z.H., Bhuiyan A.U.A., Zinan N., Islam S.M.N., 2024. The dynamic relationship between skin microbiomes and personal care products: a comprehensive review. *Heliyon* 10(14), e34549, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024>.
- Nasikin M.A., Ridlo A., Rakhmayanti R.D., Hapsari A.N., 2024. Formulation and testing of antibacterial activity of facial toner preparations chinese belt leaf extract (*Peperomia pellucida* L. Kunth) against the bacteria *Propionibacterium acnes*. *J. Local Ther.* 3(2), 50–61.
- Passeron T., Krutmann J., Andersen M.L., Katta R., Zouboulis C.C., 2020. Clinical and biological impact of the exposome on the skin. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 34, 4–25, <https://doi.org/10.1111/jdv.16614>.
- Pawłowska M., Hudemowicz P., 2024. Wpływ kosmetyków i leków dermatologicznych na mikrobiom skóry, czyli jak farmaceuci mogą wspierać zdrowie skóry pacjentów. *Lek Pol.* 34(401), 36–40.
- Pitt T.L., McClure J., Parker M.D., Amezcua A., McClure P.J., 2015. *Bacillus cereus* in personal care products: risk to consumers. *Internat. J. Cosm. Sci.* 37(2), 165–174.
- Polski Związek Przemysłu Kosmetycznego, 2024. Kosmetyczna Polska. Raport o stanie branży kosmetycznej Polskiego Związku Przemysłu Kosmetycznego i WiseEuropa – Warszawskiego Instytutu Studiów Ekonomicznych i Europejskich. Warszawa.
- Półtoranos F., Czuba K., 2015. Badania mikrobiologiczne preparatów leczniczych i kosmetyków. *LAB* 20(2), 21–28.
- Różalska B., Micota B., Budzyńska A., Sadowska B., 2013. Biofilmowy mikrobiom skóry w zdrowiu i chorobie. Aspekty badawcze z zakresu inżynierii tkankowej. *For. Zakażeń* 4(2), 105–110.
- Sadsyam S., Auliah N., Uko W.O.W.A., Basir N., Utari A.U., 2023. Antioxidant evaluation of facial toner formulations containing ethyl acetate fraction from *Garcinia mangostana* L. Fruit using ABTS 2, 2'-azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulphonic acid method. *J. Health Sci. Med. Develop.* 2(02), 94–105.
- Panda S., Dash S.S., 2024. Impact of toners on face microbiota: a pilot study. *EAS J. Pharm. Pharmacol.* 6(4), 177–181, <https://doi.org/10.36349/easjpp.2024.v06i04.005>.
- Stewart A., 2011. Segmentacja jako podstawa identyfikacji konkurencyjności kosmetyków pielęgnacyjnych do twarzy i ciała. *Stud. Pr. Kol. Zarz. Fin.* 110, 175–192.

Świadomość konsumentów w obszarze żywności funkcjonalnej w badaniach własnych

Consumer awareness in the area of functional food in own research

Wstęp

Żywność funkcjonalna to rodzaj żywności, która została zmodyfikowana, udoskonalona oraz wzbogacona o dodatkowe składniki. Mogą to być zarówno produkty naturalne, jak i przetworzone, zawierające biologicznie czynne związki oddziałujące korzystnie na zdrowie człowieka. W odpowiednio dobranych, skutecznych i bezpiecznych dawkach wykazują one udokumentowane klinicznie działanie prozdrowotne. Produkty tego typu generują szereg korzyści: wspierają prawidłowe funkcjonowanie organizmu, mogą zmniejszać ryzyko występowania chorób przewlekłych i wirusowych oraz łagodzić ich objawy, wykorzystując specyficzne biomarkery [Matrosyan i in. 2022]. Głównym celem żywności funkcjonalnej jest więc poprawa stanu zdrowia, samopoczucia i/lub zmniejszenie ryzyka wystąpienia chorób.

Żywność funkcjonalna powinna mieć cechy sensoryczne tradycyjnej żywności, nie może być ona proszkiem, tabletką itp. [Kubiński 2010]. Zgodnie z definicją stworzoną przez Europejski Konsensus Naukowej Koncepcji Żywności Funkcjonalnej, musi się ona charakteryzować następującymi cechami [Olędzka 2007]:

- pozostaje żywnością konwencjonalną, a więc należą do niej produkty spożywcze przeznaczone do ogólnego, codziennego stosowania jako część normalnej diety,
- oprócz naturalnych składników ma zawierać zwiększone stężenie składnika lub składników aktywnych, które nie jest zawarte w danym środku spożywczym lub posiada go tylko w nieznacznej ilości,
- posiada pozytywne oddziaływanie na stan zdrowia organizmu, które zostało udokumentowane naukowo i wynika ze spożycia takiej żywności w ilościach określanych dla danego środka spożywczego,
- polepsza ogólny stan zdrowia i samopoczucia,
- ma odpowiednie oświadczenia żywieniowe i zdrowotne oparte na badaniach naukowych z zastosowaniem odpowiednich wskaźników, charakterystycznych dla określonego typu przemian metabolicznych.

Według Unii Europejskiej przymiotnik „funkcjonalna” można stosować do żywności, jeśli wykazuje ona korzystne oddziaływanie na organizm, zarówno w sposób prosty,

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Inżynierii Produkcji, Studenckie Koło Naukowe Zarządzania i Ekonomii, wiktoria.stoma@wp.pl

jak i bardziej złożony, przyczyniając się do utrzymania dobrego stanu zdrowia, poprawy samopoczucia oraz/lub redukcji ryzyka rozwoju chorób [Świdorski i Kolanowski 2003].

Przemysłowe wytwarzanie żywności prozdrowotnej otwiera wiele możliwości zarówno dla producentów, jak i konsumentów. Dzięki temu procesowi możliwe jest bowiem [Rutkowski 1999]:

- dostarczanie konsumentom przez cały rok produktów o stałej i gwarantowanej aktywności biologicznej, niezależnie od sezonu,
- tworzenie innowacyjnych produktów, których atrakcyjność na rynku wzrasta dzięki podkreśleniu korzyści zdrowotnych,
- rozwój chłonnego i dochodowego rynku zbytu,
- zapewnienie placówkom badawczym finansowania na dalsze badania i rozwój nowych technologii w zakresie żywności funkcjonalnej.

W literaturze żywność funkcjonalną dzieli się na dwie główne grupy: ze względu na specyficzny skład oraz ze względu na zaspokajanie określonych potrzeb organizmu. Do pierwszej grupy zaliczyć można: żywność wzbogaconą, niskoenergetyczną, wysokobłonnikową, probiotyczną, o obniżonej zawartości sodu oraz cholesterolu [Piesiewicz 2008].

Z kolei ze względu na zaspokajanie potrzeb organizmu, można wyróżnić takie produkty jak [Błaszczak i Grześkiewicz 2014]:

- zmniejszające ryzyko chorób układu krążenia,
- redukujące ryzyko rozwoju nowotworów,
- wspomagające profilaktykę osteoporozy,
- przeznaczone dla osób narażonych na nadmierny stres,
- dietetyczne, dedykowane osobom z zaburzeniami metabolizmu i trawienia,
- stworzone specjalnie dla niemowląt,
- przeznaczone dla sportowców,
- dostosowane do potrzeb osób starszych,
- wspierające zdrowie kobiet w ciąży i karmiących piersią.

Do najczęściej spotykanych przykładów żywności funkcjonalnej zalicza się m.in. jogurty, tłuszcze do smarowania oraz oleje sałatkowe wzbogacane w nienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 i omega-6. Składniki te nie tylko wspomagają obniżenie poziomu cholesterolu we krwi, lecz także korzystnie wpływają na pracę układu nerwowego, działając przeciwzapalnie i przeciwdepresyjnie. Równie istotną grupę stanowią margaryny oraz sery topione, zawierające sterole i stanole roślinne, których regularne spożycie może przyczyniać się do redukcji ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Powszechnie stosowane są również płatki śniadaniowe wzbogacane kwasem foliowym, który odgrywa kluczową rolę w profilaktyce wad cewy nerwowej u noworodków. W codziennej diecie ważnym elementem są ponadto produkty zawierające błonnik pokarmowy (na przykład pieczywo czy ciastka), wspierające prawidłowe działanie układu pokarmowego. Warto również wspomnieć o obecnych w warzywach i owocach związkach fitochemicznych, takich jak flawonoidy i antocyjany, które pełnią funkcję ochronną organizmu i przeciwdziałają rozwojowi różnych chorób [Makała 2018].

Żywność funkcjonalna to dynamicznie rozwijająca się kategoria produktów spożywczych w Polsce. Jej rozwój może przynieść istotne korzyści dla gospodarki, stając się

kluczowym elementem szybkiego wzrostu gospodarczego, a nawet strategiczną specjalizacją Polski [Siemaszko 2024].

Zgodnie z danymi z 2016 r., wartość rynku żywności funkcjonalnej w Europie osiągnęła 117 miliardów EUR, co odpowiada ok. 545 miliardom złotych. W Polsce wartość tego rynku w tym samym roku wyniosła 16 miliardów złotych. W porównaniu do roku 2012, kiedy to wartość rynku wynosiła zaledwie 5,6 miliarda złotych, widoczny jest znaczący wzrost zainteresowania tymi produktami [Górecka i Jędrusek-Golińska 2019].

Należy jednak zachować szczególną ostrożność, aby pojęcie żywności funkcjonalnej, które odgrywa kluczową rolę w poprawie zdrowia publicznego, nie stało się jedynie chwytem reklamowym. Wykorzystywanie go w niewłaściwy sposób może doprowadzić do poważnej dyskredytacji całej idei żywności funkcjonalnej. Nadużywanie tego terminu w celach marketingowych, bez odpowiednich dowodów naukowych na korzyści zdrowotne, może nie tylko wprowadzać konsumentów w błąd, ale również podważyć zaufanie do tej kategorii produktów [Kubiński 2010].

Biorąc powyższe pod uwagę, celem niniejszej pracy jest zbadanie i ocena stanu wiedzy o żywności funkcjonalnej, a także analiza jej postrzegania przez współczesnych konsumentów.

Materiały i metody

Aby zrealizować postawiony cel, przeprowadzono badania własne z wykorzystaniem metody sondażu diagnostycznego. Zastosowane narzędzie pomiarowe w postaci autorskiej ankiety badawczej zawierało pytania zamknięte, zarówno jednokrotnego, jak i wielokrotnego wyboru, dotyczące szeroko rozumianych aspektów postrzegania żywności funkcjonalnej przez konsumentów. Ankieta zawierała również metryczkę z pytaniami pozwalającymi na charakterystykę społeczno-demograficzną konsumentów, takimi jak: wiek, płeć, miejsce zamieszkania, wykształcenie oraz status zawodowy.

Próbę badawczą stanowiło 110 osób – konsumentów pochodzących głównie z województwa lubelskiego. Ankieta miała charakter anonimowy, a ankietowali byli informowani o jej celu, zakresie i sposobach wykorzystania wyników.

Kwestionariusz ankietowy był dystrybuowany z wykorzystaniem Internetu, za pomocą narzędzia Google Forms, a otrzymane wyniki poddano analizie i interpretacji w formie graficznej oraz opisowej.

Analiza wyników

Jak już wspomniano, w badaniu wzięło udział 110 respondentów, spośród których większość stanowiły kobiety. Taki wynik może świadczyć o częstszym zainteresowaniu kobiet tematyką zdrowego żywienia oraz ich większej skłonności do udziału w badaniach o charakterze prozdrowotnym. Najlicniejszą grupą ankietowanych były osoby młode, w wieku 18–25 lat, co można wiązać zarówno z metodą dystrybucji ankiety (online), jak

i z większą aktywnością tej grupy wiekowej w przestrzeni internetowej. W tabeli 1 została przedstawiona charakterystyka badanych osób.

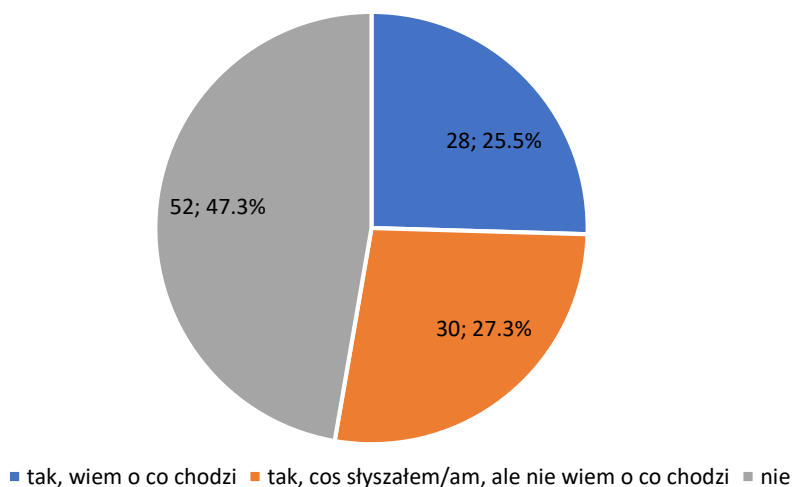
Tabela 1. Charakterystyka respondentów

Kategoria		Liczba respondentów	Procent ogółu
Płeć	Kobiety	69	62,7%
	Mężczyźni	41	37,3%
Wiek	18–25	45	40,9%
	26–40	32	29,1%
	41–60	25	22,7%
	60<	8	7,3%
Miejsce zamieszkania	Wieś	21	19,1%
	Miasto do 20 tys. mieszkańców	6	5,5%
	Miasto od 20 do 100 tys. mieszkańców	8	7,3%
	Miasto od 100 do 300 tys. mieszkańców	16	14,5%
	Miasto powyżej 300 tys. mieszkańców	59	53,6%
Wykształcenie	Podstawowe	2	1,8%
	Zawodowe	2	1,8%
	Średnie	28	25,5%
	Wyższe	78	70,9%
Status zawodowy	Uczeń/student niepracujący	22	20%
	Uczeń/ student pracujący	19	17,3%
	Pracujący (zatrudniony)	52	47,3%
	Pracujący (prowadzący własną działalność)	9	8,2%
	Bezrobotny	1	0,9%
	Emeryt/ rencista	7	6,4%

Znaczna część badanych zamieszkiwała duże miasta, co mogło przełożyć się na wyższy poziom świadomości na temat żywności funkcjonalnej oraz łatwiejszy dostęp do materiałów edukacyjnych. Przeważająca część badanych posiadała wykształcenie wyższe oraz była aktywna zawodowo, co z kolei może sugerować ich większe zainteresowanie jakością spożywanej żywności i wpływem diety na zdrowie oraz samopoczucie. Taka

charakterystyka próby badawczej pozwala na sformułowanie wniosków dotyczących ogólnych tendencji i postaw konsumentów wobec żywności funkcjonalnej, z uwzględnieniem ich zróżnicowanego profilu społeczno-demograficznego.

Pierwszym zagadnieniem poruszonym w merytorycznej części ankiety, mającym na celu ocenę ogólnej wiedzy respondentów odnośnie rozważanej problematyki, było pytanie dotyczące znajomości terminu „żywność funkcjonalna”. Wyniki uzyskane w tej części badania zostały przedstawione na rycinie 1. Ponad połowa respondentów zadeklarowała, iż spotkała się wcześniej z pojęciem „żywność funkcjonalna”. Warto jednak zwrócić uwagę, że jedynie 25,5% badanych było w pełni świadomych znaczenia tego terminu i miało pewność co do jego definicji oraz zakresu zastosowania. Kolejna grupa, obejmująca 27,3% uczestników badania, słyszała o tym pojęciu, jednak nie posiadała dokładnej wiedzy na jego temat. Z kolei aż 47,3% ankietowanych stwierdziło, że nigdy wcześniej nie zetknęło się z terminem „żywność funkcjonalna”.



Ryc. 1. Znajomość terminu „żywność funkcjonalna” wśród respondentów
Źródło: oprac. wł.

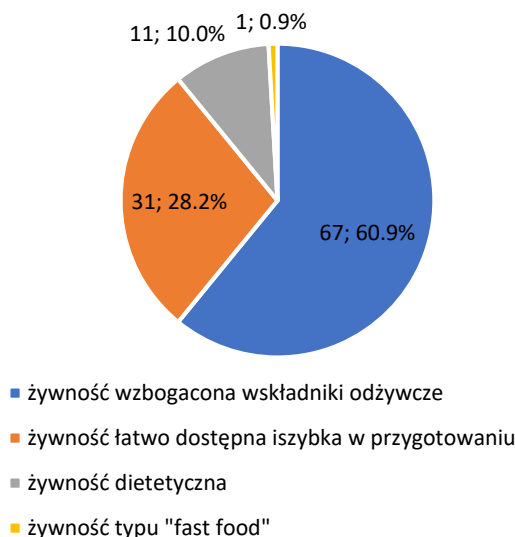
Wyniki wskazują na istotne zróżnicowanie świadomości konsumentów w zakresie żywności funkcjonalnej, co może mieć znaczenie w kontekście planowania działań edukacyjnych oraz strategii marketingowych firm zajmujących się produkcją tego typu produktów. Niska znajomość terminu wśród prawie połowy respondentów sugeruje potrzebę prowadzenia dalszych badań nad czynnikami wpływającymi na świadomość konsumentów oraz skutecznością kampanii informacyjnych dotyczących żywności funkcjonalnej.

W kolejnym etapie badań respondenci zostali poproszeni o wskazanie, z jakim pojęciem kojarzy im się termin „żywność funkcjonalna”. Celem tego pytania było nie tylko określenie poziomu wiedzy badanych, ale także ocena intuicyjnych skojarzeń związanych z tym zagadnieniem. Wyniki zostały przedstawione na rycinie 2. Największa grupa re-

spodentów (aż 61%) wskazała odpowiedź „żywność wzbogacona w składniki odżywcze”, co jest zgodne z definicją żywności funkcjonalnej. Wynik ten sugeruje, że mimo ograniczonej wiedzy o szczegółach tego rodzaju produktów, znaczna część uczestników badania była w stanie poprawnie rozpoznać jego ogólną koncepcję. Można zatem przypuszczać, że samo określenie „żywność funkcjonalna” zostało dobrze dobrane i jest intuicyjnie rozumiane przez społeczeństwo, nawet jeśli jego dokładne znaczenie nie jest powszechnie znane.

Druga najczęściej wybierana odpowiedź to „żywność łatwo dostępna i szybka w przygotowaniu”, którą zaznaczyło 28,2% respondentów. Jest to jednak błędne skojarzenie, ponieważ ta definicja odnosi się do „żywności wygodnej” (ang. *convenience food*). Wynik ten sugeruje, że wśród badanych istnieje pewien poziom nieprecyzyjnego rozumienia terminologii związanej z żywnością, co może wynikać z braku wystarczającej edukacji w tym zakresie.

Pozostałe dwie odpowiedzi zostały wskazane przez niewielką część badanych – łącznie mniej niż 11%. Jedenaście osób utożsamiało żywność funkcjonalną z żywnością dietetyczną, co, choć częściowo zbliżone jest do prawidłowej definicji, nie jest jej bezpośrednim synonimem. Natomiast tylko jedna osoba (0,9%) błędnie powiązała ten termin z żywnością typu „fast food”.



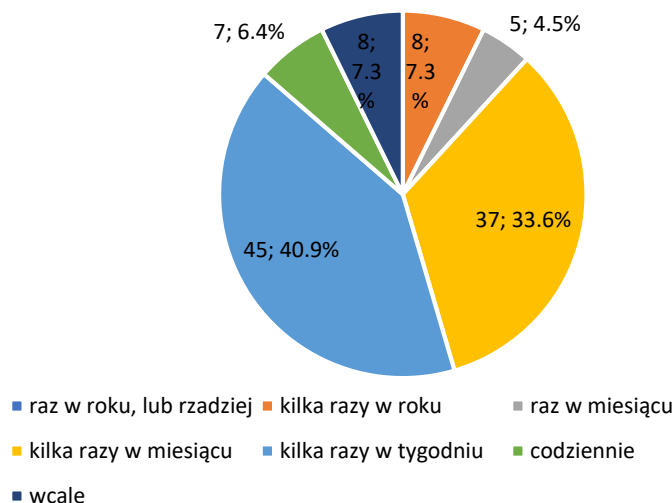
Ryc. 2. Percepcja i skojarzenia respondentów z terminem „żywność funkcjonalna”

Źródło: oprac. wł.

Podsumowując, choć termin „żywność funkcjonalna” jest stosunkowo dobrze rozpoznawalny przez współczesnych konsumentów, wciąż istnieją pewne nieścisłości w jego rozumieniu. Wynika to z faktu, że część respondentów utożsamia go z innymi

kategoriami produktów spożywczych, co może sugerować potrzebę intensyfikacji działań edukacyjnych w tym obszarze.

Respondenci, po wcześniejszym zapoznaniu się z definicją żywności funkcjonalnej, zostali poproszeni o określenie częstotliwości spożywania tego rodzaju produktów. Wyniki tego pytania zostały przedstawione na rycinie 3.



Ryc. 3. Częstotliwość spożywania żywności funkcjonalnej przez respondentów
Źródło: oprac. wł.

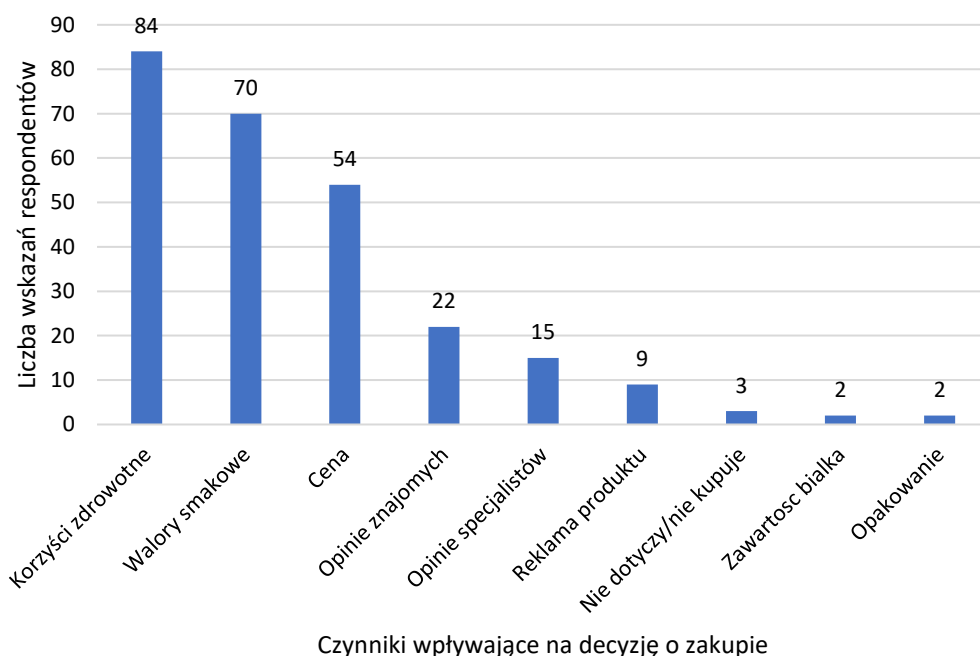
Z danych przedstawionych na rycinie 3 wynika, że największa grupa respondentów, bo aż 40,9%, spożywa żywność funkcjonalną kilka razy w tygodniu, co wskazuje na stosunkowo częste włączanie jej do codziennej diety. Kolejna znacząca grupa, obejmująca 33,6% badanych, deklaruje, że sięga po tego typu produkty kilka razy w miesiącu. Warto zauważyć, że jedynie 6,4% respondentów deklaruje codzienne spożywanie żywności funkcjonalnej, co może sugerować, że produkty te nie stanowią stałego elementu diety większości osób, lecz są raczej uzupełnieniem jadłospisu.

Interesujący jest również fakt, że 7,3% ankietowanych w ogóle nie spożywa żywności funkcjonalnej. Może to wynikać z różnych czynników, takich jak brak wiedzy na temat korzyści płynących z tego rodzaju żywności, indywidualne preferencje żywieniowe, ograniczona dostępność produktów lub sceptycyzm wobec ich skuteczności.

Wyniki te ukazują, że pomimo początkowych trudności ze zrozumieniem terminu „żywność funkcjonalna”, znaczna część społeczeństwa regularnie spożywa produkty zaliczane do tej kategorii. Oznacza to, że choć wielu respondentów nie potrafiło poprawnie zidentyfikować definicji tego pojęcia, w praktyce produkty funkcjonalne stanowią element ich diety. Może to świadczyć o rosnącej popularności tego rodzaju żywności, nawet jeśli konsumenci nie zawsze są w pełni świadomi jej właściwości i celów zdrowotnych.

Dane te podkreślają również znaczenie edukacji konsumentów w zakresie żywności funkcjonalnej. Choć produkty te są stosunkowo często spożywane, konieczne jest dalsze zwiększanie świadomości na temat ich potencjalnych korzyści zdrowotnych oraz różnic między żywnością funkcjonalną a innymi kategoriami produktów spożywczych.

Rycina 4 ilustruje wyniki analizy dotyczącej czynników wpływających na decyzje zakupowe konsumentów w kontekście żywności funkcjonalnej. Pytanie zawarte w ankiecie miało formę pytania wielokrotnego wyboru, co pozwoliło respondentom na wskazanie maksymalnie trzech najważniejszych dla nich czynników. Dodatkowo ankietowani mieli możliwość dopisania własnych odpowiedzi, jeśli żaden z zaproponowanych czynników nie odpowiadał ich preferencjom.



Ryc. 4. Czynniki wpływające na decyzję o zakupie żywności funkcjonalnej
Źródło: oprac. wł.

Analiza danych zawartych na rycinie 4 wskazuje, że kluczowymi czynnikami determinującymi wybory konsumentów, są korzyści zdrowotne (76,4%) oraz walory smakowe (63,6%). Wydaje się, że konsumenci kierują się przede wszystkim przekonaniem o pozytywnym wpływie żywności funkcjonalnej na zdrowie, ale jednocześnie zwracają uwagę na smak, co może mieć kluczowe znaczenie dla regularnego spożycia tego rodzaju produktów.

Ciekawym wnioskiem jest również stosunkowo wysoka pozycja ceny jako czynnika wpływającego na decyzje zakupowe – wskazało ją 49,1% respondentów. Choć spodziewano się, że koszt produktu będzie miał dominujące znaczenie, wyniki badania sugerują, że konsumenci są skłonni zapłacić więcej za żywność funkcjonalną, jeśli spełnia ona ich oczekiwania pod względem zdrowotnym i smakowym.

Najrzadziej wskazywanymi czynnikami były natomiast opinie znajomych (20%), rekomendacje specjalistów (13,6%) oraz reklama produktu (8,2%). Szczególnie niski wpływ reklamy może być zaskakujący, ponieważ powszechnie zakłada się, że działania marketingowe odgrywają istotną rolę w kształtowaniu wyborów konsumentów. Wynik ten może sugerować, że w przypadku żywności funkcjonalnej konsumenci polegają bardziej na własnej wiedzy i doświadczeniach niż na przekazach reklamowych.

Siedem osób zdecydowało się na podanie własnych odpowiedzi. Spośród nich trzy osoby (2,7%) zaznaczyły, że pytanie ich nie dotyczy, ponieważ nie kupują żywności funkcjonalnej, co wskazuje na istnienie grupy konsumentów, którzy świadomie rezygnują z tego segmentu rynku. Dwa przypadki (1,8%) podkreśliły znaczenie wysokiej zawartości białka jako kluczowego czynnika przy wyborze produktu, a kolejne dwa (1,8%) wskazały na atrakcyjność opakowania jako istotnego elementu decyzji zakupowej.

Podsumowując, wyniki badania sugerują, że choć konsumenci nie zawsze mają pełną świadomość znaczenia definicji żywności funkcjonalnej, produkty te odgrywają istotną rolę w ich codziennej diecie. Wybory zakupowe są przede wszystkim motywowane korzyściami zdrowotnymi i walorami smakowymi, a czynniki takie jak cena, opinie otoczenia czy reklama mają drugorzędne znaczenie. Warto zwrócić uwagę na fakt, że indywidualne preferencje, takie jak wysoka zawartość białka czy atrakcyjny wygląd opakowania, również mogą mieć wpływ na podejmowane decyzje, choć w mniejszym zakresie.

Porównując uzyskane wyniki z danymi przedstawionymi w artykule „Consumer perceptions of functional foods: a scoping review focusing on non-processed foods” autorstwa Ponte i in. [2025], zauważyć można wyraźną zgodność w zakresie kluczowego znaczenia czynników zdrowotnych w procesie podejmowania decyzji zakupowych. Zarówno w badaniu własnym, jak i w analizie literatury przedmiotu, korzyści zdrowotne pozostają najważniejszym motywatorem konsumenckich wyborów. Autorzy artykułu przeglądowego podkreślają również istotną rolę wiarygodnego oznakowania produktów – takich jak certyfikaty jakości czy przejrzyste etykiety – jako elementu budującego zaufanie konsumentów do żywności funkcjonalnej. Warto jednak zaznaczyć, że czynniki te nie zostały uwzględnione w kwestionariuszu badania własnego, a także nie pojawiły się wśród odpowiedzi udzielanych spontanicznie przez respondentów. Choć więc zakres analizowanych zmiennych różnił się częściowo między badaniami, zasadniczy wniosek pozostaje wspólny: niezależnie od kontekstu badawczego, to właśnie korzyści zdrowotne stanowią najważniejszy czynnik determinujący wybory konsumenckie w obszarze żywności funkcjonalnej.

Podsumowanie

Żywność funkcjonalna odgrywa coraz większą rolę w kształtowaniu nawyków żywieniowych społeczeństwa, łącząc walory zdrowotne z codzienną dietą konsumentów. Wyniki badań wskazują, że choć wielu respondentów nie zna precyzyjnej definicji tego terminu, to produkty zaliczane do żywności funkcjonalnej są przez większość z nich regularnie spożywane i stanowią istotny element ich jadłospisu.

Konsumentów kierujących się świadomym wyborem w zakresie żywności funkcjonalnej cechuje przede wszystkim zainteresowanie jej korzyściami zdrowotnymi oraz walorami smakowymi, co potwierdzają wyniki ankiety. Cena, choć odgrywa istotną rolę, nie jest kluczowym czynnikiem decydującym o zakupie, co może sugerować rosnącą gotowość do inwestowania w produkty o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych. Jednocześnie relatywnie niewielki wpływ reklamy i opinii otoczenia na decyzje zakupowe wskazuje, że konsumenci polegają głównie na własnej wiedzy i doświadczeniu.

Pomimo istnienia grupy osób, które nie spożywają żywności funkcjonalnej, jej popularność systematycznie rośnie. Świadczy to o zmieniających się preferencjach żywieniowych i rosnącej świadomości zdrowotnej społeczeństwa. W przyszłości dalsza edukacja konsumentów oraz innowacje w zakresie produkcji mogą przyczynić się do jeszcze większego upowszechnienia tego segmentu rynku.

Bibliografia

- Błaszczak A., Grześkiewicz W., 2014. Żywność funkcjonalna – szansa czy zagrożenie dla zdrowia? ed.. *Og. Nauk Zdr.* 20(2), 214–221, <https://doi.org/10.5604/20834543.1112240>.
- Górecka D., Jędrusek-Golińska A., 2019. Rozwój rynku żywności funkcjonalnej. Dostępne na: <https://www.agroindustry.pl/index.php/> [dostęp: 14.08.2024].
- Kubiński T., 2010. Żywność funkcjonalna. *Życie Wet.* 85(11), 932–935.
- Makała H., 2018. Znaczenie żywności funkcjonalnej w turystyce. *Zesz. Nauk. Turystyka Rekreacja* 2 (22), 53–66.
- Martirosyan D., Lampert T., Ekblad M., 2022. Classification and regulation of functional food proposed by the Functional Food Center. *Funct. Food Sci.* 2(22), 25–46, <https://doi.org/10.31989/ffs.v2i2.890>.
- Olędzka R., 2007. Neuraceutyki, żywność funkcjonalna – rola i bezpieczeństwo stosowania. *Bromat. Chem. Toksykol* 40(1), 1–8.
- Piesiewicz H., 2008. Żywność funkcjonalna – dyskusyjnie. *Przeg. Piek. Cuk.* 2(56), 32–34.
- Ponte L.G.S., Ribeiro S.F., Pereira J.C.V., Antunes A.E.C., Bezerra R.M.N., da Cunha D.T., 2025. Consumer perceptions of functional foods: a scoping review focusing on non-processed foods. *Food Rev. Int.* 41(6), 1738–1756.
- Rutkowski A., 1999. Żywność funkcjonalna – dodatki – biznes. *Mat. Konf. „Żywność funkcjonalna”*. PTTŻ, Kraków, 7–19.
- Siemaszko A., 2024. Znak certyfikujący Unii Europejskiej „F-FOOD” dla żywności o szczególnej wartości odżywczej. Dostępne na: <https://www.sektorinnowacji.pl/> [dostęp: 14.08.2024].
- Świderski F., Kolanowski W., 2018. Żywność funkcjonalna i dietetyczna, W: F. Świderski (red.), *Żywność wygodna i żywność funkcjonalna*. Wyd. Naukowo-Techniczne Warszawa, 27–29.

Joanna Tomasiak¹ , Kinga Radaj¹, Dawid Szykuła¹, Miłosz Wrotniak¹,
Stanisław Perestaj¹

Wpływ warunków przetwórstwa na właściwości i morfologię powierzchni biostabilnych i biodegradowalnych tworzyw polimerowych

The influence of processing conditions on the properties and surface morphology
of biostable and biodegradable polymer materials

Wstęp

Rosnące w ostatnich latach zainteresowanie materiałami biodegradowalnymi oraz biostabilnymi stawia przed badaczami nowe wyzwania związane z optymalizacją procesów przetwórczych. W literaturze anglojęzycznej podkreśla się, że warunki produkcji, takie jak techniki druku 3D czy metody wytłaczania, mają kluczowy wpływ na właściwości mechaniczne, strukturalne i powierzchniowe tworzyw polimerowych [Guo 2016, La Mantia 2020]. Szczególne znaczenie ma również problematyka recyklingu materiałów, która umożliwia efektywne wykorzystanie surowców oraz przyczynia się do zrównoważonego rozwoju przemysłowego [Kolluru i in. 2024]. Równocześnie badania nad modyfikacją mikrostruktury powierzchni oraz optymalizacją parametrów przetwórczych stanowią ważny kierunek rozwoju technologii polimerowych, otwierając nowe możliwości w zakresie poprawy twardości, wytrzymałości i stabilności materiałów [Trajkovska Petkoska 2014]. Wykorzystanie nowoczesnych narzędzi analitycznych, takich jak cyfrowa analiza kąta zwilżania czy badania rozciągania udarowego, pozwalają na precyzyjne określenie zmian mikrostrukturalnych, co ma istotne znaczenie w kontekście projektowania materiałów o zoptymalizowanych parametrach mechanicznych [Shanmugam 2020]. Dynamiczny rozwój technologii druku 3D oraz innowacyjne podejścia w dziedzinie przetwórstwa polimerów otwierają nowe możliwości dla dalszych badań nad modyfikacją i poprawą właściwości materiałowych, co znajduje potwierdzenie w najnowszych publikacjach [Suhail Abbas 2024].

Celem pracy jest ocena wpływu warunków przetwórstwa na właściwości i morfologię powierzchni próbek wykonanych metodą druku 3D wybranych tworzyw polimerowych tj. PET-G i PLA oraz metodą wytłaczania wertykalnego recyklatów tych materiałów.

¹ Politechnika Lubelska, Koło Naukowe Inżynierii Polimerów „Carbon”, s101049@pollub.edu.pl

Material i metody

W ramach badań wykorzystano próbki uzyskane dwiema metodami: drukiem 3D oraz wytłaczaniem. Do ich wytworzenia posłużono się specjalnie zaprojektowaną maszyną – elektryczną wytłaczarką wertykalną opracowaną przez Koło Naukowe Inżynierii Polimerów „Carbon”, która umożliwia wymianę głowicy dostosowanej do druku 3D. W eksperymencie zastosowano dwa rodzaje materiałów: kopolimer poli(tereftalanu etyleny) z dodatkiem glikolu (PET-G) należący do grupy tworzyw biostabilnych oraz polilaktyd (PLA) zaliczany do materiałów biodegradowalnych. Oba tworzywa były dostępne w formie filamentu (używanego w druku 3D) oraz jako regranulat (stosowany w procesie wytłaczania wertykalnego). W przypadku PLA wykorzystano filament Tarfuse Simply PLA Green produkowany przez Grupę Azoty, o średnicy 1,75 mm i rekomendowanej temperaturze druku w zakresie 210–240°C. Natomiast dla PET-G zastosowano filament Easy PET-G Red firmy Fiberlogy, również o średnicy 1,75 mm, z sugerowanym zakresem temperatury druku wynoszącym 220–250°C.

Parametry druku 3D obejmowały temperaturę dyszy o wartości 230°C, temperaturę stołu 80°C oraz prędkość druku wynoszącą 60 mm/s, przy czym poziom chłodzenia warstw ustalono na 25%. W przypadku procesu wytłaczania zastosowano tę samą maszynę wraz z układem uplastyczniającym jednoślismakowym Mahor V4 Pellet Extruder wyposażonym w głowicę do wytłaczania pręta. Wytłaczanie przebiegało w temperaturze 210°C, a prędkość przepływu dla druku zwartego wynosiła 6,43 mm³/s, przy maksymalnym przepływie 21 mm³/s dla określonych fragmentów procesu.

Próbki wykonane metodą druku 3D oznaczono jako PLA/F i PET-G/F, natomiast te wytłoczone z recyklatu danego materiału – odpowiednio PLA/R oraz PET-G/R. Próbki wytworzono w dwóch grubościach: 2 mm oraz 4 mm o kształcie oraz pozostałych wymiarach znormalizowanych do badań wytrzymałościowych tzw. wiosełek w odniesieniu do normy PN EN ISO: 527. Próbki posiadały dwie różniące się fakturę powierzchnie. Powierzchnia stykająca się ze stołem maszyny została oznaczona jako Plate Surface (PS), natomiast powierzchnia chłodzona swobodnie w powietrzu jako Free Surface (FS).

Program badań obejmował pomiary wybranych właściwości fizycznych (zwilżalność) oraz mechanicznych w temperaturze normalnej (siłę zerwania, wydłużenie przy zerwaniu, wytrzymałość na rozciąganie statyczne oraz uderowe, twardość metodami Shore’a oraz wciskania kulki), jak również analizę struktury makro- oraz mikroskopowej przełomów po zerwaniu. Badania twardości oraz zwilżalności zostały wykonane dla obydwu powierzchni.

Badania właściwości mechanicznych zostały przeprowadzone na maszynie wytrzymałościowej Zwick Z010. Siła wstępna wynosiła 0,1 MPa, natomiast prędkość badania 50 mm/min. Wykonane próbki miały kształt B. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z normą PN-EN ISO 527.

Badanie rozciągania uderowego przeprowadzono na maszynie Comtech Testing Machines Co. model QC-6939J-3. Próbki badawcze miały kształt wiosełek typu 4 bez karbu, a do pomiarów zastosowano młot o energii 2 J oraz uchwyt poprzeczny o masie 15 g, zgodnie z metodą A. Badanie zostało wykonane dla próbek w temperaturze normalnej 23°C. Badania wykonano zgodnie z normą PN-EN ISO 8256.

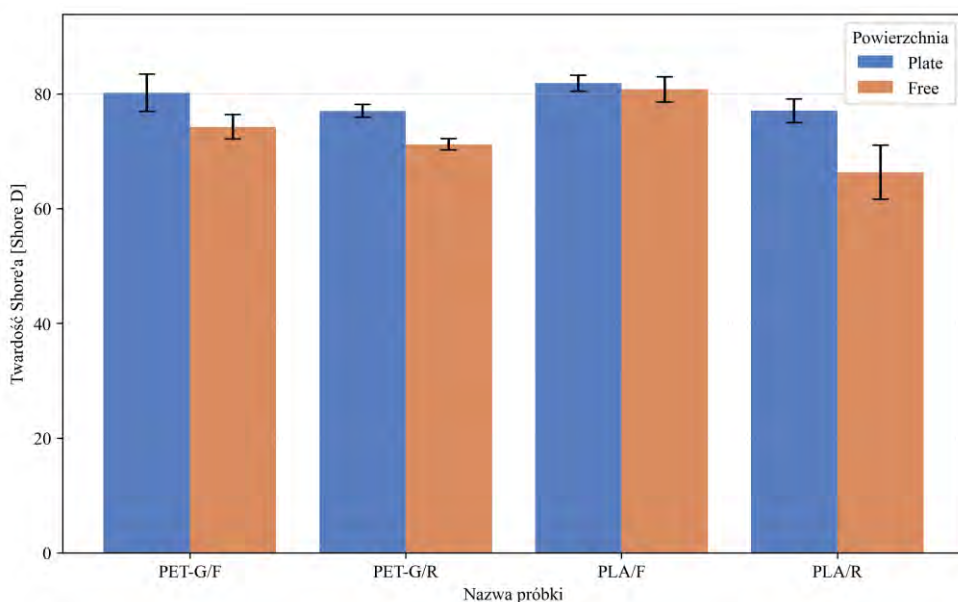
Badanie twardości przeprowadzono dwiema metodami: metodą Shore’a oraz metodą wciskania kulki. Dla każdej metody wykonano pomiary na dwóch próbkach każdego rodzaju, mierząc twardość w trzech miejscach po obu stronach. Próbkę miały grubość 4 mm. Badanie twardości metodą Shore’a przeprowadzono na urządzeniu AFFRI ART.13 firmy IMAG s.a.s., zgodnie z normą PN-EN ISO 868. Z kolei pomiary metodą wciskania kulki wykonano przy użyciu twardościomierza HPK 8411 (zakres pomiarowy $0,13-0,36 \times 10^{-3}$), zgodnie z normą PN-EN ISO 2039-1. W badaniu zastosowano kulkę o średnicy 5 mm. Obciążenie pomiarowe wynosiło 358N dla próbek PLA/F oraz PET-G/F oraz 132N dla próbek PLA/R oraz PET-G/R.

Analiza morfologii powierzchni oraz przełomów została przeprowadzona z wykorzystaniem mikroskopu optycznego Nikon Eclipse LV100ND. Analizę prowadzono w świetle odbitym przy użyciu obiektywów: 2,5X i 5X oraz filtrów.

Wyznaczenie kąta zwilżania zostało wykonane na cyfrowym analizatorze kształtu kropli Krüss DSA25S, kąt został wyznaczony dla wody. Analizator jest wyposażony w cyfrową kamerę o rozdzielczości 1920x1200 px i 2300 fps, a pomiar kąta zwilżania odbywa się z dokładnością do 0,01°.

Wyniki

Wyniki badań twardości metodą Shore’a oraz metodą wciskania kulki zostały przedstawione na rycinach 1 i 2, wyznaczone z twardości współczynnik sprężystości wzdłużnej

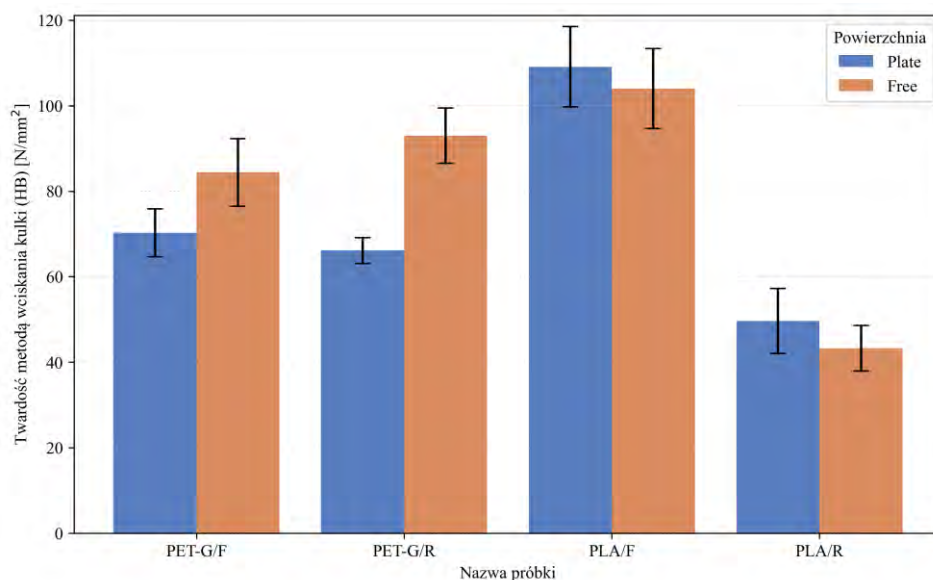


Ryc. 1. Twardość wyznaczona metodą Shore’a dla poszczególnych próbek. Niebieskim kolorem oznaczono wartość dla powierzchni stykającej się ze stołem drukarki/wytłaczarki (PS), natomiast pomarańczowym – dla powierzchni swobodnie chłodzonej (FS) (od strony dyszy, bez kontaktu z podłożem)

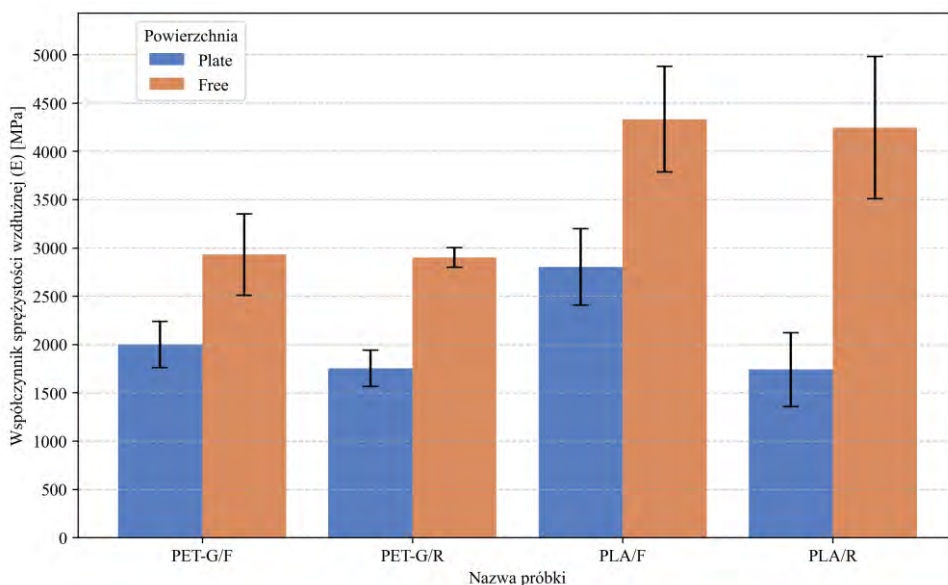
(Moduł Younga) na rycinie 3, wyniki badań właściwości mechanicznych na rycinach 4–7, wyniki kąta zwilżania na rycinie 8, natomiast na rycinach 9–12 – morfologię powierzchni oraz przełomów po badaniach mechanicznych.

Badania twardości metodą Shore’a (ryc. 1) wykazały, że powierzchnie próbek stykające się ze stołem (PS) podczas procesu wytwarzania są twardsze niż powierzchnie swobodnie chłodzone (FS). Różnice te wynoszą 8,01% dla PET-G/F, 8,21% dla PET-G/R, 1,34% dla PLA/F oraz 16,19% dla PLA/R. Wyniki te pokazują, że chłodzenie na podłożu roboczym sprzyja powstawaniu bardziej jednorodnej i mniej porowatej struktury powierzchni, co przekłada się na jej wyższą twardość, szczególnie w przypadku recyklatów.

Analiza wyników twardości metodą wciskania kulki (ryc. 2) wykazała odwrotne zależności niż w przypadku pomiarów metodą Shore’a, może to wynikać z budowy stosowanego w tej metodzie wgłębnika. Powierzchnie swobodnie chłodzone (FS) wykazują większą twardość w porównaniu do powierzchni stykających się z podłożem (PS). Różnice te wynoszą 20,11% dla PET-G/F, 40,61% dla PET-G/R, 4,67% dla PLA/F oraz 12,84% dla PLA/R. Największa różnica wystąpiła dla PET-G/R.



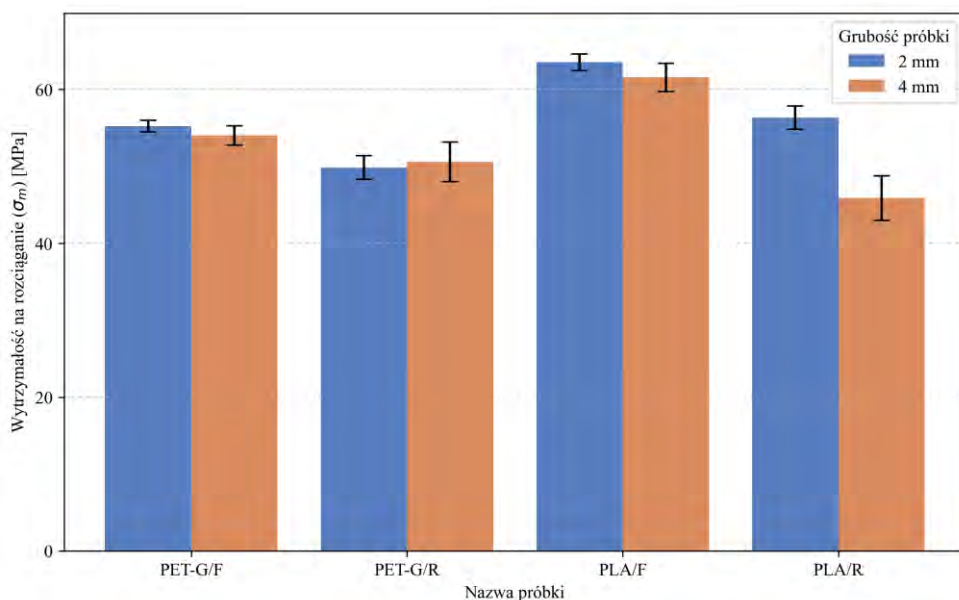
Ryc. 2. Twardość wyznaczona metodą wciskania kulki dla poszczególnych próbek. Niebieskim kolorem oznaczono wartość dla powierzchni stykającej się ze stołem drukarki/wyłaczarki (PS), natomiast pomarańczowym – dla powierzchni swobodnie chłodzonej (FS) (od strony dyszy, bez kontaktu z podłożem)



Ryc. 3. Współczynnik sprężystości wzdłużnej (E) (Moduł Younga) wyznaczony z twardości dla poszczególnych próbek. Niebieskim kolorem oznaczono wartość dla powierzchni stykającej się ze stołem drukarki/wyłaczarki (PS), natomiast pomarańczowym – dla powierzchni swobodnie chłodzonej (FS) (od strony dyszy, bez kontaktu z podłożem)

Analiza wyników współczynnika sprężystości wzdłużnej (Modułu Younga) (ryc. 3) wykazała, że powierzchnie swobodnie chłodzone (FS) wykazują wyższą sztywność w porównaniu do powierzchni stykających się ze stołem. Różnice te wynoszą 46,66% dla PET-G/F, 65,37% dla PET-G/R, 54,56% dla PLA/F oraz 144,15% dla PLA/R. Porównując materiały pierwotne, można dostrzec, że PLA/F wykazuje o 40,31% większą sztywność niż PET-G/F, natomiast dla recyklatów PLA/R ma o 52,77% większą wartość modułu Younga niż PET-G/R. W kontekście wpływu recyklingu, próbka PLA/R wykazuje o 15,66% większą sztywność w porównaniu do PLA/F, natomiast PET-G/R ma o 10,54% mniejszą wartość modułu Younga względem PET-G/F.

Analiza wpływu recyklingu odnośnie wytrzymałości na rozciąganie (ryc. 4) wykazała, że próbka PET-G/R o grubości 2 mm (PET-G/R/2) miała o 10,8% niższą wytrzymałość na rozciąganie w porównaniu do próbki PET-G/F/2, natomiast próbka PLA/R/2 wykazała o 12,8% niższą wartość względem PLA/F/2. Wyniki te potwierdzają negatywny wpływ recyklingu na wytrzymałość mechaniczną obu badanych materiałów, przy czym spadek ten jest nieco bardziej zauważalny dla PLA. Z porównania materiałów pierwotnych wynika, że próbka PLA/F/2 wykazała o 13,1% wyższą wytrzymałość na rozciąganie w porównaniu do PET-G/F/2, natomiast w przypadku recyklatów próbka PLA/R/2 miała o 11,5% większą wytrzymałość niż PET-G/R/2. Oznacza to, że niezależnie od obróbki i procesu recyklingu, PLA zachowuje lepsze właściwości mechaniczne niż PET-G.

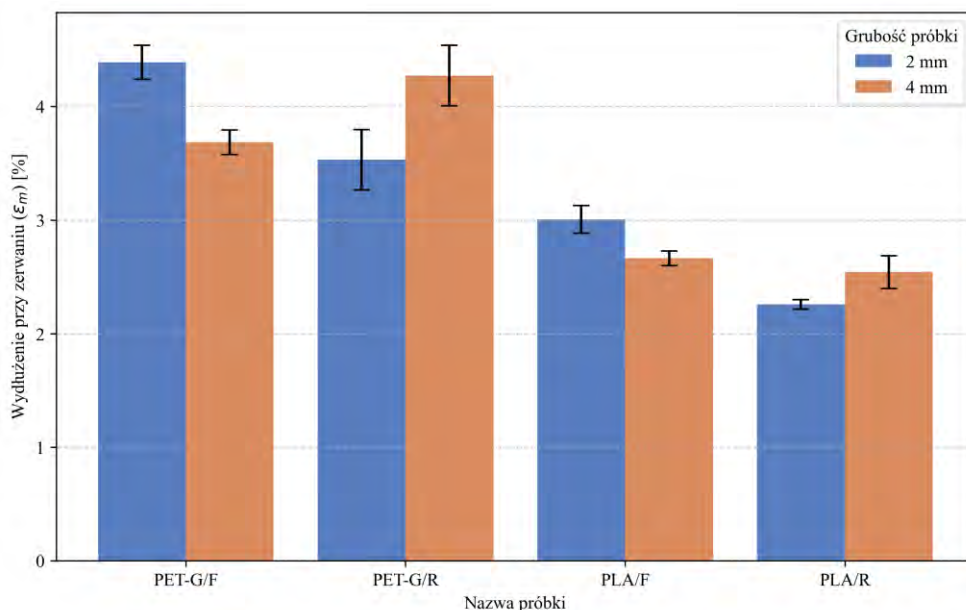


Ryc. 4. Wytrzymałość na rozciąganie dla poszczególnych próbek. Niebieskim kolorem oznaczono próbki o grubości 2 mm, natomiast pomarańczowym o grubości 4 mm

Badania wydłużenia przy zerwaniu (ryc. 5) wykazały różnice w zależności od grubości próbek. Wartość ta zmalała o 19,1% dla PET-G/F oraz o 12,9% dla PLA/F przy zwiększeniu grubości próbki z 2 mm do 4 mm. W przeciwieństwie do tych wyników, dla PET-G/R wydłużenie przy zerwaniu wzrosło o 17,3%, a dla PLA/R o 11,2%, co może wynikać z innego rozkładu naprężeń w recyklocie w zależności od grubości próbki. Dla próbek o grubości 2 mm, zaobserwowano, że PET-G/R wykazuje o 24,3% niższe wydłużenie przy zerwaniu w porównaniu do PET-G/F, natomiast dla PLA/R spadek względem PLA/F wynosi 33,2%. Oznacza to, że proces recyklingu istotnie pogarsza zdolność materiałów do odkształcania się przed zerwaniem, szczególnie w przypadku PLA.

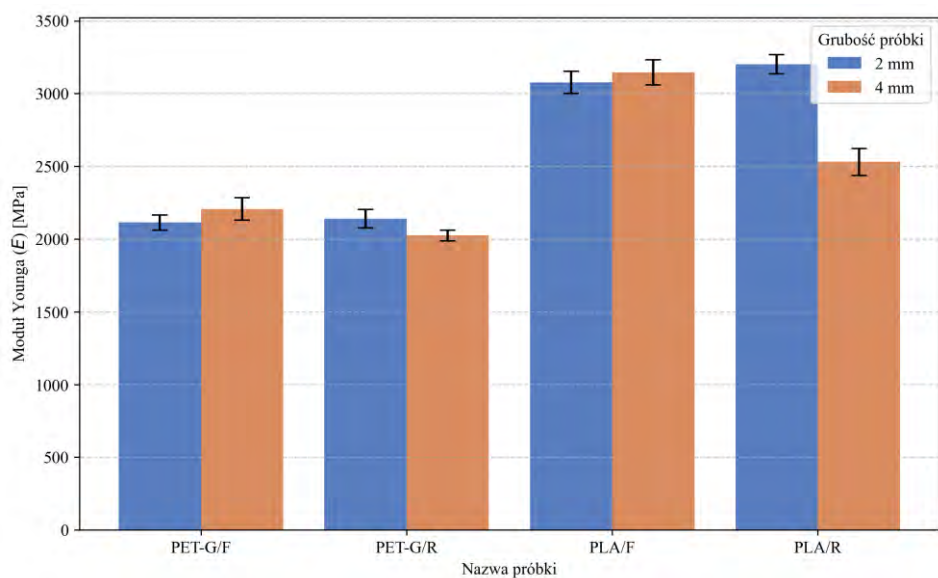
Analiza wyników modułu Younga (ryc. 6) wykazała, że wzrost grubości próbek wpływa na ich sztywność w różny sposób, w zależności od rodzaju materiału. Wartość modułu Younga wzrosła o 4,2% dla PET-G/F oraz o 2,2% dla PLA/F przy zwiększeniu grubości próbki z 2 mm do 4 mm. Z kolei w przypadku materiałów poddanych recyklingowi zaobserwowano spadek modułu Younga o 5,7% dla PET-G/R oraz aż o 26,5% dla PLA/R, co może świadczyć o większej niejednorodności struktury recyklatu PLA i jego obniżonej sztywności w grubszych próbkach. Dla próbek o grubości 2 mm, moduł Younga PET-G/R jest o 1,2% wyższy od PET-G/F, co wskazuje na niewielki wpływ recyklingu na sztywność PET-G. W przypadku PLA różnica jest bardziej zauważalna – PLA/R wykazuje o 3,9% większą sztywność niż PLA/F, co może wynikać z niejednorodności mikrostruktury recyklatu i lokalnych naprężeń w materiale. Porównując różnice między materiałami, można dostrzec, że PLA/F wykazuje o 31,3% większy moduł

Younga niż PET-G/F, natomiast PLA/R w porównaniu do PET-G/R ma wartość wyższą o 33,2%. Oznacza to, że PLA, zarówno w postaci pierwotnej, jak i recyklatu, pozostaje znacznie sztywniejszym materiałem w porównaniu do PET-G.

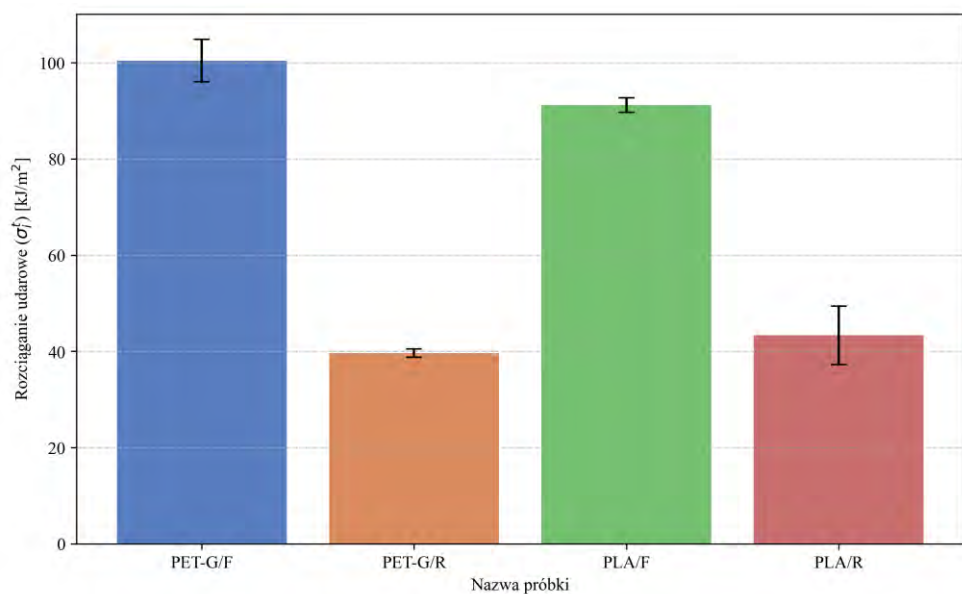


Ryc. 5. Wydłużenie przy zerwaniu dla poszczególnych próbek. Niebieskim kolorem oznaczono próbki o grubości 2 mm, natomiast pomarańczowym o grubości 4 mm

Analiza wyników modułu Younga (ryc. 6) wykazała, że wzrost grubości próbek, w zależności od rodzaju materiału, wpływał na ich sztywność w różny sposób. Wartość modułu Younga wzrosła o 4,2% dla PET-G/F oraz o 2,2% dla PLA/F przy zwiększeniu grubości próbki z 2 mm do 4 mm. Z kolei w przypadku materiałów poddanych recyklingowi zaobserwowano spadek modułu Younga o 5,7% dla PET-G/R oraz aż o 26,5% dla PLA/R, co może świadczyć o większej niejednorodności struktury recyklatu PLA i jego obniżonej sztywności w grubszych próbkach. Dla próbek o grubości 2 mm, moduł Younga PET-G/R jest o 1,2% wyższy od PET-G/F, co wskazuje na niewielki wpływ recyklingu na sztywność PET-G. W przypadku PLA różnica jest bardziej zauważalna – PLA/R wykazuje o 3,9% większą sztywność niż PLA/F, co może wynikać z niejednorodności mikrostruktury recyklatu i lokalnych naprężeń w materiale. Z porównania różnic między materiałami wynika, że PLA/F wykazuje o 31,3% większy moduł Younga niż PET-G/F, natomiast PLA/R w porównaniu do PET-G/R ma wartość wyższą o 33,2%. Oznacza to, że PLA, zarówno w postaci pierwotnej, jak i recyklatu, pozostaje znacznie sztywniejszym materiałem w porównaniu do PET-G.

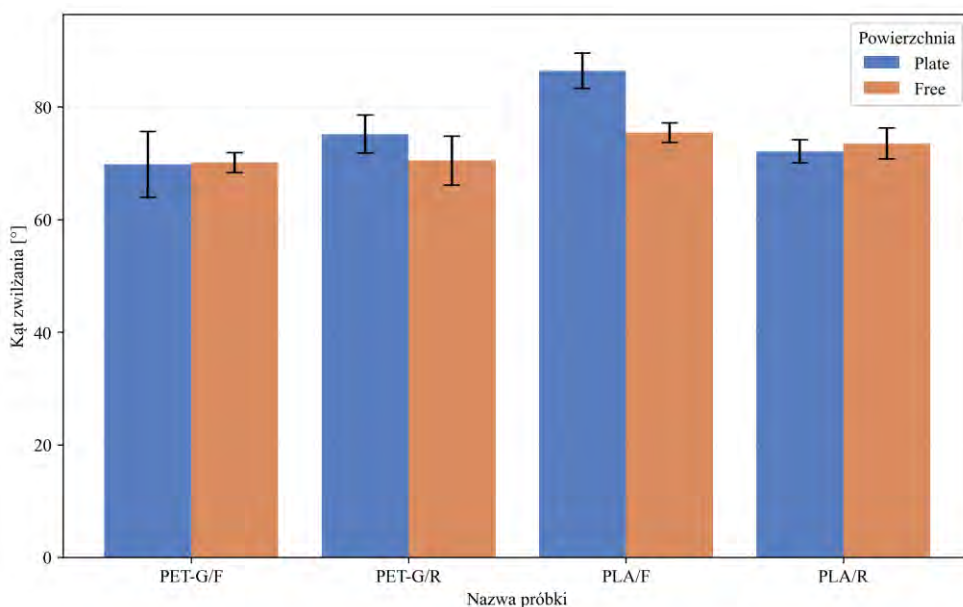


Ryc. 6. Moduł Younga dla poszczególnych próbek. Niebieskim kolorem oznaczono próbki o grubości 2 mm, natomiast pomarańczowym o grubości 4 mm



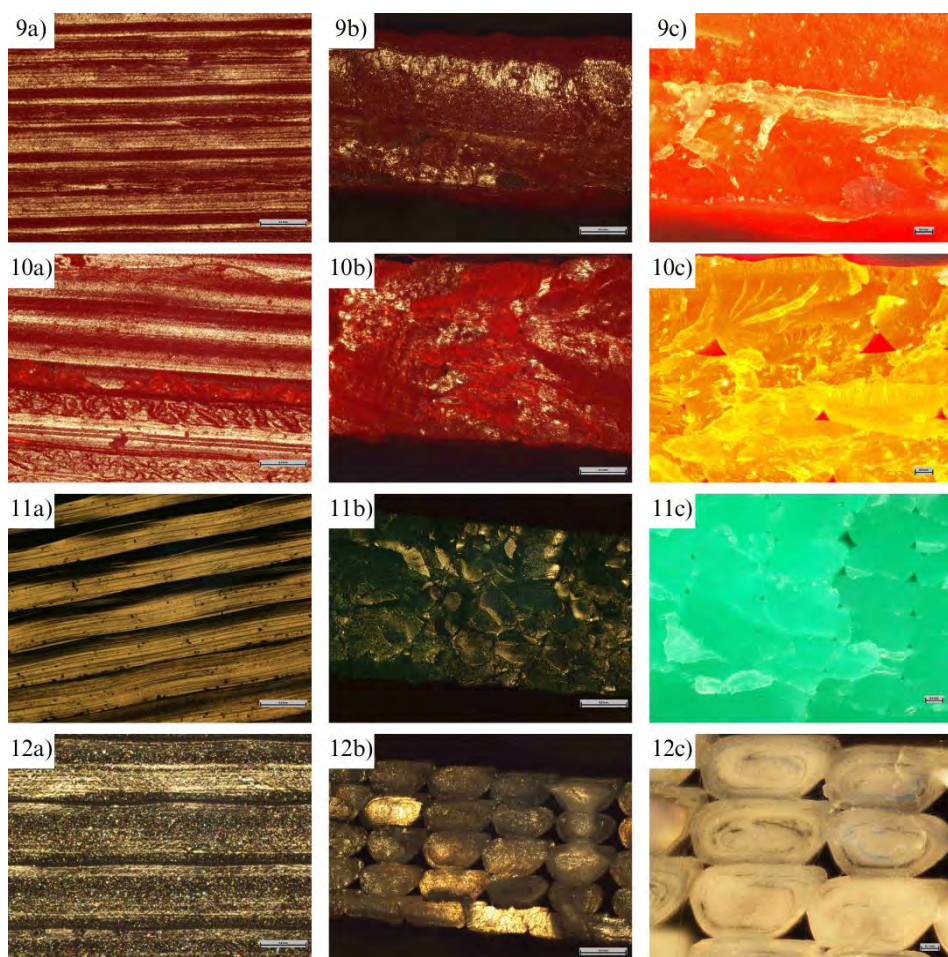
Ryc. 7. Rozciąganie udarowe dla poszczególnych próbek

Wyniki badań rozciągania udarowego (ryc. 7) wykazały różnice pomiędzy analizowanymi materiałami oraz istotny wpływ recyklingu na ich właściwości mechaniczne. Próbką PET-G/F charakteryzowała się najwyższą wartością rozciągania udarowego, wykazując o 153,53% wyższą wytrzymałość w porównaniu do PET-G/R, 10,15% wyższą w stosunku do PLA/F oraz 131,73% większą od PLA/R. Z kolei PLA/F miało o 10,38% większą wytrzymałość na rozciąganie udarowe niż PLA/R oraz 130,16% większą niż PET-G/R. Próbką PLA/R wykazała jedynie 9,4% wyższą wartość rozciągania udarowego niż PET-G/R, co wskazuje, że oba recyklaty charakteryzują się znacznym spadkiem dynamicznych właściwości mechanicznych w porównaniu do materiałów pierwotnych. Porównanie między materiałami wskazuje, że zarówno PET-G, jak i PLA w postaci pierwotnej wykazują znacznie lepsze właściwości udarowe niż ich odpowiedniki po recyklingu. Zaobserwowane różnice mogą wynikać z degradacji materiału podczas procesu recyklingu, która prowadzi do pogorszenia jego właściwości udarowych.



Ryc. 8. Kąt zwilżania dla poszczególnych próbek. Niebieskim kolorem oznaczono wartość dla powierzchni stykającej się ze stołem drukarki/wytłaczarki (PS), natomiast pomarańczowym – dla powierzchni swobodnie chłodzonej (FS) (od strony dyszy, bez kontaktu z podłożem)

Wyniki badań kąta zwilżania (ryc. 8) wykazały istotne różnice w zależności od metody chłodzenia powierzchni próbek. Analiza porównawcza wartości kąta zwilżania stron Plate (chłodzonych na stole) i Free (chłodzonych na powietrzu) wykazała, że dla próbki PET-G/F kąt zwilżania strony Plate był o 0,48% mniejszy w porównaniu do strony Free,



Ryc. 9–12. Morfologia: powierzchni swobodnie chłodzonej (FS) (a), przełomu po badaniu mechanicznym przy pow. 2,5X (b) oraz przełomu przy pow. 5X (c); dla próbek: PET-G/F (9), PET-G/R (10), PLA/F (11) oraz PLA/R (12). Podziałka dla ryc. oznaczonych jako (a) oraz (b) jest równa 0,5 mm, natomiast dla (c) 0,1 mm

natomiast w przypadku PET-G/R różnica ta wynosiła 6,68% na korzyść strony Plate. Wśród próbek wykonanych z PLA odnotowano większe różnice – dla PLA/F strona Plate wykazywała o 14,58% większy kąt zwilżania niż Free, podczas gdy w przypadku PLA/R różnica ta wynosiła jedynie 1,87% na korzyść strony Free. Porównanie między materiałami wykazało, że PLA charakteryzuje się większym kątem zwilżania niż PET-G, co sugeruje jego większą hydrofobowość. Warto również zauważyć, że różnice w kącie zwilżania pomiędzy stronami Plate i Free są bardziej wyraźne dla PLA niż dla PET-G, co może wynikać z różnic w strukturze powierzchni powstałej w wyniku różnych metod

chłodzenia. Analiza wpływu recyklingu na zwilżalność powierzchni wykazała odmienne tendencje w zależności od materiału. W przypadku PET-G recykling zwiększył różnice między stronami Plate i Free, co może wskazywać na zmiany w strukturze powierzchni spowodowane ponownym przetworzeniem materiału. W PLA sytuacja była odwrotna – materiał po recyklingu wykazywał bardziej zbliżone wartości kąta zwilżania po obu stronach, co sugeruje większą jednorodność powierzchni.

Morfologia powierzchni swobodnie chłodzonej (FS), która została przedstawiona na rycinach 9a–12a, przedstawia raczej gładkie powierzchnie z widocznymi liniami przebiegu poszczególnych ścieżek warstw druku/wyłaczania. Dodatkowo na rycinie 12a widocznych jest dużo kolorowych plamek, wynika to z obecności dodanego brokatu do pierwotnego filamentu i dalej w recyklicie.

Analiza przełomów pozwala określić typ przełomu jako kruchy dla wszystkich próbek. Dla próbek wykonanych metodą wytłaczania wertykalnego, niezależnie od zastosowanego materiału (ryc. 10c i 12c), widać znacząco większe przestrzenie między kolejnymi ścieżkami wytłaczania i warstwami w porównaniu do próbek wykonanych metodą druku 3D (ryc. 9c i 11c). Może być to spowodowane większą, w porównaniu do drukarki 3D, średnicą dyszy w wytłaczarce. Dodatkowo na przekroju dla próbki PLA/R (ryc. 12c) widać różnobarwne smugi. Świadczą one o niedostatecznej homogenizacji regranulatu w trakcie przetwórstwa. Najprawdopodobniej jest to spowodowane stosunkowo krótkim układem uplastyczniającym. Dla pozostałych materiałów nie zaobserwowano tego zjawiska.

W przyszłości badania zostaną rozszerzone o analizę wpływu degradacji abiotycznej i UV, wpływu zmiany parametrów przetwarzania oraz wpływu wielokrotnego recyklingu. Pozwoli to na szerszą analizę degradacji wykorzystanych materiałów i ich wpływu na środowisko oraz na przeprowadzenie procesu optymalizacji przetwórstwa zarówno dla metody druku 3D oraz wytłaczania wertykalnego.

Wnioski

Przeprowadzone badania wykazały istotne różnice w analizowanych właściwościach mechanicznych i morfologii powierzchni próbek wykonanych metodą druku 3D oraz wytłaczania wertykalnego. Analiza wyników twardości metodą Shore’a oraz wciskania kulki wskazała na różnice w jednorodności struktury w zależności od sposobu chłodzenia powierzchni próbek. Próbkę stykającą się ze stołem były twardsze według metody Shore’a, natomiast strony swobodnie chłodzone (FS) wykazywały większą twardość według metody wciskania kulki. Badania współczynnika sprężystości wzdłużnej (Modułu Younga) ujawniły, że powierzchnie swobodnie chłodzone (FS) cechują się wyższą sztywnością, szczególnie w przypadku recyklatów. Ponadto analiza wytrzymałości na rozciąganie oraz wydłużenia przy zerwaniu wykazała negatywny wpływ recyklingu na właściwości mechaniczne obu badanych materiałów, przy czym spadek ten był bardziej zauważalny dla PLA niż PET-G.

Porównanie właściwości udarowych wykazało, że materiały pierwotne charakteryzują się lepszymi parametrami w porównaniu do ich recyklowanych odpowiedników.

W szczególności recyklaty PET-G i PLA wykazywały znaczący spadek wytrzymałości na rozciąganie udarowe w stosunku do ich pierwotnych wersji. Analiza kąta zwilżania wskazała, że chłodzenie na stole drukarki skutkuje mniejszym kątem zwilżania, co może świadczyć o lepszej zwilżalności takich powierzchni. PLA wykazywało większy kąt zwilżania niż PET-G, co sugeruje jego większą hydrofobowość. Morfologia powierzchni wykazała gładkie struktury z widocznymi ścieżkami warstw druku i wytłaczania. W przypadku recyklatu PLA zaobserwowano niejednorodne struktury wynikające z niedostatecznego wymieszania regranulatu, co może wpływać na jego właściwości mechaniczne.

Próbki wykonane z PLA wykazują lepsze właściwości mechaniczne niż z PET-G zarówno w postaci pierwotnej, jak i po recyklingu, jednak materiał ten jest bardziej podatny na degradację podczas ponownego przetwarzania. Chłodzenie powierzchni próbki podczas druku 3D wpływa na jej twardość – próbki chłodzone swobodnie są bardziej sprężyste, natomiast te stykające się ze stołem są twardsze. Wytłaczanie wertykalne stanowi efektywną metodę ponownego wykorzystania recyklatów z druku 3D, eliminując konieczność formowania filamentu, co redukuje straty materiałowe i zużycie energii. Pozwala również na maksymalne wydłużenie cyklu życia materiałów biostabilnych, ale także biodegradowalnych. Zastosowanie tej metody przetwórstwa może przyczynić się do ograniczenia ilości odpadów trafiających na składowiska.

Bibliografia

- Guo O., 2016. Polymer morphology: principles, characterization, and processing. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Kolluru S., Thakur A., Tamakuwala D., Vijay Kumar V., Ramakrishna S., Chandran, S., 2024. Sustainable recycling of polymers: a comprehensive review. Polym. Bull. 81, 1-42, <https://doi.org/10.1007/s00289-024-05195-z>.
- La Mantia F., 2020. Polymer processing and performance: 2018–2019, <https://doi.org/10.3390/polym12010220>.
- Shanmugam, V., Das, O., Neisiany, R.E., Babu K., Singh S., Hedenqvist M.S., Berto F., Ramakrishna S. 2020. Polymer recycling in additive manufacturing: an opportunity for the circular economy. Mater Circ Econ 2(11), <https://doi.org/10.1007/s42824-020-00012-0>.
- Suhail Abbas M., 2024. Sustainability and innovation in 3D printing: outlook and trends. Clean Technol. Recycling 4(1), 1–21. <https://doi.org/10.3934/ctr.2024001>
- Trajkovska Petkoska A., 2014. Surface engineering of polymers. Conference: ICIT & MPT 2014.

Grupy alkaloidów wytwarzane przez gatunki roślin z rodziny Boraginaceae (ogórecznikowate)

Groups of alkaloids produced by plant species of the family Boraginaceae

Wstęp

Rodzina Boraginaceae obejmuje szeroki wachlarz roślin, które występują na różnych kontynentach i w zróżnicowanych siedliskach, od wilgotnych łąk po obszary pustynne. Rośliny te są cenione zarówno w medycynie tradycyjnej, jak i współczesnej farmakologii ze względu na zawartość licznych związków biologicznie aktywnych [Riedl 1997, Smith i in. 2004].

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie badaniami nad potencjałem farmakologicznym i kosmetycznym roślin z rodziny Boraginaceae, zwłaszcza w kontekście ich zastosowania jako źródła naturalnych antyoksydantów i substancji o działaniu leczniczym [Dresler i in. 2017]. Jednocześnie niektóre związki obecne w tych roślinach, w tym alkaloidy pirolizydynowe, budzą obawy ze względu na potencjalne toksyczne oraz genotoksyczne działanie [Kania-Dobrowolska i in. 2018].

Celem artykułu jest przegląd dostępnej literatury na temat alkaloidów wytwarzanych przez gatunki z rodziny Boraginaceae oraz przedstawienie charakterystyki poszczególnych grup alkaloidów, ich właściwości i możliwości zastosowania w przemyśle, z uwzględnieniem regulacji i norm przyjętych dla alkaloidów pirolizydynowych.

Ogólna charakterystyka

Boraginaceae (ogórecznikowate) to rodzina roślin szeroko rozpowszechnionych w wielu siedliskach, począwszy od piaszczystych wybrzeży morskich do lasów górskich, wilgotnych łąk, regionów pustynnych lub półpustynnych i kamienistych zboczy [Riedl 1997]. Obejmuje ona ok. 131 rodzajów i 2500 gatunków jednorocznych lub wieloletnich ziół i krzewów występujących głównie w Europie i Azji [Smith i in. 2004, Dresler i in. 2017]. Większość gatunków rozpowszechniona jest na całym świecie, jednak znane są również gatunki endemiczne o ograniczonym zasięgu występowania, np. na Sardynii,

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Studenckie Koło Naukowe Biologów Sekcja Biokosmologii, wiktoriaaa.wlodarczyk@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Botaniki i Fizjologii Roślin, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

w Anatolii i Uzbekistanie [Fazly Bazzaz i in. 1997, Özcan 2008]. Najpopularniejszymi gatunkami są: ogórecznik lekarski (*Borago officinalis* L.), żmijowiec zwyczajny (*Echium vulgare* L.), nawrot lekarski (*Lithospermum officinale* L.) oraz farbownik lazurowy (*Anchusa azurea* Mill.) [Dresler i in. 2017].

Do rodziny ogórecznikowatych zalicza się rośliny zielne, krzewy, rzadziej drzewa. Ich łodygi i lancetowate liście zaopatrzone są w charakterystyczne włoski, kwiaty są obupłciowe, owocem jest rozłupnia, a nasiona cechują się obecnością bielma. Sezon kwitnienia przypada na okres od czerwca do września na obszarach o klimacie umiarkowanym [Takhtajan 2009, Sulborska 2019, Gautam i in. 2024].

Różne części roślin z rodziny Boraginaceae, takie jak liście, kwiaty, korzenie, owoce, kora i drewno, mogą być stosowane jako surowce w terapiach leczniczych oraz kosmetycznych [Aliasl i in. 2015]. Od dawna stanowią dodatki do żywności, napojów, aromatów, a także występują w produktach kosmetycznych i leczniczych. W tradycyjnej medycynie rośliny te były używane od czasów starożytnych w krajach europejskich, azjatyckich (w tym w Iranie, Chinach i Indiach) oraz amerykańskich (Brazylia, Meksyk, USA) [Chrzanowska i in. 2024].

Związki o aktywności biologicznej występujące w rodzinie ogórecznikowatych

Substancje aktywne (czynne) należące do surowców roślinnych to związki, które wykazują wysoką aktywność biologiczną i mogą wpływać na organizm człowieka: odżywczo, zapobiegawczo, leczniczo, a także trująco. Działanie ekstraktów uzależnione jest od składu chemicznego, dawki oraz metody zastosowania. Rośliny wytwarzają różnorodne związki zaliczane do substancji aktywnych, znajdujące zastosowanie zarówno w leczeniu, jak i pielęgnacji skóry [Wytyczak 2023].

Rodzina Boraginaceae obejmuje gatunki roślin cenione w farmakologii i kosmologii. Efekt terapeutyczny tych roślin związany jest z zawartością wielu związków biologicznie czynnych, m.in. flawonoidów, terpenoidów i fenoli [Dresler i in. 2017]. Flawonoidy stanowią największą grupę niskocząsteczkowych związków roślinnych. Biorą udział w reakcjach redukujących stres oksydacyjny poprzez neutralizację wolnych rodników [Sergiel 2024]. W roślinach flawonoidy odgrywają kluczową rolę w procesach biologicznych, m.in. uczestniczą w ich rozwoju, wzroście i dojrzewaniu [Shen i in. 2022]. W kosmologii flawonoidy wykorzystywane są przede wszystkim ze względu na działanie przeciwutleniające i łagodzące, a także wzmacniające ściany naczyń krwionośnych poprzez ochronę przed teleangiektazjami i wybroczynami [Arct i in. 2008].

Cukry, aminokwasy, nukleotydy, białka oraz kwasy organiczne stanowiące pierwotne metabolity znajdują się w różnych gatunkach należących do tej rodziny [Chrzanowska i in. 2024]. Niektóre rośliny, na przykład *B. officinalis* L. lub *E. vulgare* L., zostały uznane za dobre źródło unikalnych kwasów tłuszczowych, takich jak kwas γ -linolenowy oraz kwas stearydynowy [Zoń i Bacler-Żbikowska 2024]. Naturalnym związkiem fenolowym w roślinach z rodziny Boraginaceae jest powszechnie występujący kwas rozmarynowy [Hossan i in. 2014]. Ze względu na obecność grupy karboksylowej i czterech grup hydroksylowych wykazuje wysoką aktywność przeciwutleniającą, a także przeciw-wirusową, przeciwbakteryjną i przeciwzapalną. W roślinach kwas rozmarynowy działa jako związek obronny przed organizmami żywymi oraz czynnikami środowiskowymi [Petersen i Simmonds 2003, Kołodziejczyk-Czepas i in. 2015].

Rośliny z rodzaju *Symphytum* posiadają zdolność do produkcji alantoiny oraz cechują się dużą zawartością garbników, która w zależności od gatunku oraz warunków środowiskowych może się znacznie różnić. Wysoką zawartość garbników (38 mg/g suchej masy) stwierdzono w *Echium amoenum*, natomiast u *Pulmonaria mollis* wyniosła zaledwie 7,1 mg/g suchej masy surowca. W roślinach garbniki pełnią funkcję obronną przed atakami drobnoustrojów i roślinożerców, a także regulują wzrost i różnicowanie komórek. Ze względu na działanie ściągające, bakteriobójcze, niwelujące pieczenie i świąd znajdują one zastosowanie w preparatach kosmetycznych [Wytyczak 2023, Chrzanowska i in. 2024].

Naftochinony to związki wywodzące się z naftalenu, zazwyczaj w postaci 1,4-naftochinonów lub 1,4-naftohydrochinonów, często zawierające grupę fenolową. Jednym z ważniejszych barwników naftochinonowych jest alkanina oraz szikonina – związek oczerwonym zabarwieniu występujący w warstwie korowej korzeni wielu roślin z rodziny Boraginaceae, m.in. *Lithospermum erythrorhizon*. Szikonina i jej pochodne wykazują działanie przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne oraz przeciwzakrzepowe [Bołkowska i in. 2011]. Dawniej używana była do barwienia jedwabiu oraz wykorzystywana w tradycyjnej medycynie chińskiej, obecnie stosuje się ją do barwienia kosmetyków oraz żywności [Malik i in. 2023]. Właściwości lecznicze i terapeutyczne szikoniny skłoniły badaczy do zbadania szlaków molekularnych oraz mechanizmów związanych z różnymi stanami patologicznymi, co pozwoliło na określenie jej roli jako potencjalnego środka terapeutycznego. Badania te doprowadziły do odkrycia przeciwnowotworowych właściwości w szerokim spektrum nowotworów, w tym raka żołądka, szyjki macicy, prostaty, skóry, jelita grubego, płuc, piersi oraz białaczki [Gautam i in. 2024]. Udowodniono, że szikonina wykazuje szereg cennych aktywności biologicznych – pozytywnie wpływa na gojenie się ran, obniża stan zapalny, a także działa przeciwnowotworowo, hamując proliferację i migrację komórek [Guo i in. 2017].

Alkaloidy

Alkaloidy to szeroka grupa wtórnych metabolitów roślinnych, które zawierają azot i często wykazują silne działanie biologiczne. Związki te powstają głównie podczas biosyntezy aminokwasów i pełnią różnorodne funkcje biologiczne w roślinach, w tym ochronne przed roślinożercami oraz mikroorganizmami [Naliwajski 2020]. Wśród grup alkaloidów w rodzinie ogórecznikowatych wyróżnić można m.in.: alkaloidy indolowe, tropolonowe, pirolizydynowe. Dominującą grupą są alkaloidy pirolizydynowe (PA), obecne m.in. w żywokoście lekarskim (*S. officinale* L.) oraz ogóreczniku lekarskim (*B. officinalis* L.) [Kania-Dobrowolska i in. 2018].

Pozytywny wpływ alkaloidów na organizm

Żywokost lekarski od wieków jest wykorzystywany w leczeniu ran, schorzeń stawów, siniaków, skręceń, naderwań mięśni i więzadeł, stanów zapalnych, hemoroidów oraz złamań kości. Stosowanie żywokostu zewnętrznie nie wykazało działań niepożądanych, co świadczy o jego bezpieczeństwie i skuteczności przy aplikacji miejscowej [Frost

i in. 2013]. Komisja Europejska ze względu na ograniczone przenikanie alkaloidów pirolizydynowych (AP) przez skórę, w celu zwiększenia bezpieczeństwa zaleca, aby preparaty zewnętrzne zawierające AP stosować maksymalnie przez 4 do 6 tygodni [Blumenthal i in. 1998].

Niektóre nasycone alkaloidy pirolizydynowe wykazują istotne właściwości farmakologiczne i biologiczne, w tym działanie spazmolityczne, przeciwhistaminowe, przeciwwirusowe oraz pełnią funkcję inhibitorów glikozydaz [Garcia-Moreno i in. 2004]. W kontrolowanych dawkach alkaloidy znajdują zastosowanie w terapii jako składniki leków rozkurczowych, przeciwbólowych oraz antyseptycznych, co podkreśla ich potencjał w medycynie [Neczaj 2022]. Metabolity wtórne roślin charakteryzują się szerokim spektrum aktywności biologicznej, co umożliwia ich wykorzystanie w przemyśle farmaceutycznym zarówno jako substancje czynne, jak i prekursorzy w syntezie leków. Przykładem ich klinicznego wykorzystania są alkaloidy stosowane w terapii nadciśnienia, arytmii serca, nowotworów, a także w zwalczaniu lekoopornych szczepów *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* [Verpoorte i in. 2002]. Związki roślinne z rodziny ogórecznikowatych, w tym alkaloidy, dzięki swoim właściwościom znalazły zastosowanie w kosmologii, szczególnie jako składniki o działaniu antyoksydacyjnym i poprawiającym elastyczność skóry. Wzrost popularności kosmetyków naturalnych oraz rozwój ruchów proekologicznych przyczyniają się do intensyfikacji badań nad ich potencjałem i mechanizmami działania [Dudka i in. 2016].

Choć AP nie są ujęte w wykazie substancji kosmetycznych INCI, ekstrakty roślin je zawierających znajdują zastosowanie w produktach kosmetycznych. Z tego względu istnieje konieczność oceny ryzyka związanego z ich obecnością w takich produktach [Bucheli i in. 2018]. Analiza ta powinna uwzględniać określenie marginesu bezpieczeństwa, który wskazuje dopuszczalną dawkę narażenia skóry na te związki w ciągu doby. Szczególnie ważne jest założenie, że w przypadku aplikacji przeznaskórkowej może dojść do pełnej, 100-proc. absorpcji AP [Trifan i in. 2018].

W produktach spożywczych dopuszczalne stężenie alkaloidów pirolizydynowych zostało szczegółowo określone w Rozporządzeniu Komisji (UE) 2020/2040 z dnia 11 grudnia 2020 r., zmieniającym rozporządzenie (WE) nr 1881/2006. Zgodnie z tym aktem prawnym najwyższe dopuszczalne poziomy AP w suszonych liściach ogórecznika lekarskiego przeznaczonych do bezpośredniego spożycia wynoszą 750 µg/kg, w pozostałych suszonych ziołach ogórecznika, limit został określony na poziomie 1000 µg/kg [Rozporządzenie Komisji (UE) 2020/2040]. W suplementach diety zawierających składniki roślinne z rodziny Boraginaceae maksymalny dopuszczalny poziom alkaloidów pirolizydynowych został ustalony na 400 µg/kg [Rozporządzenie Komisji (UE) 2020/2040]. Uregulowania te mają na celu ograniczenie narażenia konsumentów na działanie związków o udokumentowanym potencjale hepatotoksycznym, kancerogennym i genotoksycznym [Kania-Dobrowolska i in. 2018].

W produktach leczniczych stosowanych u ludzi nie określono dotąd jednoznacznych wartości granicznych dla zawartości AP pochodzących z surowców roślinnych z rodziny Boraginaceae [Dyrektywa 2001/83/WE].

W odniesieniu do kosmetyków alkaloidy pirolizydynowe należą do substancji uznanych za potencjalnie rakotwórcze (CMR). Zgodnie z Rozporządzeniem (WE) nr 1223/2009 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 30 listopada 2009 r., substancje sklasyfikowane jako CMR kategorii 1A, 1B oraz 2 są zasadniczo zakazane w produktach

kosmetycznych (art. 15 ust. 1). Wyjątkowo mogą być one dopuszczone do stosowania pod warunkiem spełnienia ściśle określonych warunków, w tym pozytywnej oceny bezpieczeństwa dokonanej przez Komitet Naukowy ds. Bezpieczeństwa Konsumentów (SCCS), udowodnienia braku dostępnych alternatyw oraz uzasadnienia ich stosowania z punktu widzenia zdrowia publicznego (art. 15 ust. 2) [Rozporządzenie (WE) nr 1223/2009].

Negatywny wpływ alkaloidów pirolizydynowych na organizm

Alkaloidy pirolizydynowe wykazują działanie toksyczne oraz genotoksyczne, przyczyniając się do wystąpienia ostrej toksyczności, mutagenezy, aberracji chromosomowych oraz nieprawidłowego tworzenia wiązań krzyżowych DNA i kompleksów DNA-białko, a także indukując megalocytozę. Wyniki badań przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych wskazują, że ekspozycja na te związki sprzyja rozwojowi nowotworów wątroby oraz może wywoływać uszkodzenia układu oddechowego [Kania-Dobrowolska i in. 2018]. Ekspozycja na AP jest szczególnie niebezpieczna dla kobiet w ciąży, gdyż związki te przenikają przez barierę łożyskową, przez co mogą uszkodzić wątrobę płodu i zakłócać jego rozwój [Rasenack i in. 2003]. Alkaloidy indolowe (tryptamina) i tropanowe (skopolamina, histocyamina) występujące w rodzinie Boraginaceae wykazują silne działanie antycholinergiczne, wpływając na ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy. Spożycie tych związków może prowadzić do objawów zatrucia, takich jak suchość w ustach, rozszerzenie źrenic, halucynacje, drgawki, dezorientacja, osłabienie funkcji motorycznych, a w ciężkich przypadkach do śpiączki lub zgonu [El-Shazly i in. 2014].

Alkaloidy pirolizydynowe mogą przedostawać się do żywności na różne sposoby. Jednym z istotnych zagrożeń jest zanieczyszczenie surowców przez rośliny, które naturalnie wytwarzają te związki i rosną w sąsiedztwie upraw przeznaczonych do spożycia [Materska i in. 2013, Kania-Dobrowolska i in. 2018]. W przypadku produktów pochodzenia zwierzęcego, takich jak jaja czy mleko, źródłem alkaloidów bywa pasza skażona tymi toksynami. Związki te mogą akumulować się w roślinach paszowych, zbożach, warzywach oraz ziołach, co z kolei prowadzi do przenikania ich do całego łańcucha żywnościowego [Kempf i in. 2010].

W rezultacie alkaloidy mogą być obecne w gotowych produktach spożywczych, na przykład w pieczywie, wypiekach, miodzie, mieszkach sałat, herbatach ziołowych czy suplementach diety. Dodatkowo istnieje ryzyko stosowania w produkcji żywności samych roślin, które naturalnie syntetyzują te substancje, np. w formie ekstraktów lub preparatów roślinnych [Edgar i in. 2011].

Podsumowanie

Rośliny z rodziny Boraginaceae stanowią cenne źródło związków biologicznie aktywnych, w tym alkaloidów o zróżnicowanym działaniu farmakologicznym. Praca przedstawia ich klasyfikację, właściwości oraz potencjalne zastosowania, zwracając szczególną uwagę na alkaloidy pirolizydynowe – związki o dużym znaczeniu, ale i ryzyku toksycznym. Pomimo ich terapeutycznego potencjału, obecność tych alkaloidów wymaga

ostrożności i podlega regulacjom prawnym. Zgromadzona literatura podkreśla potrzebę dalszych badań nad bezpieczeństwem i skutecznością ekstraktów roślinnych, co może przyczynić się do ich bezpiecznego wykorzystania w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.

Bibliografia

- Alias J., Barikbin B., Khoshzaban F., Naseri M., Sedaghat R., Kamalinejad M., Mohseni-Moghadam P., 2015. Effect of *Arnebia euchroma* ointment on post-laser wound healing in rats. J. Cosm. Las. Ther. 17(1), 41–45.
- Arct, J., Pytkowska K., 2008. Flavonoids as components of biologically active cosmeceuticals. Clin. Dermatol. 26, 347–357.
- Bołonkowska O., Pietrosiuk A., Sykłowska-Baranek K., 2011. Roślinne związki barwne, ich właściwości biologiczne oraz możliwości wytwarzania w kulturach in vitro. Prosp. Pharm. Scien. 9(1), 1–27.
- Bucheli T.D., Bjarne W. S., Bruun Hansen H. Ch., 2018. Personal care products are only one of many exposure routes of natural toxic substances to humans and the environment. Cosm. 5(1), 10, <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010010>.
- Chrzanowska E., Denisow B., Ekiert H., Pietrzyk Ł., 2024. Metabolites obtained from boraginaceae plants as potential cosmetic ingredients – a review. Molecules 29(21), 5088.
- Dresler S., Szymczak G., Wójcik M., 2017. Comparison of some secondary metabolite content in the seventeen species of the Boraginaceae family. Pharm. Biol. 55(1), 691–695.
- Dudka K., Baran M., Karpik E., 2016. Roślinne metabolity wtórne i ich zastosowanie w kosmetyce, W: B. Zdunek, M. Olszówka (red.), Przegląd wybranych prac z zakresu enzymologii. Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju „Tygiel”, Lublin.
- Dyrektywa 2001/83/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 6 listopada 2001 r. w sprawie wspólnotowego kodeksu odnoszącego się do produktów leczniczych stosowanych u ludzi.
- Edgar J.A., Colegate S.M., Boppré M., Molyneux R.J., 2011. Alkaloidy pirolizydynowe w żywności: spektrum potencjalnych konsekwencji zdrowotnych. Food Add. Contam. Part A, 28(3), 308–324. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.547520>.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Knutsen H.K., Alexander J., Barregård L., Bignami M., Brüschweiler B., Ceccatelli S., Cottrill B., Dinovi M., Edler L., Grasl-Kraupp B., Hogstrand Ch., Hoogenboom L.(R.), Nebbia C.S., Oswald I.P., Petersen A., Rose M., Roudot A.-C., Schwerdtle T., Vleminckx Ch., Vollmer G., Wallace H., Gomez Ruiz J.A., Binaglia M., 2017. Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements. EFSA J. 15(7), e04908.
- El-Shazly A., Wink M., 2014. Różnorodność alkaloidów pirolizydynowych w strukturach, dystrybucji i właściwościach biologicznych Boraginaceae. Diversity, 6(2), 188–282, <https://doi.org/10.3390/d6020188>.
- Fazly Bazzaz B.S., Haririzadeh G., Imami S., Rashed M., 1997. Survey of Iranian plants for alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. Int. J. Pharm. Pharm. Biol. 35, 17–30, <https://doi.org/10.1076/phbi.35.1.17.13275>.
- García-Moreno M.I., Rodríguez-Lucena D., Mellet C.O., García Fernández J.M., 2004. Pseudoamide-type pyrrolidine and pyrrolizidine glycomimetics and their inhibitory activities against glycosidases. J. Org. Chem. 69(10), 3578–3581.
- Gautam S., Lapčík L., Lapčíková B., 2024. Pharmacological significance of Boraginaceae with special insights into shikonin and its potential in the food industry. Foods (Basel, Switzerland) 13(9), 1350, <https://doi.org/10.3390/foods13091350>.

- Guo C., He J., Song X., Tan L., Wang M., Jiang P., Li Y., Cao Z., Peng C., 2019. Pharmacological properties and derivatives of shikonin – a review in recent years. *Pharm. Res.* 149, 104463.
- Hossan M.S., Rahman S., Bashar A.B.M.A., Jahan R., Al-Nahain A., Rahmatullah M., 2014. Rosmarinic acid: a review of its anticancer action. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 3(9), 57–70.
- Kania-Dobrowolska M., Baraniak J., Kujawski R., Ożarowski M., 2018. Pyrrolizidine alkaloids – source and risk for human health. *Post. Fitoter.* 3, 195–202.
- Kempf M., Wittig M., Schönfeld K., Cramer L., Schreier P., Beuerle T., 2010. Alkaloidy pirolizydynowe w żywności: skażenie łańcucha pokarmowego spowodowane miodem i pyłkiem. *Food Add. Cont. Part A* 28(3), 325–331, <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.521771>.
- Kołodziejczyk-Czepas J., Szejka M., Pawlak A., Żbikowska H.M., 2015. Właściwości przeciwutleniające kwasu kawowego i jego pochodnych. *Żyw. Nauk. Tech. Jak.* 22(3), 5–17, <http://dx.doi.org/10.15193/zntj/2015/100/035>.
- Malik S., Brudzińska P., Khan M.R., Sytar O., Makhzoum A., Sionkowska A., 2023. Natural plant-derived compounds in food and cosmetics: a paradigm of shikonin and its derivatives. *Materials* 16(12), 4377.
- Materska M., Czeżko R., Karaś M., 2013. Alkaloidy pirolizydynowe – ryzyko występowania w miodach. *Przem. Spoż.* 67(7), 26–28.
- Naliwajski M., 2020. Analiza jakościowa i ilościowa wybranych metabolitów wtórnych w roślinnych surowcach leczniczych. W: E. Kuźniak-Gębarowska, M. Skłodowska (red.), *Przewodnik do ćwiczeń z fizjologii roślin*. Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź, 213–224.
- Neczaj E., 2022. Procesy biorafineryjne w oczyszczalniach ścieków. W: A. Rosińska, B. Karwowska, M. Madeła (red.), *Inżynieria środowiska i biotechnologia wyzwania i nowe technologie*. Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa, 190–200.
- Özcan T., 2008. Analysis of the total oil and fatty acid composition of seeds of some Boraginaceae taxa from Turkey. *Plant. Syst. Evol.* 274, 143–153.
- Petersen M., Simmonds M.S., 2003. Rosmarinic acid. *Phytochemistry* 62(2), 121–125.
- Rasenack R., Müller C., Kleinschmidt M., Rasenack J., Wiedenfeld H., 2003. Veno-occlusive disease in a fetus caused by pyrrolizidine alkaloids of food origin. *Fetal Diagn. Ther.* 18(4), 223–225.
- Riedl H., 1997. Boraginaceae. *Flora Malesiana ser.1, Spermatophyta* 13(1), 43–144.
- Rozporządzenie (WE) nr 1223/2009 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczące produktów kosmetycznych.
- Rozporządzenie Komisji (UE) 2020/2040 z dnia 11 grudnia 2020 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów alkaloidów pirolizydynowych w niektórych środkach spożywczych.
- Sergiel I., 2024. Flawonoidy – naturalne związki o potencjale przeciwwirusowym i przeciwnowotworowym. *Post. Biochem.* 70(4), 474–482.
- Shen N., Wang T., Gan Q., Liu S., Wang L., Jin B., 2022. Plant flavonoids: classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chem.* 383, 132531, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>.
- Smith G.F., Van Wyk A.E., Steyn E.A., Retief E., 2004. Boraginaceae. *Botha.* 34(1), 44–47.
- Sulborska A., 2019. *Rośliny pożytkowe*. Wyd. Bee & Honey, Klecza Dolna, 754.
- Takhtajan A., 2009. *Flowering Plants*. Springer Netherlands, Niemcy.
- Trifan A., Opitz S.E.W., Josuran R., Grubelnik A., Esslinger N., Peter S., Bräm S., Meier N., Wolf-ram E., 2018. Czy korzeń żywokostu jest czymś więcej niż toksycznymi alkaloidami pirolizydynowymi? Kwasy salwinolinowe wśród polifenoli antyoksydacyjnych w korzeniach żywokostu (*Symphytum officinale* L.). *Food Chem. Toxicol.* 112, 178–187.
- Wytyczak K., 2023. Roślinne substancje aktywne wybranych gatunków roślin kosmetycznych. *Zesz. Nauk. Akad. Górnośląsk.* 8, 130–139.

- Verpoorte R., Contin A., Memelink J. 2002. Biotechnologia w produkcji wtórnych metabolitów roślinnych. Przegl. Fitochem. 1, 13-25.
- Zoń A., Bacler-Żbikowska B., 2024. Mącznica lekarska *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng.–potencjał terapeutyczny oraz zastosowanie w medycynie i kosmetologii. Herbalism 10(1), 78–92.

Wpływ dodatku wytłoków z jagody kamczackiej (*Lonicera caerulea* L.) na jakość muffinów biszkoptowo-tłuszczowych

Influence of the addition of extruded kamchatka berries (*Lonicera caerulea* L.)
on the quality of biscuit-fat muffins

Wstęp

Dieta jest częścią stylu życia, który od lat uważa się za jeden z istotniejszych determinantów zdrowia [Lalonde 1974], zależny prawie całkowicie od człowieka. W dzisiejszych czasach jedzenie ma nie tylko zaspokajać głód, to, co spożywamy, ma duży wpływ na zdrowie i samopoczucie. Odpowiednia dieta może służyć jako narzędzie do obniżenia lub podwyższenia wagi, ale dzięki niej można również zapobiec rozwojowi wielu chorób i niedoborów [Gardocka-Jałowiec i in. 2020]. Przez zmianę postrzegania diety ludzie częściej zwracają uwagę na to, jakie artykuły spożywcze trafiają do ich koszyków sklepowych. Według badań Niewczas [2013] aż 62,2% społeczeństwa przy wyborze żywności zwraca uwagę na skład produktu. W związku z tym konsumenci preferują artykuły spożywcze o wyższej jakości, a producenci wprowadzający do obrotu nowe produkty, aby utrzymać się na dzisiejszym rynku, muszą sprostać ich oczekiwaniom. Barska [2013] w swoich badaniach dowodzi, że kupujący poza ceną, jakością, świeżością, smakiem i dostępnością, zwracają uwagę również na takie cechy jak zdrowotność i innowacyjność produktu.

W związku z poszukiwaniem nowych produktów żywnościowych bogatych w składniki prozdrowotne, obserwuje się zainteresowanie owocami gatunków, które dotychczas były rzadko uprawiane lub pozyskiwane ze środowisk naturalnych, zwłaszcza tymi o ciemnej skórce, które charakteryzują się działaniem przeciwutleniającym [Leja 2007, Wojdyło 2013]. Wśród antyoksydantów obecnych w roślinach wyjątkową rolę przypisuje się związkom polifenolowym. Chaovanalikit i in. [2004] podają, że owoce jagody kamczackiej są ich doskonałym źródłem. Powyższa roślina owocodajna jest znana od dawna, pochodzi głównie od gatunków *Lonicera kamtschatica* i *Lonicera caerulea*, jej owocem jest podłużna, mięsista nibyjagoda o ciemnofioletowej barwie, pokryta niebieskim woskowym nalotem [Baranec 1988]. Jagoda kamczacka jest wykorzystywana głównie w produkcji soków i dżemów, przy pierwszym z procesów powstaje duża ilość

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Studenckie Koło Naukowe Technologów Żywności, juliazarzeczna1@gmail.com

² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Inżynierii i Technologii Zbóż

wytłoków. Według Muthu i in. [2020] produkty uboczne z przetwórstwa owoców i warzyw stanowią 20–30% suchej masy, która jest bogata w witaminy, minerały i błonnik pokarmowy, więc stanowi doskonały komponent produktów żywnościowych.

Żary-Sikorska [2024] podaje, że rocznie marnuje się ok. 1,3 biliona ton żywności na świecie, z czego ok. 5–9 milionów w Polsce, duża część z tych strat pochodzi z przetwórstwa owoców i warzyw. Naprzeciw problemowi marnotrawstwa wychodzi koncepcja zero waste, czyli „zero śmieci”, jednak bardziej odpowiednim tłumaczeniem byłoby „zero marnowania”, ponieważ zakłada ona zmniejszenie ilości odpadów do minimum, ale również ponowne ich wykorzystanie [Murray 2002]. Jednym z produktów ubocznych przemysłu owocowo-warzywnego, są wytloki, czyli pozostałości nasion, owoców lub warzyw po wyciśnięciu z nich soku lub oleju. Podczas tradycyjnego tłoczenia stanowią one 20–25% masy surowca – stosując odpowiednie metody można zmniejszyć tę liczbę do 12%, ale nadal stanowią one dużą część [Kawecka i in. 2021].

Mając na uwadze rosnące zainteresowanie konsumentów żywnością funkcjonalną oraz ideologią zero waste, podjęto się badań mających na celu określenie wpływu dodatku wytłoków z jagody kameczackiej (JK) do muffinów biszkoptowo-tłuszczowych na ich jakość oraz określenie możliwości uzyskania produktu o wysokiej jakości organoleptycznej, akceptowalnej przez konsumentów.

Material i metody

Muffiny zostały przygotowane w pięciu różnych wariantach, próba kontrolna (M0JK) bez dodatku wytłoków (0%) oraz cztery z użyciem komponentu jako zamiennika mąki pszennej, z dodatkiem 3% (M3JK), 6% (M6JK), 9% (M9JK), 12% (M12JK). Ciasto przygotowano z mąki pszennej typ 500 Polskie Młyny (wilgotność 9,09%, liczba opadania 310 s, zawartość glutenu mokrego) oraz zakupionych na lokalnym rynku (u zaufanych sprzedawców) jaj kurzych, cukru, oleju oraz proszku do pieczenia w proporcjach zgodnych z tabelą 1. Do wytworzenia ciasta biszkoptowo-tłuszczowego wykorzystano metodę na zimno. Zgodnie z przyjętą technologią produkcji ciasta na muffiny w jednym naczyniu umieszczono surowce sypkie (po wcześniejszym przesianiu proszku do pieczenia i mąki), a w drugim mokre. Olej, mleko oraz masło wymieszano przy użyciu trzepaczki. Do mokrych składników stopniowo dodawano jaja (wcześniej wybite), ciągle je mieszając. Suche składniki dodawano stopniowo do mokrych, łącząc je przy pomocy miksera (Black+Decker TM; Model: BXM500E; Typ: HAT-9210A) przez 2 min na biegu 5. Do formy na muffiny wylewano gotowe ciasto (50 g na jedną foremkę). Blaszkę z 12 muffinami umieszczano w piekarniku nagrzanym do 180°C i wypiekano przez 30 min z ustawieniem ogrzewania góra-dół. Po upieczeniu muffiny zostały wystudzone i, aby nie wyschły, złożone do specjalnego pojemnika do przechowywania ciast.

Tabela 1. Składniki

Surowce	M0JK	M3JK	M6JK	M9JK	M12JK
Mąka typ 500	100%	97%	94%	91%	88%
Wytłoki z jagody kamczackiej (WJK)	–	3%	6%	9 %	12%
Jajka	64,86%				
Cukier	33,29%				
Olej	30%				
Mleko	40,09%				
Proszek do pieczenia	2%				

Wydajność ciasta obliczano z poniższej zależności:

$$W_c = \frac{a}{m} \times 100$$

gdzie:

W_c – wydajność ciasta (%),

a – masa ciasta (g),

m – masa użytej mąki o wilgotności 15% (g).

Wydajność muffina obliczano z zależności:

$$W_p = \frac{c}{a} \times W_c$$

gdzie:

W_p – wydajność muffina (%),

a – masa kęsa ciasta (g),

c – masa muffina po ostygnięciu (g),

W_c – wydajność ciasta (%).

Upiek obliczano z poniższej zależności:

$$U_w = \frac{(a-b)}{a} \times 100$$

gdzie:

U_w – upiek ciasta (%),

a – masa kęsa ciasta (g),

b – masa pieczywa gorącego po wyjęciu z pieca (g).

Stratę piecową całkowitą obliczano z poniższego wzoru:

$$S_c = \frac{(a-c)}{a} \times 100$$

gdzie:

S_c – strata piecowa całkowita (%),

a – masa kęsa ciasta (g),

c – masa pieczywa po ostygnięciu (g).

Oznaczenie objętości 100 g produktu wykonano za pomocą nasion gorczycy. Zlewkę napełniono gorczycą po same brzegi i wyrównano powierzchnię. Następnie z tak przygotowanego naczynia odsypano część nasion, umieszczono w nim muffina i uzupełniono zlewkę odsypanymi nasionami gorczycy. Pozostałe nasiona przesypano do cylindra miarowego i zmierzono ich objętość. Objętość 100 g produktu obliczono z poniższej zależności:

$$V_{100} = \frac{V}{A} \times 100$$

gdzie:

V_{100} – objętość 100 g muffina (cm^3),

V – objętość muffina (cm^3),

A – masa muffina (g).

Średnią wysokość muffina określono, mierząc muffiny w centymetrach w ich najwyższym punkcie, a następnie obliczając średnią arytmetyczną pomiarów.

Wilgotność miękiszu oznaczono metodą suszarkową (AACC, Metod 44-15A). Dla każdej próbki wykonano trzy powtórzenia.

Oznaczenie barwy produktu wykonano na próbkach ze środkowej części muffinów. Materiał przebadano przy zastosowaniu fotokolorymetru Minolta CR-400 (głowica pomiarowa o średnicy 8 mm, ze standardowym źródłem światła – D65) zgodnie z metodą opisaną przez Wirkijowską i in. [2020]. Wykonano 10 powtórzeń dla każdej próby.

Analizę TPA (z ang. *texture profile analysis*) przeprowadzono 24 h po wypieku, w 5 powtórzeniach – pokrojono centralną część muffina w 2-cm kromki i usunięto zewnętrzne części, a następnie z plastrów wycięto sześciiany o wymiarach $30 \times 30 \times 20$ mm. Pomiary zostały przeprowadzone przy wykorzystaniu testu podwójnego ściskania za pomocą analizatora tekstury Brookfield AMETEK, (CTX, USA) z maksymalną siłą 500 N. Zastosowano następujące parametry: ściskanie do 50% pierwotnej wysokości, stała prędkość ruchu głowicy 1 mm/s oraz sonda o średnicy 50 mm. Na podstawie przeprowadzonej analizy uzyskano krzywe siły-deformacji. Za pomocą oprogramowania Texture Pro (ver. 1.0.19 Standard Edition) określono takie właściwości tekstury jak:

- twardość (N),
- sprężystość (–),
- kohezja (–),
- żujność (mJ).

Zawartość białka, tłuszczu, wilgoci, popiołu i błonnika pokarmowego surowca i produktu zostały określone przy użyciu standardowych metod (AACC, 2000; AOAC,

2016). Zawartość białka oznaczano przy użyciu urządzenia KjeltecTM8400 (Foss Analytical AB, 8400, Höganäs, Szwecja) z aplikacją ASN 3100. Destylację wykonano w automatycznym urządzeniu Kjeltec Auto (Tecator). Zawartość azotu przekształcono w białko przy użyciu współczynnika konwersji N5.7. Całkowitą zawartość tłuszczu oznaczono przez ciągłą ekstrakcję przy użyciu eteru w urządzeniu SoxtecTM8000 (Foss Analytical AB, 8000, Höganäs, Szwecja) z aplikacją AN 310. Zawartość popiołu i wilgoci zbadano zgodnie z metodą AACC 08-01 i metodą AACC 44-15A. Zawartość błonnika pokarmowego oznaczono metodą enzymatyczną (AACC, 2000; AOAC International, 2016), co pozwoliło na określenie frakcji błonnika pokarmowego nierozpuszczalnej w wodnym roztworze enzymów (IDF) i rozpuszczalnej w wodnym roztworze enzymów (SDF) oraz całkowitej zawartości błonnika (TDF). Analizy przeprowadzono przy użyciu zestawu enzymów i procedur firmy Megazyme (Bray, Irlandia). Zawartość całkowitego błonnika pokarmowego (TDF) obliczono jako sumę frakcji IDF i SDF. Obliczono ilość węglowodanów przyswajalnych. Wartość energetyczną wyrażoną w kilokaloriach (kcal) określono za pomocą modyfikowanego czynnika Atwater (białko – 4 kcal, węglowodany – 4 kcal, tłuszcz – 9 kcal, TDF – 2 kcal).

Ocenę organoleptyczną wykonano w oparciu o 5-punktową skalę hedoniczną. Gdzie 5 oznacza ocenę najlepszą, a 1 najgorszą. Po 24 h od wypieku ocenie poddano takie cechy produktu, jak: wygląd zewnętrzny, barwa, zapach, elastyczność, porowatość i smak. Próbkę były oznaczone losowymi numerami. W ocenie organoleptycznej brało udział 16 osób (w tym 4 mężczyzn i 12 kobiet w wieku 23–40 lat), które wcześniej zostały wstępnie przeszkolone.

Na potrzeby pracy przyjęto, że średnia ocen w poszczególnych przedziałach oznacza:

- 5,0–4,5 – pełną akceptowalność produktu,
- 4,49–4,0 – akceptowalność z pojedynczymi odmiennymi cechami,
- 3,99–3,0 – produkt bardzo dobry, ale o odmiennych cechach,
- 2,99–2,0 – produkt dobry, ale o wielu odmiennych cechach,
- 1,99–1 – produkt nieakceptowany.

Analizy statystycznej dokonano przy użyciu programu STATISTICA 13.1.

Wyniki i dyskusja

Wydajność ciasta wyniosła 270%, natomiast wydajność muffiny kontrolnej to 238 ± 3 . Wraz ze wzrostem udziału procentowego dodatku wytlóków do ciasta wydajność muffin wzrastała – poza produktem wzbogaconym o 12% dodatku, choć wydajność była i tak większa niż w próbie kontrolnej. Najwyższy wynik uzyskała próba z 9-proc. dodatkiem (tab. 2). Upiek ciasta malał wraz ze zwiększeniem ilości dodatku, w próbie kontrolnej był on równy 11 ± 1 , a w produkcie z 12-proc. dodatkiem wyniósł 6 ± 1 (tab. 2). Procesowi pieczenia, a następnie studzenia muffinów towarzyszy utrata wilgoci. Największą stratą piecową całkowitą wykazała się próba bez dodatku wytlóków z jagody kameczackiej, a ich dodatek zmniejszał stratę (tab. 2). Wyniki te wskazują, że dodatek wytlóków z jagody kameczackiej zmniejsza straty w procesie wytwarzania muffinów. W literaturze można znaleźć podobne zmiany w wydajności pieczywa po dodaniu do niego wytlóków, jednak wskazano, że wpływał on odwrotnie na upiek ciasta i stratę piecową całkowitą [Tańska i in. 2011].

Tabela 2. Ocena wydajności wypieku laboratoryjnego (%)

Nazwa próby	Wydajność ciasta	Wydajność muffiny	Upiek ciasta	Strata piecowa całkowita
M0JK	270	238 ±3a	11 ±1c	12 ±1b
M3JK		240 ±6ab	10 ±0bc	10 ±2ab
M6JK		242 ±2ab	9 ±2ab	10 ±1ab
M9JK		247 ±3b	7 ±1ab	10 ±2ab
M12JK		243 ±4b	6 ±1a	8 ±1a

Dodatek wytlóków z jagody kamiczackiej powodował redukcję objętości gotowego wyrobu (tab. 3) jednak spadek ten nie był istotny statystycznie, w innych badaniach wykazano porównywalny wpływ dodatku wytlóków na objętość wypieku [Tańska i in. 2011]. Badania wykazały również redukcję średniej wysokości muffinów z dodatkiem wytlóków w porównaniu z próbą M0JK, przy czym nie odnotowano istotnego wpływu wielkości wprowadzonego dodatku na badaną cechę. Badania wykazały, że wilgotność wzrastała wraz ze zwiększeniem ilości dodanych do muffinów wytlóków, przy czym statystycznie istotny wzrost odnotowano tylko dla próby M12JK w porównaniu z M0JK. Wartość wilgotności próby kontrolnej była porównywalna z danymi literaturowymi [Kusińska i in. 2012] i o ponad 3 p.p. niższa niż próby z dodatkiem 12% (tab. 3). Zmiany wilgotności są porównywalne z zachodzącymi w innych produktach wzbogaconych wytlókami [Tańska i in. 2011].

Tabela 3. Oceny cech fizycznych muffinów

Nazwa próby	Objętość 100 g produktu (cm ³)	Średnia wysokość muffina (cm)	Wilgotność świeżego muffina (%)
M0JK	205 ±25,16a	5,3 ±0,2a	32,39 ±0,34a
M3JK	180 ±16,33a	4,7 ±0,1b	33,32 ±0,37ab
M6JK	185 ±19,14a	4,6 ±0,3b	33,69 ±1,44ab
M9JK	180 ±16,33a	4,6 ±0,3b	34,4 ±0,72ab
M12JK	180 ±16,33a	4,3 ±0,1b	35,47 ±1,43b

Barwa jest jedną z pierwszych cech branych pod uwagę przy wyborze produktu przez konsumenta, a zmiany w kolorze wypieków były zauważalne gołym okiem. Całkowita różnica barwy (ΔE^*) wyniosła 28,93 ±6,42 w muffinie wzbogaconym 3% wytlóków i aż 43,7 ±5,46 przy 12% wytlóków, co klasyfikuje każdy z wyników jako oczywistą różnicę barwy (tab. 4). Ocena barwy gotowych muffinów wykazała istotne pociemnienie prób z dodatkiem wytlóków w porównaniu z próbą M0JK, o czym świadczy redukcja wartości parametru L^* i WI . Analiza poszczególnych parametrów barwy wykazała, że dodatek wytlóków powoduje zwiększenie udziału barwy czerwonej (wzrost wartości pa-

rametru a^*) oraz niebieskiej (redukcja parametru b^*) (tab. 4). Wyniki te były spodziewane ze względu na ciemnofioletowy kolor jagód kamczackich, z których powstał surowiec dodany do wypieków.

Tabela 4. Wyniki oceny barwy

Nazwa próby	L^*	a^*	b^*	WI	ΔE^*
M0JK	63,29 $\pm$ 1,65a	0,5 $\pm$ 0,14c	16,96 $\pm$ 0,8a	59,54 $\pm$ 1,38a	
M3JK	34,21 $\pm$ 6,48b	3,23 $\pm$ 0,63b	16,96 $\pm$ 0,8a	33,72 $\pm$ 6,36b	28,93 $\pm$ 6,42c
M6JK	30,37 $\pm$ 3,59bc	6,5 $\pm$ 0,84a	7,06 $\pm$ 1,42b	29,89 $\pm$ 3,54bc	33,69 $\pm$ 3,56bc
M9JK	27,05 $\pm$ 2,72cd	7,99 $\pm$ 0,65a	4,82 $\pm$ 0,91c	26,53 $\pm$ 2,65cd	37,46 $\pm$ 2,52b
M12JK	21,83 $\pm$ 4,9d	8,79 $\pm$ 1,47a	3,52 $\pm$ 0,61c	21,25 $\pm$ 4,7d	43,7 $\pm$ 5,46a

Tekstura jest kolejnym bardzo istotnym aspektem dla konsumentów [Balon i in. 2016] i wpływa na organoleptyczny odbiór produktu. Analiza TPA, której wyniki przedstawia tabela 5, wskazała na zmniejszenie sprężystości i nieistotne statystycznie kohezyności, zmianom uległa też twardość i żujność produktu. W przypadku dwóch ostatnich właściwości badanie wykazało duże obniżenie wartości przy dodatku 3% (w porównaniu z próbą kontrolną), natomiast przy zwiększeniu ilości wyłoków do 9% wyniki zaczęły wzrastać, a przy 12% osiągnęły wartości zbliżone do próby kontrolnej. Zmiany twardości produktu były porównywalne z wynikami badań innego wypieku wzbogaconego wyłokami [Siemianowska i in. 2016].

Tabela 5. Wyniki analizy TPA

Nazwa próby	Twardość	Sprężystość	Żujność	Kohezynność
M0JK	66,41 $\pm$ 4,65c	0,91 $\pm$ 0,02b	22,53 $\pm$ 1,72c	0,38 $\pm$ 0,02a
M3JK	38,08 $\pm$ 3,15a	0,89 $\pm$ 0,02ab	12,75 $\pm$ 1,13a	0,37 $\pm$ 0,02a
M6JK	41,00 $\pm$ 2,93a	0,88 $\pm$ 0,02ab	12,87 $\pm$ 0,71a	0,35 $\pm$ 0,01a
M9JK	49,18 $\pm$ 4,47b	0,87 $\pm$ 0,02a	15,22 $\pm$ 0,91b	0,35 $\pm$ 0,01a
M12JK	70,41 $\pm$ 6,09c	0,87 $\pm$ 0,01a	21,66 $\pm$ 0,77c	0,35 $\pm$ 0,02a

Użycie wyłoków z jagody kamczackiej jako częściowego zamiennika mąki pszennej znacznie zmieniło skład chemiczny gotowych muffinów (tab. 6). Wraz ze wzrostem udziału dodatku JK, wzrosła zawartość popiołu i białka, podobna zależność dotyczy tłuszczu, choć zmiany w jego ilości były większe niż w przypadku poprzednich składników. Zawartość węglowodanów uległa znacznemu zmniejszeniu w przypadku próby z 12-proc. dodatkiem, w przypadku pozostałych prób również odnotowano jej spadek w porównaniu z produktem kontrolnym. Największe różnice można zauważyć w zawartości błonnika pokarmowego, frakcja błonnika nierozpuszczalnego (IDF) w wodzie

zwiększyła się 5-krotnie w muffinie z 12-proc. dodatkiem (w porównaniu z próbą kontrolną), wzrosła też zawartość frakcji rozpuszczalnej (SDF), a w związku z tym również zawartość całkowitego błonnika pokarmowego (TDF). Kolejnym istotnym aspektem dla konsumentów jest wartość energetyczna produktu, która zmniejszała się wraz ze wzrostem zawartości wytlóków z jagody kaczackiej w muffinie, choć między próbami z dodatkiem 3% i 6% różnice były nieznaczne. Zmiany składu muffina wynikają bezpośrednio ze składu surowcowego, zwiększenie udziału wytlóków z jagody kaczackiej powoduje wzrost zawartości popiołu, białka, tłuszczu i błonnika pokarmowego oraz zmniejszenie ilości węglowodanów ze względu na różne składniki mąki i wytlóków. Modyfikacje zawartości składników chemicznych są zbieżne z wynikami badań pieczywa wzbogacanego pozostałościami przemysłowymi z owoców [Masiarz i in. 2019].

Tabela 6. Skład chemiczny surowców i produktów

Nazwa próbki	Popiół	Białko	Tłuszcz	Węglowodany	Błonnik (% s.m.)			Kcal
	(% s.m.)				IDF	SDF	TDF	
Mąka typ 500	10,82 ±0,01A	0,64 ±0,11A	0,49 ±0,01A	82,88 ±0,33B	2,58 ±0,07A	2,59 ±0,36A	5,17 ±0,04A	390,86 ±1,35B
WJK	11,68 ±0,03B	8,61 ±0,21B	5,14 ±0,26B	25,63 ±0,42A	32,24 ±0,13B	16,70 ±0,79B	48,94 ±0,65B	324,59 ±3,45A
M0JK	1,55 ±0,01a	10,83 ±0,2a	17,73 ±0,05a	63,87 ±0,1e	2,34 ±0,13a	3,78 ±0,03a	6,12 ±0,1a	317,98 ±0,11e
M3JK	1,64 ±0,03b	10,99 ±0,06ab	18,15 ±0,04b	61,05 ±0,37d	4,02 ±0,05b	4,22 ±0,62b	7,44 ±0,56b	311,8 ±0,45d
M6JK	1,84 ±0,02c	11,18 ±0,02a	19,52 ±0,02c	57,5 ±0,31c	4,9 ±0,12c	5,06 ±0,25c	9,96 ±0,37c	311,96 ±0,31c
M9JK	1,88 ±0,03c	11,21 ±0,01b	20,17 ±0,01d	49,19 ±0,02b	10,86 ±0,12d	6,71 ±0,2d	17,57 ±0,1d	298,18 ±0,04b
M12JK	1,94 ±0,01d	11,34 ±0,03b	20,75 ±0,16e	46,48 ±0,1a	12,3 ±0,46e	7,04 ±0,36e	19,34 ±0,1e	295,43 ±0,06a

Poza pozytywnymi zmianami w składzie chemicznym i w parametrach wypiekowych, żywność wprowadzana na rynek powinna też spełniać oczekiwania konsumentów i zostać przez nich zaakceptowana. By sprawdzić, czy muffiny biszkoptowo-tłuszczowe satysfakcjonują odbiorców przeprowadzono konsumencką ocenę cech organoleptycznych. Odnotowano wysoką (5 pkt) ocenę smaku i zapachu dla wszystkich prób poza M12JK. Najlepiej przez respondentów została oceniona próba M6JK, która otrzymała najwyższą ocenę (5) w każdej kategorii, tj. wygląd zewnętrzny, barwa, zapach, smak oraz elastyczność i porowatość (tab. 7).

Tabela 7. Wyniki konsumenckiej oceny cech organoleptycznych

Wyróżnik jakości	M0JK	M3JK	M6JK	M9JK	M12JK
Wygląd zewnętrzny	5	4,6	5	4,8	4,4
Zapach	5	5	5	5	4,6
Barwa	5	4,6	5	4,6	5
Elastyczność i porowatość	4,8	4,8	5	4,6	3,4
Smak	5	5	5	5	4,4
Ogólna ocena	4,96	4,8	5	4,8	4,36

Podsumowanie

Dodatek wytlóków z jagody kamczackiej do muffinów biszkoptowo-tłuszczowych wpłynął pozytywnie na parametry wypiekowe, co jest dobrą rekomendacją dla piekarzy i cukierników. Wzbogacenie wypieków nie wpłynęło negatywnie na objętość ani wilgotność produktów. W trakcie analizy TPA odnotowano istotny wpływ wytlóków z jagody kamczackiej na teksturę gotowego wyrobu, co jednak nie wpływało na ocenę konsumentów. Wprowadzenie komponentu już w ilości 3% spowodowało wzrost zawartości popiołu, białka, tłuszczu i błonnika pokarmowego oraz redukcję węglowodanów i wartości energetycznej. Dodatek wytlóków z jagody kamczackiej na poziomie do 9% jest w pełni akceptowalny przez konsumentów.

Wykazano, że możliwe jest wprowadzenie wytlóków z jagody kamczackiej do ciasta biszkoptowo-tłuszczowego i otrzymanie produktu o wysokiej jakości. Założenia postawione w pracy, dotyczące zarówno składu chemicznego, jak i oceny konsumentów, spełnia próba o 6-proc. i 9-proc. zawartości wytlóków.

Bibliografia

- Balon U., Dziadkowiec J.M., Sikora T., 2016. Cechy jakości żywności a decyzje zakupowe polskich konsumentów soków owocowych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 49, 788–794.
- Baranec T., Poláčiková M., Košťál J., 1988. *Systematická botanika*. SPU, Nitra, 206.
- Barska A., 2013. Kryteria wyboru produktów żywnościowych przez młodych konsumentów z Polski, Czech i Słowacji. *Zagad. Ekonom. Rol.* 337(4), 113–121.
- Chaovanalikit A., Wrolstad R.E., 2008. Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. *J. Food Sci.* 69(1), <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb17859.x>.
- Gardocka-Jałowicz A., Stańczyk P., Szalonka K., 2020. Wpływ żywienia i żywności na stan zdrowia w świetle badań. W: W. Nowak, K. Szalonka (red.), *Zdrowie i style życia: determinanty długości życia*. Prawnicza i Ekonomiczna Biblioteka Cyfrowa, Wydział Prawa, Administracji i Ekonomii Uniwersytetu Wrocławskiego, Wrocław, 95–113. <https://doi.org/10.34616/23.20.112>.

- Kawecka L., Galus S., 2021. Wytłoki owocowe – charakterystyka i możliwości zagospodarowania. *Post. Tech. Przetw. Śpoż.* 1, 156–167.
- Kusińska E., Starek-Wójcicka A., 2011, Właściwości mechaniczne tekstury ciasta biszkoptowo-tłuszczowego, *Inż. Rol.* 15(5), 157–164.
- Lalonde M., 1974. A new perspective on the health of Canadians. Ottawa.
- Leja M., Mareczek A., Nanaszko B., 2007. Antyoksydacyjne właściwości owoców wybranych gatunków dziko rosnących drzew i krzewów. *Rocz. AR Poznań, Ogrodnictwo* 41, 327–331.
- Masiarz E., Kowalska H., Bednarska M., 2019. Wykorzystanie wytlóków roślinnych jako źródła błonnika pokarmowego i innych bio-składników w kreowaniu właściwości prozdrowotnych, sensorycznych i technologicznych pieczywa. *Post. Techn. Przet. Spoż.* (1), 103–107.
- Muthu S., Patel K., Sharma A., 2020. Fruit waste management strategies in tropical regions. *J. Trop. Agricul.* 34(1), 67–75, <https://doi.org/10.1016/j.jtropag.2020.05.006>.
- Murray R., 2002. Zero Waste. Greenpeace Environmental Trust, Canonbury.
- Niewczas M., 2013. Kryteria wyboru żywności. *Żywn. Nauka Tech. Jakość* 6(91), 204–219.
- Siemianowska E., Radzymińska M., Aljewicz M., Tyburski J., Wesołowski A., Barszcz A., 2016. Wytłoki owocowe jako dodatek do kruchych ciastek. *Przem. Spoż.* 10, 41–45, <https://doi.org/10.15199/65.2016.10.7>.
- Tańska M., Rotkiewicz D., 2011. Wykorzystanie wytlóków jabłkowych w produkcji pieczywa. *Bromat. Chem. Toksykol.* 44, 847–853.
- Wirkijowska A., Zarzycki P., Sobota A., Nawrocka A., Blicharz-Kania A., Andrejko D., 2020. The possibility of using by-products from the flaxseed industry for functional bread production. *LWT – Food Sci. Technol.* 118, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108860>.
- Wojdyło A., Jáuregui P.N.N., Carbonell-Barrachina A.A., Oszmiański J., Golis T., 2013. Variability of phytochemical properties and content of bioactive compounds in *Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica* berries. *J. Agric. Food Chem.* 61(49), 12072–12084.
- Żary-Sikorska E., 2024. Odpady z przetwórstwa owoców i warzyw – charakterystyka problemu. *Infrastr. Ekol. Ter. Wiej.* 19, 93, <https://doi.org/10.14597/infraeco.2024.007>.

Metagenomika – omiczna analiza mikrobiomu żywności

Metagenomics – omic analysis of food microbiome

Wstęp

Metagenomika to dziedzina badająca dane genomowe mikroorganizmów przy użyciu wysokoprzepustowego sekwencjonowania, co pozwala na analizę zbiorczego genomu drobnoustrojów zasiedlających dany mikrobiom [Zhang i in. 2021, Nam i in. 2023].

Zastosowania metagenomiki odgrywają kluczową rolę w transformacji współczesnej diagnostyki bezpieczeństwa żywności. Implementacja analiz metagenomowych umożliwia bezpośrednią identyfikację drobnoustrojów zarówno w pojedynczych próbkach żywności, jej składnikach, jak i w próbkach środowiskowych, co znacząco zwiększa precyzję i skuteczność monitorowania zagrożeń mikrobiologicznych [Billington i in. 2022].

Celem pracy było porównanie metod sekwencjonowania DNA w kontekście analiz metagenomicznych.

Co to jest metagenomika?

Termin „metagenom” po raz pierwszy został użyty w 1998 r. w odniesieniu do zbioru materiału genetycznego obejmującego genomy wszystkich mikroorganizmów występujących w danym środowisku naturalnym. Ze względu na ogromną różnorodność morfologiczną mikroorganizmów oraz złożoność procesów biochemicznych, w które są zaangażowane, badacze zaczęli koncentrować się na ich potencjale genetycznym, szczególnie w kontekście kodowania kluczowych enzymów. Postępy w technikach sekwencjonowania umożliwiły analizę mikroorganizmów niehodowlanych, co doprowadziło do wyodrębnienia nowej dziedziny genomiki – metagenomiki [Handelsman i in. 1998].

Termin „metagenomika” wywodzi się z połączenia dwóch pojęć: metaanalizy oraz genomiki. Metaanaliza odnosi się do statystycznej syntezy wyników wielu niezależnych badań, natomiast genomika obejmuje kompleksową analizę materiału genetycznego organizmów, ze szczególnym uwzględnieniem struktury genomów oraz funkcji poszczególnych genów [Cowan 2000].

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów „Biom”,
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, kubazmuda61@gmail.com

Metagenomika umożliwia bezpośrednią analizę złożonych społeczności mikroorganizmów, co jest kluczowe dla zrozumienia ich struktury, funkcji oraz interakcji ze środowiskiem. Podejście to pozwala na badanie pełnych mikrobiomów, co znacząco przyczynia się do lepszego poznania ekologii mikroorganizmów oraz ich wpływu na procesy biologiczne [Quince i in. 2017].

Technologie sekwencjonowania stosowane w metagenomice

Metagenomika wykorzystuje zaawansowane technologie sekwencjonowania, umożliwiające analizę materiału genetycznego mikroorganizmów bez konieczności ich wcześniejszej hodowli w warunkach laboratoryjnych. Wyróżnia się kilka podejść sekwencjonowania, różniących się zakresem, dokładnością oraz zastosowaniami w badaniach metagenomicznych [Billington i in. 2022].

Jedną z pierwszych technologii sekwencjonowania DNA była metoda Sanger, oparta na syntezie komplementarnej nici DNA na matrycy w trakcie reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). Proces ten wykorzystuje enzym – polimerazę DNA – który stopniowo przyłącza nukleotydy do nowo syntetyzowanej nici, a jego kluczowym elementem jest zastosowanie dideoksynukleotydów (ddNTP), które prowadzą do terminacji syntezy łańcucha. Metoda Sanger charakteryzuje się wysoką precyzją i niską częstością błędów, jednak jej stosowanie wiąże się z wysokimi kosztami oraz ograniczoną długością odczytów. Z tego powodu technika ta nie jest optymalnym rozwiązaniem do analizy dużych genomów, zwłaszcza w kontekście badań metagenomicznych [Travers i in. 2010].

Sekwencjonowanie drugiej generacji (NGS, ang. *next-generation sequencing*) umożliwia równoczesne sekwencjonowanie setek tysięcy fragmentów DNA lub RNA, co określa się mianem sekwencjonowania masowego. Technika ta charakteryzuje się wysoką wydajnością oraz dużą dokładnością odczytów w stosunkowo krótkim czasie, dlatego jest szeroko stosowana w badaniach metagenomicznych. Proces sekwencjonowania II generacji jest realizowany przy użyciu różnych platform technologicznych, takich jak Illumina, Roche 454 oraz Ion Torrent. Mimo licznych zalet metoda ta posiada również pewne ograniczenia, w tym możliwość występowania błędów systemowych oraz konieczność analizowania wyłącznie krótkich odczytów, zazwyczaj o długości od 50 do 300 par zasad [Travers i in. 2010].

W ostatnich latach analizy metagenomiczne coraz częściej wykorzystują technologie sekwencjonowania pojedynczych cząsteczek (z ang. *single-molecule sequencing*, SMS), które stanowią podstawę sekwencjonowania trzeciej generacji (z ang. *third-generation sequencing*, TGS). Technologie te umożliwiają generowanie znacznie dłuższych odczytów w porównaniu z metodami sekwencjonowania drugiej generacji (z ang. *second-generation sequencing*, SGS), co znacząco ułatwia składanie *de novo* złożonych genomów, w tym genomów mikroorganizmów analizowanych w badaniach metagenomicznych. Asemblacja *de novo* to proces składania odczytów sekwencyjnych (zwłaszcza długich odczytów, ang. *long-reads*) w celu rekonstrukcji całych genomów lub ich części bez wcześniejszego genomu referencyjnego, ułatwiająca łączenie powtarzalnych sekwencji [Billington i in. 2022].

Zdolność do uzyskiwania długich odczytów pozwala także na bezpośrednią detekcję haplotypów oraz fazowanie całych chromosomów, co ma istotne znaczenie w badaniach nad różnorodnością genetyczną w złożonych próbkach środowiskowych. Choć technologie TGS wciąż pozostają w fazie rozwoju, wykazują duży potencjał w analizach mikrobiomów dzięki możliwości generowania wysokiej jakości danych sekwencyjnych oraz precyzyjnej rekonstrukcji struktury genomowej mikroorganizmów. Udoskonalenie tych technologii może znacząco przyczynić się do lepszego zrozumienia dynamiki i funkcji złożonych społeczności mikroorganizmów [Schadt i in. 2010].

PacBio

Sekwencjonowanie trzeciej generacji, opracowane przez Pacific Biosciences, charakteryzuje się sekwencjonowaniem pojedynczej cząsteczki (z ang. *single-molecule sequencing*) w czasie rzeczywistym. Technologia ta umożliwia uzyskiwanie dłuższych odczytów niż w przypadku metod sekwencjonowania drugiej generacji. Dzięki tej właściwości, technologia PacBio jest wybierana do asemblacji *de novo* zamkniętych genomów [Billington i in. 2022]. Pozwala to na skuteczniejsze sekwencjonowanie powtarzalnych regionów genomu oraz wykrywanie polimorfizmów, co jest kluczowe w analizach złożonych genomów [Travers i in. 2010].

Oxford nanopore

Oxford Nanopore Technologies (ONT) – MinION to jedna z technologii sekwencjonowania trzeciej generacji, która umożliwia uzyskiwanie odczytów o długości sięgającej dziesiątek kilobaz. Długość odczytów jest ograniczona jedynie długością analizowanych cząsteczek DNA [Deamer i in. 2016]. Urządzenie charakteryzuje się niskimi kosztami inwestycyjnymi i jest jednym z najbardziej dostępnych oraz przenośnych sekwenatorów DNA. MinION ma zdolność generowania danych w czasie rzeczywistym, co czyni go przydatnym w wielu zastosowaniach, w tym w analizie regionów bogatych w powtórzenia [Laver i in. 2015].

Identyfikacja metagenomów

Genotypowanie to proces określania specyficznych sekwencji DNA przy użyciu różnych technik molekularnych. Polega na analizie wybranych fragmentów genomu, które mogą obejmować całe geny lub ich części. Dzięki temu możliwa jest precyzyjna identyfikacja organizmów oraz badanie ich cech genetycznych.

Po sformułowaniu przez Ludwika Pasteura teorii zarasków chorobotwórczych pod koniec lat pięćdziesiątych XIX w., która została rozwinięta przez Roberta Kocha w latach osiemdziesiątych tego samego stulecia, nastąpił znaczący rozwój technik hodowli i izolacji drobnoustrojów. Umożliwiło to mikrobiologom dokładną identyfikację gatunkową, co przyczyniło się do rozwoju taksonomii mikroorganizmów prokariotycznych. Początkowo do identyfikacji gatunkowej wykorzystywano właściwości fenotypowe [Uelze i in. 2020].

W latach trzydziestych XX w. w oparciu o reakcje antygen–przeciwciała rozpoczęto identyfikację bakterii na poziomie gatunków i podgatunków, co stało się podstawą tzw. serotypowania.

Dzięki odkryciu struktury kwasów nukleinowych przez Watsona i Cricka w połowie lat pięćdziesiątych XX w., powstała nowa dziedzina – biologia molekularna, której metody pozwoliły na typowanie bakterii na podstawie różnic w genomach, zwane genotypowaniem [Uelze i in. 2020]. W połączeniu z rozwojem technologii sekwencjonowania, wykształciły się metody genotypowania oparte na analizie sekwencji.

Analiza 16S rRNA

Struktura rybosomu prokariotów składa się z dużej i małej podjednostki. Mała podjednostka zawiera cząsteczkę 16S rRNA, która posiada zarówno regiony konserwatywne, jak i hiperzmienne. W obrębie 16S rRNA wyróżnia się dziewięć regionów hiperzmiennych, oznaczanych od V1 do V9, które są wykorzystywane do identyfikacji gatunków lub rodzajów bakterii. Do celów identyfikacji najczęściej wykorzystuje się regiony V3 i V4, chociaż nowy standard zaleca stosowanie regionów V2 i V3.

Regiony V4-V6 są uznawane za najbardziej wiarygodne w reprezentowaniu pełnych sekwencji w analizie filogenetycznej większości typów bakterii, podczas gdy regiony V2 i V8 są mniej optymalne. Badania sugerują, że regiony V4-V6 mogą być najbardziej odpowiednie do projektowania uniwersalnych starterów o lepszej rozdzielczości filogenetycznej [Yang i in. 2016].

Wykrywanie oporności na antybiotyki i analiza funkcjonalna

Metagenomika typu shotgun to podejście polegające na ekstrakcji całego genomowego DNA z danej próbki, pocięciu go na mniejsze fragmenty (ok. 300–500 pz) i sekwencjonowaniu tych fragmentów w celu uzyskania odczytów. Pozwala na wykrywanie genów oporności na antybiotyki oraz mobilnych elementów genetycznych w próbkach żywności, np. w produktach mlecznych. Technologia ta umożliwia również analizę funkcjonalną oraz predykcję genów, co pośrednio dotyczy enzymów (np. tych zaangażowanych w fermentację w probiotykach i żywności fermentowanej lub toksyn bakteryjnych i enzymów, które mogą stanowić ryzyko dla bezpieczeństwa i jakości produktu, nawet jeśli organizm nie jest już żywotny). Przyszłe udoskonalenia oprogramowania i technik hybrydowych mogą poprawić detekcję nieznanych organizmów, mobilnych elementów i genów oporności na antybiotyki [Billington i in. 2022].

Genotypowanie w analizie bezpieczeństwa żywności

WGS

Sekwencjonowanie całych genomów (ang. *whole genome sequencing*, WGS) jest powszechnie stosowane w typowaniu mikroorganizmów. Ta metoda zapewnia wysoką rozdzielczość i charakteryzuje się dużą przepustowością. Zaletami WGS są uzyskiwanie wysoce powtarzalnych informacji oraz możliwość pozyskiwania danych dotyczących wirulencji i wrażliwości na antybiotyki.

Jednakże, ze względu na ogromną ilość danych generowanych podczas sekwencjonowania, pojawiają się wyzwania związane z ich cyfrowym przechowywaniem, szybkością analizy oraz wizualizacją wyników [Brzozowski i in. 2017].

MLST

Typowanie MLST (z ang. *multilocus sequence typing*) to metoda polegająca na identyfikacji szczepów mikroorganizmów na podstawie różnic w sekwencjach ich genów. Należy jasno zaznaczyć, że MLST nie jest metodą metagenomiczną w kontekście analizy mikrobiomu bez wcześniejszej hodowli. W tej technice analizuje się sekwencje genów związanych z metabolizmem podstawowym, tzw. geny *housekeeping*, które są uważane za reprezentatywne dla całego genomu. Zwykle sekwencjonuje się od 6 do 7 takich genów, o długości 450–500 par zasad.

Zaletami techniki MLST są jej powtarzalność oraz łatwość porównania wyników między różnymi laboratoriami. Wadami tej metody są jednak jej wysoki koszt oraz pracochłonność w porównaniu do innych technik [Brzozowski i in. 2017].

Typowanie cgMLST

Rdzeniowy genomowy MLST (ang. *core genome multilocus sequence typing*, cgMLST) jest podejściem „gen po genie”, polegającym na porównywaniu genomów przy użyciu dużej liczby loci. Początkowo było to podejście obejmujące 7 genów, które z czasem rozszerzono do setek, a nawet tysięcy loci genowych. W praktyce oznacza to, że dane genomowe są dopasowywane do schematu tworzonego na podstawie zebrania dużej liczby genomów danego gatunku oraz zidentyfikowania zestawu loci, które występują u większości z nich. W technice cgMLST badane są sekwencje genów, które występują np. u 95% wszystkich szczepów danego gatunku. W wyniku dopasowania alleli cgMLST każdy izolant jest charakteryzowany przez swój profil alleli, czyli zestaw numerów alleli dla każdego locus [Uelze i in. 2020].

Analizując dane próbki, typowanie cgMLST pozwala na obejście problemu, który występuje w przypadku wgMLST, polegającego na braku wszystkich wspólnych loci w genomie badanych mikroorganizmów. W przeciwieństwie do wgMLST, cgMLST porównuje jedynie warianty alleliczne loci obecnych w całym rdzeniu izolatów, co umożliwia dokładniejsze typowanie [Vincent i in. 2018].

Typowanie wgMLST

MLST całego genomu (ang. *whole genome multi-locus sequence typing*, wgMLST) jest rozszerzeniem typowania cgMLST. Oprócz zestawu loci głównego genomu wykorzystuje także zestaw loci dodatkowych [Uelze i in. 2020]. Metoda ta charakteryzuje się wyższą rozdzielczością, ponieważ wykorzystuje macierze o większym zbiorze loci [Vincent i in. 2018, Uelze i in. 2020].

WgMLST opiera się głównie na zmienności allelicznej loci, w której wariant alleliczny każdego genu izolatu jest określany i porównywany ze specyficzną, wyselekcjonowaną bazą danych loci oraz wariantów allelicznych dla danego organizmu.

Opisanie metody wymaga jednak izolacji czystego izolatu, co odróżnia je od metagenomiki, która analizuje całe społeczności bez hodowli. MLST (wraz z cgMLST i

wgMLST) jest kluczowe w analizie ognisk epidemiologicznych, ponieważ zapewnia wysoką rozdzielczość i dokładność w identyfikacji szczepów, co pozwala na określenie pokrewieństwa filogenetycznego izolatów i identyfikację źródeł oraz dróg przenoszenia patogenów (np. *Listeria monocytogenes* czy *Salmonella*). Należy podkreślić, że wymagają izolacji czystego izolatu. Nie jest to więc metoda należąca do analiz metagenomicznych, które charakteryzują się możliwością oceny mikrobioty danego środowiska bez uprzedniej hodowli drobnoustrojów konwencjonalnymi metodami [Billington i in. 2022].

SNPs

Technika wykrywania polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (ang. *single nucleotide polymorphisms*, SNPs) wykorzystuje zjawisko występowania pojedynczych mutacji nukleotydowych w wybranych miejscach genomu drobnoustrojów, pozwalając na ich różnicowanie i określanie pokrewieństwa genetycznego. SNP można wykryć poprzez mapowanie odczytów sekwencji względem blisko spokrewnionego genomu referencyjnego i rejestrowanie różnic nukleotydowych [Brzozowski i in. 2017].

Przy doborze odpowiedniego genomu referencyjnego należy kierować się wyborem genomu z tej samej grupy serologicznej, 7-genowego MLST lub kompleksu klonalnego MLST [Uelze i in. 2020]. Metoda SNPs cechuje się wyższą selektywnością w porównaniu do cgMLST i wgMLST, ponieważ identyfikuje szczepy różniące się pojedynczymi mutacjami.

Typowanie na podstawie K-mer

K-mer jest sztuczną jednostką wykorzystywaną w bioinformatyce, składającą się z nukleotydów o określonej długości K w sekwencji DNA. Typowanie na podstawie K-merów jest metodą identyfikacji gatunków bakterii z danych sekwencjonowania, która polega na porównaniu krótkich sekwencji DNA (k-merów) z analizowanych danych z bazą danych k-merów pochodzących ze znanych genomów bakterii (np. NCBI).

W tej metodzie stosuje się zasadę *winner takes all*, zgodnie z którą k-mer jest przypisywany do najlepiej pasującego genomu. Zaletami tej metody są szybka analiza danych sekwencjonowania oraz możliwość identyfikacji gatunków bezpośrednio z próbek klinicznych [Hasman i in. 2014].

Wyzwania i możliwości

Należy jasno stwierdzić, że żadne z obecnie stosowanych podejść metagenomicznych nie jest w stanie niezawodnie rozróżnić DNA pochodzącego z żywych komórek od DNA z komórek niezdolnych do życia. Jest to kluczowe ograniczenie w kontekście szacowania bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności.

Metagenomika typu shotgun może być wykorzystywana do odtwarzania genomów mikroorganizmów, które dotychczas nie mogły być hodowane w laboratorium. Ich identyfikacja może prowadzić do zwiększenia zakresu kontroli ryzyka związanego z wymienionymi zagrożeniami w krótkim okresie. Z biegiem lat wprowadzenie metagenomiki powinno przyczynić się do lepszego zrozumienia fundamentalnych czynników wpływających na zasiedlanie i rozprzestrzenianie się patogenów w łańcuchu pokarmowym. Może

to również przyczynić się do opracowania bardziej ukierunkowanych i skutecznych działań ogólnosystemowych, które wykraczają poza kontrolę pojedynczego zagrożenia, bez pełnego zrozumienia jego skutków i powiązań w całym łańcuchu żywnościowym. W związku z tym, może być konieczne dostosowanie podejść do analizy zagrożeń i oceny ryzyka dla bezpieczeństwa żywności, na przykład przechodząc od oceny ryzyka związanego z pojedynczymi patogenami do oceny całej społeczności mikroorganizmów i łańcucha pokarmowego.

Mimo potencjalnych korzyści, zastosowanie metagenomiki wiąże się z pewnymi wyzwaniami dla światowych systemów regulacyjnych i zapewnienia bezpieczeństwa żywności. Analizy metagenomiczne mogą potencjalnie identyfikować zagrożenia, jednak zazwyczaj dostarczają jedynie informacji na temat względnej liczebności taksonów lub determinantów genetycznych, podczas gdy szacunki bezwzględne są kluczowe dla modelowania prognostycznego, oceny ryzyka i egzekwowania przepisów. Dlatego istotne jest opracowanie metod umożliwiających przekładanie danych z sekwencjonowania metagenomicznego na szacunki bezwzględnej liczby organizmów [Koutsoumanis i in. 2019].

Niewątpliwie wyzwaniem na kolejne lata będzie doskonalenie metagenomicznych baz danych, które dotyczą identyfikowania źródeł i dróg przenoszenia patogenów przenoszonych przez żywność. W Stanach Zjednoczonych przeprowadzono eksperymentalny program, który umożliwił wykrycie większej liczby ognisk, w tym ognisk mniejszych (tylko dwa przypadki), co doprowadziło do szybszego opanowania epidemii w porównaniu z dotychczas stosowaną technologią elektroforezy żelowej w polu impulsowym [Brown i in. 2019].

Sukces tego podejścia przyczynił się do wzrostu liczby baz danych typowania genomów drobnoustrojów dostępnych na całym świecie, obejmujących obecnie ponad 20 gatunków drobnoustrojów, a ich możliwości wciąż się rozszerzają [Uelze i in. 2020].

Trudności w ustaleniu granicy wykrywalności, szczególnie dla patogenów występujących na niskich poziomach w próbce, oraz możliwość błędnej klasyfikacji związanej z technologią sekwencjonowania stanowią istotne wyzwania z punktu widzenia regulacyjnego. Wyzwania te podkreślają konieczność standaryzacji metod umożliwiających specyficzne wykrywanie, oznaczanie ilościowe i identyfikację patogenów [Koutsoumanis i in. 2019].

W miarę rozwoju technologii sekwencjonowania i narzędzi bioinformatycznych metagenomika może stać się kluczowym elementem systemów monitorowania i kontroli zagrożeń biologicznych. Choć wyzwania związane z interpretacją danych, ich standaryzacją oraz integracją z obecnymi strategiami oceny ryzyka pozostają istotne, dalszy rozwój tej dziedziny otwiera nowe perspektywy zarówno dla nauki, jak i dla przemysłu spożywczego. W przyszłości metagenomika może umożliwić bardziej kompleksowe podejście do bezpieczeństwa żywności, pozwalając na analizę całych ekosystemów mikroorganizmów, zamiast skupiania się na pojedynczych patogenach, co może znacząco zwiększyć skuteczność działań prewencyjnych i interwencyjnych.

Bibliografia

Billington C., Kingsbury J.M., Rivas L., 2022. Metagenomics approaches for improving food safety: a review. *J. Food Prot.* 85(3), <https://doi.org/10.4315/JFP-21-301>.

- Brown E., Dessai U., McGarry S., Gerner-Smidt P., 2019. Use of whole-genome sequencing for food safety and public health in the United States. *Foodborne Pathog. Dis.* 16(7), <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2662>.
- Brzozowski M., Kwiatkowski P., Kosik-Bogacka D., Jursa-Kulesza J., 2017. Metody genotypowe i fenotypowe wykorzystywane w typowaniu drobnoustrojów do celów epidemiologicznych. *Post. Mikrobiol.* 56(3), 353–366.
- Cowan D.A., 2000. Microbial genomes – the untapped resource. *Trends Biotechnol.* 18(1), 14–16, [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(99\)01395-5](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(99)01395-5).
- Deamer D., Akeson M., Branton D., 2016. Three decades of nanopore sequencing. *Nat. Biotechnol.* 34(5), 518–524, <https://doi.org/10.1038/nbt.3423>.
- Handelsman J., Rondon M.R., Brady S.F., Clardy J., Goodman R.M., 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products. *Chem. Biol.* 5(10), [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(98\)90108-9](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(98)90108-9).
- Hasman H., Saputra D., Sicheritz-Ponten T., Lund O., Svendsen C.A., Frimodt-Moller N., Aarestrup F.M., 2014. Rapid whole-genome sequencing for detection and characterization of microorganisms directly from clinical samples. *J. Clin. Microbiol.* 52(1), <https://doi.org/10.1128/JCM.02452-13>.
- Koutsoumanis K., Allende A., Alvarez-Ordóñez A., Bolton D., Bover-Cid S., Chemaly M., Davies R., De Cesare A., Hilbert F., Lindqvist R., Nauta M., Peixe L., Ru G., Simmons M., Skandamis P., Suffredini E., Jenkins C., Malorny B., Ribeiro Duarte A.S., Herman L., 2019. Whole genome sequencing and metagenomics for outbreak investigation, source attribution and risk assessment of food-borne microorganisms. *EFSA J.* 17(12), <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5898>.
- Laver T., Harrison J., O'Neill P.A., Moore K., Farbos A., Paszkiewicz K., Studholme D.J., 2015. Assessing the performance of the Oxford Nanopore Technologies MinION. *Biomol. Detect Quantif.* 3, <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2015.02.001>.
- Nam N.N., Do H.D.K., Loan Trinh K.T., Lee N.Y., 2023. Metagenomics: An effective approach for exploring microbial diversity and functions. *Foods* 12(11), <https://doi.org/10.3390/foods12112140>.
- Quince C., Walker A.W., Simpson J.T., Loman N.J., Segata N., 2017. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat. Biotechnol.* 35(9), <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>.
- Schadt E.E., Turner S., Kasarskis A., 2010. A window into third-generation-sequencing. *Hum. Mol. Genet.* 19(R2), R227–R240, <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq416>.
- Travers K.J., Chin C.S., Rank D.R., Eid J.S., Turner S.W., 2010. A flexible and efficient template format for circular consensus sequencing and SNP detection. *Nucleic Acids Res.* 38(15), e-159, <https://doi.org/10.1093/nar/gkq543>.
- Uelze L., Grütze J., Borowiak M., Hammerl J.A., Juraschek K., Deneke C., Tausch S.H., Malorny B., 2020. Typing methods based on whole genome sequencing data. *One Health Outlook* 2(3), <https://doi.org/10.1186/s42522-020-0010-1>.
- Vincent C., Usongo V., Berry C., Tremblay D.M., Moineau S., Yousfi K., Doualla-Bell F., Fournier E., Nadon C., Goodridge L., Bekal S., 2018. Comparison of advanced whole genome sequence-based methods to distinguish strains of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg involved in foodborne outbreaks in Québec. *Food Microbiol.* 73, 99–110, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.004>.
- Yang B., Wang Y., Qian P.Y., 2016. Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. *BMC Bioinform.* 17, 135, <https://doi.org/10.1186/s12859-016-0992-y>.
- Zhang L., Chen F.X., Zeng Z., Xu M., Sun F., Yang L., Bi X., Lin Y., Gao Y.J., Hao H.X., Yi W., Li M., Xie Y., 2021. Advances in metagenomics and its application in environmental microorganisms. *Front Microbiol.* 12, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.766364>.