



JOURNAL

of Life and Medical Sciences

No. 1 (35)/2023



**Understanding the rights
of the oncology patient.**

ISSN 2720-6823



SPIS TREŚCI

1. *Rozmnażanie roślin w aspekcie praktycznego wykorzystania dostępnych technik i technologii*

Plant propagation in terms of the practical use of available techniques and technologies

Adam Fiderewicz, Adriana Szmidt-Jaworska

STRONY 3-13

2. *Porównanie metod mineralizacji mikroplastiku na przykładzie brokatu*

Comparsion of microplastic mineralization methods on the example of glitteres

Anna Miązek, Karina Krzciuk

STRONY 14-21

3. *Zrozumieć prawa pacjenta onkologicznego. Wybrane aspekty deontologiczne i medyczne*

Understanding the rights of the oncology patient. Selected deontologicaland medical aspects

Kamil Bielak, Katarzyna Kamińska, Marzena Świstak

STRONY 22-29

4. *Znaczenie i źródła długłańcuchowych wielonasyconych kwasów tłuszczowych DHA i EPA w diecie psów*

The significance and dietary sources of long-chain polyunsaturated fatty acids DHA and EPA in canine diet

Weronika Jacuńska, Wioletta Biel

STRONY 30-46

5. *Synteza kompozytu polianilina/tlenek tytanu (IV) oraz jego zastosowanie jako fotokatalizatora reakcji rozkładu błękitu metylenowego pod wpływem światła UV/VIS*

Synthesis of polyaniline/titanium (IV) oxide composite and its application as a photocatalyst for the reaction of methylene blue decomposition under the influence of UV/VIS light

Michał Koterba

STRONY 47-56



JOURNAL

of Life and Medical Sciences

REDAKTOR NACZELNY

MATEUSZ GORTAT

ZASTĘPCA REDAKTORA NACZELNEGO

AGATA KOBYŁKA

REDAKTOR TECHNICZNY

PAWEŁ KUŚ

RADA NAUKOWA:

DR ANNA STĘPNIOWSKA

(UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W LUBLINIE)

DR N. WET. DARIUSZ WOLSKI

(STOWARZYSZENIE MŁODYCH NAUKOWCÓW)

DR MATEUSZ GORTAT

(STOWARZYSZENIE MŁODYCH NAUKOWCÓW)

DR N. MED JERZY BEDNARSKI

(UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE)

DR AGATA KOBYŁKA

(UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W LUBLINIE)

ADRES DO KORESPONDENCJI

Stowarzyszenie Młodych Naukowców

e-mail: kontakt@naukowcy.org.pl

www.naukowcy.org.pl

Odpowiedzialność za treść i materiały graficzne ponoszą Autorzy.

Adam Fiderewicz, Adriana Szmidt-Jaworska 

Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń

e-mail: asjawors@umk.pl

ROZMNAŻANIE ROŚLIN W ASPEKCIE PRAKTYCZNEGO WYKORZYSTANIA DOSTĘPNYCH TECHNIK I TECHNOLOGII PLANT PROPAGATION IN TERMS OF THE PRACTICAL USE OF AVAILABLE TECHNIQUES AND TECHNOLOGIES

ABSTRACT

The consequence of civilization's progress is the growing demand for certain groups of products. One of them is healthy plant material, which is used not only as a food source but also for industrial and medicinal purposes. Due to the increasing requirements for the quality of plant biomass, plant breeding focuses on work aimed at improving crops and preparing healthy starting materials. Currently, both conventional methods of plant breeding and biotechnological techniques are used with equal success in the propagation of plant material. Due to the practical dimension of the discussed topic and the growing needs in the field of modernization of propagation methods, this work was created, which is a summary of information on the methods of plant propagation in terms of the practical use.

KEY WORDS: plant propagation, green biotechnology, micropropagation, *in vitro* cultures.

STRESZCZENIE

Konsekwencją postępu cywilizacyjnego jest coraz większe zapotrzebowanie na pewne grupy produktów. Jednym z nich jest zdrowy materiał roślinny, który stanowi nie tylko źródło pożywienia, lecz jest także wykorzystywany w celach przemysłowych i leczniczych. Ze względu na coraz większe wymagania względem jakości biomasy roślinnej hodowla roślin skupia się na pracach zmierzających do doskonalenia roślin uprawnych i przygotowaniu zdrowego materiału wyjściowego. Aktualnie z jednakowym powodzeniem w namnażaniu materiału roślinnego stosowane są zarówno konwencjonalne metody hodowli roślin, jak i techniki biotechnologiczne. Z uwagi na praktyczny wymiar omawianej tematyki oraz narastające potrzeby w zakresie modernizacji metod rozmnażania, powstała niniejsza praca, która stanowi zwięzłe podsumowanie informacji dotyczących sposobów rozmnażania roślin w aspekcie praktycznego wykorzystania.

SŁOWA KLUCZOWE: rozmnażanie roślin, zielona biotechnologia, mikrorozmnażanie, kultury *in vitro*.

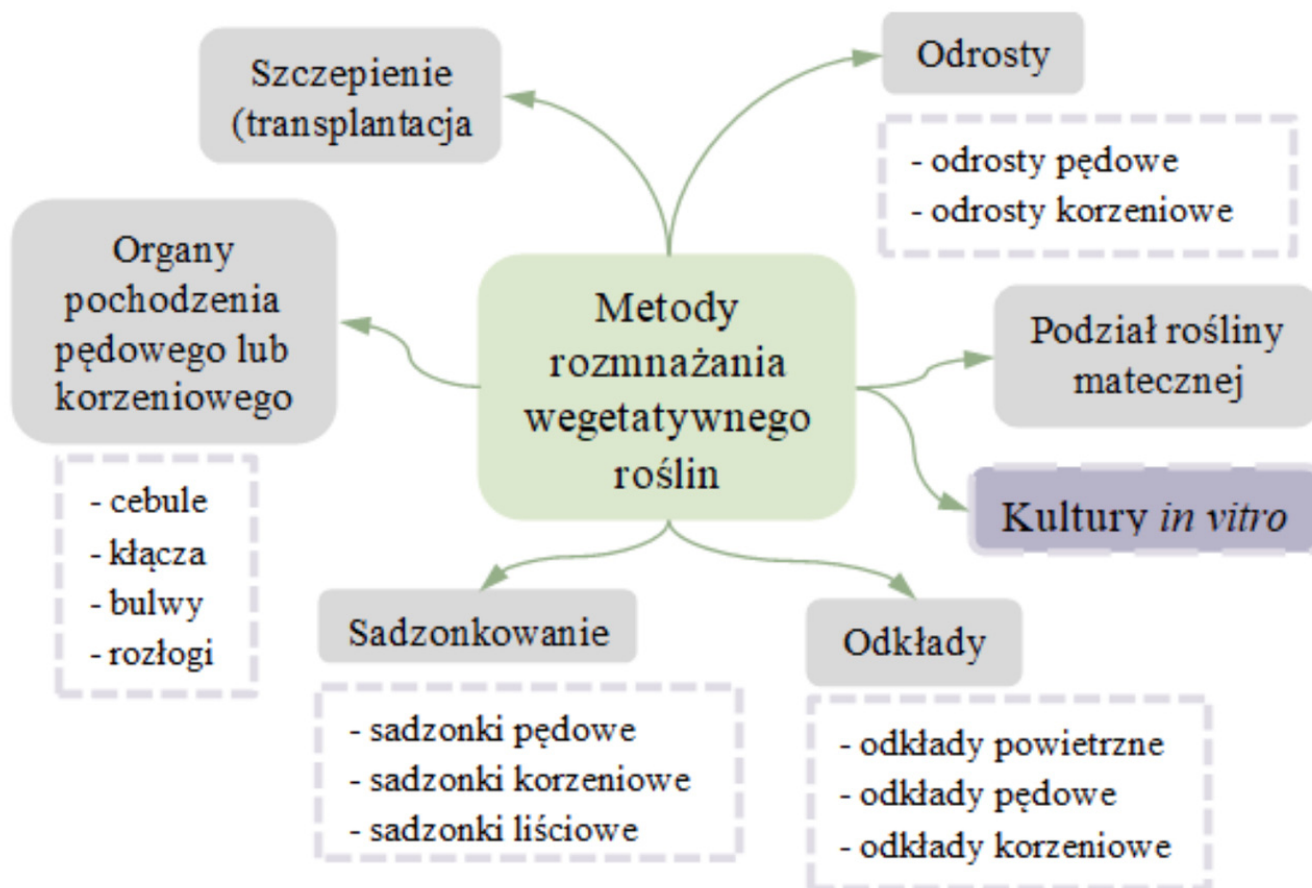
WSTĘP

Hodowla roślin jako nauka skupiająca się na pracach zmierzających do doskonalenia roślin uprawnych korzysta z osiągnięć nauk podstawowych, takich jak botanika, fizjologia, biologia komórki i genetyka. Za sprawą szeroko stosowanych metod genetycznych, biologii molekularnej i biotechnologii, od kilku lat zachodzą dynamiczne zmiany w podejściu do prac hodowlanych. Obecnie to konsumenci i producenci zgłaszają zapotrzebowanie na nowe odmiany i zdrowy materiał roślinny. Stanowi to wyzwanie, które wyznacza nowe trendy w sposobach pozyskiwania materiału wyjściowego. Aktualnie z jednakowym powodzeniem stosowane są konwencjonalne metody hodowli roślin, jak i techniki biotechnologiczne.

Szeroko rozumiane rozmnażanie polega na wytworzeniu nowych osobników (osobników potomnych) przez organizm macierzysty. Podczas tego procesu następuje przekazanie materiału genetycznego, zawierającego informacje o cechach organizmu rodzicielskiego i indywidualnych cechach nowego osobnika. Zjawisku temu towarzyszy zazwyczaj odłączenie się organizmu potomnego od organizmu macierzystego. Sposób przekazywania cech potomstwu jest uzależniony od preferowanej metody rozmnażania (Kyte et al., 2013; Awotedu et al., 2021).

W uprawie rozmnażanie roślin odgrywa ważną rolę, ponieważ liczba roślin może być szybko zwielokrotniona, zachowując pożądane cechy roślin matecznych (Roberto and Colombo, 2020). Ze względów praktycznych zostały określone dwa zasadnicze typy rozmnażania: płciowe (generatywne) i bezpłciowe (wegetatywne). W produkcji nasiennej można wyodrębnić dwie główne drogi określające ostateczny cel rozmnażania generatywnego roślin. Jest to nasiennictwo skoncentrowane na tworzeniu nowych odmian lub ulepszaniu istniejących oraz wyprodukowanie nasion, które w jak najwyższym stopniu odwzorowują typowe cechy danej odmiany (Lal et al., 2022). W tym celu przy uprawie roślin nasiennych stosowane są liczne zabiegi pielęgnacyjne, których celem jest otrzymanie zdrowych roślin, zdolnych do wydania dużej liczby nasion. Częścią tych działań jest także selekcja, która prowadzi do usunięcia osobników odmiennych. Jednocześnie, odmienne osobniki, które mogą być mutantami, albo spontanicznymi mieszańcami, analizuje się pod kątem pozyskania nowej odmiany (Bidabadi and Jain, 2020). Rozmnażanie bezpłciowe (wegetatywne) następuje przez tworzenie komórek lub tworów wielokomórkowych, które powstają bez wytworzenia organów rozmnażania generatywnego i bez zapłodnienia (Awotedu et al., 2021). Ten rodzaj rozmnażania bazuje na totipotencji komórek roślinnych i zdolności do regeneracji, czyli odtworzenia brakującej części organizmu na skutek przejęcia funkcji merystematycznych przez niektóre tkanki lub komórki odciętych fragmentów (Szmidt-Jaworska and Kopcewicz, 2021). W rozmnażaniu wegetatywnym wyróżnia się metody konwencjonalne takie jak sadzonkowanie, szczepienie, podział rośliny matecznej, propagację przez wierzchołki i sadzonki oraz agrobiotechnologiczne, takie jak regeneracja w kulturach *in vitro* (schemat 1) (Tonecki and Łukaszewska, 1996; Meher, Panigrahi and Rout, 2021).

Zielona biotechnologia, nazywana też agrobiotechnologią, zajmuje się aspektami związanymi z rolnictwem oraz rozwiązaniami stosowanymi w celach spożywczych i niespożywczych (Hasnain et al., 2022). Jednym z najważniejszych problemów agrobiotechnologii jest ciągła potrzeba modernizacji technologii mikrorozmnażania. Wykorzystywane w tym celu techniki osiągnęły status odrębnej gałęzi przemysłowej, stwarzając możliwość powstania dużego przemysłu roślinnego (Hasnain et al., 2022). Z uwagi na praktyczny wymiar omawianej tematyki oraz narastające potrzeby w zakresie modernizacji metod rozmnażania, powstała niniejsza praca, która stanowi zwarte podsumowanie informacji dotyczących metod biotechnologicznych stosowanych w rozmnażaniu i namnażaniu roślin.



SCHEMAT 1. WYBRANE METODY ROZMNAŻANIA WEGETATYWNEGO ROŚLIN (OPRAOWANIE WŁASNE).

METODY BIOTECHNOLOGICZNE W ROZMNAŻANIU I NAMNAŻANIU ROŚLIN

Od kilku lat alternatywą dla tradycyjnych metod rozmnażania roślin jest wykorzystanie zdobyczy biotechnologii. Ogromny rozwój mikrotechnik rozmnażania roślin osiągnięty został dzięki intensywnie prowadzonym badaniom naukowym, a warunkowany jest głównie zapotrzebowaniem rynku (Tonecki and Łukaszewska, 1996; Datta et al., 2019). Metody biotechnologiczne to szczególnie sposób namnażania materiału biologicznego w warunkach sterylnych. Kultury tkankowe roślin to termin, którym określa się metody stosowane do rozmnażania roślin z ich fragmentów przez sterylne (aseptyczne) przeniesienie części rośliny na specjalne medium hodowlane, co przy zastosowaniu odpowiednich warunków umożliwia całkowitą regenerację rośliny. Działania te są skoncentrowane na rozmnożeniu tkanek roślinnych, doprowadzeniu do ich różnicowania w pędy lub zarodki somatyczne, masowej propagacji roślin o szczególnie korzystnych cechach, aż do odtworzenia gatunków zagrożonych wyginieciem (Datta et al., 2019; Jerzy and Krzywińska, 2011; Malepszy, 2014).

W tym typie rozmnażania nadrzędną rolę odgrywa eksplantat, czyli część rośliny, która służy do odtworzenia czy namnożenia osobników potomnych (Lowe et al., 2022). Eksplantatami mogą być organy lub fragmenty organów lub tkanek, pojedyncze komórki, a nawet komórki pozbawione ściany komórkowej, czyli protoplasty, które po wyizolowaniu z rośliny – dawcy, umieszcza się na pożywkach zestawianych sztucznie, w precyzyjnie kontrolowanych warunkach temperatury, wilgotności i oświetlenia (istotne są: długość fali, natężenie, fotoperiod). Istnieje wiele rodzajów eksplantatów, które arbitralnie możemy podzielić na dwa typy: pierwotne oraz wtórne. Eksplantatami pierwotnymi nazywamy fragmenty odizolowane z rośliny matecznej, które inicjują prowadzoną kulturę. Natomiast eksplantatem wtórnym określamy jest materiał, którego izolacja następuje w trakcie prowadzenia hodowli, na przykład pojedynczy merystem lub protokorm (masa komórek niezróżnicowana na tkanki i organy) (Soares et al., 2020). Klonowanie roślin *in vitro* i związany z tym etapowy charakter tego procesu zależy w dużej mierze od organu rośliny matecznej (ang. stock plant). Materiał wyjściowy musi cechować się dużą vitalnością, być pozbawiony czynników chorobowych oraz wykazywać

typowe cechy gatunku. Fragmenty powinny być fizjologicznie młode, gdyż tylko takie obdarzone są wysoką zdolnością do restytucji, czyli odtworzenia. Eksplantaty wtórne są bardziej wydajne i zdrowsze, ponieważ pobieranie następuje z roślin uprawianych w warunkach aseptycznych. Niemniej istotną kwestią jest dobór warunków uprawy (Płażek and Dubert, 2022; Phillips and Garda, 2019). Istnieje wiele pożywek i dodatków tj. hormony wzrostu, witaminy, makro- i mikroelementy, które podlegają zestawieniu zależnie od potrzeb. Na rynku dostępne są pożywki do kultur *in vitro* roślin o charakterze uniwersalnym tj. pożywka Murashige i Skoog'a, które są wykorzystywane najczęściej i poprzez modyfikacje dostosowywane do wymagań określonych grup roślin. Dostępne są również pożywki specjalistyczne, spełniające wymogi określonych rodzin, a nawet gatunków np. pożywka MV (ang. Vacin and Went Medium) dla przedstawicieli rodziny *Orchidaceae* (Utami and Hariyanto, 2019).

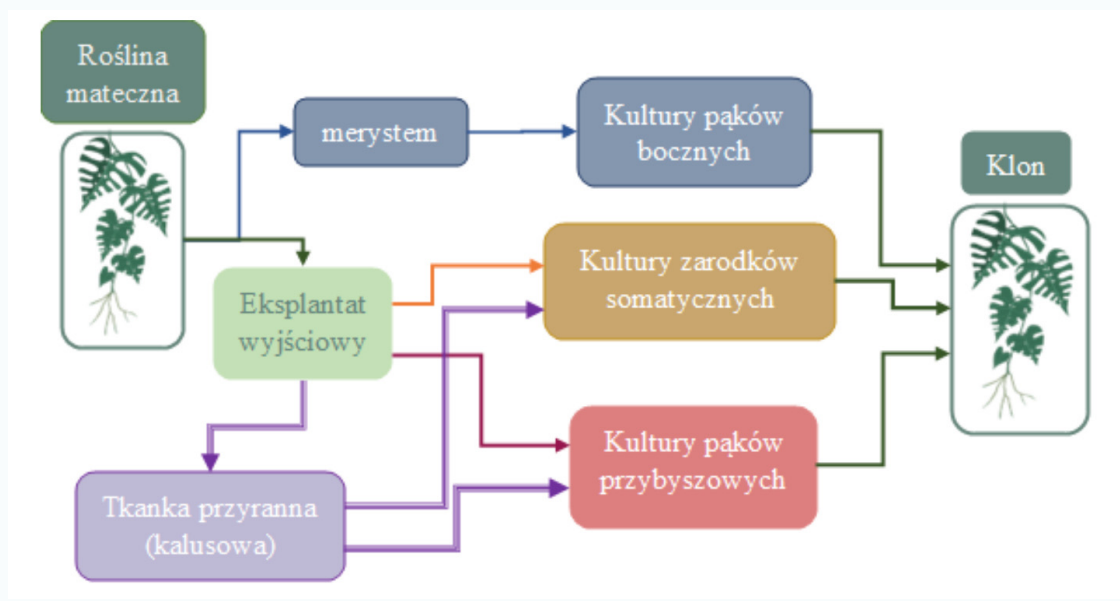
MIKROROZMNAŻANIE

W technologii mikrorozmnażania wyróżnia się sześć głównych etapów (schemat 2): etap wstępny (wybór rośliny matecznej i przygotowanie do pobrania eksplantatu oraz jego dezynfekcja i odtłuszczenie), inicjacja kultury (izolacja, inokulacja eksplantatu), namnażanie zregenerowanych roślin, ukorzenie mikrosadzonek oraz adaptacja do warunków *in vivo* i aklimatyzacja (Anderson, 1980).



SCHEMAT 2. OGÓLNE ETAPY MIKROROZMNAŻANIA (OPRAOWANIE WŁASNE).

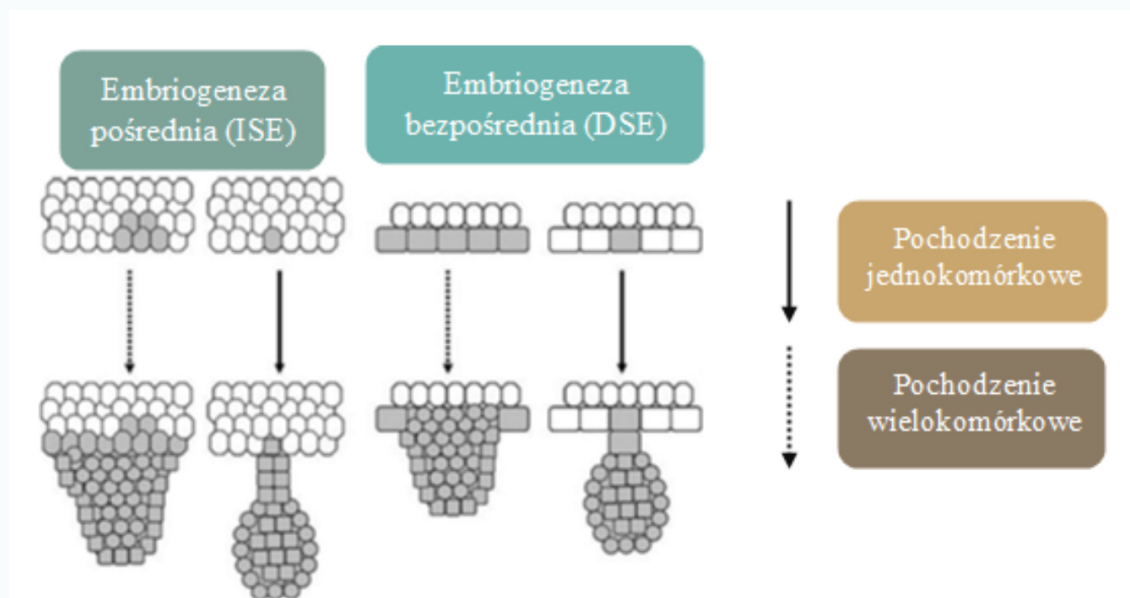
Z kolei procesy rozwojowe w kulturach *in vitro* można podzielić według rodzaju eksplantatu oraz drogi regeneracji, którą zamierzamy wykorzystać w celu wytworzenia nowych osobników (schemat 3). Rozwój może być ukierunkowany na tworzenie zróżnicowanej lub słabo zróżnicowanej tkanki kalusowej, pędów i korzeni przybyszowych, zarodków somatycznych (somatyczna embriogeneza) lub na rozwój i proliferację merystemów wierzchołkowych i bocznych (Płażek and Dubert, 2022; Malepszy, 2014; Kyte et al., 2013).



SCHEMAT 3. OGÓLNY SCHEMAT PROCESÓW ROZWOJOWYCH W ROŚLINNYCH KULTURACH *IN VITRO* (OPRAOWANIE WŁASNE, NA PODSTAWIE MALEPSZY, 2014).

SOMATYCZNA EMBRIOGENEZA

Jednym ze sposobów regeneracji roślin jest somatyczna embriogeneza (SE). Technika ta ze względu na wysoką wydajność jest wykorzystywana częściej niż organogeneza zygotyczna (Gaj, 2001; Joshi et al., 2022). SE to proces, w którym komórki somatyczne, pochodzące z różnych organów roślin, w warunkach indukcyjnych wytwarzają komórki embriogeniczne, które przechodzą szereg zmian, co ostatecznie doprowadza do powstania zarodka somatycznego (Gaj, 2001; Quiroz-Figueroa et al., 2006). W celu opracowania efektywnego protokołu regeneracji SE wykorzystuje się różne rodzaje eksplantatów, co prowadzi ostatecznie do identyfikacji najlepszego pod względem wydajności namnażania. Przykładowo, stwierdzono, że regeneracja kalusów paulowni puszystej (*Paulownia tomentosa*) zależy od rodzaju eksplantatu, przy czym najbardziej wydajna była regeneracja z wykorzystaniem eksplantatów pochodzących z liści i wierzchołków pędu (Amirova et al., 2022). Ogólnie wyróżnia się dwie drogi regeneracji zarodków somatycznych: bezpośrednia somatyczna embriogeneza (DSE) i pośrednia somatyczna embriogeneza (ISE). Jednocześnie można mówić o embriogenezie pierwotnej i wtórnej, przy czym pierwotna zachodzi na drodze bezpośredniej lub pośredniej regeneracji, a wtórna uzyskiwana jest z pierwotnych zarodków somatycznych (Gaj, 2001). Ciąg procesów składających się na somatyczną embriogenezę można podzielić na dwie fazy: fazę inicjacji/indukcji oraz fazę rozwoju (Joshi et al., 2022). Dla większości roślin indukcja tego procesu związana jest z obecnością hormonów, głównie auksyn, takich jak 2,4-D, rzadziej NAA (Malepszy, 2014). Obserwuje się również indukcję SE pod wpływem innych związków, takich jak pikloram (selektywny herbicyd roślin dwuliściennych) (Campos-Boza et al., 2022).



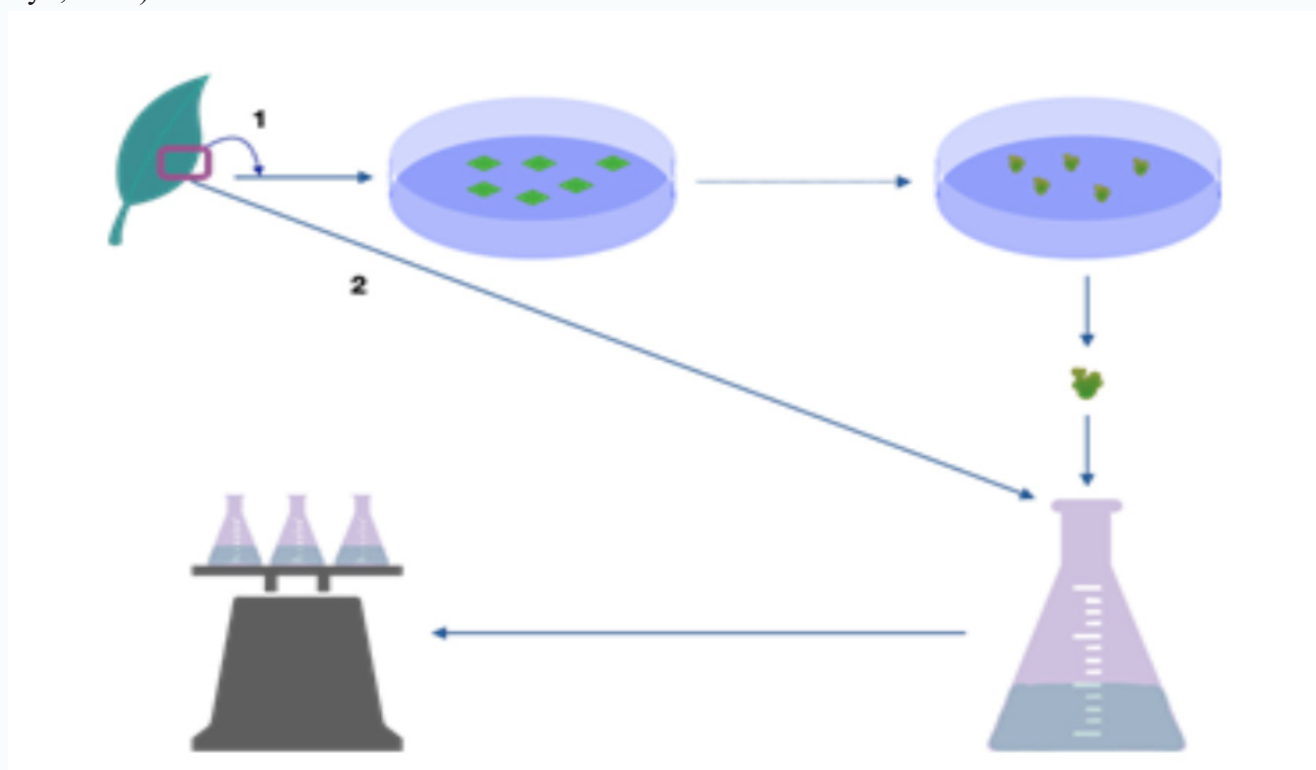
SCHEMAT 4. SCHEMAT POWSTAWANIA SOMATYCZNYCH ZARODKÓW (WG QUIROZ-FIGUEROA, 2006, ZMODYFIKOWANE).

Zestawienie procesów zachodzących podczas embriogenezy zygotycznej i somatycznej, pomimo różnic morfologicznych i histologicznych, pozwala na stwierdzenie ich znacznego podobieństwa i ostatecznego otrzymania zorganizowanych struktur. Kolejne stadia rozwojowe, takie jak: globularne, torpedy i sercowate, zachodzą kolejno w przypadku usunięcia auksyny z pożywki (Wang et al., 2020; Malepszy, 2014). Następnie dochodzi do procesu kiełkowania i konwersji zarodków somatycznych, przy których kiełkowanie określane jest jako formowanie korzenia zarodkowego, a konwersja jako równoczesny rozwój korzenia i pędu. Konwersja zarodków i dalszy rozwój mogą już zachodzić na pożywkach pozbawionych regulatorów wzrostu lub wzbogaconych o cytokininy, przy dostępie światła (Wang et al., 2020; Kulus, 2013, 2014; Malepszy, 2014). Otrzymane w ten sposób sadzonki mogą podlegać aklimatyzacji do warunków środowiskowych, a po określonym czasie powinny zostać przesadzone do gruntu. Metody hodowli *in vitro* oparte na SE są rutynowo stosowane do transformacji genetycznej, edycji genomu lub propagacji klonalnej wielu gatunków. Taka ścieżka rozwojowa oferuje również interesujący model do badań molekularnych, regulacyjnych i morfogenetycznych związanych z inicjacją embriogenezy (Wehbi et al., 2022).

Kultury zawieszinowe są szeroko stosowane na rynku biotechnologicznym. Hodowane są różne komór-

ki, pochodzące z tkanek organów nadziemnych (np. łodygi, liście, komórki merystematyczne) lub podziemnych (np. korzenie i kłącza) z wykorzystaniem tkanki przyrannej, jakim jest tkanka kalusowa, lub z eksplantatu pierwotnego umieszczonego w pożywce płynnej (Sychta et al., 2018). Schemat 5 przedstawia ogólny zarys metody uzyskiwania zawieszinowych komórek z fragmentów tkanki roślinnej. Jedną z ciekawszych hodowli, ze względu na ich możliwości, jest kultura protoplastów. Protoplasty są to komórki, które za pomocą technik mechanicznych lub enzymatycznych zostały pozbawione ściany komórkowej.

Źródłem protoplastów mogą być komórki miękiszowe liścia lub kultury kalusa. Wolne protoplasty na odpowiednich pożywkach odtwarzają ściany komórkowe i rozpoczynają podziały, tworząc kalus lub agregaty podejmujące rozwój embrionalny. Są to jednak układy bardzo wrażliwe na warunki zewnętrzne takie jak: temperatura, oświetlenie, gęstość kultury i skład pożywki. Na schemacie 6 przedstawiono etapy otrzymywania roślin w kulturach protoplastów wraz z uproszczonym schematem hybrydizacji somatycznej *in vitro*. Protoplasty ze względu na możliwość fuzji znalazły zastosowanie przy tworzeniu mieszańców somatycznych pomiędzy różnymi, niekiedy nawet znacznie odległymi filogenetycznie gatunkami. Taką zdolność komórek roślinnych do zainicjowania podziałów z organów roślinnych, jak i komórek embrjonalnych, wykorzystano do rozmnażania roślin na dużą skalę oraz polepszenia automatyzacji procesu (Dambier et al., 2022; Szopa and Kostyń, 2006).

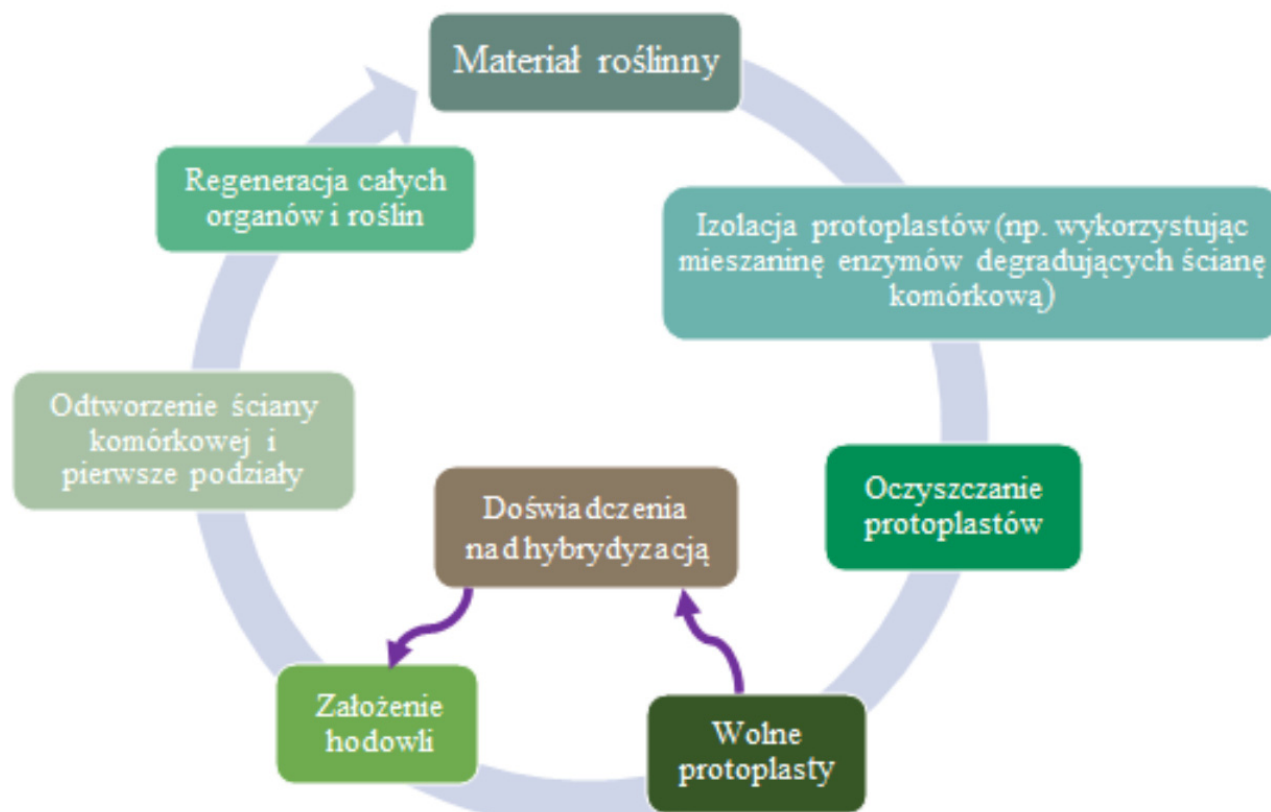


SCHEMAT 5. OGÓLNY SCHEMAT UZYSKIWANIA KULTUR ZAWIESINOWCYH KOMÓREK Z FRAGMENTÓW BLASZKI LIŚCIOWEJ (EKSPLANTAT) POŚREDNIO POPRZECZ KALUS (1) LUB BEZPOŚREDNIO Z EKSPLANTATU (2) (OPRACOWANIE WŁASNE, NA PODSTAWIE SYCHTA ET AL., 2018).

NOWE TECHNIKI HODOWLANE – INNOWACJE DLA ZIELONEJ BIOTECHNOLOGII

Ostatnie lata stawiają przed rolnictwem, sadownictwem oraz ogrodnictwem wiele wyzwań, ale także wyzwalają impuls do rozwoju innowacji. Jedną z dyscyplin o największym potencjale innowacyjnym jest biotechnologia (Ray et al., 2013). Z biotechnologicznego punktu widzenia dostępna jest cała gama technik o szerokich możliwościach wykorzystania m. in. cisgeneza, intrageneza, hodowla wsteczna, mutageneza z zastosowaniem miejscowo-specyficznych nukleaz (m. in. CRISPR, ZFN czy TALEN), mutageneza sterowana oligonukleotydami, metylacja zależna od RNA, szczepienie na genetycznie zmodyfikowanej podkładce (Kumar et al., 2019). Jednakże do chwili obecnej tylko niektóre są z powodzeniem stosowane poza laboratorium.

Tzw. zielona biotechnologia związana jest z rolnictwem i skupia się na wytwarzaniu skutecznych,



SCHEMAT 6. UPROSZCZONY SCHEMAT OTRZYMYWANIA ROŚLIN W KULTURACH PROTOPLASTÓW WRAZ Z EWENTUALNĄ HYBRYDYZACJĄ SOMATYCZNĄ IN VITRO (OPRACOWANIE WŁASNE).

wydajnych, nowatorskich i pożądaných produktów. Innowacje w hodowli roślin dotyczą zarówno procesów, jak i produktów. Wśród innowacji procesowych największe znaczenia ma masowa produkcja roślin in vitro (Hasnain et al., 2022). Z kolei wśród innowacji produktowych na pierwsze miejsce wysuwa się poszukiwanie nowych odmian ze względu na unikalne walory. Z punktu widzenia hodowcy roślin, nowoczesna biotechnologia stwarza dodatkowe możliwości, które są związane z generowaniem zmienności genetycznej, z której korzysta on w procesie selekcji i hodowli nowych odmian roślin uprawnych, szybszego i bardziej wydajnego namnażania materiału (mikrorozmnażanie), produkcji roślin wolnych od wirusów, produkcji roślin haploidalnych, hodowli protoplastów, somatycznej embriogenezy, produkcji sztucznych nasion, nadprodukcji metabolitów wtórnych, transgenezy.

PRODUKCJA ROŚLIN WOLNYCH OD WIRUSÓW

Rośliny ulegają zakażeniom patogenami, co wpływa na wigor roślin i plonowanie. Procesy prowadzące do uzyskania czystego materiału wyjściowego dotyczą hodowli merystemów, które są pozbawione czynnika patogenicznego. Ich produkcja ma pozytywny wpływ na poprawę parametrów wzrostu i rozwoju, co przekłada się na plonowanie (Krishna et al., 2022).

PRODUKCJA ROŚLIN HAPLOIDALNYCH

Rośliny haploidalne są poszukiwanym materiałem do realizacji programów hybrydyzacyjnych. W ich przypadku dochodzi do ekspresji genów recesywnych i wyeksponowania pożądaných cech oraz wytworzenie linii wsobnych (Seguí-Simarro et al., 2021).

PRODUKCJA SZTUCZNYCH NASION

Embriogeneza somatyczna i powstawanie zarodków somatycznych są cennym narzędziem w rozmnażaniu roślin na dużą skalę. W bioreaktorze można wyprodukować dużą liczbę zarodków, które po zastosowaniu otoczkowania stają się pełnowartościowym materiałem wyjściowych, chronionym przed wysuszeniem

i urazami (Bekele, 2021). Obecnie trwają badania nad udoskonaleniem metod tworzenia sztucznych nasion tak, aby ich odporność na przechowywanie i zdolność do rozwoju w prawidłowe rośliny była zbliżona do nasion naturalnych. Ponadto odpowiednio przygotowane sztuczne nasiona roślin zagrożonych wyginięciem mogą być poddane krioprezervacji i przechowywane przez długi czas w głębokim zamrożeniu w bankach germoplazmy (Makowski et al., 2016).

PRODUKCJA ROŚLIN TRANSGENICZNYCH

Transgeneza polega na wprowadzeniu nowego genu do organizmów celem stworzenia nowej odmiany o pożądanych cechach (Penna and Jain, 2023). Techniki inżynierii genetycznej pozwalają na rozwijanie upraw modyfikowanych genetycznie. Działania mają na celu poprawę produktywności i wydajności roślin uprawnych, przy ograniczeniu stosowania herbicydów i pestycydów.

MUTAGENEZA

Mutageneza to proces, w wyniku którego w DNA zachodzi mutacja. W biotechnologii rolniczej proces mutagenezy pomaga wywołać przypadkową mutację w celu stworzenia różnorodności w uprawach o wymaganych cechach. W odróżnieniu od transgenezy zmiana jest przypadkowa, a skutki są obserwowane jedynie fenotypowo (Penna and Jain, 2023).

HODOWLA PROTOPLASTÓW I HYBRYDYZACJA SOMATYCZNA

Manipulacje z wykorzystaniem protoplastów roślinnych okazują się być wygodnymi technikami alternatywnymi względem metod klasycznych, pozwalającymi na uzyskanie nowych, pożytecznych cech. Jednym z najpowszechniejszych praktycznych zastosowań protoplastów jest tzw. hybrydyzacja somatyczna, polegająca na łączeniu (fuzji) komórek różnych gatunków/odmian roślin, prowadząca do otrzymania mieszańców (hybryd somatycznych), które łączą w sobie cechy organizmów wyjściowych. Jest to pozapłciowa droga krzyżowania, czasami odległych taksonomicznie gatunków (Dambier et al., 2022).

PRODUKCJA METABOLITÓW WTÓRNYCH

Ograniczenia w pozyskiwaniu roślin bogatych w związki o znaczeniu prozdrowotnym i terapeutycznym były impulsem do zastosowania metod biotechnologicznych (Wawrosch and Zotchew, 2021). Produkcja różnych metabolitów wtórnych, takich jak antocyjany, alkaloidy, karotenoidy, garbniki, flawony, sterydy z hodowli komórek roślinnych i tkanek nie została jeszcze na szeroką skalę zastosowana na poziomie przemysłowym. Problemy w przypadku tego typu kultur związane są z niestabilnością genetyczną i niską wydajnością produkcji (Fazili et al., 2022).

PODSUMOWANIE

Dynamiczny rozwój nowych technologii w obszarze nauk biologicznych jest faktem o zasadniczym znaczeniu nie tylko poznawczym, ale także społecznym i ekonomicznym. Nauka daje coraz więcej nowych narzędzi, które mogą zostać przeniesione do gospodarki. Obecnie biogospodarka i agrobiotechnologia są wzajemnie powiązane. Przejawia się to głównie w masowym rozmnażaniu *in vitro* wielu gatunków roślin wykorzystywanych przez człowieka. Warsztat metod i technik są z każdym rokiem udoskonalane, a biotechnologiczna produkcja roślin coraz częściej staje się głównym sposobem wegetatywnego rozmnażania wielu roślin ze względu na wydajniejsze mnożenie, uniezależnienie się od warunków pogodowych, szybkie wprowadzenie do uprawy nowych odmian, możliwość długoterminowego przechowywania materiału roślinnego w obniżonej temperaturze oraz ułatwienie obrotu handlowego. Prace współczesnych biotechnologów zmierzają nie tylko do genetycznego ulepszania znanych gatunków roślin, lecz również do poszukiwania nowych i wartościowych odmian, które mogłyby wzbogacić grupę roślin uprawnych. Niezaprzeczalnie agrobiotechnologia to rolnictwo przyszłości. Należy jednocześnie zwrócić uwagę na prognozy rozwoju tego sektora, gdyż innowacje przejawiają się zastępowaniem tradycyjnych, niebiologicznych procesów przemysłowych bioprocasa-

mi i produkcji celowanej biofarmaceutyków, specyficznych związków chemicznych, dodatków do żywności oraz biomateriałów i biopaliw z odnawialnych surowców tj. biomasa roślinna.

LITERATURA

Amirova, A. et al. (2022) 'Multiple plant regeneration from embryogenic calli of *Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud', *Plants*, 11(8), pp. 1020. doi: 10.3390/plants11081020.

Anderson, W.C. (1980) 'Mass propagation by tissue-culture-principles and techniques', *Sci. Educ. Adm. Publ.* 1–10.

Awotedu, B.F., et al. (2021) 'Vegetative propagation: a unique technique of improving plants growth', *World News of Natural Sciences* 35, pp. 83-101.

Lal, M. et al. (2022) 'Micropropagation of fruit crops: a review'. *Plant Science Today*, 10(1), pp. 108-117. doi: <https://doi.org/10.14719/pst.1891>.

Bekele, B.G. (2021) 'Review on production and application of synthetic seeds', *GSJ*, 9 (3), pp. 189-211.

Bidabadi, S.S., Jain, S.M. (2020) 'Cellular, molecular, and physiological aspects of *in vitro* plant regeneration', *Plants*, 9(6), pp. 702. doi: 10.3390/plants9060702.

Campos-Boza, S. et al. (2022) 'Somatic embryogenesis and plant regeneration from transverse thin cell layers of adult peach palm (*Bactris gasipaes*) lateral offshoots', *Frontiers in Plant Science*, 13, pp. 995307. doi: 10.3389/fpls.2022.995307.

Dambier, D. et al. (2022) 'Genomic instability in somatic hybridization between poncirus and citrus species aiming to create new rootstocks', *Agriculture*, 12, pp. 134. doi: 10.3390/agriculture12020134.

Datta, S.K. (2019) 'Need based tissue culture in floriculture: a success story', *J. Plant Sci. Res.* 35, pp. 245–254. doi: 10.32381/JPSR.2019.35.02.14.

Fazili, M.A. et al. (2022) 'In vitro strategies for the enhancement of secondary metabolite production in plants: a review', *Bulletin of the National Research Centre*, 46, pp. 35.

Gaj, M. D. (2001) *Somatyczna embriogeneza w kulturach in vitro Arabidopsis thaliana [L.] HEYNH.* Katowice: Prace Naukowe Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach (1970), pp. 8–26.

Hasnain, A. et al. (2022) 'Plants in vitro propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches', *Frontiers Plant Sci.* 13. doi: 10.3389/fpls.2022.1009395.

Jerzy, M. and Krzysińska, A. (2011) 'Rozmnażanie wegetatywne roślin ozdobnych', 2. wyd. Poznań: PWRiL Sp.z o.o., pp. 8-88.

Joshi, S. et al. (2022) 'AGL15 promotion of somatic embryogenesis: role and molecular mechanism', *Frontiers in Plant Science*, 13, pp. 861556. doi: 10.3389/fpls.2022.861556.

Krishna, R. et al. (2022) 'Meristem culture: A potential technique for *in vitro* virus-free plants production in vegetatively propagated crops', *Advance in Plant Tissue Culture* 14, pp. 325-343. doi: 10.1016/B978-0-323-90795-8.00017-5.

Kulus, D. (2013) 'Embriogeneza somatyczna *in vitro*', *CreativeTime: Nowe trendy w naukach przyrodniczych*, 4.wyd., pp. 45–54.

- Kulus, D. (2014) 'Biotechnologiczne metody reprodukcji roślin ozdobnych', "Biotechnological methods of ornamental plants reproduction", Jakość życia w badaniach młodych naukowców, Poznań: Maiuscula, pp. 87–104.
- Kumar, R. et al. (2019) 'CRISPR-based genome editing in wheat: A comprehensive review and future prospects', Mol. Biol. Rep. 46, pp. 3557–3569. doi: 10.1007/s11033-019-04761-3.
- Kyte, L. et al. (2013) 'Plants from test tubes: an introduction to micropropagation', 4th ed. Timber Press, Portland, OR, USA, pp. 270.
- Lowe, G.E. et al. (2022) 'Effect of stock plant growing medium and density upon a cutting propagation system for tea tree, *Melaleuca alternifolia*', Plants, 11(18), pp. 2421. doi:10.3390/plants11182421.
- Makowski, D. et al. (2016) 'Integration of tissue culture and cryopreservation methods for propagation and conservation of the fern *Osmunda regalis* L.', Acta Physiologiae Plantarum, 38(1), pp. 19. doi:10.1007/s11738-015-2037-y.
- Malepszy, S. and Bach, A. (2014) 'Biotechnologia roślin / red. nauk. Stefan Malepszy', Wyd. 2, zm., 2 dodr. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, pp. 21-38.
- Meher, D., Panigrahi, S. and Rout, S. (2021) 'Propagation in Flowering and Ornamental Plants', Recent Trends In Propagation of Forest and Horticultural Crops, India: TARAN PUBLICATION, pp. 368–373.
- Penna, S. and Jain, S.M. (2023) 'Fruit crop improvement with genome editing, *in vitro* and transgenic approaches', Horticulturae, 9, pp. 58. doi: 10.3390/horticulturae9010058.
- Phillips, G.C. and Garda, M. (2019) 'Plant tissue culture media and practices: an overview', In Vitro Cell Dev Biol - Plant 55, pp. 242–257. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>.
- Płażek, A. and Dubert, F. (2022) '*In vitro* culture as a tool for studying plant developmental processes at the physiological level in Poland', Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 91, pp. 9113. doi: 10.5586/asbp.9113.
- Quiroz-Figueroa, F. R. et al. (2006) 'Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants', Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 86(3), pp. 285–301. doi: 10.1007/s11240-006-9139-6.
- Ray, D.K. et al. (2013) 'Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050', PLoS ONE, 8, pp. e66428. doi: 10.1371/journal.pone.0066428.
- Roberto, S. R. and Colombo, R. C. (2020) 'Innovation in Propagation of Fruit, Vegetable and Ornamental Plants', Horticulturae, 6(2). doi: 10.3390/horticulturae6020023.
- Seguí-Simarro, J.M., Jacquier, N.M.A. and Widiez, T. (2021) 'Overview of *in vitro* and *in vivo* doubled haploid technologies', Doubled Haploid Technology, 2287, pp. 3-22. doi: 10.1007/978-1-0716-1315-3_1.
- Soares, J.S., Sorgato, J.C. and Ribeiro, L.M. (2020) 'Protocol for asymbiotic germination and initial protocorm development of Brazilian Cerrado native orchids', Rodriguésia 71, pp.1–10.
- Sychta, K., Słomka, A. and Kuta, E. (2018) 'Kultury zawieszinowe komórek jako model do badania tolerancji roślin na metale ciężkie', Kosmos, 67(2), pp. 335–346. doi: 10.36921/kos.2018_2393.
- Szmidt-Jaworska, A. and Kopcewicz, J. (2021) 'Fizjologia Roślin', 4th-dodruk 1st edn., Warszawa, PWN, pp. 491-496.

Tonecki, J. and Łukaszewska, A. J. (1996) 'Rozmnażanie roślin ozdobnych', 2nd edn. SGGW, pp. 4-27.

Utami, E. S. W. and Hariyanto, S. (2019) '*In vitro* seed germination and seedling development of a rare Indonesian native orchid *Phalaenopsis amboinensis* J.J.Sm', *Scientifica*, 2019, pp. 8105138. doi: 10.1155/2019/8105138.

Wang, K. et al. (2020) 'Square one: zygote polarity and early embryogenesis in flowering plants', *Current Opinion in Plant Biology*, 53, pp. 128-133. doi: 10.1016/j.pbi.2019.10.002.

Wawrosch, C. and Zotchew, S. B. (2021) 'Production of bioactive plant secondary metabolites through *in vitro* technologies - status and outlook', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, pp. 6649-6668. doi: 10.1007/s00253-021-11539-w.

Wehbi, H. et al. (2022) 'One-week scutellar somatic embryogenesis in the monocot *Brachypodium distachyon*', *Plants*, 11(8), pp. 1068. doi: 10.3390/plants11081068.

§ Praca wpłynęła do redakcji: 01.03.2023r.
Zrecenzowano: 14.04.2023r.
Przyjęto do druku: 06.05.2023r.

Anna Miązek , Karina Krzciuk 

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25 – 406 Kielce

Instytut Chemii

e-mail: a.miazek41@gmail.com

PORÓWNANIE METOD MINERALIZACJI MIKROPLASTIKU NA PRZYKŁADZIE BROKATU

COMPARISON OF MICROPLASTIC MINERALIZATION METHODS

ON THE EXAMPLE OF GLITTERES

ABSTRACT

The subject of microplastics is one of the most popular topic among different disciplines, like: chemistry, biotechnology or environmental protection. The growing interest in this new problem cause the need to develop modern analytical methods. Plastics are made of synthetic polymers and are used in every area of life. Plastics can fragment into microplastics and nanoparticles. The example of primary microplastics are glitters used in cosmetics. The glitter often is built with several layers, including colourful layers of pigments and the aluminium “mirror”. Therefore, polymer glitters may pose a threat not only due to its size and shape, but also due to the possibility of delivery potentially toxic metals. The aim of this research was to compare two methods (A and B) of microplastic mineralization in the form of glitter based on the analysis of selected elements: Ni, Mn, Cu, Al. The mineralization was carried out in a closed system assisted by microwave radiation, and the compared methods differed in the reaction mixture (A: HNO_3 and HCl , B: HNO_3 , HCl and H_2O_2). The obtained data suggest that more effective method was A (without the addition of H_2O_2).

KEY WORDS: microplastics, glitter, mineralization, potentially toxic elements.

STRESZCZENIE

Mikroplastik to jeden z najbardziej popularnych tematów wśród naukowców różnych dyscyplin, jak chemia, biotechnologia czy ochrona środowiska, jednak wraz ze wzrostem zainteresowania tym problemem, wzrosła również konieczność opracowania nowych metod analitycznych. Plastik zbudowany jest z syntetycznych polimerów i wykorzystywany w każdej dziedzinie życia. Plasterki mogą ulec fragmentacji tworząc dalej mikroplastiki i nanoplastiki. Jednym z przykładów mikroplastików pierwotnych są używane w kosmetyce brokaty. Drobiną brokatu najczęściej zbudowana jest z kilku warstw, w tym barwnych warstw pigmentów oraz tzw. „lustra” glinowego. A zatem polimerowy brokat może stanowić zagrożenie nie tylko ze względu na swój rozmiar, kształt, ale też ze względu na możliwość uwalniania potencjalnie toksycznych metali. Celem przeprowadzonych badań było porównanie dwóch metod (A i B) mineralizacji mikroplastiku w postaci brokatu na podstawie analizy wybranych pierwiastków: Ni, Mn, Cu, Al. Mineralizacja odbywała się w układzie zamkniętym wspomaganym promieniowaniem mikrofalowym, a porównywane metody różniły się składem mieszaniny reakcyjnej (A: HNO_3 i HCl , B: HNO_3 , HCl i H_2O_2). Analizując otrzymane dane lepszą skutecznością wykazała się metoda A, czyli ta bez dodatku H_2O_2 .

SŁOWA KLUCZOWE: mikroplastik, brokat, mineralizacja, potencjalnie toksyczne pierwiastki.

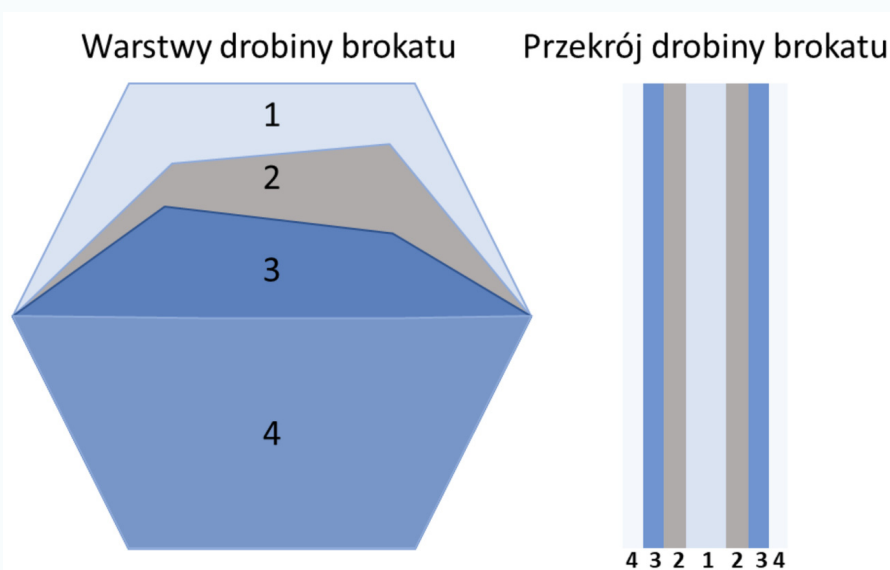
WSTĘP

Tworzywa sztuczne i ich obieg to obecnie jeden z najpopularniejszych tematów, nie tylko wśród naukowców (Wang, 2023). Dynamiczny wzrost zużycia polimerów (Janaswamy et al., 2022; Li et al., 2023) prowadzi do wszechobecności plastiku i powszechnego zanieczyszczenia nim różnych elementów środowiska (w tym: mórz, oceanów, środowiska lądowego, powietrza i innych) (Yang et al., 2021). Jak na tę chwilę zanieczyszczenie to jest trwałe (Geyer et al., 2017), więc jednym z wyzwań współczesności jest znalezienie narzędzi możliwych do wykorzystania do oczyszczania środowiska w globalnym wymiarze. Aby tego dokonać istotne jest poznanie metod badawczych i kontroli jakości prowadzonych badań nad plastikiem i jego produktami przemian (Möller et al., 2020).

MIKROPLASTIK I KONTROLA JAKOŚCI BADAŃ

Mikroplastik to drobne cząstki plastiku o wielkości mniejszej niż 5 mm (Frias and Nash, 2019). Powstaje on w różny sposób, m.in. z rozpadu większych przedmiotów z tworzyw sztucznych, w wyniku procesów mechanicznych i chemicznych, a także pochodzi z kosmetyków i środków czyszczących, które zawierają mikroplastik np. w postaci brokatu, kuleczek, ziarenek (Cole et al., 2011). Jest on wszechobecny, występuje w: wodzie pitnej, powietrzu, glebie, żywności, jak również w organizmach żywych, u ludzi. Ma to szereg negatywnych skutków dla środowiska i zdrowia, m.in. wpływa na zmiany klimatu, niszczy ekosystemy, wpływa na zdrowie ludzi poprzez działanie toksyczne i kancerogenne (Li et al., 2023). Tworzywa sztuczne, też mikroplastiki, różnią się składem chemicznym, formą fizyczną, rozmiarem, teksturą, kształtem (Qiu et al., 2023). Cechy te ewoluują podczas użytkowania i po wyrzuceniu odpadów polimerowych. Mikroplastiki mogą adsorbować trwałe zanieczyszczenia organiczne i nieorganiczne obecne w środowisku naturalnym, ale i same mogą być źródłem zanieczyszczeń, np. potencjalnie toksycznych metali (popularnie nazywanych metalami ciężkimi), czy też uwalnianych plastyfikatorów (Law and Thompson, 2014; Vedolin et al., 2018). Badania nad mikroplastikiem są więc istotne, aby zrozumieć jego wpływ na środowisko i zdrowie ludzi oraz opracować strategię ochrony przed jego negatywnym działaniem.

Jednym ze źródeł mikroplastiku w środowisku są kosmetyki, a w tym produkty zawierające brokat. Wykorzystywany jest on w celach ozdobnych, często niewymieniany w składnikach kosmetyku. Mikroplastik produkowany w postaci brokatu składa się z kilku nieobligatoryjnych warstw (zwykle od 1 do 4), gdzie warstwą bazową najczęściej jest trwały polimer (1), a dalej tzw. lustro aluminiowe (2), warstwy kolorowych pigmentów (3), powłoka ochronna (np. polimerowa folia) (4) (Ryc.1). Pigmenty i warstwa lustrzana mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzkiego i środowiska, ze względu na uwalnianie potencjalnie toksyczne pierwiastki, stąd zasadne jest podjęcie działań monitorujących.



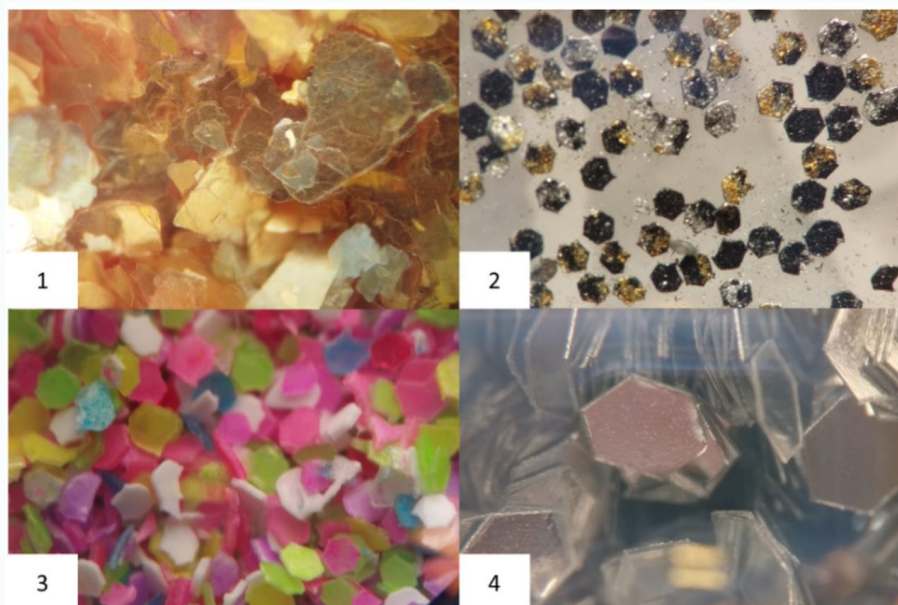
RYCINA 1. Warstwy drobiny brokatu oraz jej schematyczny przekrój, 1 – warstwa polimeru, 2 – glinowa warstwa lustrzana, 3 – warstwa kolorowego pigmentu, 4 – warstwa przezroczystego polimeru

Analiza pierwiastkowa próbek stałych, w tym polimerów w postaci brokatów, wymaga odpowiedniego ich przygotowania, które składa się z kilku etapów (Konieczka and Namieśnik, 2018). Każdy z nich powinien być poddany kontroli jakości. Najprostszym rozwiązaniem w kontroli jakości wyników analiz pierwiastkowych, na każdym etapie przygotowania i analizy próbki, jest stosowanie matrycowych certyfikowanych materiałów odniesienia (Konieczka and Namieśnik, 2018). Niestety, ze względu na to, że tematyka badań jest nowa – nie istnieją dostępne na rynku odpowiednie materiały porównawcze, opatrzone stosownymi certyfikatami. Dlatego przygotowując próbkę do analizy należy zwrócić szczególną uwagę na dobór metodyk jej przygotowania i wybrać tę, która daje najbardziej wiarygodne rezultaty.

Pierwszym krokiem w etapie przygotowania próbek jest ich rozdrobnienie i homogenizacja. Następnym etapem jest mineralizacja, czyli „trawienie” próbki za pomocą odpowiednich reagentów, w celu rozpuszczenia w niej związków chemicznych i uwolnienia wszystkich oznaczanych pierwiastków do roztworu (Ślęzak et al., 2016). Proces ten jest kluczowy w analizie pierwiastkowej dla większości technik analitycznych (Kubrakova and Toropchenova, 2013), ponieważ umożliwia oznaczenie analitów, które nie byłyby dostępne w inny sposób, np. ze względu na swoją nierozpuszczalność. Mineralizacja jest szczególnie istotna w przypadku próbek zawierających metale, w tym tzw. metale ciężkie lub pierwiastki śladowe, ponieważ te składniki zwykle występują w niskich stężeniach i są trudne do oznaczenia. W rezultacie mineralizacja próbek stałych jest niezbędnym etapem przygotowania próbek do analizy pierwiastkowej, umożliwia oznaczenie pierwiastków, które są kluczowe w określeniu składu chemicznego próbki. Ze względu na brak odpowiednich certyfikowanych materiałów odniesienia i konieczność zapewnienia kontroli jakości wyników analitycznych, konieczne jest przeprowadzenie badań pilotażowych, które wskażą metodę o lepszym potencjale. Mineralizacja w układzie zamkniętym wspomagana promieniowaniem mikrofalowym, to hybrydowy układ, z powodzeniem wykorzystujący zasoby technik, takich jak: mineralizacja kwasowa, mineralizacja w układzie zamkniętym (tzw. bomba teflonowa) oraz wspomaganie promieniowaniem mikrofalowym (Chattopadhyay et al., 2004; Gaudino et al., 2007). Poprzez połączenie tych metod mineralizacja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym jest niezwykle skuteczna, wymaga mniejszego zużycia reagentów, energii czy czasu. Określana jest mianem „zielonej” (Ślęzak et al., 2016).

METODYKA BADAŃ

Celem przeprowadzonych badań było porównanie dwóch metod mineralizacji mikroplastiku w postaci brokatu (używanych w celach kosmetycznych, dostępnych na rynku polskim) na podstawie analizy wybranych i potencjalnie toksycznych pierwiastków: Ni, Mn, Cu, Al. Do badań wykorzystano 4 próbki brokatu o różnych kolorach (rycina 2). Drobiną brokatu zawiera kilka warstw, w tym warstwę polimeru, tzw. warstwa lustrzana – składająca się głównie z glinu, czy warstwy kolorowych pigmentów, które zwykle – w zależności od koloru, bogate są w pierwiastki tworzące barwne związki lub są metaliczne, stąd też wybór takich metali.



RYCINA 2. Badane drobinę brokatu (1-4) – zdjęcia mikroskopowe, powiększenie 5-krotne.

Mineralizacja odbywała się z wykorzystaniem mineralizatora Multiwave 3000, Anton Paar, w układzie zamkniętym, wspomagana promieniowaniem mikrofalowym. Analizy wykonano z wykorzystaniem spektrometru absorpcji atomowej (AAS) z atomizacją płomieniową (iCE 3500Z Thermo Scientific).

Porównywane metody różniły się zastosowaniem reagentów do mineralizacji: przy pierwszej metodzie (A) do kolejnych naważek ($0,1000 \text{ g} \pm 0,0020 \text{ g}$) brokatu (próbki 1-4) dodawano odpowiednie ilości HNO_3 i HCl oraz przy drugiej metodzie (B) do kolejnych naważek ($0,1000 \text{ g} \pm 0,0020 \text{ g}$) brokatu (próbki 1-4) dodawano odpowiednie ilości HNO_3 , HCl i H_2O_2 . Szczegółowy dobór parametrów został przedstawiony w tabeli 1.

TABELA 1. Parametry zastosowane w mineralizacji dla metod A i B.

Parametr	Metoda A	Metoda B
Masa próbki	$0,1000 \text{ g} \pm 0,0020 \text{ g}$	
Mieszanina reakcyjna		
HNO_3 stęż.	6 ml	
HCl stęż.	0,5 ml	
H_2O_2 30%	BRAK	1 ml
Parametry mineralizatora		
Temperatura	220°C	
Ciśnienie	60 bar	
Narost ciśnienia	0,3 bara/s	

WYNIKI BADAŃ

Otrzymane wyniki zaprezentowano w tabeli 2.

Fizyczna ocena mineralizatów przebiegła pozytywnie, wszystkie otrzymane roztwory (zarówno metoda A i B) charakteryzowały się klarownością, były przezroczyste, nie zaobserwowano pozostałości po polimerach, które to uległy całkowitemu rozтворzeniu. Całkowita ilość pierwiastków przeszła z matrycy do roztworu, a zatem rozważane będą całkowite ilości dostępnych pierwiastków. Wyniki przeliczono na miligramy na kilogram brokatu [mg/kg].

Ilość otrzymanych danych powyżej granicy oznaczalności dla wszystkich pierwiastków mineralizowanych metodą A wynosiła 10, a metodą B – 9. Porównując sumy dla wszystkich pierwiastków, większą odznaczała się metoda (A) ($\sum_{\text{Ni, Mn, Cu, Al}} 85052 \text{ mg/kg}$) w porównaniu do metody (B) ($\sum_{\text{Ni, Mn, Cu, Al}} 73530 \text{ mg/kg}$). Pierwsza metoda skuteczniej mineralizowała próbki do oznaczeń Ni, ponieważ w dwóch próbkach została oznaczona ilość 7,50 mg/kg (próbka 1A) oraz 7,25 (próbka 3A), próbki 2 i 4 poniżej granicy oznaczalności, natomiast druga metoda (B) – wszystkie wyniki dla Ni poniżej granicy oznaczalności. Do oznaczania manganu lepsza okazała się metoda (B), ponieważ tylko jedna próbka (2B) znajdowała się poniżej granicy oznaczalności, natomiast w metodzie (A) – aż dwie (próbki 2A i 4A). Dla miedzi wyniki oznaczeń dla metody (A) i (B) były bardzo podobne – dwie próbki poniżej granicy oznaczalności w obydwóch przypadkach (próbki 1 A, B i 4 A, B). Jednak suma Cu dla metody A ($\sum_{2A,3A}$ dla Cu 66,9 mg/kg) była nieznacznie wyższa, niż dla metody B ($\sum_{2B,3B}$ dla Cu 65,4 mg/kg). Najwięcej w badanych brokatakach oznaczono glinu, w każdej

TABELA 2. Wyniki oznaczeń pierwiastków dla dwóch metod mineralizacji A i B.

Próbka	Ni mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg	Al mg/kg
Mineralizacja (A): HNO₃ + HCl				
1A	7,50	32,0	p.g.o.	69856
2A	p.g.o.	p.g.o.	55,4	12320
3A	7,25	8,25	11,5	236
4A	p.g.o.	p.g.o.	p.g.o.	2519
Mineralizacja (B): HNO₃ + HCl + H₂O₂				
1B	p.g.o.	31,3	p.g.o.	60082
2B	p.g.o.	p.g.o.	54,1	10966
3B	p.g.o.	8,25	11,3	178
4B	p.g.o.	2,88	p.g.o.	2197

gdzie: p.g.o. – poniżej granicy oznaczalności

TABELA 3. Podsumowanie otrzymanych wyników analiz.

Własność	Metoda A	Metoda B	Bez wskazania
Ilość wyników dla wszystkich pierwiastków	+		
Suma dla wszystkich pierwiastków	+		
Oznaczanie Ni	+		
Oznaczanie Mn		+	
Oznaczanie Cu			+
Oznaczanie Al	+		
Istotność statystyczna dla ilości oznaczanego Al*			+
Istotność statystyczna dla ilości oznaczanych Ni, Mn, Cu, Al*			+
Suma	4	1	2

*test U Manna-Whitneya dla grup niezależnych

z badanych próbek i metod (A) i (B) – powyżej granicy oznaczalności. Największą ilością glinu charakteryzowała się próbka 1: 69856 mg/kg – metoda mineralizacji (A) oraz 60082 mg/kg – metoda mineralizacji (B). Najmniej Al zaobserwowano dla próbki (metoda mineralizacji A i B) 3, gdzie nie zaobserwowano lustrzanej powłoki, a drobiny zbudowane były z jednej warstwy – kolorowego polimeru. Suma Al dla wszystkich próbek w metodzie A ($\sum_{1A,2A,3A,4A}$ 84931 mg/kg) była wyższa o ponad 13%, niż dla metody B ($\sum_{1B,2B,3B,4B}$ 73423 mg/kg).

Jedynym pierwiastkiem, który został oznaczony w obydwu grupach A i B i w każdej próbce brokatu był glin. Aby zbadać, czy różnice pomiędzy tymi dwiema grupami (ich średnimi) są istotne statystycznie zastosowano testy statystyczne oraz program STATISTICA StatSoft®. Ponieważ test Shapiro-Wilka (test służący do oceny, czy analizowane dane posiadają rozkład normalny) wykazał, że oznaczenia dla glinu, zarówno dla grupy A, jak i B posiadają prawdopodobieństwa testowe p poniżej założonej wartości istotności statystycznej $\alpha=0,05$ ($p_A=0,0046<\alpha$, $p_B=0,0489<\alpha$), stwierdzono, więc że badane dane nie charakteryzują się rozkładem normalnym. Aby zbadać statystyczną istotność różnic średnich rang dla badanych grup A i B zastosowano zatem nieparametryczny test U Manna-Whitneya dla grup niezależnych, który jest alternatywą dla parametrycznego testu t-Studenta dla grup niezależnych (choć testy parametryczne charakteryzują się większą mocą, to wymogiem jest tu normalny rozkład danych). W tym przypadku prawdopodobieństwo testowe p było większe od założonej wartości istotności statystycznej ($p=0,6650>\alpha=0,05$), a zatem metoda mineralizacji nie wpłynęła istotnie statystycznie na zawartość Al w badanych próbkach (Kościelniak, 2022). Podobne obliczenia wykonano dla wszystkich wyników (dla wszystkich pierwiastków) – porównując grupy A i B, które po teście Shapiro-Wilka też charakteryzowały się brakiem rozkładu normalnego. Zastosowano i tu test nieparametryczny U Manna-Whitneya. W teście tym $p=0,8702>\alpha=0,05$, co również wskazuje, że porównywane metody A i B mineralizacji nie wpłynęły istotnie statystycznie na zawartość analizowanych pierwiastków we wszystkich badanych próbkach (Kościelniak, 2022).

Analizując otrzymane dane (tab. 3): każda z metod, A i B, cechowała się pewnymi wadami i zaletami, a badania statystyczne nie wskazały jednoznacznie na którąś z nich. Jednak badając kolejne czynniki – największą skutecznością wykazała się metoda A, czyli ta bez dodatku H_2O_2 .

PODSUMOWANIE

Dbanie o jakość wyników na każdym etapie badania próbek jest obligatoryjne do uzyskania wiarygodnych danych (Shim et al., 2017). Porównywane metody dobrze rozdzieliły badane brokaty, natomiast metoda pierwsza (A) daje lepszy odzysk analizowanych pierwiastków (lepszą skuteczność mineralizacji), z wyjątkiem dla Mn. Badane próbki przeznaczone są do kontaktu ze skórą, a dalej mogą trafiać do różnych elementów środowiska przyrodniczego. Aktualnie nie są dostępne badania na temat biodostępności pierwiastków z warstw brokatu, jednak warstwy te jest niezwykle łatwo porysować lub mechanicznie oddzielić od polimeru bazowego. Zatem w odpowiednich warunkach w stosunkowo prosty sposób ulegają uruchomieniu i dalszemu transportowi. Dlatego prezentowane w pracy dane nie mają jedynie wymiaru analitycznego, ale też praktyczny – istnieje konieczność zbadania i monitorowania pierwiastków uwalnianych z mikroplastików. W każdej ze zbadanych próbek obecny był glin (nawet w ilości 6% wagowych), który jest toksyczny dla człowieka, gdyż może prowadzić, na przykład, do dezaktywacji części enzymów, działa szkodliwie na skórę i na układ nerwowy (Exley, 2016). Natomiast nikiel może prowadzić do silnych alergii, na skórze często wywołuje wysypki, jest również rakotwórczy (Das et al., 2013). Miedź w kontakcie ze skórą często wywołuje swędzenie i stany zapalne (Gaetke and Chow, 2003). Mangan w nadmiarze prowadzi do uszkodzeń w układzie nerwowym (Crossgrove and Zheng, 2004). Praca ta może stanowić wstęp do dalszych badań, które będą rozwijać tematykę biodostępności i toksykologii metali uwalnianych z plastików i szacować związane z tym zagrożenie dla człowieka i środowiska.

LITERATURA

- Chattopadhyay P. et al. (2004) 'Matrix digestion of soil and sediment samples for extraction of lead, cadmium and antimony and their direct determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry and atomic emission spectrometry', *Microchimica Acta*, Vol. 144, No. 4, pp. 277–283. doi: /10.1007/s00604-003-0113-2.
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S. (2011) 'Microplastics as contaminants in the marine environment: a review', *Marine Pollution Bulletin* 62, pp. 2588–2597. doi: /10.1016/j.marpolbul.2011.09.025.
- Crossgrove J. and Zheng W. (2004) 'Manganese toxicity upon overexposure', *NMR Biomed*, 17, pp. 544 - 553. doi: 10.1002/nbm.931.
- Das, Kusal K. et al. (2019) 'Primary concept of nickel toxicity – an overview', *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, vol. 30, no. 2, pp. 141-152. doi: /10.1515/jbcpp-2017-0171.
- Exley C. (2016) 'The toxicity of aluminium in humans', *Morphologie*, Volume 100, Issue 329, 2016, pp. 51-55. doi: /10.1016/j.morpho.2015.12.003.
- Frias J.P.G.L. and Nash R. (2019) 'Microplastics: finding a consensus on the definition' *Mar. Pollut. Bull.* 138, pp. 145-147. doi: /10.1016/j.marpolbul.2018.11.022.
- Gaudino S., et al. (2007) 'The role of different soil sample digestion methods on trace elements analysis: a comparison of ICP-MS and INAA measurement results', *Accreditation and Quality Assurance*, Vol. 12, No. 2, pp. 84–93. doi: /10.1007/s00769-006-0238-1.
- Gaetke Lisa, M. and Chow Ching, Kuang (2003) 'Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients', *Toxicology*, Volume 189, Issues 1–2, pp. 147-163. doi: /10.1016/S0300-483X(03)00159-8.
- Geyer R., et al. (2017) 'Production, use, and fate of all plastics ever made', *Science Advances* 3(7). doi: /10.1126/sciadv.1700782.
- Janaswamy S., et al. (2022) 'Cellulosic fraction from agricultural biomass as a viable alternative for plastics and plastic products *Industrial Crops and Products*', pp. 179. doi: /10.1016/j.indcrop.2022.114692.
- Konieczka P. and Namieśnik J. (2018) 'Quality assurance and quality control in the analytical chemical laboratory: a practical approach'. New York, CRC Press. doi: /10.1201/9781315295015.
- Kościelniak P. (2022) 'Statystyka I i II', *Doskonały Uniwersytet*, Kraków.
- Kubrakova I.V. and Toropchenova E.S. (2013) 'Microwave sample preparation for geochemical and ecological studies', *Journal of Analytical Chemistry*, 68, pp. 467 – 476. doi: /10.1134/S1061934813060099.
- Law K.L. and Thompson R.C. (2014) 'Microplastics in the seas', *Science*, 345, pp. 144–145.
- Li Z., et al. (2023) 'A discussion of microplastics in soil and risks for ecosystems and food chains', *Chemosphere*, 313. doi: /10.1016/j.chemosphere.2022.137637.
- Möller J.N., et al. (2020) 'Finding microplastics in soils: a review of analytical methods', *Environ. Sci. Technol.* 54, pp. 2078–2090. doi: /10.1021/acs.est.9b04618.
- Qiu Y., et al. (2022) 'Soil microplastic characteristics and the effects on soil properties and biota: A systematic review and meta-analysis', *Environmental Pollution*, 313. doi: /10.1016/j.envpol.2022.120183.

Shim W.J., et al. (2017) 'Identification methods in microplastic analysis: a review', *Anal. Methods*. 9 (9), pp. 1384–1391. doi: /10.1039/C6AY02558G.

Ślęzak, et al. (2016) 'Mineralizacja mikrofalowa jako efektywna metoda roztwarzania stałych próbek środowiskowych', *Prace Instytutu Ceramiki i Materiałów Budowlanych*, 26, pp. 151 – 159.

Vedolin M.C., et al. (2018) 'Spatial variability in the concentrations of metals in beached microplastics', *Marine Pollution Bulletin* 129, pp. 487–493. doi: /10.1016/j.marpolbul.2017.10.019.

Wang S. (2023) - International law-making process of combating plastic pollution: Status Quo, debates and prospects, *Marine Policy*, 147. doi: /10.1016/j.marpol.2022.105376.

Yang L., et al. (2021) 'Microplastics in freshwater sediment: A review on methods, occurrence, and sources', *Science of The Total Environment*, 754. doi: /10.1016/j.scitotenv.2020.141948.

§ Praca wpłynęła do redakcji: 05.07.2023r.

Zrecenzowano: 21.07.2023r.

Przyjęto do druku: 29.07.2023r.

Kamil Bielak¹, Katarzyna Kamińska¹, Marzena Świstak² ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, al. Raławickie 1, 20-059 Lublin²Uniwersytet Marii Curie – Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Prawa i Administracji, Instytut Nauk Prawnych, Katedra Prawa Informatycznego i Zawodów Prawniczych, Pl. M. Curie – Skłodowskiej w Lublinie, 20 – 031 Lublin¹e-mail: kamilbielak98@gmail.com; katarzynaakaminska00@gmail.com²e-mail: marzena.swistak@umcs.pl;

ZROZUMIEĆ PRAWA PACJENTA ONKOLOGICZNEGO. WYBRANE ASPEKTY DEONTOLOGICZNE I MEDYCZNE UNDERSTANDING THE RIGHTS OF THE ONCOLOGY PATIENT. SELECTED DEONTOLOGICAL AND MEDICAL ASPECTS

ABSTRACT

The process of coping with cancer is often a lengthy one, affecting changes in the previous way of life and its quality. The specificity of cancer is most often the high dynamics of change and the rapidly progressive nature of the cancer process, which is why time is one of the most important factors for success in oncological treatment. Hence, it seems necessary to address issues focusing on the rights of a special category of patients - those treated with oncological therapy in the context of deontological-medical challenges.

The authors point out that oncology patients have a number of rights, the protection of which is indispensable in the context of treatment of the disease. Attention is also drawn to the systemic solutions available to oncology patients - i.e. the oncology package and the Green Card for Oncology Diagnosis and Treatment (DiLO), noting the need for further legislative action to improve the actual functioning of the system. As far as deontological aspects are concerned, the authors draw attention to the importance of the so-called soft law or other directional documents oscillating around the issues in question (especially the recently adopted European Code of Conduct for Oncology 2020).

The research used a method of analysis including current studies, reports relating to the diagnosis of oncology patients. In addition, a formal, dogmatic and historical-legal method was used to identify legal issues in order to show the context of the legal and doctrinal solutions adopted in relation to the formation of the system of patient rights protection. At the same time, thanks to this method, it was noted that the pace of change in this area is not adequate to the social transformations taking place in parallel.

KEY WORDS: the oncology package, European Code of Cancer Practice, oncology patient, the right to information.

STRESZCZENIE

Proces zmagania się z chorobą nowotworową jest często procesem długotrwałym, mającym wpływ na zmianę dotychczasowego sposobu życia i jego jakości. Specyfiką choroby nowotworowej jest najczęściej duża dynamika zmian i szybko postępujący proces nowotworowy, dlatego w leczeniu onkologicznym czas jest jednym z najważniejszych czynników sukcesu. Stąd też niezbędne wydaje się podejmowanie zagadnień koncentrujących się wokół praw szczególnej kategorii pacjentów – leczonych terapią onkologiczną w kontekście wyzwań deontologiczno-medycznych.

Autorzy wskazują, że pacjenci onkologiczni posiadają szereg praw, których ochrona jest nieodzowna w kontekście leczenia choroby. Zwracają uwagę na zagrożenia, które mogą pojawić się wraz ze zbyt szeroko zakrojonym procesem formalizacji, a w niektórych obszarach także niewystarczającym (nieaktualnym) poziomem ochrony. W kontekście aspektów medycznych autorzy analizują m.in. kwestie związane z procesem diagnozowania choroby nowotworowej oraz wyboru odpowiedniej metody leczenia. Zwrócono również uwagę na rozwiązania systemowe dostępne dla pacjentów onkologicznych – tj. pakiet onkologiczny oraz Zieloną Kartę Diagnostyki i Leczenia Onkologicznego (DiLO), zwracając uwagę na konieczność podejmowania dalszych działań legislacyjnych usprawniających rzeczywiste funkcjonowanie systemu. Co do aspektów deontologicznych Autorzy zwracają uwagę na znaczenie tzw. prawa miękkiego lub innych dokumentów kierunkowych oscylujących wokół podejmowanej problematyki (zwłaszcza niedawno przyjętego Europejskiego Kodeksu Postępowania Onkologicznego z 2020 r.).

STRESZCZENIE

W prowadzonych badaniach posłużono się metodą analizy obejmującej aktualne opracowania, raporty odnoszące się do kwestii diagnostyki pacjentów onkologicznych. Ponadto, celem wskazania na zagadnienia prawne odwołano się metody formalno – dogmatycznej oraz historycznoprawnej, po to, by ukazać kontekst przyjętych rozwiązań prawnych i deontologicznych odnoszących się do ukształtowania systemu ochrony praw pacjenta. Jednocześnie dzięki tej metodzie zauważono, że tempo zmian w tym zakresie nie jest adekwatne do zachodzących równolegle przeobrażeń społecznych.

SŁOWA KLUCZOWE: pakiet onkologiczny, Europejski Kodeks Postępowania Onkologicznego, pacjent onkologiczny, prawo do informacji.

WSTĘP

Pacjenci onkologiczni stanowią szczególną kategorię pacjentów w kontekście wyzwań deontologiczno- medycznych. Z tego powodu u chorych, co do których istnieje podejrzenie nowotworu, istotne znaczenie mają szczególne uprawnienia w dostępie do szybkiej diagnostyki i leczenia. Należy pamiętać nowotwory złośliwe stanowią drugą, najczęstszą przyczynę zgonów w Polsce, a przeżywalność pacjentów onkologicznych jest uzależniona przede wszystkim od wczesnego wykrycia nowotworu złośliwego w możliwie jak najwcześniejszym jego stadium. Na podstawie danych z 2013 r. wskazywano, że liczba zachorowań na nowotwory złośliwe kształtuje się na poziomie 156,5 tysięcy rocznie, a około 94,1 tysięcy osób umiera z tego powodu (Wojciechowska and Didkowska, 2013).

Tego rodzaju zgromadzone dane dały impuls do dostrzeżenia konieczności wprowadzenia zmian (usprawnienia) w procesie leczenia chorób nowotworowych. Od 1 stycznia 2015 r. osoby z podejrzeniem lub wstępnie zdiagnozowanym nowotworem złośliwym mogą skorzystać z tzw. szybkiej terapii onkologicznej w ramach Pakietu Onkologicznego. Pakiet onkologiczny to szereg specjalnych uprawnień przeznaczonych dla pacjentów z podejrzeniem lub stwierdzoną chorobą nowotworową. Gwarantuje traktowanie pacjentów z chorobą nowotworową w sposób priorytetowy bez konieczności oczekiwania w kolejkach. W ramach Pakietu Onkologicznego pacjent otrzymuje szybki i bez kolejkowy dostęp do wstępnej oraz zaawansowanej diagnostyki zmian nowotworowych – potwierdzenie lub wykluczenie nowotworu, określenie jego stadium, stopnia zaawansowania oraz przerzutów, a także dostęp do szybkiego i najefektywniejszego planu leczenia. Zastosowanie pakietu onkologicznego jest emanacją konieczności zapewnienia pacjentom korzystającym ze świadczeń medycznych w zakładach opieki zdrowotnej pełnej ochrony z punktu widzenia praw pacjenta (Boratyńska and Konieczniak, 2001; Goodare and Smith, 1995; Mikołajczyk, 1994; Nestorowicz, 2000; Nowicki, 1998; Ostrowska, 1996; Popielski, 1968, Wroński, 2007; Wroński, 2007*). Jednym z podstawowych praw pacjenta jest prawo do informacji o stanie jego zdrowia podczas udzielania świadczeń zdrowotnych przez personel medyczny. Podobnie jak prawo pacjenta do autonomii (Wroński et al., 2008), opieki duszpasterskiej (Wroński, 2007**) czy godności (Wroński, 2008), prawo chorego do informacji na temat jego stanu zdrowia jest jednym z podstawowych praw człowieka (Arabian, 1994; Berry, 2005; Brady Wagner, 2003; de Lard, 2006; Järhult, 2008; Legemaate, 2002; Nazarko, 2004; Waller, 2001). Stąd też autorzy artykułu stawiają tezę, że sprzyjać temu powinny nie tylko odpowiednio ukształtowane regulacje prawne, na podstawie których można wdrożyć praktyczne rozwiązania w leczeniu, ale także aktualne, odpowiadające nowym wyzwaniom społecznym, normy deontologiczne.

ZIELONA KARTA DIAGNOSTYKI I LECZENIA ONKOLOGICZNEGO (DiLO) – OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA

W celu uzyskania dostępu do usług realizowanych w ramach Pakietu Onkologicznego generalnie pozytywnie należy ocenić wprowadzenie Karty diagnostyki i leczenia onkologicznego (tzw. Zielona Karta DiLO). Karta Diagnostyki i Leczenia Onkologicznego (DiLO) jest elementem Pakietu Onkologicznego, wprowadzonego w 2015 roku. Dzięki karcie DiLO pacjent z podejrzeniem nowotworu ma możliwość skorzystania ze

ścieżki szybkiej diagnostyki i leczenia złośliwej choroby nowotworowej (Gośliński, 2019).

Początkowo DiLO była bardziej rozbudowana (m. in. zawierała rubryki dotyczące objawów, wyników badań). Od lipca 2017 roku została ograniczona – obecnie DiLO składa się jedynie z dwóch stron. Karta należy do pacjenta, zastępuje skierowanie i dokumentuje cały proces diagnostyki oraz leczenia. Obowiązuje ona wyłącznie w tzw. zielonych placówkach, które zdecydowały się na podpisanie kontraktu onkologicznego z NFZ. Praktycznie posiadanie karty DiLO daje pacjentowi możliwość kompleksowego monitorowania przebiegu choroby i leczenia, jest to rodzaj priorytetowego skierowania, dzięki któremu pacjenci onkologiczni powinni mieć dostęp do szybkiej diagnostyki i leczenia, a w przypadku zmiany lekarza lub placówki pozwala na pozyskanie niezbędnej wiedzy o dotychczasowych metodach leczenia i wynikach badań (Gośliński, 2019).

PROGRAMY LEKOWE W ONKOLOGII I INNE WYBRANE MOŻLIWOŚCI LECZENIA PACJENTA ONKOLOGICZNEGO

Oprócz Pakietu Onkologicznego, pacjenci chorzy na nowotwór mają dostęp do specjalnych Programów Lekowych, które są świadczeniem gwarantowanym w ramach leczenia finansowanego przez NFZ. W ramach wspomnianej procedury pacjenci otrzymują dostęp do innowacyjnych i kosztownych leków, które znaczeni poprawiają efekty leczenia. Wszystkie dostępne w Polsce Programy Lekowe zawierają szczegółowy opis, na podstawie którego odbywa się kwalifikacja pacjenta do Programu Lekowego. Aktualnie dostępnych jest wiele różnych programów lekowych dla osób cierpiących na choroby nowotworowe (Rogowski et al., 2018).

Wśród innych możliwości leczenia pacjenta onkologicznego można wskazać na: możliwości pozyskiwania niezarejestrowanych produktów leczniczych w ramach procedury importu docelowego lub nawet podjęcie leczenia za granicą w innym państwie UE gdy czas oczekiwania na leczenie w Polsce jest zbyt długi, lub leczenie nie jest dostępne w Polsce. Możliwe jest także uruchomienie procedury czasowego/warunkowego dopuszczenia leków do obrotu w zakresie preparatów, które nie mają pozwolenia Ministra Zdrowia. Aby skorzystać z tej możliwości, należy złożyć odpowiedni wniosek i udowodnić, że zachodzi zagrożenie zdrowia lub życia pacjenta. Gdy dotychczasowe metody leczenia nie odniosły skutku, albo zostały już wyczerpane, pacjenci mają możliwość wzięcia udziału w badaniach klinicznych, które dają szansę na dostęp do innowacyjnych metod leczenia. Ratunkowy dostęp do technologii lekowych (RDTL) natomiast to mechanizm finansowania terapii pacjenta, w sytuacji gdy dotychczasowe możliwości terapeutyczne zostały już wyczerpane, a szansą dla chorego jest terapia lekiem zarejestrowanym w Polsce, który nie jest niefundowany. Warunkiem wykorzystania ratunkowego dostępu jest wykorzystanie w terapii wszystkich dostępnych, refundowanych technologii lekowych. Należy także dodać, że wniosek o sfinansowanie leczenia w ramach ratunkowego dostępu do technologii lekowych może złożyć wyłącznie ośrodek prowadzący leczenie danego pacjenta (a nie indywidualnie pacjent onkologiczny). Podanie leku w ramach RDTL może nastąpić na okres terapii nie dłuższy niż 3 miesiące albo trzy cykle leczenia z możliwością kontynuacji leczenia w przypadku potwierdzonej skuteczności leczenia danym lekiem (Minister Zdrowia, 2021).

EUROPEJSKI KODEKS POSTĘPOWANIA ONKOLOGICZNEGO (EUROPEAN CODE OF CANCER PRACTICE)

Gwarancje praw pacjenta onkologicznego, ze względu na specyfikę i konieczność jak najgłębszej ich realizacji (tak w wymiarze prawnym, jak i deontologicznym) są zawarte nie tylko w podstawowych aktach prawnych takich jak: Konstytucja RP z 1997 r., ratyfikowane umowy międzynarodowe, zwłaszcza Międzynarodowy Pakt Praw Obywatelskich i Politycznych z dnia 19 grudnia 1966 r. (Dz.U. z 1977 r. Nr 38, poz. 167, Konwencja o Ochronie Praw Człowieka i Podstawowych Wolności z 4 listopada 1950 r. (ratyfikowana przez Polskę 2 października 1992), ustawa z dnia 6 listopada 2008 r. o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta, rozporządzenia, ale także inne akty zawierające normy deontologiczne (np. Karta Praw Pacjenta z 1998 r., Deklaracja Promocji Praw Pacjenta w Europie z 1994 r., Europejska Karta Praw Pacjenta z 2002 r.).

Ze względu na rozwój medycyny, która stara się nadążać za nowymi (często nieprzewidywalnymi zmianami), jednocześnie chcąc zapewnić jak najbardziej aktualną (i najszerszą) ochronę praw pacjenta onkologicznego, we wrześniu 2020 r. państwa europejskie przyjęły Europejski Kodeks Postępowania Onkologicznego (Praw Pacjenta). Kodeks ma swoje początki w Europejskiej Karcie Praw Pacjentów Onkologicznych, która została ogłoszona w Parlamencie Europejskim w Światowy Dzień Walki z Rakiem 2014 i zdobyła prestiżową Europejską Nagrodę Zdrowia 2018. Był to dokument, który powstał we współpracy organizacji pacjenckich z wybitnymi przedstawicielami opieki zdrowotnej oraz członkami międzynarodowej grupy „Posłowie do PE przeciw rakowi”. Prace nad tym dokumentem trwały ponad dwa lata, kierowane były przez ECC (European Cancer Concorde). Głównym celem karty było wyrównanie szans pacjentów onkologicznych w Europie. Prof. J. Jassem reprezentujący podczas prac polską naukę, prezes Polskiego Towarzystwa Onkologicznego, podkreślił, że europejska inicjatywa była zbieżna z przygotowywanym przez Polskie Towarzystwo Onkologiczne polskim cancer planem. We wspomnianym dokumencie wykazuje się m.in. regionalne nierówności w dostępie do świadczeń onkologicznych w poszczególnych częściach Polski, przejawiające się dużymi różnicami w wydatkach na ten cel pomiędzy wojewódzkimi oddziałami NFZ (Solecka, 2014).

Dokument jest stopniowo wdrażany w poszczególnych państwach Europy, natomiast w Polsce – jak się wydaje - nie zyskał jeszcze należytej uwagi (choć w działania promocyjne intensywnie zaangażowała się m. in. Polska Liga Walki z Rakiem). Wydaje się – ze względu na jego aktualność i wspomniane niedocenie, wskazać na najważniejsze gwarancje jakie wybrzmiewają na tle dokumentu (www.europecancer.org).

Wśród podstawowych założeń zawartych w Europejskim Kodeksie Postępowania Onkologicznego znalazły się:

- 1) zasada równego dostępu do możliwie najlepszej opieki onkologicznej, w tym prawo do drugiej opinii lekarskiej;
- 2) prawo do wiarygodnej, specjalistycznej informacji na temat choroby i leczenia przekazywanej przez opiekującego się pacjentem onkologicznym zespół medyczny;
- 3) prawo do informacji na temat jakości i bezpieczeństwa opieki, poziomu wiedzy i wyników leczenia choroby w ośrodku, w którym dany pacjent onkologiczny się leczy;
- 4) prawo do opieki sprawowanej przez wyspecjalizowany wielodyscyplinarny zespół, najlepiej w ramach współpracujących ze sobą ośrodków onkologicznych;
- 5) prawo do udziału we wszystkich decyzjach na temat leczenia i opieki podejmowanych przez opiekującego się pacjentem onkologicznym zespół medyczny;
- 6) prawo do informacji o istotnych dla pacjenta onkologicznego toczących się badaniach klinicznych oraz o tym, czy może w nich uczestniczyć;
- 7) prawo do omówienia z zespołem medycznym swoich priorytetów i preferencji, aby osiągnąć jak najlepszą jakość życia;
- 8) prawo do optymalnego leczenia wspomagającego i paliatywnego w każdym momencie choroby;
- 9) prawo do uzyskania przejrzystego, dobrze zorganizowanego i możliwego do zrealizowania planu wychodzenia z choroby i rehabilitacji i omówienia go ze swoim zespołem medycznym;
- 10) prawo do pełnego powrotu do społeczeństwa i ochrony przed stygmatyzacją i dyskryminacją związaną z chorobą nowotworową oraz – w miarę możliwości – powrotu do normalnego życia (Europejski Kodeks Postępowania Onkologicznego, 2023).

DYSKUSJA

Realizacja pakietu onkologicznego skróciła wprawdzie czas oczekiwania na udzielenie świadczenia dla pacjentów z wystawioną kartą diagnostyki i leczenia onkologicznego, jednakże jeszcze nie doprowadziła, do znaczącej poprawy w obszarach determinujących skuteczność leczenia onkologicznego, tj. wykrycia choroby w możliwie wczesnym jej stadium oraz zapewnienia dostępu do świadczeń w ramach pakietu dla wszystkich pacjentów kwalifikujących się do niego z uwagi na rozpoznanie, postawienia precyzyjnej diagnozy, a w konsekwencji zastosowania optymalnych procedur terapeutycznych, kompleksowości i jakości udzielanych świadczeń. Kartę DiLO uzyskała tylko część pacjentów, którzy ze względu na rozpoznanie kwalifikowali się do jej otrzymania. Wskazuje się, że w 2022 r. tylko 66% pacjentów otrzymało opiekę zgodnie z terminami określonymi w karcie DiLO. Ponadto dostęp do świadczeń w ramach pakietu ograniczał fakt, iż jedynie część podmiotów leczniczych, udzielających świadczeń onkologicznych, podpisała umowy o ich realizację w ramach pakietu, a spośród nich nie wszystkie faktycznie wykonywały takie umowy. Jeszcze niższy odsetek podmiotów realizujących pakiet zapewniał jednoczesny dostęp, w ramach prowadzonej własnej działalności, do badań laboratoryjnych, tomografii komputerowej, rezonansu magnetycznego oraz badań endoskopowych (Stelmach, 2023).

Wypada wspomnieć, że NIK podczas przeprowadzonej kontroli w 2017 r. zauważył, że czas oczekiwania na udzielenie świadczeń innych niż objętych pakietem wydłużył się, w porównaniu do roku poprzedniego, a w przypadku pracowni tomografii komputerowej i rezonansu magnetycznego podwoił się. Co do jakości zasugerowano, że była ona niejednolita, co w dziedzinie onkologii klinicznej, negatywnie wpływa na skuteczność leczenia (wskaźnik 5-letnich przeżyć pacjentów), i prowadzi niewątpliwie do wystąpienia dysproporcji w poszanowaniu (i realizowaniu) przysługujących pacjentom ich praw (Przygotowanie i wdrożenie pakietu onkologicznego. Informacja o wynikach kontroli. Departament Zdrowia Najwyższej Izby Kontroli, 2017). Stąd też należy pozytywnie ocenić zmiany wprowadzone w 2017 r., na których zasadność wskazywano również w literaturze. Podnoszono, że największe zastrzeżenia praktyczne dotyczą tego, że karta DiLO jest dokumentem zbyt rozbudowanym, a jej wypełnienie zabiera lekarzom cenny czas. Nie służy to choremu i jego leczeniu, lecz jedynie sprawozdawczości dla płatnika. W takiej konfiguracji „Zielona karta”, w założeniu droga do szybkiej ścieżki onkologicznej, nie rozwiązuje problemów z dostępem do leczenia. Nie objęto systemem wszystkich nowotworów, a skoro nie widnieją w systemie, nie można ich rozliczyć w ramach szybkiej ścieżki. Oprócz względów merytorycznych powoływano się na: zróżnicowanie uprawnień lekarzy do wystawiania „Zielonej karty”, czy konieczność powoływania konsylium dla każdego pacjenta (Chęcińska, 2015).

W celu poprawy funkcjonowania pakietu onkologicznego w marcu 2017 r. znowelizowano ustawę o świadczeniach opieki zdrowotnej, w tym m.in.: uproszczono sprawozdawczość w zakresie prowadzenia list oczekujących dla pacjentów z wystawioną Kartą DiLO, uproszczono wzór Karty DiLO oraz przyznano uprawnienie do jej wystawienia lekarzowi ambulatoryjnej opieki specjalistycznej w przypadku podejrzenia nowotworu oraz lekarzowi udzielającemu świadczeń w ramach programów zdrowotnych, przyznano ministrowi właściwemu do spraw zdrowia uprawnienia w postaci możliwości ogłaszania zaleceń postępowania w zakresie diagnostyki i leczenia onkologicznego, opracowanych przez towarzystwa naukowe o zasięgu krajowym, zrzeszające specjalistów w danej dziedzinie medycyny; wprowadzono mierniki oceny efektywności prowadzenia diagnostyki onkologicznej i leczenia onkologicznego, co powinno przyczynić się do zapewnienia wysokiej jakości świadczeń opieki zdrowotnej oraz bezpieczeństwa świadczeniobiorców (Wojciechowska and Didkowska, 2013; Przygotowanie i wdrożenie pakietu onkologicznego. Informacja o wynikach kontroli. Departament Zdrowia Najwyższej Izby Kontroli, 2017).

Nie wydaje się, żeby było to jednak rozwiązanie docelowe. Niezbędne jest dalsze dążenie do zwiększenia skuteczności i kompleksowości udzielania świadczeń onkologicznych w ramach pakietu onkologicznego, aby ograniczyć możliwości rozliczania poza pakietem onkologicznym świadczeń udzielanych pacjentom z wystawioną Kartą DiLO, zwiększyć odsetek pacjentów onkologicznych z wystawioną Kartą DiLO w celu zapewnienia im dostępu do szybkiej diagnostyki, w szczególności poprzez zwiększenie liczby świadczeniodawców udzielających świadczeń z zakresu diagnostyki onkologicznej w ramach pakietu. Potwierdzają to aktualne dane. W 2021 roku do Rzecznika Praw Pacjenta (RPP) wpłynęło 112 zgłoszeń dotyczących proble-

matyki dotyczącej karty DiLO, w 2022 roku było ich 99. Wśród zgłaszanych problemów znalazły się: odsyłanie pacjentów do innych podmiotów celem wystawienia karty DiLO, problemy z otwarciem i zamykaniem karty, związane ze zmianą miejsca leczenia rozpoznanej choroby nowotworowej, odmowa przez lekarza wystawienia karty DiLO na prośbę pacjenta, zastrzeżenia do terminów wykonywanych procedur medycznych w ramach DiLO (Dąbłaż, 2023).

WNIOSKI

Na podstawie dotychczasowych doświadczeń można postawić tezę o konieczności poczynienia dalszych wysiłków organizacyjno-prawnych celem stworzenia systemu szybkiej ścieżki leczenia onkologicznego. Należy stale wspierać rozwój wyspecjalizowanych ośrodków diagnostyki i leczenia onkologicznego (wszechstronnie zorientowanych lub narządowych), dysponujących odpowiednim doświadczeniem, kadrami medycznymi oraz możliwością prowadzenia kompleksowej diagnostyki i leczenia onkologicznego (we własnym zakresie), wyłonionych z wykorzystaniem map potrzeb zdrowotnych, o których mowa w art. 95a ust. 9 ustawy o świadczeniach opieki zdrowotnej. W tym zakresie wnioski wyprowadzone na tle kontroli przeprowadzonej w 2017 r. przez NIK zachowują pełną aktualność (Przygotowanie i wdrożenie pakietu onkologicznego. Informacja o wynikach kontroli. Departament Zdrowia Najwyższej Izby Kontroli, 2017).

Co więcej, wypada nadać należyty wydzźwięk regulacjom nie tylko prawnym, ale i dokumentom opracowanym przez organizacje pacjenckie, przygotowanym z udziałem wybitnych specjalistów. Wśród najnowszych (i niedocenionych) dokumentów można wskazać Europejski Kodeks Postępowania Onkologicznego, który może być wartościowym przyczynkiem do usprawniania szeroko pojętego systemu ochrony praw pacjenta onkologicznego. W ten sposób zweryfikowano pozytywnie tezę postawioną we Wstępie artykułu. Nawet najlepsze rozwiązania formalnoprawne, pozbawione kontekstu deontologicznego nie dadzą bowiem dobrych rezultatów praktycznych z punktu widzenia ochrony praw pacjenta onkologicznego.

LITERATURA

Arabian, A. (1994) 'Informed consent: from the ambivalence of Arato to the thunder of Thor', *Issues Law Med*, 10, pp. 261-298.

Berry, R. M. (2005) 'Informed consent law, ethics, and practice: from infancy to reflective adolescence. *HEC Forum*', 17, pp. 64-81.

Boratyńska, M., Konieczniak, P. (2001) 'Prawa pacjenta', Wydawnictwo Difin.

Brady Wagner, L. C. (2003) 'Clinical ethics in the context of language and cognitive impairment: rights and protections', *Semin Speech Lang*, 24, pp. 275-284.

Chęcińska, A. (2015) 'Nowotwory nie dostosują się do karty DiLO', czyli o pakiecie onkologicznym podczas Zjazdu', <https://izba-lekarska.pl/numer/numer-42015/nowodwory-nie-dostosuja-sie-do-karty-dilo-czyli-o-pakiecie-onkologicznym-podczas-zjazdu/> (dostęp: 15.09.2023).

Dąbłaż, B. (2023) 'Pacjenci zgłaszają Rzecznikowi Praw Pacjenta problemy z kartą DiLO', <https://www.prawo.pl/zdrowie/karty-dilo-zgloszenia-do-rzecznika-praw-pacjenta,519670.html> (dostęp: 15.09.2023).

de Lard, B. (2006) 'Patients' rights in the end of life, legal difficulties and practices to overcome', *Soins*, 708, pp. 33-35.

Europejski Kodeks Postępowania Onkologicznego (2023), <https://www.zwrotnikraka.pl/europejski-kodeks-postepowania-onkologicznego-praw-pacjenta/> (dostęp: 27.06.2023).

Goodare, H., Smith, R. (1995) 'The rights of patients in research (editorial, comment)', *BMJ*, 310, pp. 1277-8.

- Gośliński, J. (2019) 'Zielona Karta DiLO – karta diagnostyki i leczenia onkologicznego', <https://www.zwrotnikraka.pl/pakiet-onkologiczny-zielona-karta-leczenia/> (dostęp: 11.09.2023).
- Järhult, B. (2008) 'All patients' right to complete information – dilemma of health care services. No support by the law concerning mentally incompetent patients, *Lakartidningen*', 105, pp. 1005-1006.
- Legemaate, J. (2002) 'The development and implementation of patients' rights: Dutch experience of the right to information', *Med Law*, 21, pp. 723-734.
- Mikołajczyk, S. (1994) 'Prawa pacjenta: wymagania i oczekiwania w stosunku do personelu medycznego', Wydawnictwo Medix.
- Nazarko, L. (2004) 'Consent to clinical decisions when capacity is absent. Part 1: Making decisions. *Nurs Manag (Harrow)*', 10, pp. 18-22.
- Nestorowicz, M. (2000) 'Prawo medyczne'.
- Nowicki, M. (1998) 'Europejska Konwencja Praw Człowieka. Wybór orzecznictwa', Wydawnictwo CH Beck.
- Ostrowska, A. (1996) 'Prawa pacjenta', *Antidotum*, 6-8, pp. 86-90.
- Pismo Ministra Zdrowia z 16.01.2021r., znak: PLD.050.15.2021.AK, <https://orka2.sejm.gov.pl/INT9.nsf/kucz/ATTBXEK57/%24FILE/i17233-o1.pdf> (dostęp: 11.09.2023).
- Popielski, B. (1968) 'Medycyna i prawo'.
- Przygotowanie i wdrożenie pakietu onkologicznego. Informacja o wynikach kontroli. Departament Zdrowia Najwyższej Izby Kontroli, (2017). <https://www.nik.gov.pl/plik/id,14278,vp,16729.pdf> (dostęp: 27.06.2023).
- Rogowski, W., Zyśk, R., Krzakowski, M. (2018), 'Programy lekowe w onkologii. Jak optymalnie wykorzystać ich możliwości?', *Onkologia w Praktyce Klinicznej — edukacja* 2018, 4, 5, pp. 321-333.
- Solecka, A. (2014) 'Europejska Karta Praw Pacjenta Onkologicznego w Strasburgu', <https://www.termedia.pl/onkologia/Europejska-Karta-Praw-Pacjenta-Onkologicznego-w-Strasburgu,11699.html> (dostęp: 27.06.2023).
- Stelmach, M. (2023) 'Co trzeci pacjent z podejrzeniem nowotworu nie ma uruchomionej na czas karty DiLO', <https://www.termedia.pl/onkologia/Co-trzeci-pacjent-z-podejrzeniem-nowotworu-nie-ma-uruchomionej-na-czas-karty-DiLO,50004.html> (dostęp: 15.09.2023).
- Waller, D. B. (2001) 'The surgical oncology patient: provider obligations and legal rights', *Nurs Clin North*, 36, pp. 617-623.
- Wojciechowska, U., Didkowska, J. (2013) 'Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce', Krajowy Rejestr Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, <http://onkologia.org.pl/raporty/> (dostęp: 15.09.2023).
- Wroński, K. (2007) 'Prawa pacjenta', *Nowotwory*, 3, pp. 326-32.
- Wroński, K. (2007)* 'Znajomość praw pacjenta przez osoby chore leczone w Klinice Chirurgii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi', *Onkologia Polska*, 2, pp. 75-83.

Wroński, K. (2007)** 'Prawo chorego do opieki duszpasterskiej podczas pobytu w szpitalu', Współczesna Onkologia, 11, pp. 381-384.

Wroński, K. (2008) 'Prawo chorego do poszanowania godności podczas pobytu w szpitalu', Współczesna Onkologia, 12, pp. 35-37.

Wroński, K., Cywiński, J., Okraszewski, J., Bocian, R. (2008) 'Autonomia pacjenta w opiece zdrowotnej', Ginekologia Praktyczna, pp. 22-26.

§ Praca wpłynęła do redakcji: 04.07.2023r.
Zrecenzowano: 14.09.2023r.
Przyjęto do druku: 16.09.2023r.

Weronika Jacuńska¹ , Wioletta Biel 

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Nauk o Zwierzętach Monogastrycznych, Klemensa Janickiego 29, 71–270 Szczecin

¹Studenckie Koło Naukowe Żywieniowców

e-mail: wioletta.biel@zut.edu.pl

ZNACZENIE I ŹRÓDŁA DŁUGOŁAŃCUCHOWYCH WIELONASYCONYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH DHA I EPA W DIECIE PSÓW

THE SIGNIFICANCE AND DIETARY SOURCES OF LONG-CHAIN POLYUNSATURATED FATTY ACIDS DHA AND EPA IN CANINE DIET

ABSTRACT

Fatty acids (FA) are the main structural material that the body uses to derive structural components of cells, tissues and organs, and for the synthesis of certain biologically active substances. Among them, long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) of the n-3 family have been the subject of much interest in recent years. The results of a number of studies have shown that LC-PUFAs, among other things, stimulate the cardiovascular system, as well as play a key role in the development of the nervous system during embryonic life and early growth. The parental form of the n-3 fatty acid family is linolenic acid (ALA, C18:3 n-3), and the bioactive forms are eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5 n-3) and docosahexaenoic acid (DHA; C22:6 n-3) and their derivatives. The dog's body does not have the ability to synthesize ALA acid. Therefore, EPA and DHA acids must be supplied directly from the dog's diet. Their main dietary sources to this day are mainly oily marine fish. Unfortunately, the deteriorating situation of fish stocks, water purity or climate change is prompting the search for additional options for obtaining or producing LC-PUFA DHA and EPA. These acids are part of lipids found mainly among marine organisms and plants, but they can also be produced by yeast or molds. This article aims to present the most important beneficial actions of EPA and DHA acids and the common and unconventional sources of their presence.

KEY WORDS: docosahexaenoic acid, eicosapentaenoic acid, microalgae, fish, nutrition.

STRESZCZENIE

Kwasy tłuszczowe (FA, fatty acids) stanowią główny materiał budulcowy, z którego organizm czerpie składniki strukturalne komórek, tkanek i narządów oraz do syntezy niektórych substancji biologicznie czynnych. Spośród nich długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LC-PUFA, long-chain polyunsaturated fatty acids) z rodziny n-3 są w ostatnich latach obiektem dużego zainteresowania. Wyniki wielu badań wykazały, że LC-PUFA m.in. pobudzają układ sercowo-naczyniowy, jak również pełnią kluczową rolę w rozwoju układu nerwowego podczas życia płodowego i we wczesnym wzroście. Macierzystą formą rodziny kwasów n-3 jest kwas linolenowy (ALA, C18:3 n-3), a bioaktywnymi formami jest kwas eikozapentaenowy (EPA; C20:5 n-3) oraz kwas dokozaheksaenowy (DHA; C22:6 n-3) oraz ich pochodne. Organizm psa nie posiada zdolności syntezy kwasu ALA. Z tego względu kwasy EPA i DHA muszą być dostarczane bezpośrednio z dietą psa. Ich głównym źródłem w diecie do tej pory są głównie tłuste ryby morskie. Niestety pogarszająca się sytuacja zasobów rybnych, czystości wód czy zmian klimatycznych skłania do poszukiwania dodatkowych możliwości pozyskania lub produkcji LC-PUFA DHA i EPA. Kwasy te wchodzi w skład lipidów występujących głównie wśród organizmów morskich i roślin, ale także mogą być one produkowane przez drożdże czy pleśnie. Niniejszy artykuł ma na celu przedstawienie najważniejszych korzystnych działań kwasów EPA i DHA oraz powszechnych i niekonwencjonalnych ich źródeł występowania.

SŁOWA KLUCZOWE: kwas dokozaheksaenowy, kwas eikozapentaenowy, mikroalgi, ryby, żywienie.

WSTĘP

Żywnienie zwierząt towarzyszących jest tematem, który zyskuje na popularności. Związane jest to przede wszystkim ze wzrastającą świadomością opiekunów, dotyczącą prawidłowego żywienia oraz wzrastającą stale liczbą zwierząt pod ich opieką. Prawidłowo zbilansowana dieta powinna zawierać wszystkie niezbędne składniki odżywcze w odpowiednich ilościach i proporcjach. Tłuszcz jest podstawowym, wysokoenergetycznym makroskładnikiem. Jednocześnie uważa się, że wysoki poziom spożycia tłuszczu, jak i niewłaściwy jego skład mogą powodować zagrożenia różnymi chorobami cywilizacyjnymi także u psów (Lenox and Bauer, 2013; Lenox, 2016; Moinard et al., 2020). Dlatego przywiązuje się coraz większą uwagę do profilu kwasów tłuszczowych (FA, fatty acids).

Niektóre FA, takie jak wielonienasycone kwasy tłuszczowe (LC-PUFA, long-chain polyunsaturated fatty acids) z rodziny n-3; kwas dokozaheksaenowy (DHA, C22:6) i eikozapentaenowy (EPA, C20:5) mają szczególne znaczenie. Zgodnie z zaleceniami Europejskiej Federacji Przemysłu Żywnieniowego Zwierząt Domowych (FEDIAF, the European Pet Food Industry Federation) zaliczane jednak są tylko u szczeniąt do grupy związków niezbędnych/egzogennych (EFA, essential fatty acids) w diecie (FEDIAF, 2021), a powinny – w każdej grupie wiekowej. Kwasy te mają ograniczoną zdolność jednostek do ich syntezy. W konsekwencji najskuteczniejszym sposobem na zwiększenie ich stężenia w tkankach jest włączenie ich do diety psa. Niedobór tych kwasów został powiązany z takimi chorobami jak niepłodność, choroba niedokrwienna serca, zapalenie naczyń obwodowych skóry, słabe przyrosty masy ciała u psów rosnących, zaburzenia funkcji poznawczych czy retinopatie oczu (Yurko-Mauro, 2010; Bauer, 2011; Lenox and Bauer, 2013; Lenox, 2016; Gaylord, Remillard and Saker, 2018; Alonge et al., 2019; Santos et al., 2021). Celem pracy jest przedstawienie aktualnej wiedzy naukowej na temat roli i źródeł długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych DHA i EPA w diecie psów.

BUDOWA CHEMICZNA I PODZIAŁ KWASÓW TŁUSZCZOWYCH

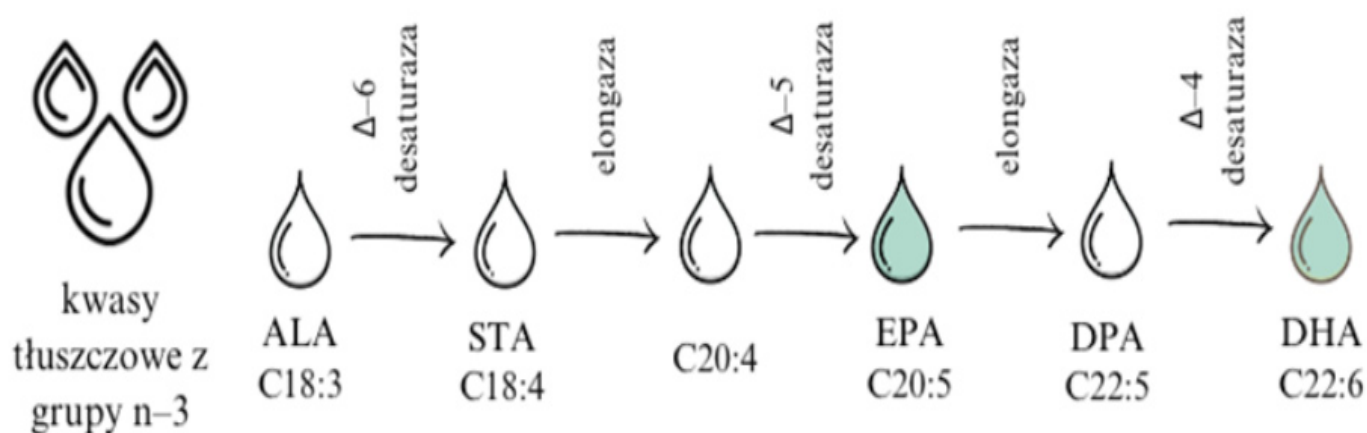
Lipidy są związkami organicznymi najczęściej zbudowanymi z atomów węgla, tlenu i wodoru o bardzo zróżnicowanej budowie, nie rozpuszczają się w wodzie. Podstawowym składnikiem tłuszczów prostych i złożonych są kwasy tłuszczowe (FA, fatty acids). Lipidy proste mają dwa komponenty – kwasy tłuszczowe oraz składniki alkoholowe (O’Keefe and Sarnoski, 2017). W procesie ich hydrolizy powstają dwa składniki – alkohol i kwas. Lipidy złożone z kolei obejmują fosfolipidy, glikolipidy i sfingolipidy, a każde z nich jest szeroko rozpowszechnione w całym organizmie, ponieważ są składową błon komórkowych. W wyniku hydrolizy, powstają trzy lub więcej różnych związków. W pożywieniu najczęściej występują kwasy o parzystej liczbie atomów węgla ułożonych w łańcuchu prostym. Podziału FA można dokonać poprzez określenie liczby atomów węgla w łańcuchu. Wyróżnia się tutaj kwasy tłuszczowe krótkołańcuchowe (SCFA, short-chain fatty acids), zawierające maksymalnie do 6 atomów węgla, następnie kwasy tłuszczowe średniołańcuchowe (MCFA, medium-chain fatty acids) zawierające od 8 do 12 atomów węgla. Długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LCFA, long-chain fatty acids) zawierają od 14 do 24 atomów węgla (Balasinska, Jank and Kulasek, 2010; Ceregrzyn, Lechowski and Barszczewska, 2013). Biorąc więc pod uwagę liczbę atomów węgla kwasy EPA i DHA zaliczane są do długołańcuchowych (LCFA). Nieco inny podział dotyczy rodzaju i liczby wiązań podwójnych w cząsteczkach tworzących dane kwasy. Klasyfikacja ta wyróżnia nasycone (SFA, saturated fatty acids) i nienasycone (UFA, unsaturated fatty acids) kwasy tłuszczowe. Kwasy UFA dzielą się na jednonienasycone (MUFA, monounsaturated fatty acids) posiadające jedno wiązanie podwójne oraz wielonienasycone (PUFA, polyunsaturated fatty acids) mające dwa lub więcej wiązań podwójnych w cząsteczce. Kwas EPA posiada 5 wiązań podwójnych w łańcuchu węglowym w konfiguracji cis, natomiast kwas DHA wiązań podwójnych izolowanych zawiera 6. Podsumowując, w opisanej klasyfikacji kwasy te zaliczane są do wielonienasyconych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (LC-PUFA).

BUDOWA CHEMICZNA I PODZIAŁ KWASÓW TŁUSZCZOWYCH

Według wytycznych żywieniowych opracowanych przez FEDIAF kwasy EPA (C20:5 n-3) i DHA (C22:6 n-3), a właściwie ich suma, obligatoryjnie musi się znaleźć w dawce pokarmowej psów na etapie wczesnego (poniżej 14 tyg. życia) oraz późnego wzrostu (powyżej 14 tyg. życia) w ilości 0,13 g/1000 kcal diety (FEDIAF, 2021). Oprócz tych kwasów tłuszczowych do EFA zalicza się również kwas linolowy (LA, C18:2 n-6), kwas α -linolenowy (ALA, C18:3 n-3) oraz kwas arachidonowy (C20:4 n-6). Na etapie dorosłego organizmu w.w. wytyczne definiują jedynie minimalne zalecane ilości dla kwasu LA.

Proces syntezy kwasów EPA i DHA u psów rozpoczyna się od kwasu ALA. Aby przekształcić ten kwas w EPA i DHA, psy wykorzystują obecność dwóch enzymów: Δ -6 desaturazy i Δ -5 desaturazy (ryc. 1), ale proces ten jest zdecydowanie niewystarczający, aby móc mówić o ilościach zbliżonych do poziomu zalecanego w terapii chorób (Lindqvist et al., 2023). Aktywność tych enzymów jest zależna od ekspresji genu FADS1 (Fatty Acid Desaturase 1) i FADS2 (Fatty Acid Desaturase 2), kodujących desaturazę Δ -5 i desaturazę Δ -6 (Glaser, Heinrich and Koletzko, 2010; Stanisław Proskura et al., 2019).

Oba omawiane w pracy kwasy wykazują zdecydowanie odmienne działanie w organizmie.



RYCINA 1. KONWERSJA KWASÓW Z RODZINY N-3 W LC-PUFA EPA I DHA Z ICH PREKURSORÓW (OPRACOWANIE WŁASNE NA PODSTAWIE MARCINIAK-LUKASIAK, 2011).

Kwas DHA jest niezbędnym składnikiem diety młodych osobników, gdyż jego obecność warunkuje prawidłowy rozwój oraz funkcjonowanie układu nerwowego i siatkówki oka (Mirowski, 2018; Kaur et al., 2020). Jest prekursorem dla dokozatrienów i neuroprotektyn, wchodzi w skład błon komórkowych i może modulować transport glukozy (Tassoni et al., 2008; Farooqui, 2009). Ilość oraz jakość lipidów budujących błony komórkowe będzie bezpośrednio oddziaływać na jej charakter poprzez określenie przepuszczalności, integralności oraz płynności. Różnice w składzie błony mogą zależeć od charakterystyki lipidów budujących ową ścianę – dominacja kwasów nasyconych spowoduje bardziej zbity charakter błony, natomiast przewaga kwasów nienasyconych da efekt odwrotny – rozluźnienie przestrzeni wpływając na jej zwiększoną przepuszczalność oraz elastyczność (Staroszczyk and Sikorski, 2017). Największe ilości kwasu DHA w mózgu występują w korze przedczołowej, a najmniejsze w istocie czarnej będącej częścią śródmózgowia (Farooqui, 2009). Kora przedczołowa odpowiada chociażby za procesy uczenia się, kontrolę emocji czy koordynację ruchową, a niedostarczenie odpowiedniej ilości DHA wraz z pokarmem może w przyszłości rzutować na pogorszone funkcjonowanie poznawcze u dorosłych osobników. Kwas EPA z kolei nie występuje w tak znacznych ilościach w błonach komórkowych, ale za to jest niezbędny do przekazywania sygnałów między komórkami nerwowymi (Egbuomwan, Omotosho and Mgbojikwe, 2023; Stachowicz, 2023). Odpowiada także za syntezę prostaglandyn i leukotrienów, stąd odpowiednie ukształtowanie wciąż dojrzewającego układu odpornościowego wymaga uwzględnienia w diecie kwasu EPA (Serhan, 2005; Calder, 2020).

W diecie ludzi dobrymi źródłami EFA mogą być produkty oparte na roślinach oleistych jak i na surowcach zwierzęcych. W przypadku psów to surowce zwierzęce stanowią największą część diety, dlatego ich

rodzaj powinien zostać dobrany w taki sposób, aby zapewnić wszystkich niezbędnych składników odżywczych.

WYKORZYSTANIE LC-PUFA EPA I DHA W PROFILAKTYCE CHORÓB PSÓW

UKŁAD KOSTNO-STAWOWY

Choroba zwyrodnieniowa stawów (OA, osteoarthritis/osteoartroza) jest główną przyczyną przewlekłego bólu u psów (Sandersoln et al., 2009; Catarino et al., 2020), skutkującego zmniejszoną aktywnością fizyczną. Powszechnie stosowane są w OA niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) (Pye et al., 2022), które niestety mogą powodować szereg reakcji niepożądanych. Coraz chętniej wspierane jest leczenie farmakologiczne poprzez stosowanie substancji czynnych o udowodnionym działaniu. Badania wskazują, że stosowanie PUFA z rodziny n-3 łagodzi objawy kliniczne OA (Fritsch et al., 2010; Barbeau-Grégoire et al., 2022). Zasadność stosowania olejów z ryb tłustych/morskich u psów z OA wynika z obecności w nich dużych ilości PUFA, zwłaszcza z ostatnich etapów ich metabolizmu, czyli omawianego w niniejszym artykule kwasu EPA i DHA. Wzbogacenie diety psa w kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 wpływa na skład lipidowy błon komórkowych, zmniejszając w nich zawartość kwasu arachidonowego (AA, C20:4, n-6) wchodzącego w skład błony komórkowej, która w przebiegu OA zostaje uszkodzona. Kwasy z grupy n-6 posądzają się o działania prowadzące do degradacji chrząstki, jeśli ich ilość w diecie jest zbyt duża (Kobayashi et al., 2008). Kwas AA jest metabolizowany do prozapalnych czynników lipidowych takich jak prostaglandyna E2 i leukotrien B4 (Kamola et al., 2013).

Mechanizm wielu leków wykorzystywanych w terapii OA polega na blokowaniu konwersji kwasu AA, dzięki czemu rozwój stanu zapalnego zostaje zahamowany. Wykazano, że podaż diety u psów wzbogaconej olejem rybnym zawierającej kwas EPA zmieniło skład lipidowy błon komórkowych, zmniejszając w nich zawartość kwasu arachidonowego (Leblanc et al., 2008; Roush et al., 2010). Dodatkowo, kwas ten wpływa na spowolnienie mechanizmów przyczyniających się do rozkładu tkanki chrzęstnej (Curtis et al., 2000; Roush et al., 2010; Johnson, Lee and Swanson, 2020). Kwas EPA ma także działanie przeciwzapalne, ponieważ hamuje produkcję cytokin prozapalnych (Venkatraman and Meksawan, 2002). Wykazano w badaniach klinicznych, że podawanie psom oleju rybiego przez 16 tygodni znacząco poprawiło wiele parametrów świadczących o rzeczywistym złagodzeniu objawów bólowych (Hielm-Björkman et al., 2012). Dlatego włączenie ich do diety może być szczególnie zalecane u zwierząt z OA, które nie mogą przyjmować NLPZ. Sugerowana dawka: 174,5 mg EPA+DHA/kg m.c. (Richter, 2017). Podawanie oleju rybiego bogatego w kwasy EPA i DHA ma uzasadnienie u psów spożywających głównie karmy komercyjne, które mają przeważnie wysoki stosunek kwasów n-6 do n-3 (Jacuńska et al., 2022), co może prowadzić do deficytu. Dodatkowo, karmy komercyjne nie zawsze są wystarczającym źródłem LC-PUFA, gdyż mogą zawierać ilości mniejsze niż deklarowane na etykiecie produktu (Jacuńska, 2022).

UKŁAD SERCOWO-NACZYNIOWY

Kwasy tłuszczowe EPA i DHA wykazują przeciwzapalne działanie, które może mieć pozytywny wpływ na leczenie psów cierpiących z powodu zmian zwyrodnieniowych zastawek przedsionkowo-komorowych, przetrwałego przewodu tętniczego czy ubytków przegrody międzykomorowej. Działanie tych kwasów tłuszczowych polega na ograniczaniu funkcjonowania mediatorów zapalnych co prowadzi do zmniejszenia katabolizmu białek w organizmie (Hirschberg et al., 1990; Cottin, Sanders and Hall, 2011; Calder, 2012). W schorzeniach układu sercowo-naczyniowego może dochodzić do arytmii serca, a dodanie kwasów EPA i DHA może pomóc w ograniczeniu tego stanu dzięki ich antyarytmicznemu działaniu. Wbudowywanie się w strukturę błon komórkowych obserwuje się nie tylko w obszarach tkanki mózgowej czy tkanki chrzęstnej, ale także gdy mowa o sercu – w błonie mięśnia sercowego. Wiedzę tę wykorzystuje się w badaniach określających rolę LC-PUFA w zapobieganiu arytmii serca, migotaniu komór czy niedokrwieniu mięśnia sercowego (McLennan, 2001), a także w zapobieganiu miażdżycy. Kwas DHA może także regulować przepuszczalność kanałów jonowych poprzez zmiany w pobudliwości błony komórkowej w sercu (Ferrier et al., 2002).

UKŁAD POKARMOWY

Wiele schorzeń związanych z układem pokarmowym jest powiązanych z występowaniem stanów zapalnych. Kwasy EPA i DHA, ze względu na swoje właściwości, mogą złagodzić i zapobiec uciążliwym stanom zapalnym. U zwierząt z dysfunkcją przewodu pokarmowego, oprócz hamowania procesów zapalnych, kwasy te powinny znaleźć się w dawce pokarmowej, gdyż stanowią cenne źródło energii. Zmiany diety w przypadku nieswoistego zapalenia jelit (IBD, inflammatory bowel disease) u psów uwzględniają zmiany proporcji kwasów tłuszczowych poprzez zwiększenie udziału kwasów n-3 w stosunku do kwasów n-6 (Simpson, 1998).

W badaniach na myszach postawiono hipotezę, że kwasy EPA i DHA mogą blokować rozwój zapalenia jelita grubego poprzez wzmocnienie bariery śluzowej okrężnicy (Fang et al., 2022). Badania te potwierdziły ich dobroczynny wpływ na błonę śluzową jelita grubego, tym samym tworząc odpowiednie warunki do bytowania korzystnych bakterii. W przebiegu IBD dość istotnym czynnikiem jest produkcja czynnika martwicy nowotworów α (TNF- α , tumor necrosis factor α), która zostaje obniżona przy zastosowaniu kwasów EPA i DHA (Gupta, Srivastava and Lall, 2019). Zapalenie jelita grubego wiąże się z pogorszonym transportem substancji odżywczych przez uszkodzenia błony śluzowej, a kwas DHA może ten proces skutecznie przywrócić do pierwotnego stanu (Castilla-Madrigal et al., 2020). Wynika to z obecności wyspecjalizowanych mediatorów lipidowych takich jak MaR1, RvD1 i RvD2, które wydają się być obiecujące w kontekście leczenia oraz wspomagania pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit. Kwas EPA z kolei może działać łagodząco na podrażniony nabłonek jelita grubego. Wyniki te uzyskano na modelu mysim z indukowanym wrzodziejącym zapaleniem z zastosowaniem niskich i wysokich dawek EPA oraz DHA jako substancji potencjalnie przydatnych (Zhang et al., 2021). Dzięki zastosowaniu wysokich dawek EPA, autorom udało się uzyskać wyniki wskazujące na obniżony poziom cytokin i komórek zapalnych, a nawet zaobserwowano odnowę uszkodzonych komórek nabłonka.

UKŁAD NERWOWY

Kwas DHA odgrywa kluczową rolę w zdrowym funkcjonowaniu układu nerwowego oraz siatkówki oka, co z kolei wpływa na rozwój funkcji poznawczych i procesów uczenia się u psów (Zicker et al., 2012; Mirowski, 2018). Mechanizm ten jest związany z właściwościami przeciwzapalnymi kwasów tłuszczowych, które dodatkowo wpływają na metabolizm kwasu arachidonowego. Wzrost ich ilości w błonach komórkowych prowadzi do obniżenia stężenia kwasu arachidonowego poprzez konkurencyjne wypieranie go (Ahlström et al., 2004). W mózgu kwas DHA ma zdolność utrzymywania integralności struktur między częścią presynaptyczną a postsynaptyczną komórek nerwowych, co prowadzi do poprawy ich komunikacji i aktywności (Farooqui, 2011).

Utrzymanie LC-PUFA w diecie na odpowiednich poziomach może także wpływać na działanie układu serotonergicznego (Kaur et al., 2020). Produktem metabolizmu serotoniny jest aldehyd 5-hydroksyindoloctowy, który następnie utleniony jest do kwasu 5-hydroksyindoloctowego (Semczuk-Kaczmarek et al., 2018). Kwas ten występował w podwyższonych ilościach u zwierząt spożywających większe ilości DHA w diecie (Jiang, Liang and Shi, 2012). Badania wykazały, że zmiana diety u dojrzałych psów na bogatą w olej rybi, witaminy z grupy B, antyoksydanty i L-argininę przynosi korzyści, które przejawiają się w polepszonym funkcjonowaniu poznawczym (Pan et al., 2018). Jest to niezwykle przydatne działanie, gdyż zaburzenia poznawcze u psów w wieku 11-12 lat może wykazywać nawet połowa osobników (Neilson et al., 2001), chociaż zaburzenia funkcji poznawczych u psów (CCD, canine cognitive dysfunction/CDS, cognitive dysfunction syndrome) będące odpowiednikiem choroby Alzheimer'a u ludzi (AD, Alzheimer's disease) mogą dotyczyć psów już w wieku 8 lat (Dewey et al., 2019). Kwasy te można także wykorzystać w spowolnieniu procesów starzenia się mózgu, dzięki ich ochronnemu działaniu na komórki nerwowe (Echeverría et al., 2017).

NIEWYDOLNOŚĆ NEREK

W przypadku niewydolności nerek nie istnieją żadne metody leczenia, które mogłyby przywrócić nerkom całkowitą wydolność, jeśli doszło do ostrej lub przewlekłej niewydolności tego narządu. Niestety objawy niewydolności nerek zaobserwować można dopiero gdy około 75% nefronów przestaje prawidłowo funkcjonować (Couto and Nelson, 2009). W żywieniu psów z przewlekłą chorobą nerek kwasy n-3 mogą być pomocnym dodatkiem wywierającym działanie renoprotekcyjnej (Heinze, 2016) poprzez obniżanie ciśnienia śródkłębuszkowego (Pedrinelli et al., 2020). W przypadku dodania do diety kwasów EPA i DHA wyraźne efekty obserwuje się po około 6 miesiącach suplementacji (Vedin et al., 2012; Dahms et al., 2016; Hall et al., 2018).

W badaniu na szczurach z towarzyszącą nefropatią cukrzycową wykazano zmniejszenie zwłóknienia cewkowo-śródmiąższowego, które występuje wskutek uszkodzenia lub zapalenia w okolicach narządu, w tym przypadku nerek, po suplementacji kwasem eikozapentaenowym (Chow, 2007). Dodatkowo zauważono obniżenie regulacji białka chemoatrakcyjnego monocytów-1 (MCP-1, monocyte chemoattractant protein 1), którego skutkiem może być osłabiona odpowiedź zapalna. Przeciwnieństwem dla kwasów n-3 są kwasy z rodziny n-6, które nasilają zaburzenia czynności nerek, jednak odpowiednio wysokie stężenie kwasu DHA może kwas arachidonowy (AA, C20:4, n-6) z organizmu wypierać. Sugerowana dawka: 50 – 80 mg/kg m.c. lub 140 mg EPA i DHA/kg m.c (Bauer, 2011; Richter, 2017).

NOWOTWORY

Choroba nowotworowa dotyka zarówno psów młodych jak i tych w podeszłym wieku. Znane są przypadki stwierdzenia obecności komórek nowotworowych nawet u psów, które nie przekroczyły jeszcze 12 miesięcy życia, choć ryzyko zachorowania wzrasta znacząco koło 9 roku życia psa (Gabor and Vanderstichel, 2006; Schmidt et al., 2010). Choroby nowotworowe charakteryzują się nadmiernym wzrostem komórek, prowadzącym do zaburzenia równowagi między ich wzrostem a śmiercią. Wykazano w badaniach na modelach zwierzęcych, że istnieje możliwość wydłużenia czasu przeżycia poprzez połączenie oleju rybnego chociażby z arginina (Ogilvie et al., 2000; Theinel et al., 2023). Kwas DHA ma potencjał zwiększania responsywności komórek rakowych na stosowane leki (Siddiqui et al., 2011; Nabavi et al., 2015), ale jednocześnie działa niekorzystnie na proliferację komórek nowotworowych (Gleissman, Johnsen and Kogner, 2010). Leki stosowane w leczeniu nowotworów takie jak adriamycyna, tlenek arsenu, doksorubicyna, celekoksyb i paklitaksel wykazują silne działanie *in vitro* w połączeniu z kwasem DHA (Ogilvie et al., 2000; Siddiqui et al., 2011).

Nieleczone choroby jelit generujące przewlekły stan zapalny mogą zwiększać ryzyko wystąpienia nowotworów. Kwasy EPA i DHA mogą mieć istotne znaczenie w profilaktyce raka jelita grubego, ponieważ istnieje podejrzenie, że wykazują właściwości przeciwnowotworowe w okrężnicy. Ich dobrym źródłem mogą być mikroalgi, które oprócz tego, że zawierają odpowiednie ilości LC-PUFA, wykazują także działanie przeciwnowotworowe dzięki obecności substancji biologicznie aktywnych takich jak β -karoten i astaksantyna (Talero et al., 2015; Sathasivam and Ki, 2018; Martínez-Ruiz et al., 2022). Mechanizmy, które odpowiadają za tę ochronną rolę wciąż stanowią obiekt badań w celu ich lepszego zrozumienia. Kwasy te wykazują zdolność do hamowania wzrostu komórek nowotworowych i prowokowania ich śmierci, stąd wnioskuje się, że wpływają na każdy etap rozwoju nowotworu (Mirowski and Jachnis, 2018). Sugerowana dawka: 3370 mg EPA+DHA/1000 kcal (Dobson and Lascelles, 2011).

DAWKOWANIE I POTENCJALNE DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE

Zalecane dawki kwasów mogą się różnić w zależności od konkretnego schorzenia, ale co istotne, nie zanotowano poważnych działań niepożądanych związanych z suplementacją tych kwasów. Jedynie bardzo wysokie ilości podawane przez długi czas mogą skutkować objawami ze strony układu pokarmowego, układu krwionośnego prowadząc do nieprawidłowego gojenia się uszkodzeń skóry, interakcji z lekami (Lenox

and Bauer, 2013). Stan taki wpływa także na wrażliwość na insulinę oraz niekorzystnie wpływa na układ odpornościowy. Przestrzeganie zaleceń NRC dotyczących maksymalnych dawek wynoszących nie więcej niż 2800 mg EPA+DHA/1000 kcal powinno zminimalizować to ryzyko (National Research Council, 2006; Lenox and Bauer, 2013).

ŹRÓDŁA KWASÓW EPA I DHA W DIECIE PSÓW

Aby nie doprowadzić do niedoborów PUFA w diecie psów, należy odpowiednie produkty włączyć na stałe do ich jadłospisu. Opiekunowie mają szeroki wybór naturalnych źródeł LC-PUFA, jak i gotowych produktów przeznaczonych dla zwierząt domowych. Najbogatsze źródło kwasów EPA i DHA to oczywiście ryby i oleje z nich pozyskiwane (Usydus et al., 2007; Luczynska, Tonska and Borejszo, 2011; Molversmyr et al., 2022). Szczególnie bogate w te kwasy są tłuste ryby, jak sardynka, łosoś, śledź, tuńczyk, sandacz czy sardela (tab. 1).

Jednak rosnący popyt, powiązany ze wzrostem populacji na świecie sprawia, że pojawił się problem przełowienia najczęściej łowionych ryb na świecie. Również w wyniku postępującego skażenia wód, zmniejsza się populacja ryb morskich stanowiących główne źródła tych cennych kwasów. W poszukiwaniu bardziej przyjaznych środowisku źródeł tych kwasów tłuszczowych warto zatrzymać się na chwilę przy hodowlach ekologicznych. Rozporządzenie nr 848 z 2018 r. reguluje takie kwestie jak dobrostan hodowanych zwierząt w warunkach ekologicznych. Zastosowane składniki w żywieniu tych zwierząt dodatkowo reguluje ustawa z dnia 23 czerwca 2022 r. i wspomniane wcześniej europejskie rozporządzenie 848/2018. Każdy z tych czynników przyczynia się do zmian w profilach odżywczych ryb porównując je do ich konwencjonalnych odpowiedników. Różnice pojawiają się chociażby w udziale tkanki tłuszczowej, ale także w zawartości EPA i DHA w całej kompozycji kwasów tłuszczowych. Na przykładzie łososia *Salmo salar* może być ona wyższa o 48% niż u ryb z hodowli konwencjonalnej (Esaiassen et al., 2022). Bardzo dobrym źródłem tych kwasów jest kryl antarktyczny *Euphausia superba*. Pojawia się coraz więcej alternatywnych źródeł otrzymywania EPA i DHA, takich jak bakterie, grzyby czy mikroalgi, które są obecnie badane pod kątem produkcji komercyjnej. Mikroalgi są pierwszymi producentami EPA i DHA w łańcuchu pokarmowym morskim. Mogą one naturalnie szybko rosnąć w różnych warunkach hodowli o wysokim potencjale produkcji LC-PUFA (Winwood, 2013; Li-Beisson et al., 2019; Mariamenatu and Abdu, 2021). Przykładem mogą być *Cryptocodinium cohnii* lub *Schizochytrium* sp. (Chi et al., 2022; Moniz et al., 2022). Źródła takie jak zooplankton morski (kryl) lub fitoplankton (mikroalgi heterotroficzne) stanowią obiecujące opcje, chociaż pozostają kwestie biologiczne i techniczne które sprawiają, że obecnie są one mało opłacalnymi alternatywami (Tocher, 2015).

Również dzięki postępowi w biotechnologii i modyfikacjom genetycznym uzyskiwane są surowce zawierające kwasy DHA i EPA w naturze ich nie posiadające. Przykładem może być lnianka siewna (*Camelina sativa* L.). Nasiona tej rośliny oleistej należącej do rodziny *Brassicaceae* zawierają 30–40% tłuszczu, z którego otrzymuje się olej rydzowy o bardzo wysokiej wartości odżywczej (Kurasiak-Popowska, 2019). Współczesne transformacje genetyczne lnianki siewnej celem modyfikacja składu kwasów tłuszczowych sprawiły, że w składzie tłuszczu genetycznie zmodyfikowanych (GM) nasion lnianki są również duże ilości kwasów EPA i DHA (tab. 1) (Petrie et al., 2014; Betancor et al., 2021; Ghidoli et al., 2023). Zbliżona sytuacja wystąpiła podczas stworzenia odmiany rzepaku *Brassica napus*, w którym zawartości kwasu DHA odpowiadały tym z olejów rybnych. Pojawiają się również możliwości otrzymywania EPA ze źródeł mikrobiologicznych. Spośród drobnoustrojów pleśnie są najlepszymi producentami EPA, gdyż charakteryzują się zdolnością do wydajnej akumulacji tłuszczów z wysokim udziałem PUFA, w tym EPA.

Badania wskazują, że EPA jest również syntetyzowany przez grupy drobnoustrojów: grzyby strzępkowe (pleśnie), grzyby jednokomórkowe (drożdże) oraz bakterie (Certik and Shimizu, 1999; Ledesma-Amaro and Nicaud, 2016; Cao et al., 2022). Skład FA, w tym EPA zależy od rodzaju drobnoustroju oraz od warunków hodowli. Na przykład zastosowanie 1% oleju lnianego w podłożu hodowlanym *Mortierella elongata* NRRL 5513 pozwoliło na dwukrotnie zwiększenie udziału EPA w tłuszczu ogółem (Dyal and Narine, 2005). Większość drożdży nie wykazuje zdolności do akumulacji EPA w znaczących ilościach, ale aktualne badania koncentrują się na zastosowaniu inżynierii genetycznej pozwalającej modyfikować znane gatunki drożdży

(np. modyfikacje genetyczne szczepu *Yarrowia lipolytica* Y4305) w sposób umożliwiający zwiększoną biomasę EPA nawet do 56% (Xue et al., 2013). Również drożdże *Saccharomyces cerevisiae* po aktywowaniu desaturazy delta-5 są zdolne do przekształcania AA do EPA z dużą wydajnością sięgającą 21% (Hornung et al., 2005). Są one szczególnie ciekawe nie tylko pod względem zawartości LC-PUFA, które są stosowane w profilaktyce chorób zarówno u ludzi jak i zwierząt, ale także są bogactwem bioaktywnych substancji mających zastosowanie nie tylko w żywieniu, ale także w farmaceutyce czy branży biotechnologicznej (Metting and Pyne, 1986; Sathasivam and Ki, 2018; Ścieszka and Klewicka, 2019; Barros de Medeiros et al., 2022; Martínez-Ruiz et al., 2022).

Poziom kwasów tłuszczowych w tkance tłuszczowej zwierząt jest silnie skorelowany z ich dietą, stąd innymi poziomami będą się charakteryzować ryby poławiane i hodowane w akwakulturach (Haliloğlu et al., 2004; Parrish et al., 2015). Podobny wpływ na ich zawartość wywiera płeć, wiek, miejsce połowu, środowisko życia czy pora roku (Kaliniak, Florek and Skątecki, 2015; Zhang et al., 2020). Ryby zamieszkujące obszary morskie zazwyczaj wykazują większy udział tłuszczu w tkance mięśniowej niż ryby słodkowodne, ale jest to nie tylko związane ze środowiskiem ich życia, a więc zasoleniem czy temperaturą wody, ale także z dostępnymi składnikami ich diety. Ryby słonowodne odżywiają się głównie zooplanktonem czy mikroalgami bardzo bogatymi w EPA i DHA, a w przypadku ryb słodkowodnych są to rośliny charakterystyczne dla danego obszaru (Horn et al., 1982; Christensen and Moore, 2008; Carrasco et al., 2012).

Naturalne źródła tych kwasów tłuszczowych obejmują zarówno tłuste ryby, skorupiaki takie jak kryl antarktyczny *Euphausia superba*, ale także mikroalgi *Schizochytrium* sp. czy *Cryptocodinium cohnii*, które w ostatnich latach coraz częściej rozważane są jako składnik diety ludzi jak i psów dzięki swoim bogatym komponentom, a także zrównoważonej uprawy mającej znacznie mniejszy wpływ na środowisko chociażby pod względem wykorzystanej energii, wody czy emisji gazów cieplarnianych (Clarens et al., 2010; Menezes, 2012; Gomez Pinchetti, 2016; Ścieszka and Klewicka, 2019). Obiecującymi źródłami mogą być grzyby strzępkowe, grzyby jednokomórkowe oraz bakterie, których hodowla także wydaje się wywierać mniejszy wpływ na środowisko, a zawartości LC-PUFA przy odpowiednich metodach wytwarzania mogą okazać się ciekawą alternatywą dla ryb czy innych organizmów morskich, których połowy obecnie stają się coraz bardziej problematyczne.

Coraz większa świadomość opiekunów zwierząt dotycząca działania EPA i DHA na organizm psa, a także ludzki wywołuje znaczny wzrost popytu na źródła ich spożycia. Jednocześnie w wyniku postępującego skażenia wód zmniejsza się populacja ryb morskich stanowiących główne źródła tych dwóch LCFA-PUFA. Konieczne staje się poszukiwanie innych „producentów” EPA i DHA. Należy podkreślić, że modyfikacje genetyczne przyniosły istotne zwiększenie produktywności EPA u drożdży olejogennych i znalazły one zastosowanie w produkcji pasz stosowanych w hodowli np. łososia (Berge et al., 2013).

PODSUMOWANIE

Kwasy tłuszczowe EPA i DHA wykazują różnorodne korzystne działanie na organizm psa. Są ważne na każdym etapie życia psa (szczenię, dorosły, senior) wywołując różne pozytywne efekty biologiczne. Lista właściwości i zastosowania terapeutycznego kwasów EPA i DHA jest obszerna. Kwas DHA pełni niezbędną rolę w prawidłowym rozwoju i funkcjonowaniu układu nerwowego oraz siatkówki oka. Stanowi kluczowy element we wspomaganiu procesów uczenia się, kontroli emocji i koordynacji ruchowej. Z kolei kwas EPA odgrywa istotną rolę w przekazywaniu sygnałów między komórkami nerwowymi i reguluje funkcje odpornościowe organizmu. W przypadku profilaktyki różnych schorzeń, takich jak choroba zwyrodnieniowa stawów, nowotwory, choroby układu pokarmowego, układu sercowo-naczyniowego i niewydolność nerek, zaleca się stosowanie kwasów EPA i DHA, gdyż swoim działaniem mogą wspomagać leczenie i poprawiać samopoczucie pacjenta.

Należy pamiętać by przestrzegać zaleceń dotyczących maksymalnych dawek kwasów tłuszczowych, uwzględniając zawartości EPA+DHA także w podawanej psu diecie. Ważne jest, aby nie podawać zbyt dużej ich ilości, ponieważ może to spowodować biegunkę, wymioty oraz okresowe krwawienia.

TABELA 1. UDZIAŁ KWASÓW TŁUSZCZOWYCH EPA I DHA W WYBRANYCH SUROWCACH (% SUMY FA).

Wyszczególnienie	EPA	DHA	Źródło danych
Ryby			
Karp (<i>Cyprinus carpio</i> L.)	0,69–4,06	0,65–3,01	(Grela et al., 2010; Luczynska, Tonska and Borejszo, 2011)
Łosoś (<i>Salmo salar</i> L.)	6,04–9,0	3,0–9,93	(Luczynska, Tonska and Borejszo, 2011)
Sandacz (<i>Sander lucioperca</i> L.)	5,10–5,93	13,25–14,28	(Grela et al., 2010)
Sardela (<i>Engraulis encrasicolus</i> L.)	6,33–9,38	8,84–10,34	(Kaya and Turan, 2010)
Sardynki (<i>Sardinops melanostictus</i> J.)	6,9–18,9	10,7–32,5	(Shirai, Terayama and Takeda, 2002)
Śledź (<i>Clupea harengus</i> L.)	4,49–19,1	2,0–21,1	(Linko, Kaitaranta and Vuorela, 1985; Aro et al., 2000)
Tuńczyk (<i>Euthynnus pelamis</i> L.)	2,5–12,4	20,0–34,1	(Saito, Ishihara and Murase, 1997; Peng et al., 2013)
Algi			
<i>Cryptocodinium cohnii</i> S. *	0,1	40–46	(De Swaaf, 2003)
<i>Schizochytrium</i> sp. *	0,27	20,48	(Hadley, Bauer and Milgram, 2017; Mariane et al., 2020)
Oleje			
Olej z menhadena	3,2–16,3	5,0–10,1	(Chen and Yi-Hsu Ju, 2000)
Olej z nasion GM lnicznika siewnego (<i>Camelia sativa</i> L.)	6,0	5,1	(Betancor et al., 2016)
Inne			
Kryl (<i>Euphausia superba</i> D.)	2,6–31,2	1,2–19,2	(Fricke et al., 1984)
Omulek zielonowargowy (<i>Perna viridis</i> L.)	17,89–20	18,30–38,06	(Chan et al., 2004; Loehfelm, Rizwan and Tups, 2021)

*% udział EPA i DHA w sumie kwasów tłuszczowych w przeliczeniu na suchą masę

By włączyć kwasy EPA i DHA do diety psa nie tylko trzeba sięgać po gotowe suplementy. Warto mieć na uwadze, że naturalnym źródłem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n–3, a zwłaszcza kwasu EPA i DHA są głównie ryby oraz oleje z nich wytwarzane, algi i fitoplankton morski, ale także ich źródło to grzyby strzępkowe, grzyby jednokomórkowe oraz bakterie.

LITERATURA

Ahlstrøm, Ø. et al. (2004) 'Fatty acid composition in commercial dog foods', *The Journal of nutrition*, 134(8), pp. 2145–2147. doi: 10.1093/jn/134.8.2145S.

Alonge, S. et al. (2019) 'The effect of dietary supplementation of vitamin E, selenium, zinc, folic acid, and n–3 polyunsaturated fatty acids on sperm motility and membrane properties in dogs', *Animals*, 9(2). doi: 10.3390/ani9020034.

- Balasinska, B., Jank Michał and Kulasek Gustaw (2010) 'Właściwości i rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w utrzymaniu zdrowia ludzi i zwierząt', *Życie Weterynaryjne*, 85(09).
- Barbeau–Grégoire, M. et al. (2022) 'A 2022 systematic review and meta–analysis of enriched therapeutic diets and nutraceuticals in canine and feline osteoarthritis', *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18). doi: 10.3390/ijms231810384.
- Barros de Medeiros, V. P. et al. (2022) 'Microalgae as source of functional ingredients in new–generation foods: challenges, technological effects, biological activity, and regulatory issues', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(18), pp. 4929–4950. doi: 10.1080/10408398.2021.1879729.
- Bauer, J. E. (2011) Therapeutic use of fish oils in companion animals, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 239(11), pp. 1444–1451. doi: 10.2460/javma.239.11.1441.
- Berge, G. M. et al. (2013) 'Physical treatment of high EPA *Yarrowia lipolytica* biomass increases the availability of n–3 highly unsaturated fatty acids when fed to Atlantic salmon', *Aquaculture Nutrition*, 19, pp. 110–121. doi: 10.1111/anu.12092.
- Betancor, M. B. et al. (2016) 'Nutritional evaluation of an EPA–DHA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for post–smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)', *PLoS ONE*, 11(7). doi: 10.1371/journal.pone.0159934.
- Betancor, M. B. et al. (2021) 'Oil from transgenic *Camelina sativa* as a source of EPA and DHA in feed for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)', *Aquaculture*, 530. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735759.
- Calder, P. C. (2012) 'The role of marine omega–3 (n–3) fatty acids in inflammatory processes, atherosclerosis and plaque stability', *Molecular Nutrition and Food Research*, 56(7), pp. 1073–1080. doi: 10.1002/mnfr.201100710.
- Calder, P. C. (2020) 'n–3 PUFA and inflammation: from membrane to nucleus and from bench to bedside', *Proceedings of the Nutrition Society*. Cambridge University Press, pp. 404–416. doi: 10.1017/S0029665120007077.
- Cao, L. et al. (2022) 'Engineering *Yarrowia lipolytica* to produce nutritional fatty acids: current status and future perspectives', *Synthetic and Systems Biotechnology*, 7(4), pp. 1024–1033. doi: 10.1016/j.synbio.2022.06.002.
- Castilla–Madrigal, R. et al. (2020) 'DHA and its derived lipid mediators MaR1, RvD1 and RvD2 block TNF– α inhibition of intestinal sugar and glutamine uptake in caco–2 cells', *Journal of Nutritional Biochemistry*, 76. doi: 10.1016/j.jnutbio.2019.108264.
- Catarino, J. et al. (2020) 'Treatment of canine osteoarthritis with allogeneic platelet–rich plasma: review of five cases', *Open Veterinary Journal*, 10(2), pp. 226–231. doi: 10.4314/ovj.v10i2.12.
- Ceregrzyn, M., Lechowski, R. and Barszczewska, B. (2013) "Podstawy żywienia psów i kotów", Wrocław, Wydawnictwo Elsevier Urban & Partner.
- Certik, M. and Shimizu, S. (1999) 'Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production', *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 87(1), pp. 1–14. doi: 10.1016/S1389–1723(99)80001–2.
- Chan, K. et al. (2004) 'Lipid content and fatty acid composition in the green–lipped mussel *Perna Fixidis* (L.)', *Journal of Food Lipids*, 11, pp. 123–130. doi: 10.1111/j.1745–4522.2004.tb00265.x.
- Chen, T. C. and Yi–Hsu Ju (2000) 'Enrichment of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in sapo-

Chow, C. K. (2007) 'Fatty acids in foods and their health implications', CRC Press.

Christensen, D. R., and Moore, B. C. (2008) 'Diet composition and overlap in a mixed warm–and coldwater fish community', *Journal of Freshwater Ecology*, 23(2), pp. 195–204. doi: 10.1080/02705060.2008.9664191.

Clarens, A. F. et al. (2010) 'Environmental life cycle comparison of algae to other bioenergy feedstocks', *Environmental Science and Technology*, 44(5), pp. 1813–1819. doi: 10.1021/es902838n.

Cottin, S. C., Sanders, T. A. and Hall, W. L. (2011) 'The differential effects of EPA and DHA on cardiovascular risk factors', *Proceedings of the Nutrition Society*, pp. 215–231. doi: 10.1017/S0029665111000061.

Couto, G. C. and Nelson, R. W. (2009) "Choroby wewnętrzne małych zwierząt", TOM II, Elsevier Urban & Partner.

Carrasco, N. K., et al. (2012) 'Diet of selected fish species in the freshwater–deprived St Lucia Estuary, South Africa, assessed using stable isotopes', *Marine Biology Research*, 8(8), pp. 701–714. doi: 10.1080/17451000.2012.678855.

Curtis, C. L. et al. (2000) 'n–3 Fatty acids specifically modulate catabolic factors involved in articular cartilage degradation', *Journal of Biological Chemistry*, 275(2), pp. 721–724. doi: 10.1074/jbc.275.2.721.

Dahms, I., Bailey–Hall, E., and Salem Jr, N. (2016) 'Kinetics of docosahexaenoic acid ethyl ester accumulation in dog plasma and brain', *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 113, 1–8. doi: 10.1016/j.plefa.2016.09.001.

Dewey, C. W. et al. (2019) 'Canine cognitive dysfunction: pathophysiology, diagnosis, and treatment', *Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice*, 49(3), pp. 477–499. doi: 10.1016/j.cvsm.2019.01.013.

Dobson, J. M. and Lascelles, B. D. (2011) 'BSAVA manual of canine and feline oncology', British Small Animal Veterinary Association.

Dyal, S. D. and Narine, S. S. (2005) 'Implications for the use of *Mortierella fungi* in the industrial production of essential fatty acids', *Food Research International*, 38(4), pp. 445–467. doi: 10.1016/j.foodres.2004.11.002.

Echeverría, F. et al. (2017) 'Docosahexaenoic acid (DHA), a fundamental fatty acid for the brain: new dietary sources', *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, pp. 1–10. doi: 10.1016/j.plefa.2017.08.001.

Esaiassen, M. et al. (2022) 'Nutritional value and storage stability in commercially produced organically and conventionally farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway', *Applied Food Research*, 2(1). doi: 10.1016/j.afres.2021.100033.

Evbuomwan, S. A., Omotosho, O. E. and Mgbojikwe, I. (2023) 'Roles and mechanisms of docosahexaenoic acid (DHA) in neurodevelopment, neuronal functions, learning and memory', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 40, pp. 104–119.

Fang, J. et al. (2022) 'EPA and DHA differentially coordinate the crosstalk between host and gut microbiota and block DSS–induced colitis in mice by a reinforced colonic mucus barrier', *Food & Function*, 13(8), pp. 4399–4420. doi: 10.1039/D1FO03815J.

Farooqui, A. A. (2009) 'Beneficial effects of fish oil on human brain', New York, Springer.

Farooqui, A. A. (2011) 'Lipid mediators and their metabolism in the brain', Springer Science & Business Media.

FEDIAF (2021) 'Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs', Bruxelles, Belgium.

Ferrier, G. R. et al. (2002) 'Differential effects of docosahexaenoic acid on contractions and L-type Ca current in adult cardiac myocytes', *Cardiovascular Research*, 54, pp. 601–610. doi: 10.1016/S0008–6363(02)00275–4.

Fritsch, D. et al. (2010) 'Dose–titration effects of fish oil in osteoarthritic dogs', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(5), pp. 1020–1026. doi: 10.1111/j.1939–1676.2010.0572.x.

Gabor, L. J., and Vanderstichel, R. V. (2006) 'Primary cerebral hemangiosarcoma in a 6–week–old dog', *Veterinary Pathology*, 43(5), pp. 782–784. doi: 10.1354/vp.43–5–782.

Gaylord, L., Remillard, R. and Saker, K. (2018) 'Risk of nutritional deficiencies for dogs on a weight loss plan', *Journal of Small Animal Practice*, 59(11), pp. 695–703. doi: 10.1111/jsap.12913.

Ghidoli, M. et al. (2023) 'Genetic improvement of *Camelina sativa* (L.) Crantz: opportunities and challenges', *Plants*, 12(3). doi: 10.3390/plants12030570.

Glaser, C., Heinrich, J. and Koletzko, B. (2010) 'Role of FADS1 and FADS2 polymorphisms in polyunsaturated fatty acid metabolism', *Metabolism: Clinical and Experimental*, pp. 993–999. doi: 10.1016/j.metabol.2009.10.022.

Gleissman, H., Johnsen, J. I. and Kogner, P. (2010) 'Omega–3 fatty acids in cancer, the protectors of good and the killers of evil?', *Experimental Cell Research. Academic Press Inc.*, pp. 1365–1373. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.02.039.

Gomez Pinchetti, J. L. (2016) 'Algae production and their potential contribution to a nutritional sustainability', *Journal of Environment and Health Science*, 2(3), pp. 1–3. doi: 10.15436/2378–6841.16.1101.

Gupta, R. C., Srivastava, A. and Lall, R. (2019) *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*. Springer.

Haliloğlu, H. I. et al. (2004) 'Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater', *Food Chemistry*, 86(1), pp. 55–59. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.08.028.

Hall, J. A., et al. (2018) 'A longitudinal study on the acceptance and effects of a therapeutic renal food in pet dogs with IRIS–stage 1 chronic kidney disease', *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(1), 297–307. doi: 10.1111/jpn.12810.

Heinze, C. R. (2016) 'Diety stosowane w chorobach nerek – czym karmić i kiedy zacząć', *Weterynaria po Dyplomie*, 17(6).

Hjelm–Björkman, A. et al. (2012) 'An un–commissioned randomized, placebo–controlled double–blind study to test the effect of deep sea fish oil as a pain reliever for dogs suffering from canine OA', *BMC Veterinary Research*, 8. doi: 10.1186/1746–6148–8–157.

Hirschberg, Y. et al. (1990) 'The effects of chronic fish oil feeding in rats on protein catabolism induced by recombinant mediators', *Metabolism*, 39(4), pp. 397–402. doi: 10.1016/0026–0495(90)90255–B.

Horn, M. H. et al. (1982) 'Dietary selectivity in the field and food preferences in the laboratory for two herbivorous fishes (*Cebidichthys violaceus* and *Xiphister mucosus*) from a temperate intertidal zone', *Marine Biology*, 67, pp. 237–246. doi: 10.1007/BF00397664.

- Hornung, E. et al. (2005) 'Specific formation of arachidonic acid and eicosapentaenoic acid by a front-end $\Delta 5$ -desaturase from *Phytophthora megasperma*', *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1686(3), pp. 181–189. doi: 10.1016/j.bbalip.2004.11.001.
- Jacuńska W. et al. (2022) 'Ocena wartości energetycznej i jakości tłuszczu w karmach dla szczeniąt', *Materiały pokonferencyjne z LXXXVI Zjazdu Naukowego Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego w Krakowie. Hodowla i chów zwierząt w Polsce – od tradycji do nowoczesności – 100 lat Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 21–23.09.2022, pp. 202.
- Jacuńska, W. (2022) 'Ocena wartości energetycznej i jakości tłuszczu w karmach dla szczeniąt', *Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie. Materiały pokonferencyjne VIII Ogólnopolskiej Sesji Studenckich Kół Naukowych*, 01.12.2022, pp. 279.
- Jiang, L.–H., Liang, Q.–Y. and Shi, Y. (2012) 'Pure docosahexaenoic acid can improve depression behaviors and affect HPA axis in mice', *Cellulose*, 50, pp. 1767–1773.
- Johnson, K. A., Lee, A. H. and Swanson, K. S. (2020) 'Nutrition and nutraceuticals in the changing management of osteoarthritis for dogs and cats', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 256(12), pp. 1335–1341.
- Kaliniak, A., Florek, M. and Skąłdecki, P. (2015) 'Profil kwasów tłuszczowych mięsa, ikry i wątroby ryb', *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 22(2), pp. 29–46. doi: 10.15193/zntj/2015/99/020.
- Kamola, D., et al. (2013) 'Rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n–3 w leczeniu nieswoistego zapalenia jelita u psów.', *Zycie Weterynaryjne*, 88(9), pp. 768–771.
- Kaur, H. et al. (2020) 'Role of omega–3 fatty acids in canine health: a review', *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(3), pp. 2283–2293. doi: 10.20546/ijcmas.2020.903.259.
- Kobayashi, S. et al. (2008) 'Molecular aspects of rheumatoid arthritis: role of environmental factors', *FEBS Journal*, 275(18), pp. 4456–4462. doi: 10.1111/j.1742–4658.2008.06581.x.
- Kurasiak–Popowska, D. (2019) 'Lnianka siewna—roślina historyczna czy perspektywiczna', *Fragmenta Agronomica*, 36(2), pp. 42–54. doi: 10.26374/fa.2019.36.15.
- Leblanc, C. J. et al. (2008) 'Effects of dietary supplementation with fish oil on in vivo production of inflammatory mediators in clinically normal dogs', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 69(4), 486–493. doi: 10.2460/ajvr.69.4.486.
- Ledesma–Amaro, R. and Nicaud, J. M. (2016) '*Yarrowia lipolytica* as a biotechnological chassis to produce usual and unusual fatty acids', *Progress in Lipid Research*, 61, pp. 40–50. doi: 10.1016/j.plipres.2015.12.001.
- Lenox, C. E. (2016) 'Role of dietary fatty acids in dogs & cats', *Today's Veterinary Practice Journal: ACVN Nutrition Notes*, 6(5), pp. 83–90.
- Lenox, C. E. and Bauer, J. E. (2013) 'Potential adverse effects of omega–3 fatty acids in dogs and cats', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(2), pp. 217–226. doi: 10.1111/jvim.12033.
- Li–Beisson, Y. et al. (2019) 'The lipid biochemistry of eukaryotic algae', *Progress in Lipid Research*, 74, pp. 31–68. doi: 10.1016/j.plipres.2019.01.003.
- Lindqvist, H. et al. (2023) 'Comparison of fish, krill and flaxseed as omega–3 sources to increase the omega–3 index in dogs', *Veterinary Sciences*, 10(2), pp. 1–10 doi: 10.3390/vetsci10020162.

- Luczynska, J. , Tonska, E. , and Borejszo, Z. (2011) 'Zawartość makro– i mikroelementów oraz kwasów tłuszczowych w mięśniach łososia (*Salmo salar* L.), pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss* Walb.) i karpia (*Cyprinus carpio* L.)', *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 18(3), pp. 162–172.
- Marciniak–Lukasiak, K. (2011) 'Rola i znaczenie kwasów tłuszczowych omega–3', *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 18(6), pp. 24–35.
- Mariamenu, A. H. and Abdu, E. M. (2021) 'Overconsumption of omega–6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) versus deficiency of omega–3 PUFAs in modern–day diets: the disturbing factor for their "balanced antagonistic metabolic functions" in the human body', *Journal of Lipids*, 2021, pp. 1–15. doi: 10.1155/2021/8848161.
- Mariane, C. et al. (2020) 'The effect of supplementation of microalgae *Schizochytrium* sp. as a source of docosahexaenoic acid (DHA) on dogs with naturally occurring gingivitis.', *Archives of Veterinary Science*, 25(1), pp. 80–86. doi: 10.5380/avs.v25i1.62680.
- Martínez–Ruiz, M. et al. (2022) 'Microalgae bioactive compounds to topical applications products—a review', *Molecules*. MDPI. doi: 10.3390/molecules27113512.
- McLennan, P. L. (2001) 'Myocardial membrane fatty acids and the antiarrhythmic actions of dietary fish oil in animal models', *Lipids*, 36(s1), pp. 111–114. doi: 10.1007/s11745–001–0692–x.
- Menetrez, M. Y. (2012) 'An overview of algae biofuel production and potential environmental impact', *Environmental Science and Technology*, 46(13), pp. 7073–7085. doi: 10.1021/es300917r.
- Metting, B. and Pyne, J. W. (1986) 'Biologically active compounds from microalgae', *Enzyme and Microbial Technology*, 8(7), pp. 386–394. doi: 10.1016/0141–0229(86)90144–4
- Mirowski, A. (2018) 'Oleje rybne w żywieniu psów i kotów', *Życie Weterynaryjne*, 93(10), pp. 688–690.
- Mirowski, A. and Jachnis, A. (2018) 'Długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny n–3 a choroby nowotworowe', *Życie Weterynaryjne*, 93(01).
- Moinard, A. et al. (2020) 'Effects of high–fat diet at two energetic levels on fecal microbiota, colonic barrier, and metabolic parameters in dogs', *Frontiers in Veterinary Science*, 7, pp. 1–15. doi: 10.3389/fvets.2020.566282.
- Molwersmyr, E. et al. (2022) 'Identification and quantification of lipids in wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*), and salmon feed by GC–MS', *Food Science and Nutrition*, 10(9), pp. 3117–3127. doi: 10.1002/fsn3.2911.
- Moniz, P. et al. (2022) 'The biorefinery of the marine microalga *Cryptocodinium cohnii* as a strategy to valorize microalgal oil fractions', *Fermentation*, 8(10), pp. 502. doi: 10.3390/fermentation8100502.
- Nabavi, S. F. et al. (2015) 'Omega–3 polyunsaturated fatty acids and cancer: lessons learned from clinical trials', *Cancer and Metastasis Reviews*, 34(3), pp. 359–380. doi: 10.1007/s10555–015–9572–2.
- National Research Council (2006) *Nutrient Requirements of Dogs and Cats, Nutrient Requirements of Dogs and Cats*. National Academies Press. doi: 10.17226/10668.
- Neilson, J. C. et al. (2001) 'Prevalence of behavioral changes associated with age–related cognitive impairment in dogs', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(11), pp. 1787–1791. doi: 10.2460/javma.2001.218.1787.
- Ogilvie, G. K. et al. (2000) 'Effect of fish oil, arginine, and doxorubicin chemotherapy on remission and survi-

val time for dogs with lymphoma a double-blind, randomized placebo-controlled study', *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 88(8), pp. 1916–1928. doi: 10.1002/(SICI)1097-0142(20000415)88:8<1916::AID-CNCR22>3.0.CO;2-F.

O'Keefe, S. F. and Sarnoski, P. J. (2017) 'Nomenclature and classification of lipids', *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. CRC press, pp. 3–19.

Pan, Y. et al. (2018) 'Cognitive enhancement in old dogs from dietary supplementation with a nutrient blend containing arginine, antioxidants, B vitamins and fish oil', *British Journal of Nutrition*, 119(3), pp. 349–358. doi: 10.1017/S0007114517003464.

Parrish, C. C. et al. (2015) 'Direct determination of fatty acids in fish tissues: quantifying top predator trophic connections', *Oecologia*, 177(1), pp. 85–95. doi: 10.1007/s00442-014-3131-3.

Pasławski, R. et al. (2021) 'Effect of 6-month feeding with a diet enriched in EPA + DHA from fish meat on the blood metabolomic profile of dogs with myxomatous mitral valve disease', *Animals*, 11(12). doi: 10.3390/ani1123360.

Pedrinelli, V. et al. (2020) 'Nutritional and laboratory parameters affect the survival of dogs with chronic kidney disease', *PLoS ONE*, 15(6 June). doi: 10.1371/journal.pone.0234712.

Petrie, J. R. et al. (2014) 'Metabolic engineering *Camelina sativa* with fish oil-like levels of DHA', *PLoS ONE*, 9(1), pp. 1–8. doi: 10.1371/journal.pone.0085061.

Pye, C. et al. (2022) 'Advances in the pharmaceutical treatment options for canine osteoarthritis', *Journal of Small Animal Practice*, 63(10), pp. 721–738. doi: 10.1111/jsap.13495.

Richter, G. (2017) *The ultimate pet health guide: breakthrough nutrition and integrative care for dogs and cats*. Hay House Inc.

Roush, J. K. et al. (2010) 'Evaluation of the effects of dietary supplementation with fish oil omega-3 fatty acids on weight bearing in dogs with osteoarthritis', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(1), pp. 67–73.

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2018/848 z dnia 30 maja 2018 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 (Dz.U. L 150, 14.6.2018).

Sandersoln, R. et al. (2009) 'Systematic review of the management of canine osteoarthritis', *Veterinary Record*, 164(14), pp. 418–424. doi: 10.1136/vr.164.14.418.

Santos, M. C. et al. (2021) 'Salmon oil supplementation in dogs affects the blood flow of testicular arteries', *Reproduction in Domestic Animals*, 56(3), pp. 476–483. doi: 10.1111/rda.13886.

Sathasivam, R. and Ki, J. S. (2018) 'A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries', *Marine Drugs*, 16(1), pp. 1–31 doi: 10.3390/md16010026.

Schmidt, J. M. et al. (2010) 'Canine paediatric oncology: retrospective assessment of 9522 tumours in dogs up to 12 months (1993–2008)', *Veterinary and Comparative Oncology*, 8(4), pp. 283–292. doi: 10.1111/j.1476-5829.2010.00226.x.

Simpson, J. W. (1998) 'Diet and large intestinal disease in dogs and cats', *The Journal of Nutrition*, 128(12), pp. 2717S–2722S. doi: 10.1093/jn/128.12.2717S.

- Ścieszka, S. and Klewicka, E. (2019) 'Algae in food: a general review', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(21), pp. 3538–3547. doi: 10.1080/10408398.2018.1496319.
- Semczuk–Kaczmarek, K. et al. (2018) 'Związek układu serotonergicznego i układu sercowo–naczyniowego', *Folia Cardiologica*, 13(5), pp. 420–427. doi: 10.5603/fc.a2018.0088.
- Serhan, C. N. (2005) 'Novel ω – 3–derived local mediators in anti–inflammation and resolution', *Pharmacology and Therapeutics*, 105(1), pp. 7–21. doi: 10.1016/j.pharmthera.2004.09.002.
- Siddiqui, R. A. et al. (2011) 'Docosahexaenoic acid: a natural powerful adjuvant that improves efficacy for anticancer treatment with no adverse effects', *BioFactors*, 37(6), pp. 399–412. doi: 10.1002/biof.181.
- Stachowicz, K. (2023) 'The role of polyunsaturated fatty acids in neuronal signaling in depression and cognitive processes', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 737, p. 109555. doi: 10.1016/j.abb.2023.109555.
- Proskura, S. et al. (2019) 'The effect of polymorphism in the FADS2 gene on the fatty acid composition of bovine milk', *Archives Animal Breeding*, 62(2), pp. 547–555. doi: 10.5194/aab–62–547–2019.
- Staroszczyk, H. and Sikorski, Z. (2017) 'Główne składniki żywności. Chemia żywności', TOM 1, Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Talero, E. et al. (2015) 'Bioactive compounds isolated from microalgae in chronic inflammation and cancer', *Marine Drugs*, 13(10), pp. 6152–6209. doi: 10.3390/md13106152.
- Tassoni, D. et al. (2008) 'The role of eicosanoids in the brain', *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17(S1), pp. 220–228.
- Theinel, M. H. et al. (2023) 'The effects of omega–3 polyunsaturated fatty acids on breast cancer as a preventive measure or as an adjunct to conventional treatments', *Nutrients*, 15(6), pp. 1310. doi: 10.3390/nu15061310.
- Tocher, D. R. (2015) 'Omega–3 long–chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective', *Aquaculture*, 449, pp. 94–107. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.01.010.
- Ustawa z dnia 23 czerwca 2022 r. o rolnictwie ekologicznym i produkcji ekologicznej (Dz.U. 2022 poz. 1370).
- Usydus, Z., et al. (2007) 'Study on the nutritive value of raw fish oils', *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4c), pp. 593–596.
- Vedin, I., et al. (2012) 'Effects of DHA–rich n–3 fatty acid supplementation on gene expression in blood mononuclear leukocytes: the OmegaAD study', *PloS One*, 7(4), e35425. doi: 10.1371/journal.pone.0035425.
- Venkatraman, J. T. and Meksawan, K. (2002) 'Effects of dietary 3 and 6 lipids and vitamin E on chemokine levels in autoimmune–prone MRL/MpJ–lpr/lpr mice', *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(8), pp. 479–486. doi: 10.1016/S0955–2863(02)00201–2.
- Winwood, R. J. (2013) 'Recent developments in the commercial production of DHA and EPA rich oils from microalgae', *OCL – Oilseeds and fats, crops and lipids*, 20(6). doi: 10.1051/ocl/2013030.
- Xue, Z. et al. (2013) 'Production of omega–3 eicosapentaenoic acid by metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica*', *Nature Biotechnology*, 31(8), pp. 734–740. doi: 10.1038/nbt.2622.
- Yurko–Mauro, K. (2010) 'Cognitive and cardiovascular benefits of docosahexaenoic acid in aging and cogni-

Yurko–Mauro, K. (2010) ‘Cognitive and cardiovascular benefits of docosahexaenoic acid in aging and cognitive decline’, *Current Alzheimer Research*, 7(3), pp. 190–196. doi: 10.2174/156720510791050911.

Zhang, X. et al. (2020) ‘Fatty acid composition analyses of commercially important fish species from the Pearl River Estuary, China’, *PLoS ONE*, 15(1), pp. 1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0228276.

Zhang, Z. et al. (2021) ‘Differential effects of EPA and DHA on DSS–induced colitis in mice and possible mechanisms involved’, *Food and Function*, 12(4), pp. 1803–1817. doi: 10.1039/d0fo02308f.

Zicker, S. et al. (2012) ‘Evaluation of cognitive learning, memory, psychomotor, immunologic, and retinal functions in healthy puppies fed foods fortified with docosahexaenoic acid–rich fish oil from 8 to 52 weeks of age’, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241(5), pp. 583–594. doi: 10.2460/javma.241.5.583.

§ Praca wpłynęła do redakcji: 03.09.2023r.
Zrecenzowano: 15.09.2023r.
Przyjęto do druku: 19.09.2023r.

Michał Koterba 

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Lekarski wyb. Ludwika Pasteura 1, 50-367 Wrocław

e-mail: koterba.mrmr@gmail.com

SYNTEZA KOMPOZYTU POLIANILINA/TLENEK TYTANU (IV) ORAZ JEGO ZASTOSOWANIE JAKO FOTOKATALIZATORA REAKCJI ROZKŁADU BŁĘKITU METYLENOWEGO POD WPŁYWEM ŚWIATŁA UV/VIS SYNTHESIS OF POLYANILINE/TITANIUM (IV) OXIDE COMPOSITE AND ITS APPLICATION AS A PHOTOCATALYST FOR THE REACTION OF METHYLENE BLUE DECOMPOSITION UNDER THE INFLUENCE OF UV/VIS LIGHT

Pollution of the environment with complex organic molecules, such as dyes, poses numerous ecological threats. The wide range of pollutants limits the effectiveness of conventional treatment methods. As a result, there is increasing attention given to new purification methods, including the decomposition of complex pollutants using photocatalysts.

This study aims to synthesize a composite of titanium (IV) oxide (TiO_2) and polyaniline, which would possess photocatalytic properties to facilitate the decomposition of complex dye molecules under light exposure. Previous research in this field has primarily focused on obtaining a nanoscale composite of polyaniline and TiO_2 . However, such particles are more challenging and expensive to produce. This study concentrates on developing an alternative to nanoparticles with a simpler synthesis process and lower production cost. To achieve this, expensive TiO_2 nanoparticles are substituted with titanium oxide commonly used in paint manufacturing. This form of TiO_2 is characterized by high purity and sufficient fragmentation, all while maintaining a low cost. Furthermore, the composite particles obtained are of sufficient size, eliminating the need for complex filtration procedures during their separation from the solution.

The obtained results demonstrate the high efficacy of the photocatalytic decomposition of methylene blue by the polyaniline/ TiO_2 composite. Moreover, the composite remains environmentally safe, exhibiting no degradation under the reaction conditions, as confirmed by spectrometric measurements of the samples before and after the photocatalytic decomposition reaction. Additionally, polyaniline is a non-biodegradable compound with a degradation temperature exceeding $200\text{ }^\circ\text{C}$.

The polyaniline/ TiO_2 composite obtained in this study holds potential for application in industrial wastewater treatment processes. Its unique properties, including fast, cost-effective, and straightforward synthesis that does not require complex equipment, as well as its high environmental safety, make it especially suitable for treating industrial wastewater contaminated with dyes from factories situated in regions with high solar radiation.

ABSTRACT

KEY WORDS: photocatalysis, polyaniline, titanium dioxide, wastewater treatment.

Zanieczyszczenie środowiska złożonymi cząsteczkami organicznymi, takimi jak barwniki niesie za sobą wiele zagrożeń ekologicznych. Duża różnorodność zanieczyszczeń sprawia, że konwencjonalne metody oczyszczania wykazują ograniczone zastosowanie. Z tego względu wzmożoną uwagę zwraca się na nowe metody oczyszczania bazujące m.in. na rozkładzie złożonych zanieczyszczeń pod wpływem fotokatalizatorów.

W pracy podjęto próbę syntezy kompozytu tlenku tytanu (IV) (TiO_2) i polianiliny, który wykazywałby właściwości fotokatalityczne, umożliwiające rozkład, pod wpływem światła, złożonych molekuł barwników. Dotychczasowe badania w tym zakresie koncentrowały się na otrzymaniu kompozytu polianiliny i TiO_2 w skali nano. Takie cząstki są jednak znacznie trudniejsze do otrzymania, a ich produkcja jest bardzo kosztowna. W tym badaniu skoncentrowano się na

STRESZCZENIE

stworzeniu alternatywy dla nanocząstek o znacznie łatwiejszym procesie syntezy i niższym koszcie produkcji. W tym celu kosztowne nanocząsteczki TiO_2 zastąpiono tlenkiem tytanu stosowanym do produkcji farb. Taką postać TiO_2 cechuje wysoka czystość i dostateczne rozdrobienie przy jednocześnie niskiej cenie. Ponadto otrzymane cząsteczki kompozytu są na tyle duże, że oddzielenie ich od roztworu nie wymaga skomplikowanych procedur filtracji.

STRESZCZENIE

Uzyskane wyniki wskazują na wysoką skuteczność fotokatalitycznego rozkładu błękitu metylenowego przez kompozyt polianilina/ TiO_2 . Uzyskany kompozyt, jest ponadto bezpieczny dla środowiska, nie uległ degradacji w warunkach prowadzenia reakcji, co potwierdziły pomiary spektrometryczne próbek przed i po przeprowadzeniu reakcji rozkładu fotokatalitycznego. Ponadto polianilina jest związkami nie biodegradowalnym, a jej temperatura degradacji wynosi ponad $200\text{ }^\circ\text{C}$.

Otrzymany w badaniu kompozyt polianilina/ TiO_2 może znaleźć potencjalne zastosowanie w procesach oczyszczania ścieków przemysłowych. Ze względu na swoje unikalne właściwości: szybkość, tanią i nieskomplikowaną syntezę, niewymagającą stosowania skomplikowanych urządzeń, a także wysokie bezpieczeństwo środowiskowe stosowania może on odegrać szczególną rolę w procesach oczyszczania ścieków przemysłowych zanieczyszczonych barwnikami z fabryk położonych na obszarach o wysokim nasłonecznieniu.

SŁOWA KLUCZOWE: fotokataliza, polianilina, tlenek tytanu (IV), oczyszczanie ścieków.

WPROWADZENIE

Woda nie bez powodu nazywana jest źródłem życia. Stanowi ona 71% powierzchni ziemi, mimo to zaledwie 2,5% stanowi woda słodka, a zdatnością do spożycia cechuje się tylko 1% (Musie and Gonfa, 2023). Jest wykorzystywana w praktycznie każdej dziedzinie życia, szczególne znaczenie ma jednak dla przemysłu. Wszelkie procesy przemysłowe zachodzą z wytworzeniem, oprócz produktu, ścieków zawierających różnego rodzaju zanieczyszczenia, bardzo często, o charakterze toksycznym (Khoshsepehr et al., 2023). Gwałtowny wzrost urbanizacji obserwowany w ostatnich latach spowodował również intensywny wzrost ilości zanieczyszczeń wody (Liang et al., 2019). Szczególne znaczenie mają zanieczyszczenia barwnikami pochodzącymi z przemysłu włókienniczego, garbarskiego lub zapalczanego. Zanieczyszczenia tego typu stanowią poważne zagrożenie dla organizmów wodnych, a także nie są w pełni obojętne dla zdrowia ludzi. Szacuje się, że około 50% wykorzystywanych w procesach technologicznych barwników syntetycznych może przedostawać się do ścieków, skąd dostają się do środowiska zmieniając barwę wody (Khan et al., 2013). Powoduje to zmniejszenie wydajności fotosyntezy, co w skrajnych przypadkach może doprowadzić do deficytu tlenowego, wpływającego negatywnie na balans między wszystkimi poziomami łańcuchów troficznych obecnych w ekosystemie (Hassaan and El Nemr, 2017). Duża różnorodność zanieczyszczeń sprawia, że konwencjonalne metody oczyszczania wykazują ograniczone zastosowanie. Z tego względu wzmożoną uwagę zwraca się na nowe metody oczyszczania bazujące m.in. na rozkładzie złożonych zanieczyszczeń pod wpływem fotokatalizatorów (Rafiq et al., 2021). Związki takie rozkładają barwniki do prostszych, bezbarwnych związków niwelując tym samym niekorzystne efekty środowiskowe zanieczyszczenia wody związkami barwnymi (Elghniji et al., 2012).

Polianilina jest aromatycznym polimerem przewodzącym prąd elektryczny o złożonej strukturze meru powstającym w wyniku działania utleniacza na rozcieńczony roztwór aniliny w kwasie chlorowodorowym. Jako jeden z najstarszych i najlepiej zbadanych polimerów przewodzących znajduje szerokie zastosowanie jako materiał antystatyczny oraz absorbujący promieniowanie mikrofalowe. Jej wysokie przewodnictwo sprawia, że polimer ten znalazł również zastosowanie jako składnik kompozytów fotokatalitycznych, zwiększający ich zdolności katalityczne (Menzel and Tudela, 2022). Wokół tego zastosowania oscyluje tematyka pracy. Jako podstawę fotokatalizatora w niniejszym badaniu wykorzystano tlenek tytanu (IV). Ten szeroko stosowany w różnych gałęziach przemysłu związek wykazuje znacząco aktywność fotokatalityczną związaną z wysoką absorpcją promieniowania w zakresie UV (Arora et al., 2022). Dotychczasowe badania w tematyce pracy koncentrowały się na otrzymaniu kompozytu polianiliny i tlenku tytanu (IV) w skali nano (Hashemi Monfared

and Jamshidi, 2019). Takie cząstki są jednak znacznie trudniejsze do otrzymania, a ich produkcja jest bardzo kosztowna. Z kolei same cząsteczki nierzadko wykazują toksyczne właściwości ze względu na swoje zdolności do przenikania różnorodnych barier mechanicznych (Mishra and Sundaram, 2023). W tym badaniu skoncentrowano się na stworzeniu alternatywy dla nanocząstek o znacznie łatwiejszym procesie syntezy i znacznie niższym koszcie produkcji, która mogłaby być natychmiastową odpowiedzią na potrzebę stworzenia związku, który z wysoką wydajnością rozkładałby zanieczyszczenia wody złożonymi związkami organicznymi. W tym celu kosztowne nanocząsteczki TiO_2 zastąpiono tlenkiem tytanu stosowanym do produkcji farb. Taką postać cechuje wysoka czystość i doskonałe rozdrobnienie przy niskiej cenie. Ponadto otrzymane cząsteczki są na tyle duże, że oddzielenie ich od roztworu wymaga jedynie najprostszego filtra. W badaniu jako przykład barwnika zanieczyszczającego środowisko wykorzystano błękit metylenowy. Ten złożony związek organiczny należący do grupy barwników tiazynowych znajduje szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Znajduje zastosowanie m.in. w medycynie, ale także w przemyśle włókienniczym, z którego pochodzi większość zanieczyszczenia tym związkiem. Jest on barwnikiem często wybieranym w pracach poświęconych oczyszczaniu środowiska z zanieczyszczeń barwnych (Elghniji et al., 2012; Marković et al., 2015). Z tego powodu został wybrany jako reprezentant częstych zanieczyszczeń ścieków przemysłowych w tym badaniu.

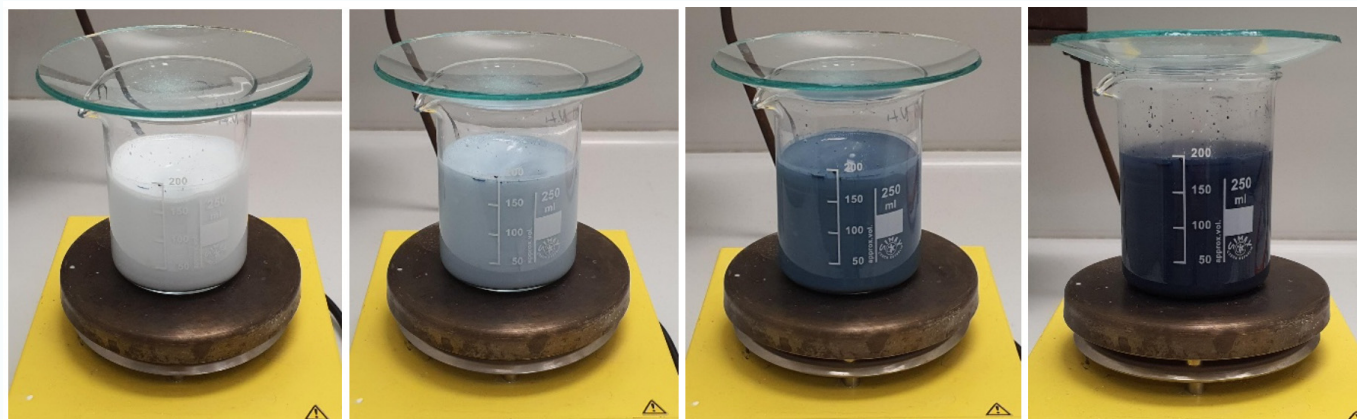
METODOLOGIA

MATERIAŁY

Anilina, 99.9%, nadsiarzan sodu, cz.d.a., błękit metylenowy, cz.d.a., kwas solny r-r 1 M, cz.d.a., Chempur. Tlenek tytanu (IV), 99%, dostarczony został przez miejscową firmę przemysłu farbiarskiego CHEMIKA z Rybnika.

SYNTEZA KOMPOZYTU POLIANILINA/TLENEK TYTANU (IV)

Syntezę polianiliny oparto o metodę wykorzystującą HCl oraz nadsiarzan, która pozwala na otrzymanie polimeru o największych właściwościach przewodzących. W celu syntezy kompozytu polianilina/tlenek tytanu (IV) (PANI/ TiO_2) sporządzono 150 cm³ 1 M roztworu kwasu chlorowodorowego. Do otrzymanego roztworu dodano następnie 0,6 cm³ aniliny, a następnie intensywnie mieszano przy pomocy mieszadła magnetycznego. Do otrzymanego klarownego roztworu dodano, przy ciągłym mieszaniu, odważkę 7,5 g tlenku tytanu (IV). Do otrzymanej białej zawiesiny dodano następnie 4,5 g nadsiarczanu sodu ciągle intensywnie mieszając. Użyty znaczny nadmiar utleniacza miał na celu otrzymanie krótkich łańcuchów polimerowych, dzięki czemu powierzchnia katalityczna nie uległaby znacznemu zmniejszeniu. W ciągu następnych 30 minut obserwowano zmianę zabarwienia z białej na ciemno granatową (ryc. 1). Zawiesinę odwirowano, a osad zebrano i poddano suszeniu. Otrzymano szary osad, który następnie rozdrobniono i poddano dalszym badaniom (ryc. 2) (Djara et al., 2020).



Ryc.1. Zmiana zabarwienia zawiesiny TiO_2/PANI w czasie: 0 min, 10min, 20 min, 30 min. Zdjęcia własne.



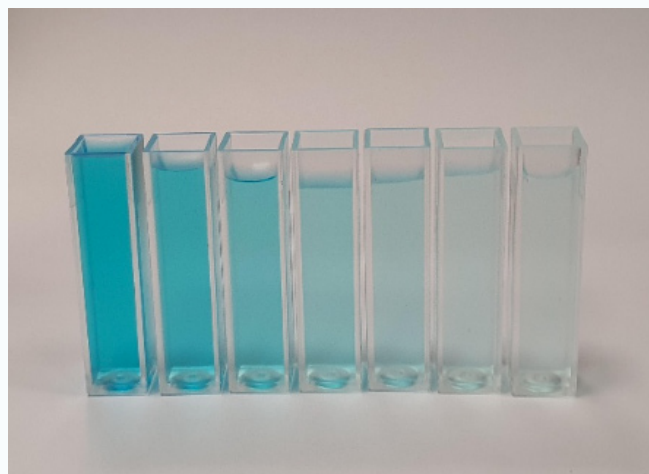
Ryc.2. Mokry osad bezpośrednio po odwirowaniu oraz suchy rozdrobiony proszek. Zdjęcia własne.

UKŁAD DOŚWIADCZALNY

W celu sprawdzenia zdolności fotokatalitycznych otrzymanego kompozytu zaprojektowano układ doświadczalny złożony z reflektującego pojemnika (ryc. 3) oraz świetłówki UV o określonej specyfice emisji światła (ryc. 4) i mocy 26 W.



Ryc.3. Układ doświadczalny. Zdjęcia własne.



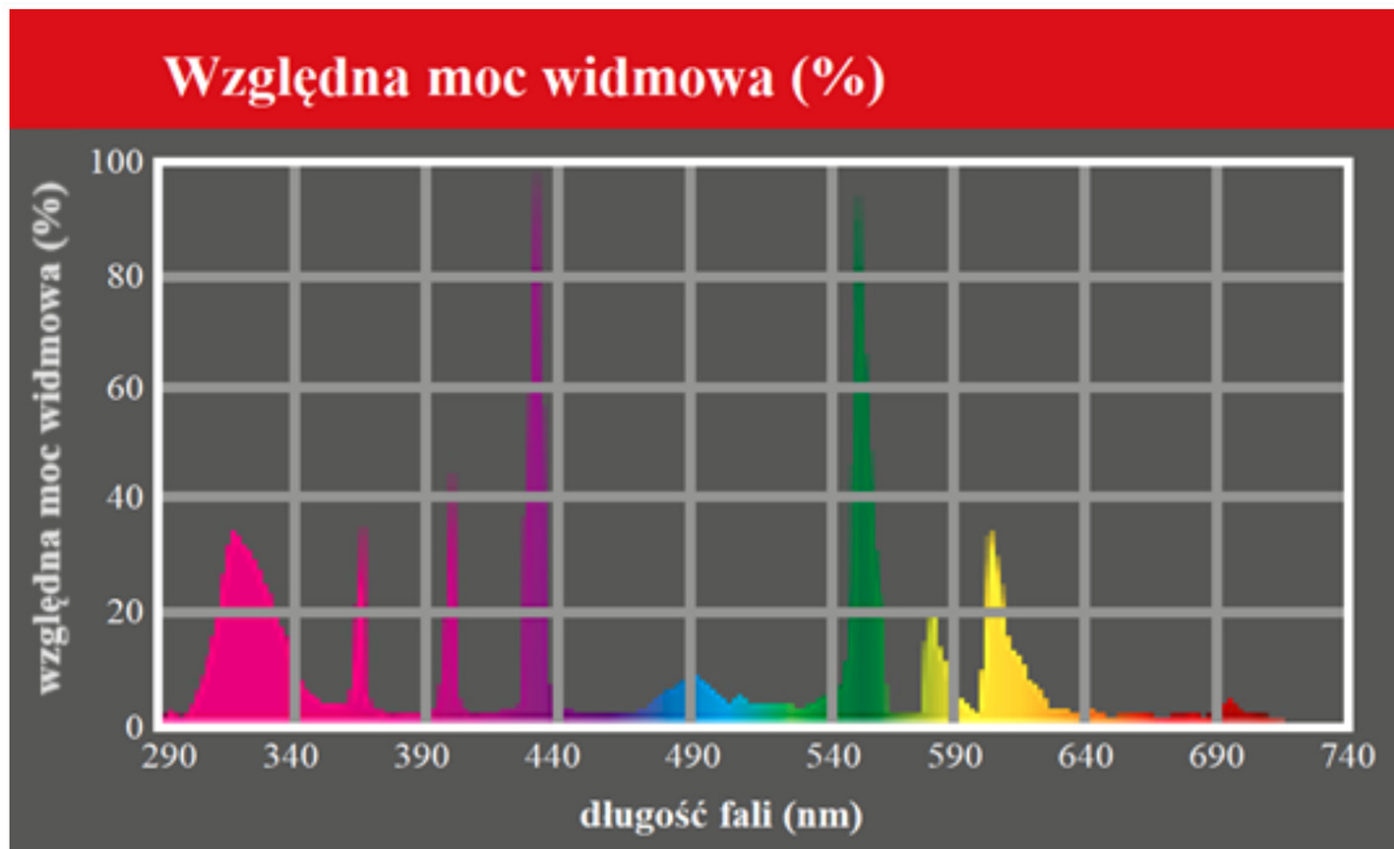
Ryc. 5. Roztwory błękitu metylenowego. Zdjęcia własne.

POMIARY SPEKTROFOTOMETRYCZNE

W celu interpretacji otrzymanych wyników przygotowano doświadczalnie krzywą wzorcową pozwalającą na obliczenie na podstawie zmierzonej absorbancji stężenie błękitu metylenowego w badanej próbce. W tym celu przygotowano roztwory błękitu metylenowego o wzrastającym rozcieńczeniu (ryc. 5), których absorbancję mierzono następnie przy pomocy spektrofotometru (Jenway 7351 1.51.3). Otrzymane wyniki pozwoliły na ustalenie linii trendu i wyznaczenie jej wzoru (ryc. 6), umożliwiając określenie stężenia błękitu metylenowego na podstawie wartości absorbancji.

TESTY FOTOKATALITYCZNE

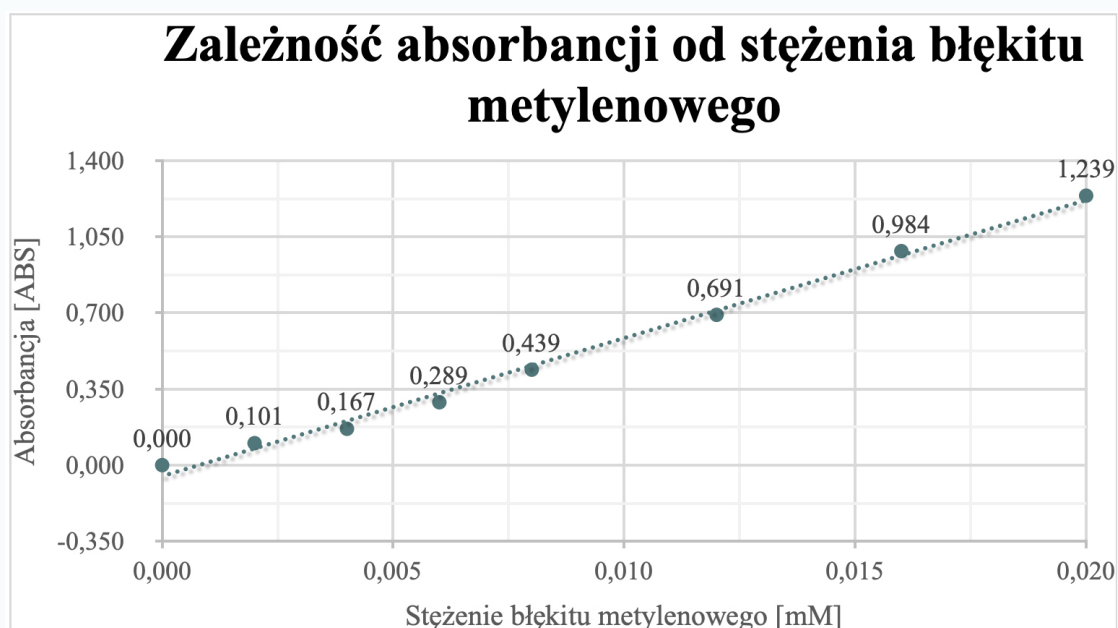
Wewnątrz reflektującego pojemnika (ryc. 3) umieszczono cienkościennie szklane naczynie zawierające 40 cm³ 0,02 mM roztworu błękitu metylenowego oraz 1 g otrzymanego wcześniej kompozytu. Próbkę naświetlano przez 10 h wykonując co 2 h pomiar absorbancji przy pomocy spektrofotometru dla długości fali



Ryc.4. Deklarowana przez producenta specyfikacja emisji światła. Wykres na podstawie danych dostarczonych przez producenta.

664 nm. Próbę kontrolną stanowiło identyczne naczynie zawierające 40 cm³ 0,02 mM roztworu błękitu metylenowego naświetlane równoległe z próbą badawczą. Kontrolny pomiar wykonano po 10 h naświetlania.

Przeprowadzono również analogiczne badania osobno dla każdego ze składników otrzymanego kompozytu, aby wykluczyć możliwość pełnienia pełnej funkcji katalitycznej przez pojedynczy składnik. Wykorzystano w tym celu polianilinę osadzoną na ziarenkach piasku kwarcowego, otrzymaną w procesie analogicznym do opisywanej w niniejszej pracy syntezy kompozytu PANI/TiO₂ oraz czysty tlenek tytanu (IV) – ten sam, który wykorzystano do syntezy kompozytu. Każdej z prób towarzyszyła również próba kontrolna.



Ryc.6. Wykres zależności absorbancji od stężenia błękitu metylenowego.

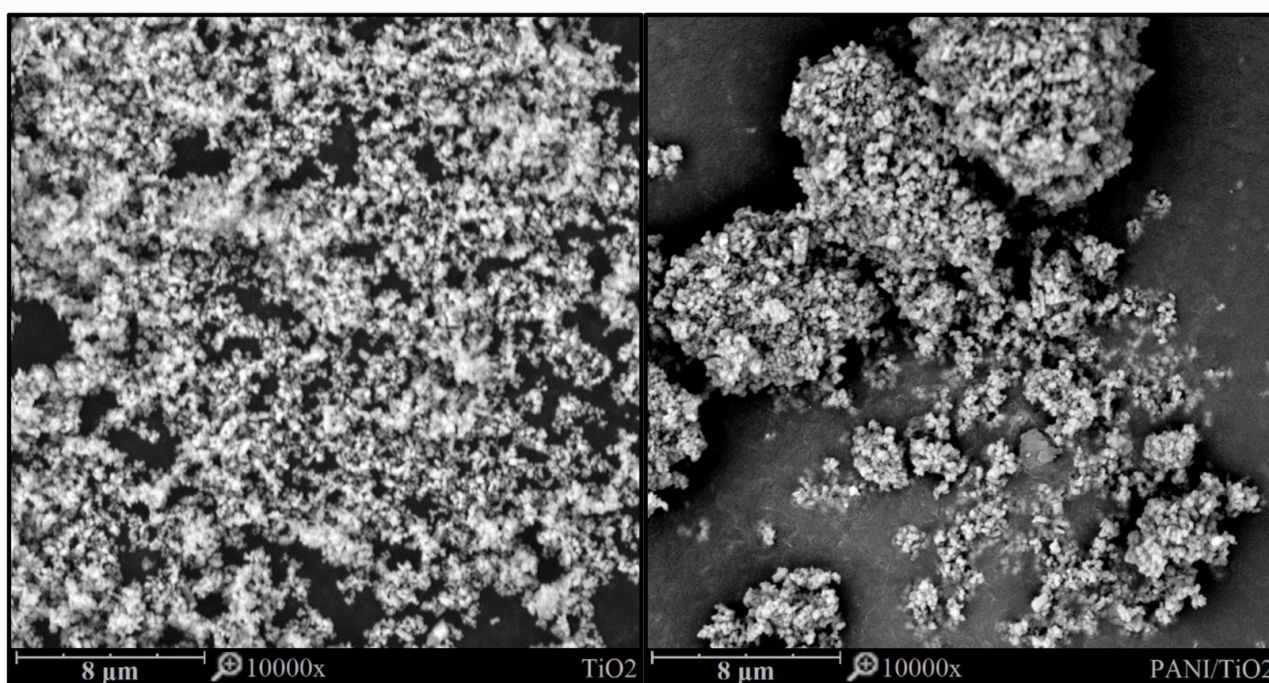
BADANIA MIKROSKOPOWE

Badania mikroskopowe przeprowadzono z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego PHENOM ProX z przystawką EDS firmy Thermo Fisher Scientific.

WYNIKI BADAŃ

CHARAKTERYSTYKA STRUKTURY KOMPOZYTU

W celu określenia struktury otrzymanego kompozytu oraz zbadania wpływu powlekania tlenku tytanu (IV) warstwą polianiliny na kształt i strukturę ziaren wykonano zdjęcia pod mikroskopem elektronowym próbki czystego tlenku tytanu oraz kompozytu PANI/TiO₂. Otrzymane zdjęcia przy powiększeniu 10 000x (ryc. 7) pokazują, że tlenek tytanu (IV) pod wpływem polianiliny uległ agregacji tworząc zrosty cząsteczek o wielkości od 2 do 10 nm. Niewielkie rozmiary agregatów z zachowaniem luźno ułożonych cząsteczek tlenku tytanu (IV) wskazują na skuteczność zastosowanej metody syntezy, która miała zapewnić otrzymanie krótkich łańcuchów polimerowych, nie powodujących strat w powierzchni aktywnej katalitycznie. Jednocześnie aglomeraty są na tyle duże, że możliwe jest ich oddzielenie od roztworu przy pomocy prostych metod filtracji, co stanowi dodatkową zaletę dla potencjalnego zastosowania w przemyśle.



Ryc.7. Mikrostruktura proszku TiO₂ oraz kompozytu PANI/TiO₂. Zdjęcia własne.

TESTY FOTOKATALITYCZNE

Otrzymane wyniki w odniesieniu do krzywej wzorcowej (ryc. 6) pozwoliły na przypisanie każdemu z pomiarów odpowiadające stężenie błękitu metylenowego, a wyniki przedstawiono w tabeli 1.

BADANIA STABILNOŚCI – BEZPIECZEŃSTWO DLA ŚRODOWISKA

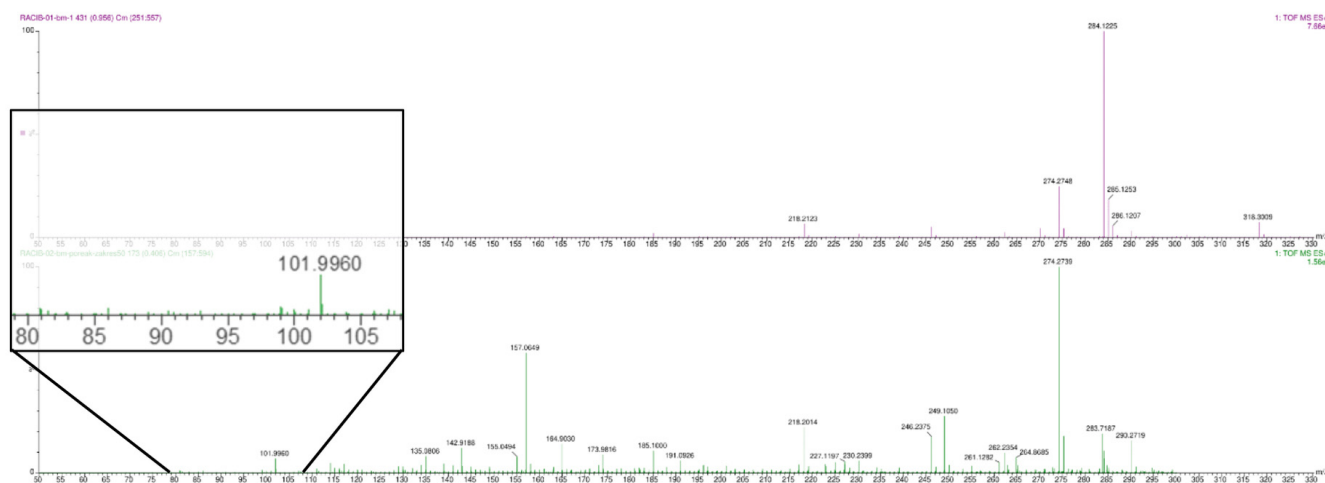
Z racji toksycznych właściwości aniliny, będącej prekursorem opisywanego w niniejszej pracy kompozytu podjęto starania, aby zbadać, czy podczas reakcji fotokatalitycznego rozkładu błękitu metylenowego pod wpływem kompozytu PANI/TiO₂ wydzielane są szkodliwe dla środowiska substancje. Szczególnie skupiono się na wykryciu w roztworze, pozostałym po naświetlaniu próbki z kompozytem, aniliny oraz jej pochodnych mogących pochodzić z degradacji polimeru polianiliny lub niepełnego rozkładu błękitu metylenowego. W tym celu roztwór pozostały po testach fotokatalitycznych kompozytu PANI/TiO₂ poddano filtracji, a następnie poddano go badaniu spektrometrem masowym. Widmo masowe tego roztworu przedstawiono

TABELA 1. Wyniki testów fotokatalitycznych.

Czas [h]	Kompozyt PANI/TiO ₂		PANI		TiO ₂	
	Absorbancja	Stężenie BM [mM]	Absorbancja	Stężenie BM [mM]	Absorbancja	Stężenie BM [mM]
0	1,239	0,0203	1,239	0,0203	1,239	0,0203
2	0,839	0,0140	0,916	0,0152	1,205	0,0197
4	0,542	0,0093	0,737	0,0124	1,126	0,0185
6	0,362	0,0065	0,531	0,0091	1,085	0,0178
8	0,245	0,0046	0,418	0,0074	1,037	0,0171
10	0,162	0,0033	0,339	0,0061	1,007	0,0166
kontrola po 10 h	0,978	0,0162	0,976	0,0161	0,977	0,0161

kolorem zielonym. Fioletowy wykres stanowi próbę kontrolną, którą jest czysty roztwór błękitu metylenowego, który był wykorzystywany w opisywanych doświadczeniach.

Zauważono brak charakterystycznego dla aniliny, będącej głównym zagrożeniem środowiskowym opisywanej metody oczyszczania ścieków, pikę dla wartości $m/z = 94$ (M+H). Daje to pewność, że otrzymana w wyniku syntezy kompozytu polianilina jest trwała i nie ulega degradacji w wyniku prowadzonych reakcji fotokatalitycznych. Dodatkowo polianilina jest związkami niebiodegradowalnym, a jej temperatura degradacji wynosi ponad 200 °C (Kulkarni et al., 1989).



Ryc.8. Widma masowe czystego roztworu błękitu metylenowego oraz roztworu powstałego po testach fotokatalitycznych kompozytu PANI/TiO₂.

DYSKUSJA

Uzyskane wyniki, mimo braku stosowania nanocząstek, nie odbiegają w sposób znaczący od dotychczasowych wyników badań publikowanych w literaturze, przy czym porównań można dokonać jedynie do prac sprawdzających zdolności fotokatalityczne nanokompozytów PANI/TiO₂, ponieważ dotąd nie badano zdolności fotokatalitycznych większych cząsteczek kompozytu PANI/TiO₂. Uzyskany w niniejszym

badaniu wynik – rozkład 54% błękitu metylenowego w czasie 4 h – zbliżony jest do wyników uzyskanych w badaniach, w których nanokompozyty PANI/TiO₂ rozkładały błękit metylenowy w tempie: 60% w czasie 6 h naświetlania (Radoičić et al., 2013), 73% w czasie 200 min naświetlania (Reddy et al., 2016) oraz 82% w czasie 2 h naświetlania (Wang et al., 2010). Należy przy tym zwrócić uwagę, że powyższe prace prowadziły naświetlania lampami o wyższej mocy niż ta stosowana w tym badaniu. Zrezygnowano również ze zwiększającego wydajność reakcji mieszania, stosowanego w wyżej wymienionych pracach, w celu odzwierciedlenia realnych warunków, w których uzyskany kompozyt mógłby odnaleźć zastosowanie. Innowacyjność proponowanego rozwiązania polega na rezygnacji z wyższej wydajności reakcji rozkładu błękitu metylenowego uzyskiwanej przez użycie nanocząstek w skutek czego zyskano: znacznie niższy koszt produkcji, większe bezpieczeństwo środowiskowe (wynikające z rezygnacji ze szkodliwych dla środowiska nanocząsteczek (Mishra and Sundaram, 2023)) oraz łatwość eksploatacji (wynikającą z większego rozmiaru cząstek kompozytu pozwalającego na oddzielenie ich od roztworu przy pomocy najprostszego filtra). W niniejszym badaniu dowiedziono również, że za wysoką aktywnością fotokatalityczną kompozytu PANI/TiO₂ nie są odpowiedzialne pojedyncze składniki kompozytu. Próba sprawdzająca zdolności fotokatalityczne czystego tlenku tytanu (IV) wykazała, że nie tylko nie wykazuje on sam w sobie właściwości fotokatalitycznych, ale nawet osłabia spontaniczny rozkład barwnika pod wpływem światła (absorbancja po 10 h naświetlania 1,007, a przy próbie kontrolnej 0,977). Odróżnia to wykorzystany w badaniu tlenek tytanu stosowany do produkcji farb od nanocząstek TiO₂, które same w sobie wykazują właściwości fotokatalityczne (Wang et al., 2010). Próba sprawdzająca zdolności fotokatalityczne polianiliny wykazała, że posiada ona właściwości fotokatalityczne jednak są one znacznie słabsze od właściwości fotokatalitycznych badanego kompozytu.

Kompozyt PANI/TiO₂ może znaleźć potencjalne zastosowanie w procesach oczyszczania ścieków przemysłowych. Ze względu na swoje unikalne właściwości: szybkość, tanią i nieskomplikowaną syntezę, niewymagającą stosowania skomplikowanych urządzeń, a także wysokie bezpieczeństwo środowiskowe stosowania może on odegrać szczególną rolę w procesach oczyszczania ścieków przemysłowych zanieczyszczonych barwnikami z fabryk położonych na obszarach o wysokim nasłonecznieniu. W takim przypadku otwarty zbiornik wypełniony kompozytem wykorzystując światło słoneczne pozwalałoby na znaczne obniżenie stężenia barwników w ściekach, szczególnie przy zastosowaniu instalacji kaskadowych. Jednocześnie duży rozmiar drobin kompozytu umożliwiłby jego łatwe oddzielenie od przepływających przez zbiornik ścieków przy zastosowaniu najprostszych filtrów, a nawet sedymentacji. Właściwości kompozytu pozwalałyby również na jego użycie w instalacjach zwiększających wydajność procesu fotokatalizy takich jak fotoreaktor dzwonowy (ang. water-bell photoreactor) (Abdel-Maksoud et al., 2018). Powyższe rozwiązania mogłyby stać się tanim i szybkim remedium, na problem zanieczyszczania środowiska przez przemysł w krajach ubogich.

WNIOSKI

W niniejszej pracy podjęto próbę syntezy kompozytu polianiliny z tlenkiem tytanu (IV) stosowanym do produkcji farb, który wykazywałby właściwości fotokatalityczne będąc jednocześnie znacznie tańszą, bezpieczniejszą dla środowiska oraz łatwiejszą w eksploatacji alternatywą dla dotychczas badanych nanokompozytów PANI/TiO₂. W wyniku przeprowadzonej syntezy uzyskano kompozyt o znacznych właściwościach fotokatalitycznych względem użytego w badaniu błękitu metylenowego, które potwierdzono prowadząc naświetlania próbek roztworu barwnika z dodanym fotokatalizatorem. Wykonano również badania mikroskopowe, które wykazały, że otrzymany kompozyt PANI/TiO₂ cechuje się na tyle dużymi rozmiarami agregatów, że możliwe jest ich oddzielenie od roztworu przez filtrację, a nawet sedymentację. Przeprowadzono również badania spektrometrii mas próbek roztworu powstałego po naświetlaniu fotokatalizatora, które potwierdziły bezpieczeństwo środowiskowe stosowania otrzymanego kompozytu. Otrzymane wyniki pokazują znaczący potencjał proponowanego rozwiązania do stosowania w celu oczyszczania ścieków przemysłowych z szkodliwych dla środowiska zanieczyszczeń barwnikami. Istotne zatem jest kontynuowanie badań z użyciem większej skali w warunkach symulujących takie zastosowanie kompozytu PANI/TiO₂. Wysoki potencjał fotokatalityczny polianiliny zachęca także do dalszych badań nad fotokompozytami z jej dodatkiem. Szczególnie interesujące wydaje się być połączenie z tlenkiem cynku, który w ostatnich latach cieszy się sporym zainteresowaniem jako związek o właściwościach zaskakująco podobnych do TiO₂ będący jednak bezpieczniejszym dla środowiska i tańszym zamiennikiem.

LITERATURA

Abdel-Maksoud, Y. K., Imam, E., and Ramadan, A. R. (2018) „TiO₂ water-bell photoreactor for wastewater treatment”, *Solar Energy*, 170, 323–335. doi.org/10.1016/J.SOLENER.2018.05.053.

Arora, I., Chawla, H., Chandra, A., Sagadevan, S., and Garg, S. (2022) „Advances in the strategies for enhancing the photocatalytic activity of TiO₂: Conversion from UV-light active to visible-light active photocatalyst”, *Inorganic Chemistry Communications*, 143, 109700. doi.org/10.1016/J.INOCHE.2022.109700.

Djara, R., Holade, Y., Merzouki, A., Masquelez, N., Cot, D., Rebiere, B., Petit, E., Huguet, P., Canaff, C., Morisset, S., Napporn, T. W., Cornu, D., and Tingry, S. (2020) „Insights from the Physicochemical and Electrochemical Screening of the Potentiality of the Chemically Synthesized Polyaniline”, *Journal of The Electrochemical Society*, 167(6). doi.org/10.1149/1945-7111/ab7d40.

Elghniji, K., Ksibi, M., and Elaloui, E. (2012) „Sol–gel reverse micelle preparation and characterization of N-doped TiO₂: Efficient photocatalytic degradation of methylene blue in water under visible light”, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 18(1), 178–182. doi.org/10.1016/J.IIEC.2011.11.011.

Hashemi Monfared, A., and Jamshidi, M. (2019) „Synthesis of polyaniline/titanium dioxide nanocomposite (PANI/TiO₂) and its application as photocatalyst in acrylic pseudo paint for benzene removal under UV/VIS lights”, *Progress in Organic Coatings*, 136, 105257. doi.org/10.1016/J.PORGCOAT.2019.105257.

Hassaan, M. A., and El Nemr, A. (2017) „Health and Environmental Impacts of Dyes: Mini Review”, *American Journal of Environmental Science and Engineering*, 1(3), 64–67.

Khan, R., Bhawana, P., and Fulekar, M. H. (2013) „Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*”, 12(1), 75–97. doi.org/10.1007/s11157-012-9287-6.

Khoshsepehr, Z., Alinejad, S., and Alimohammadlou, M. (2023) „Exploring industrial waste management challenges and smart solutions: An integrated hesitant fuzzy multi-criteria decision-making approach”, *Journal of Cleaner Production*, 420, 138327. doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2023.138327.

Kulkarni, V. G., Campbell, L. D., and Mathew, W. R. (1989) „Thermal stability of polyaniline. *Synthetic Metals*”, 30(3), 321–325. doi.org/10.1016/0379-6779(89)90654-1.

Liang, L., Wang, Z., and Li, J. (2019) „The effect of urbanization on environmental pollution in rapidly developing urban agglomerations”, *Journal of Cleaner Production*, 237, 117649. doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2019.117649.

Marković, S., Stanković, A., Lopičić, Z., Lazarević, S., Stojanović, M., and Uskoković, D. (2015) „Application of raw peach shell particles for removal of methylene blue. *Journal of Environmental Chemical Engineering*”, 3(2), 716–724. doi.org/10.1016/J.JECE.2015.04.002.

Menzel, V. C., and Tudela, I. (2022) „Additive manufacturing of polyaniline-based materials: an opportunity for new designs and applications in energy and biotechnology”, *Current Opinion in Chemical Engineering*, 35, 100742. doi.org/10.1016/J.COCHE.2021.100742.

Mishra, S., and Sundaram, B. (2023) „Fate, transport, and toxicity of nanoparticles: An emerging pollutant on biotic factors. *Process Safety and Environmental Protection*”, 174, 595–607. doi.org/10.1016/J.PSEP.2023.04.037.

Musie, W., and Gonfa, G. (2023) „Fresh water resource, scarcity, water salinity challenges and possible rem-

- Radoičić, M., Šaponjić, Z., Janković, I. A., Ćirić-Marjanović, G., Ahrenkiel, S. P., and Čomor, M. I. (2013) „Improvements to the photocatalytic efficiency of polyaniline modified TiO₂ nanoparticles. Applied Catalysis B: Environmental”, 136–137, 133–139. doi.org/10.1016/J.APCATB.2013.01.007.
- Rafiq, A., Ikram, M., Ali, S., Niaz, F., Khan, M., Khan, Q., and Maqbool, M. (2021) „Photocatalytic degradation of dyes using semiconductor photocatalysts to clean industrial water pollution. Journal of Industrial and Engineering Chemistry”, 97, 111–128. doi.org/10.1016/j.jiec.2021.02.017.
- Reddy, K. R., Karthik, K. V., Prasad, S. B. B., Soni, S. K., Jeong, H. M., and Raghu, A. V. (2016) „Enhanced photocatalytic activity of nanostructured titanium dioxide/polyaniline hybrid photocatalysts”, Polyhedron, 120, 169–174. doi.org/10.1016/J.POLY.2016.08.029.
- Wang, F., Min, S., Han, Y., and Feng, L. (2010) „Visible-light-induced photocatalytic degradation of methylene blue with polyaniline-sensitized TiO₂ composite photocatalysts”, Superlattices and Microstructures, 48(2), 170–180. doi.org/10.1016/J.SPMI.2010.06.009.

§ Praca wpłynęła do redakcji: 04.07.2023r.
Zrecenzowano: 14.09.2023r.
Przyjęto do druku: 16.09.2023r.



WARUNKI PUBLIKACJI

Czasopismo Journal of Life and Medical Sciences/Nauki Przyrodnicze i Medyczne (ISSN 2353-13-71) wydawane jest przez Stowarzyszenie Młodych Naukowców. Zgodnie z §12 pkt. 2 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej z dn. 22 lutego 2019 r. (Dz.U. 2019 poz. 392), wartość punktowa artykułu opublikowanego w czasopiśmie Nauki Przyrodnicze wynosi 5 pkt. Czasopismo indeksowane jest w bazie Index Copernicus (ICV 2019: 55.20), ARIANTA, BAZA AGRO. Pełne i bezpłatne wydania czasopisma aktualne i archiwalne znajdują się na stronie Stowarzyszenia www.naukowcy.org.pl, jak również na platformie <http://libra.ibuk.pl> oraz <https://www.ibuk.pl/>.

Przyjmujemy do druku artykuły naukowe oryginalne jak i przeglądowe.

Przygotowany artykuł zgodnie z wymaganiami określonymi przez czasopismo, należy przesłać w formie elektronicznej na adres kontakt@naukowcy.org.pl. Oświadczenie autorów należy własnoręcznie podpisać i po zeskanowaniu przesłać pocztą elektroniczną na adres kontakt@naukowcy.org.pl.

ZASADY PRZYJMOWANIA PRAC DO DRUKU

1. Czasopismo działa w systemie Open Acces.
2. Redakcja szczególnie jest zainteresowana artykułami z różnorodnych dziedzin nauk przyrodniczych i medycznych.
3. Tekst musi zawierać następujące informacje: tytuł pracy, imię(ona) (w pełnym brzmieniu) i nazwisko(a) autora(ów), nazwę i adres zakładu pracy (w przypadku uczelni: nazwę uczelni, wydział, katedrę/zakład/instytut, adres), adres poczty elektronicznej (e-mail).
4. Do pracy należy dołączyć krótkie (nieprzekraczające 300 wyrazów) streszczenie w jęz. angielskim (wraz z tytułem) i polskim, informujące o zasadniczej jej treści. Dodatkowo w obu językach należy podać maksymalnie 5 słów kluczowych.
5. Tekst:
 - musi zawierać wstęp/wprowadzenie, podsumowanie/wnioski i literaturę oraz podział tekstu właściwego na nagłówki
 - czcionka Times New Roman
 - odstępy między wierszami: 1
 - bez używania wyróżnień (np. podkreślenia), z wyjątkiem kursywy
 - wyraźne odznaczenie tytułów i nagłówków bez ich centrowania
 - zaznaczenie akapitów
 - wszystkie śródtytuły bez numeracji, czcionką tej samej wielkości
 - cytowane w tekście prace zaznaczamy przez podanie nazwiska pierwszego autora i roku publikacji w nawiasie półokrągłym, np.(Strahler, 2020), w przypadku dwóch autorów: (Koven and Senbonmatsu, 2013), w przypadku więcej niż dwóch autorów: (Strahler et al., 2018). Przedstawiony format cytowania odpowiada formatowi: Cite Them Right 10th ed. – Harvard. Format ten jest dostępny w bezpłatnym oprogramowaniu Mendeley wykorzystywanym do zarządzania publikacjami naukowymi.
 - cytowaną literaturę należy zestawić na końcu maszynopisu bez numeracji, w alfabetycznej kolejności, według nazwisk autorów, w następujących formatach:



WARUNKI PUBLIKACJI

Koven, N. S. and Senbonmatsu, R. (2013) 'A neuropsychological evaluation of orthorexia nervosa *', Open Journal of Psychiatry, 3, pp. 214–222. doi: 10.4236/ojpsych.2013.32019.

Strahler, J. et al. (2018) 'Orthorexia nervosa: A behavioral complex or a psychological condition?', Journal of Behavioral Addictions, 7(4), pp. 1143–1156. doi: 10.1556/2006.7.2018.129.

Strahler, J. (2020) 'Trait mindfulness differentiates the interest in healthy diet from orthorexia nervosa', Eating and Weight Disorders. Springer International Publishing, (0123456789). doi: 10.1007/s40519-020-00927-2.

6. Rysunki, schematy i fotografie:

- mają być wkomponowane w treść artykułu z możliwością edycji przez Czasopismo ich lokalizacji;
- opisy na rysunkach powinny być wykonane czcionką odpowiedniej wielkości, nie mniejszą niż 12 punktów;
- podpisy pod rycinami powinny być zamieszczone pod nimi (w przypadku tabel nad nimi);
- redakcja zaznacza sobie prawo odmówienia przyjęcia artykułu z uwagi na nieczytelny materiał;
- Autor artykułu oświadcza, że ma prawa autorskie do zgłoszonych grafik;
- w przypadku, gdy Autorzy zamierzają włączyć do swego artykułu ilustracje publikowane przez autorów cytowanych prac oryginalnych, należy uzyskać z wydawnictwa zgodę na przedruk. W przypadku braku dołączenia zgody Wydawca uznaje, że autorem ilustracji jest osoba nadsyłająca pracę.

7. Do pracy należy dołączyć „Oświadczenie Autora/ów pracy zgłoszonej do publikacji w czasopiśmie JLMS”

- wzór oświadczenia dostępny jest na stronie czasopisma.

8. Autorzy są zobowiązani do wykonania korekty artykułu i zwrotu poprawionego tekstu wiadomością e-mail do Redakcji w ciągu 4 dni od chwili otrzymania.

9. Przyjęcie pracy do druku jest równoznaczne z przeniesieniem przez Autora (Autorów) praw autorskich na rzecz Wydawcy.

10. Recenzja artykułu:

- do każdej oceny powołuje się co najmniej dwóch niezależnych recenzentów;
- wykonywana jest w modelu, w którym autor(rzy) i recenzenci nie znają swoich tożsamości (tzw. “double-blind review proces”);
- ma mieć formę pisemną i kończyć się jednoznacznym wnioskiem co do dopuszczenia artykułu do publikacji lub jego odrzuceniu.

11. Kontakt z Redakcją:

Stowarzyszenie Młodych Naukowców

e-mail: kontakt@naukowcy.org.pl

Redaktor naczelny: dr Mateusz Gortat, tel. 661 657 875

12. Artykuły prosimy nadsyłać na adres e-mail: kontakt@naukowcy.org.pl



ACCEPTANCE RULES OF ARTICLE TO PUBLISH

1. The academic journal functions in Open Access system.

2. The editorial office is particularly interested in the articles concerning the following branches of natural science: agrobiotechnology, biochemistry, biology, biotechnology, chemistry, ecology, pharmacy, medicine, environmental protection, horticulture, food processing technology, toxicology, zoology, zootechnics, human nutrition etc.

3. The text must contain the following information: the title of paper, full name and surname(s) of author(s), the name and address of workplace (in case of collage: the name of collage, faculty, department/section/institute, address), e-mail.

4. It is obligatory to include a short (up to 300 words) summary (with the title) in English and Polish, informing about the basic content of the paper. Additionally, up to five key words in English and Polish must be added.

5. The text:

- must contain an introduction, conclusion(s), references and a division of the main text into section headings;
- Times New Roman font;
- line spacing: 1;
- cannot contain highlighting (such as underlying), using italics is an exception;
- clear distinction of titles and headers, without centering of the text;
- marking paragraphs (indentation);
- all the subheadings must be without numeration and with the same font size;
- the articles cited in the text are marked with the name of the author and the year of publication in semicircular brackets, e.g. (Strahler, 2020), in the case of two authors: (Koven and Senbonmatsu, 2013), in the case of more than two authors: (Strahler et al., 2018). The citation format shown corresponds to the format: Cite Them Right 10th ed. - Harvard. This format is available in the free Mendeley software used to manage scientific publications;
- the cited bibliography should be compiled at the end of the manuscript without numbering, in alphabetical order, according to the authors' surnames, in the following formats:

Koven, N. S. and Senbonmatsu, R. (2013) 'A neuropsychological evaluation of orthorexia nervosa *', *Open Journal of Psychiatry*, 3, pp. 214–222. doi: 10.4236 / ojpsych.2013.32019.

Strahler, J. et al. (2018) 'Orthorexia nervosa: A behavioral complex or a psychological condition?', *Journal of Behavioral Addictions*, 7 (4), pp. 1143–1156. doi: 10.1556 / 2006.7.2018.129.

Strahler, J. (2020) 'Trait mindfulness differentiates the interest in healthy diet from orthorexia nervosa', *Eating and Weight Disorders*. Springer International Publishing, (0123456789). doi: 10.1007 / s40519-020-00927-2.



ACCEPTANCE RULES OF ARTICLE TO PUBLISH

6. Drawings, diagrams and photographs:

- are to be incorporated into the content of the article with the possibility of editing their location by the Journal;
- descriptions on the drawing should be presented with the adequate font size (no less than 12);
- signatures under the drawing should be placed in the end of the article on a separate page;
- the editorial office reserves the right to refuse acceptance of the article due to unclear drawing;
- author of the article declares having copyright to the published graphics;
- if the authors intend to include in the article the illustrations of the cited authors of original works, the permission of the publisher to reprint the illustrations must be obtained.

7. Covering letter, signed by all the authors, needs to be included with the paper and should contain the following information:

- the statement about the originality of the article and not submitting the similar paper for publication in another journal;
- defining the contribution of individual authors in the creation of the text;
- information about the source of funding (e.g. grant) in the case of original works (signing permission to publish the article). The sample is available at www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl.

8. The authors are obliged to do proofread of the article and return the revised text via e-mail to the editorial office within four days from the date of receiving the article.

9. Acceptance for publication is tantamount to the transfer of copyright from the author(s) to the publisher.

10. The review of article:

- for each assessment at least two independent reviewers are appointed;
- the recommended solution is "double-blind evaluation process" in which both the reviewers and the authors do not know each other's identity;
- is to be prepared in written form with the conclusion in the end which specify whether the article is going to be published or refused.

11. Contact:

Stowarzyszenie Młodych Naukowców

e-mail: kontakt@naukowcy.org.pl

Editor in Chief: Mateusz Gortat, tel. 661 657 875

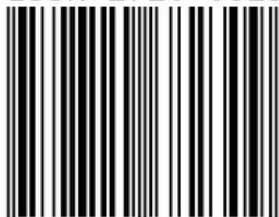
12. Please, send your article to the following e-mail: kontakt@naukowcy.org.pl .

13. The author bears the costs of all the positive reviews in the case of not making corrections to the article, as a result the article will not be approved for publication.

**Journal of Life and Medical Sciences
is published by the
Association of Young Scientists (Poland)**

www.naukowcy.org.pl

ISSN 2720-6823



9 772720 682309 >