

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii



NAUKA I PRZEMYSŁ

lubelskie spotkania studenckie



WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii



NAUKA I PRZEMYSŁ

lubelskie spotkania studenckie

Praca zbiorowa



WYDAWNICTWO UNIwersYTETU MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ
LUBLIN 2025

Recenzenci:

Prof. dr hab. Małgorzata Teresa Kaczmarek
Prof. dr hab. inż. Mariola Saternus
Prof. dr hab. Joanna Gościańska
Dr hab. Karolina Wieszczycka, prof. PP
Dr hab. Łukasz Kłapiszewski, prof. PP
Dr hab. inż. Agata Jakóbik Kolon, prof. PŚ
Dr hab. Dariusz Błażej Wyrzykowski, prof. UG
Dr hab. Renata Siedlecka
Dr hab. Monika Kalinowska, prof. PB
Dr hab. inż. Magdalena Regel-Rosocka, prof. PP
Dr hab. Ilona Sadok
Dr hab. inż. Joanna Kluczka, prof. PŚ
Dr Joanna Kończyk
Dr Agnieszka Tomczyk

Opracowanie redakcyjne i skład:

Dr hab. Agnieszka Gładysz-Płaska

Wydrukowano z materiałów powierzonych przez Autorów,
bez opracowania redakcyjnego wykonanego
przez Wydawnictwo UMCS.

© Wydawnictwo UMCS, Lublin 2025

ISBN 978-83-227-9906-2

WYDAWNICTWO UNIwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej
20-031 Lublin, ul. Idziego Radziszewskiego 11
tel. 81 537 53 04
www.wydawnictwo.umcs.eu
e-mail: wydawnictwo_sekretariat@mail.umcs.pl

DZIAŁ HANDLOWY

tel./fax 81 537 53 02, 81 537 53 03
e-mail: wydawnictwo@umcs.eu
Księgarnia internetowa: www.wydawnictwo.umcs.eu

Z przyjemnością oddajemy w Państwa ręce monografię pt. *Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie*, będącą pokłosiem konferencji naukowej o tym samym tytule. Publikacja ta gromadzi prace studentów i doktorantów, którzy aktywnie zaangażowali się w działalność badawczą i podjęli próbę zmierzenia się z wyzwaniami współczesnej nauki.

Zebrane artykuły reprezentują szeroki wachlarz tematów, obejmujących chemię, biologię, medycynę, farmację czy ochronę środowiska. Ta interdyscyplinarna różnorodność pokazuje, jak blisko dziś przenikają się świat nauki i przemysłu oraz jak istotną rolę odgrywa innowacyjność w poszukiwaniu rozwiązań realnych problemów społecznych, zdrowotnych i środowiskowych.

Autorzy prezentowanych prac wykazali się nie tylko solidnym przygotowaniem merytorycznym, ale również kreatywnością i odwagą w podejmowaniu ambitnych tematów badawczych. Ich zaangażowanie potwierdza, że młode pokolenie naukowców posiada potencjał, by realnie wpływać na rozwój nauki i technologii, budując mosty pomiędzy środowiskiem akademickim a przemysłowym.

Mamy nadzieję, że niniejsza monografia będzie nie tylko źródłem wiedzy, ale także inspiracją do dalszych badań i współpracy między różnymi dziedzinami nauki.

Życzymy owocnej lektury!

Redakcja naukowa

SPIS TREŚCI

A. Trojanowska, D. Fila, Z. Hubicki	13
Wpływ wybranych metod suszenia na właściwości adsorpcyjne materiałów alginianowych	
K. Morlo, J. Dobrzyńska, R. Dobrowolski	17
Ocena efektywności usuwania metabolitów leków przeciwnowotworowych zawierających platynę z modelowych roztworów wodnych za pomocą biowęgla	
I. Ryza, J. Karpińska, U. Klekotka	21
Modyfikacja powierzchni polimerów z użyciem nadwęglanu sodu – perspektywy i możliwości	
M. Smyk, M. Głogowska, K. Michalska, K. Antoniuk-Jurak, A. Kierys	25
Synteza metodą osadzania ze strącaniem mocznikiem katalizatorów cynkowo-glinowych dotowanych miedzią	
K. Tokarska, M. Wiśniewska, P. Nowicki	29
Wpływ temperatury i wariantu ogrzewania na parametry fizykochemiczne biowęgla aktywnych otrzymanych z pestek głogu	
J. Zacharczuk, B. Tarasiuk, B. Podkościelna	33
Mikrosfery polimerowe z ligniną jako prekursorzy węgla aktywnych	
B. Wawrzaszek, B. Charmas, K. Jedynak	37
Wpływ aktywacji CO ₂ na właściwości biowęgla otrzymanych z biomasy	
A. Wołowicz, U. Wepa, M. Wawrzekiewicz, B. Podkościelna, Ł. Kłapiszewski	41
Badanie przydatności układów hybrydowych z udziałem ligniny jako potencjalnych materiałów sorpcyjnych do usuwania jonów niklu(II)	
K. Wojdat, J. Krawczyk, J. Karasiewicz	46
Właściwości adsorpcyjno-agregacyjne a właściwości zwilżające wybranego surfaktantu silikonowego na granicy faz Ti6Al4V-roztwór	
P. Zawisła, J. Kapelewska, U. Kotowska	50
Ocena efektywności zaawansowanych procesów utleniania z wykorzystaniem aktywowanego kwasu peroksyoctowego w usuwaniu mikroplastiku ze środowiska wodnego	
K. Zinkowska, Z. Hubicki, G. Wójcik	54
Sorption jonów metali szlachetnych z wykorzystaniem sorbenta impregnowanego	

S. Gustaw, D. Kołodyńska	58
Sorpccja jonów Cd(II) na powierzchni biowęgli modyfikowanych substancjami żelującymi w obecności konkurencyjnych jonów metali	
N. Żuk, E. Grabias-Blicharz, J. Flieger	62
Właściwości fizykochemiczne i zastosowanie nanocząstek tlenku żelaza do selektywnej sorpcji	
K. Gołębiowska, E. Grządka	66
Zastosowanie kationowej celulozy i kwasu alginowego do usuwania mikroplastików z układów wodnych	
M. Dacka, D. Fila, D. Kołodyńska	70
Kinetyka sorpcji jonów ceru(III) i samaru(III) na biokompozytach alginianowo-pektynowych	
D. Antosz, K. Dawidek, K. Dziuba	74
Synteza hybrydowych uniepalniaczy do materiałów kompozytowych	
A. Wołowicz, W. Mazur, M. Wawrzekiewicz, B. Podkościelna	78
Badanie wpływu pH na sorpcję jonów miedzi(II) na sorbentach zawierających ligninę kraft	
P. Sado, E. Sasimowski, M. Grochowicz	82
Biodegradowalne kompozycje poli(bursztynianu butylenu) z naturalnymi napęlniaczami - charakterystyka odporności chemicznej i podatności na biodegradację	
A. Dowbysz, M. Samsonowicz, B. Kukfisz	86
Wpływ grafitu ekspandowalnego na palność i dymotwórczość nienasyconych żywic poliestrowych	
O. Grochowicz, J. Satławski, K. Sarna-Boś	90
W poszukiwaniu idealnego materiału hybrydowego do zastosowań stomatologicznych	
A.C. Szapowicz, E. Skwarek	94
Zastosowania kompozytów hydroksyapatyt/tlenek tytanu-krótki przegląd	
K. Kowalska, E. Skwarek	98
Porównanie wybranych właściwości fizykochemicznych kompozytów na bazie glinki żółtej i hydroksyapatytu otrzymanych metodami mechanochemiczną i moką	
A. Wawszczak, D. Kołodyńska	102
Biomateriały hydrożelowe stabilizowane polifosforanami – badania strukturalne i powierzchniowe	

M. Krystkiewicz, M. Kalinowska, R. Choińska	106
Nowoczesne i zrównoważone techniki ekstrakcji substancji bioaktywnych z produktów naturalnych	
S. Panasevich, I. Tsybulski, A. Dowbysz, M. Samsonowicz	110
Nowoczesne strategie produkcji pektynaz wykorzystywanych do utylizacji odpadów z produkcji rolno-spożywczej	
J. Protaziuk, D. Kidaj	114
Celuloza bakteryjna - właściwości fizykochemiczne, metody produkcji i zastosowanie	
K. Pastuszak, M. Jurak, B. Kowalczyk, J. Tarasiuk, K. Styk, M. Palusińska-Szys	118
Działanie ludzkiej katelicydyny na bakterie <i>Legionella longbeachae</i> w modelowych układach błonowych	
M. Zabielska- Konopka, E. Zambrzycka- Szelewa, B. Godlewska-Żyłkiewicz	122
Bakterie jako narzędzie w odzysku metali krytycznych technologicznie z odpadów	
M. Tyszk, M. Majewska	126
Produkcja sideroforów przez szczepy <i>Pseudomonas</i> w warunkach stresu kadmowego	
J. Tarasiuk, B. Kowalczyk, K. Pastuszak, M. Jurak, M. Palusińska-Szys	130
Znaczenie modyfikacji lipopolisacharydu <i>Legionella pneumophila</i> w patogenezie bakterii	
A. Niewczas, K. Szwed, K. Pogorzelec, W. Słotwińska K. Polański	134
Lekowrażliwość laseczek wyizolowanych z powierzchni dotykowych w przestrzeni publicznej Lublina	
G. Omiotek, D. Samborska, A. Turska-Szewczuk	138
Charakterystyka i profil lekowrażliwości wybranych drobnoustrojów wyizolowanych z ropnia okołowierchołkowego zęba leczonego endodontycznie	
J. Zawada, M. Kutyla, M. Trytek	142
Optymalizacja warunków hodowli grzybnia <i>Penicillium</i> sp. jako biokatalizatora do procesu syntezy biodiesla	
N. Chochowska, I. Kiszkiel-Taudul, B. Leśniewska	147
Mikroekstrakcja β -laktamów i tetracyklin do pojedynczej kropli cieczy głęboko eutektycznej z próbek mleka	

E. Bujnowska, G. Świdorski, M. Matejczyk	151
Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej kompleksów wapnia z wybranymi herbicydami	
A. Grześkowiak, K. Wrześniewska, J. Kutkowska	155
Wykrywanie bakterii wytwarzających laktony N-acylo-L-homoseryny (AHL) z wykorzystaniem szczepu biosensorowego <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	
K. Styk, B. Kowalczyk, J. Tarasiuk, K. Pastuszak, M. Jurak, M. Palusińska-Szys	159
Bakteryjne szlaki biosyntezy izoprenoidów	
A. Kowalewska, M. Kalinowska, R. Choińska	163
Zastosowanie fermentacji na podłożach stałych (solid state fermentation) do pozyskiwania substancji bioaktywnych z biomasy	
K. Szwed, A. Niewczas, K. Pogorzelec, N. Gruszkiewicz, B. Plaska, M. Korpysz	167
Adipocytokiny jako czynniki ryzyka rozwoju raka piersi	
N. Gruszkiewicz, B. Plaska, K. Szwed, A. Niewczas, K. Pogorzelec, A. Kozłowska	171
Indukcja nowotworu wtórnego po radioterapii obszaru klatki piersiowej poparta analizą przypadku	
F. Kozłowski, O. Popiołek, A. Kozłowska	175
Guz chromochłonny – wyzwania i trudności diagnostyczne – opis przypadku	
K. Pogorzelec, A. Niewczas, K. Szwed, D. Natarska-Chomicka	179
Dieta i styl życia - czynniki ryzyka oraz strategie zapobiegania nowotworom kobiecym	
D. Gorylewski, K. Tyszczyk-Rotko, K. Staniec, A. Keller, A. Liwak	183
Zastosowanie nanocząstek magnetycznych jako modyfikatorów powierzchni czujników woltamperometrycznych w analizie śladowej jonów Cd(II) i Pb(II)	
Z. Pudzianowska, A. Zagózdón, K. Jaśkowski, A. Kryśka, M. Sawic, B. Gieroba	187
Zastosowanie metod chemometrycznych do analizy widm spektroskopowych	
A. Sagan, D. Kidaj, K. Zamłyńska, A. Swatek, I. Komaniecka	191
Analiza roślinnych związków flawonoidowych techniką UPLC-ESI-MS	

A. Jastrzębski, A. Krzyszczak-Turczyn, M. Grochowicz, I. Sadok	195
Wysokopigmentowe owoce – wymagająca matryca vs. konkurencyjne parametry analitycznej metody LC-MS/MS oznaczania mykotoksyn	
A. Keller, K. Tyszczyk-Rotko, K. Staniec, D. Gorylewski	199
Wykorzystanie czujników woltamperometrycznych modyfikowanych bizmutem do jednoczesnych oznaczeń jonów kadmu i ołowiu	
A. Liwak, K. Tyszczyk-Rotko, D. Gorylewski	203
Kofeina – właściwości, zastosowanie i woltamperometryczne oznaczenia	
P. Malinowska, D. Kołodyńska, M. Kamińska, W. Sofińska-Chmiel	207
Zastosowanie spektroskopii FTIR oraz dyfrakcji rentgenowskiej XRD do ilościowej analizy kamieni nerkowych	
P. Matejczuk, J. Nieszporek	211
Elektrowydzielanie Zn(II) na rtęci w obecności L-3,4-dihydroksyfenyloalaniny	
M. Maziarz, M. Zienkiewicz-Strzałka	215
Analiza i kontrola jakości produktów kosmetycznych (past do zębów) z wykorzystaniem rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej	
K. Morawska, C. Wardak	219
Czy rodzaj warstwy pośredniej wpływa na odporność temperaturową elektrod jonoselektywnych? Nowe spojrzenie na elektrody ze stałym kontaktem	
P. Mrózek, I. Gęca	223
Jednoczesne oznaczanie jonów Cd(II) i Pb(II) metodą anodowej woltamperometrii strippingowej z wykorzystaniem nowego typu stałej zespolonej mikroelektrody bizmutowej	
K. Oźga, I. Sadok	226
Dobór złoża SPE do oznaczeń metabolitów tryptofanu w postaci pochodnych estrowych w surowicy krwi metodą LC-MS	
A.N. Pawlak, A. Nosal-Wiercińska	230
Elektroredukcja jonów Bi(III) w mieszanych wodno-organicznych roztworach elektrolitów podstawowych zawierających acetonitryl	
S. Sajkowska, B. Leśniewska, M. Hryniewicka	234
Badanie specjacji Cu i Zn w ekstraktach enzymatycznych świeżych i liofilizowanych ziół metodami łączonymi SEC-ICP-MS i LC-MS/MS	
K. Sawko, D. Kołodyńska, M. Szeliga, W. Sofinska-Chmiel, M. Drewniak, R. Kelle	238
Zastosowanie metod analitycznych do badania obiektów archeologicznych	

Y. Zinchenko, J. Korneluk, M. Czemierska, A. Jarosz-Wilkolazka	242
Aktualne trendy w analizie biopolimerów z zastosowaniem sztucznej inteligencji	
E. Wlazłowska, M. Grabarczyk, M. Fialek	246
Nowoczesna elektrochemiczna metoda detekcji śladowych ilości europu(III) przy użyciu innowacyjnego sensora	
H. Wólczyński, C. Wardak, S. Malinowski	250
Nowy biosensor elektrochemiczny do oznaczania estradiolu	
M. Maciejewska, M. Grochowicz	254
Zastosowanie funkcjonalizowanych metakrylowych mikrosfer polimerowych jako wypełnienia chromatograficzne w RP-HPLC	
K. Staniec, K. Tyszczyk-Rotko, D. Gorylewski, A. Keller	258
Jasmonian metylu – właściwości, występowanie, woltamperometryczne procedury oznaczania	
J. Lupa, V. Dudzik, D. Sternik, A. Kierys	261
Wpływ wysokoporowatego tlenku ceru na rozkład termiczny alkoholowego roztworu azotanu(V) kobaltu(II)	
J. Misiurek, Ł. Popiolek, L. Mazur	265
Struktura krystaliczna i badania fazowe acylohydrazonów otrzymanych mechanochemicznie i roztworowo	
A. Radziszewska, A. Dowbysz, M. Samsonowicz	270
Aktywność antyoksydacyjna i przeciwuczkrycowa ekstraktów z Humulus lupulus	
O. Siewierska, U. Maciolek, R. Typek, M. Grabarczyk	274
Analiza wpływu grup hydroksylowych na rozpuszczalność wybranych flawonoidów	
M. Zawadzka, M. Kalinowska, G. Świdorski	278
Ekstrakcja związków bioaktywnych z wyłoków z jabłek na drodze biokonwersji z wykorzystaniem fermentacji z udziałem bakterii LAB	
J. Pluta, A. Bartyzel	282
Synteza, właściwości termiczne i spektroskopowe N,O-donorowych zasad Schiffa otrzymanych na bazie dietylenotriaminy	
J. Barańska, M.T. Kaczmarek, K. Koroniak-Szejn, M. Zabiszak	286
Badanie wpływu modyfikacji ligandów typu zasady Schiffa na koordynację jonów metali	

E. Gołębowska, M. Kalinowska	290
Kompleksy kwercetyny z jonami Zn(II) – synteza, skład w roztworze oraz aktywność antyoksydacyjna	
K. Stachowiak, M. Zabiszak, R. Jastrząb	295
Związki kompleksowe urydyno-5'-difosfo-N-acetyloglukozaminy z wybranymi jonami metali - badania potencjometryczne i spektroskopowe	
D. Sobociński, R. Zagrodnik	299
Wykorzystanie glicerolu i syntetycznego hydrolizatu lignocelulozowego w produkcji wodoru i kwasu kapronowego w procesach fermentacyjnych	
K. Tabor, V. Paientko, E. Demianenko, O. Filonenko, A. Grebenyuk, O. Yesypchuk, A. Gładysz-Plaska	303
Analiza adsorpcji antocyjanów na powierzchni bentonitu	
I. Tsybulski, S. Panasevich, A. Dowbysz, M. Samsonowicz	307
Pektynazy – właściwości i przemysłowe zastosowanie	
E. Kądziaława, A. Rosińska, J. Czakaj	311
Problematyka przetwarzania odpadów z gumy do żucia	
K. Chaberska, A. Gumieniczek	315
Filtr UV-różnice regulacyjne między USA i UE	
K. Kagan, A. Wolińska, A. Kruczyńska, A. Kuźniar	319
Agrobiotechnologia – mit czy przeszłość rolnictwa?	
M. Piejak, J. Nowosad, A. Bartkowska-Bekasiewicz, W. Plaska	323
Analiza zmienności przestrzennej stężenia chlorofilu w zbiornikach wodnych: wstęp do projektu aplikacji zdalnego monitoringu jakości wód	
J. Nowosad, M. Piejak, A. Gryboś, A. Miecznikowska-Ziółek, W. Plaska, A. Bartkowska-Bekasiewicz	327
Sezonowa dynamika zmian właściwości fizyko-chemicznych wody torfowiska przejściowe-go	
M. Romanuk, P. Pączkowski, B. Gawdzik	331
Asfalt drogowy i metody jego modyfikacji siarką polimerową	
S. Jarzyna, D. Gugala-Fekner	334
Polki w nauce - kobiety, które zmieniły świat	
M. Józwicki, P. Mergo	338
Optymalizacja parametru przesunięcia miejsca grzania przy połączeniu światłowodu standardowego ze światłowodem hollow-core	

M. Pawłaszek, A. Gumieniczek	342
Czy ślimaki morskie mogą leczyć?	
D. Sławczyk, B. Bień, A. Grobelak.....	346
Wybrane metody kondycjonowania odpadów rolno-spożywczych w biogazowniach	
M. Szponder, D. Gugala-Fekner	350
Co z tą rtęcią?	
Spis autorów	353

WPLYW WYBRANYCH METOD SUSZENIA NA WŁAŚCIWOŚCI ADSORPCYJNE MATERIAŁÓW ALGINIANOWYCH

A. TROJANOWSKA, D. FILA, Z. HUBICKI, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: W pracy przedstawiono badania dotyczące otrzymywania biosorbentów na bazie alginianu sodu (ALG@SA) sieciowanych wapniem (ALG@Ca) i cynkiem (ALG@Zn). Biosorbenty otrzymano za pomocą dwóch metod suszenia: liofilizacji (FD) oraz suszenia na powietrzu (AD). Omówiono optymalne parametry procesu sorpcji jonów pierwiastków ziem rzadkich (REE), tj.: gadolinu(III) oraz iterbu(III) na w/w adsorbentach. W tym celu zbadano wpływ pH roztworu oraz czas oddziaływań pomiędzy fazami roztwór metalu-biosorbent. Dodatkowo wyznaczono wybrane parametry kinetyczne dla badanych układów.

Wprowadzenie: Dynamiczny rozwój przemysłu stawia przed nauką coraz bardziej złożone wyzwania, wymagające nieustannego doskonalenia technologii i opracowywania innowacyjnych metod produkcji. W odpowiedzi na te potrzeby naukowcy intensywnie poszukują nowatorskich rozwiązań, które mogą usprawnić procesy wytwarzania, w tym w szczególności bioadsorbentów – materiałów o dużym potencjale w usuwaniu zanieczyszczeń oraz odzysku surowców krytycznych. Wzrost zainteresowania technikami suszenia adsorbentów, takimi jak suszenie na powietrzu czy liofilizacja, wynika z ich możliwości do zachowania struktury i właściwości materiałów, co jest kluczowe dla uzyskania wysokiej efektywności adsorpcyjnej. Suszenie na powietrzu (AD) to jedna z najprostszych i najbardziej ekonomicznych metod suszenia, podczas której równocześnie zachodzi wymiana ciepła i masy, powodując zmianę fazy materiału. Suszenie na powietrzu powoduje większe zagęszczenie struktury, co może ograniczać dostępność miejsc aktywnych podczas sorpcji [1]. Alternatywnym sposobem suszenia jest również liofilizacja (FD), która obecnie jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych metod suszenia [2]. Liofilizacja to proces odwodnienia próbek w niskiej temperaturze, który polega na szybkim zamrożeniu materiału, a następnie obniżeniu ciśnienia, co umożliwia usunięcie lodu poprzez sublimację. Kluczowym etapem procesu FD jest zamrażanie, które w dużej mierze determinuje właściwości fizykochemiczne powstających materiałów [3]. Dzięki tej metodzie można otrzymać wysokoporowate materiały o stabilnej strukturze, co sprawia, że jest szeroko stosowana w różnych gałęziach nauki i przemysłu [4].

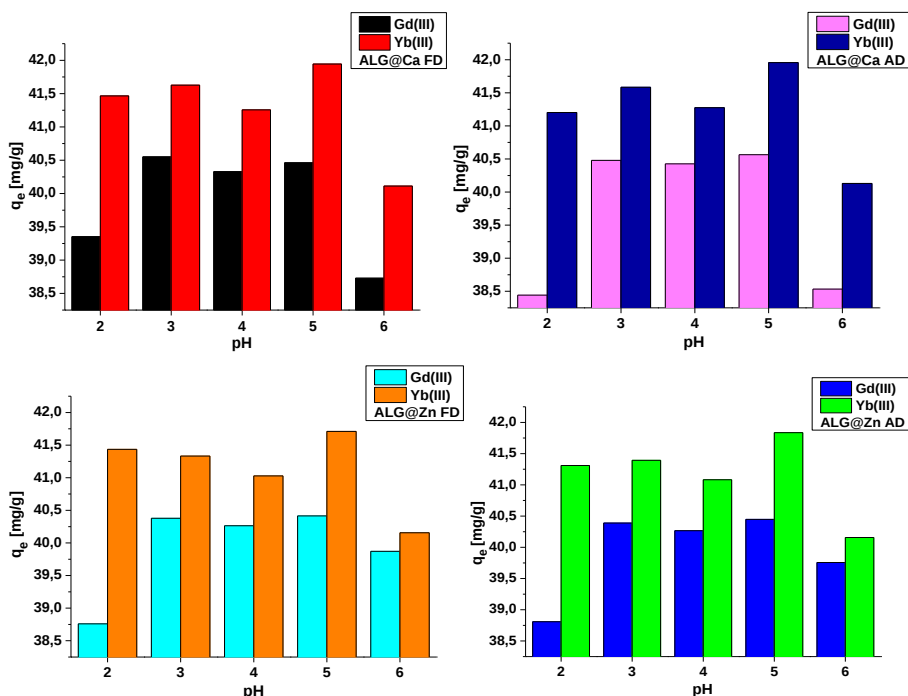
Część eksperymentalna: Użyte do badań sorpcyjnych kulki alginianowe otrzymano poprzez sieciowanie jonowe alginianu sodu za pomocą ZnCl_2 i CaCl_2 . W tym celu przygotowano 1% roztwór alginianu sodu a następnie wkraplano go do 1% roztworu chlorku cynku lub chlorku wapnia. Po 24 godzinach uzyskane kulki przemywano wodą destylowaną do usunięcia jonów chlorkowych, a następnie suszono przy użyciu dwóch metod: suszenia w temperaturze pokojowej (AD), tj. w 295 K i liofilizacji (FD). Przed liofilizacją próbki zamrożono w temperaturze -80°C , a następnie liofilizowano stosując temperaturę 213 K, ciśnienie 1,00 mBar i czas 48 h. w wyniku syntezy otrzymano cztery sorbenty:

ALG@Ca FD, ALG@Ca AD, ALG@Zn FD i ALG@Zn AD (Rys.1). Zsyntezowane adsorbenty poddano badaniom efektywności sorpcji jonów Gd(III) oraz Yb(III) z roztworów wodnych metodą statyczną oceniając wpływ pH roztworu i czas oddziaływań pomiędzy fazami. W kolejnym etapie dla badanych układów wyznaczono parametry kinetyczne procesu sorpcji przy zastosowaniu liniowych postaci modeli kinetycznych pseudo-pierwszego i pseudo-drugiego rzędu.



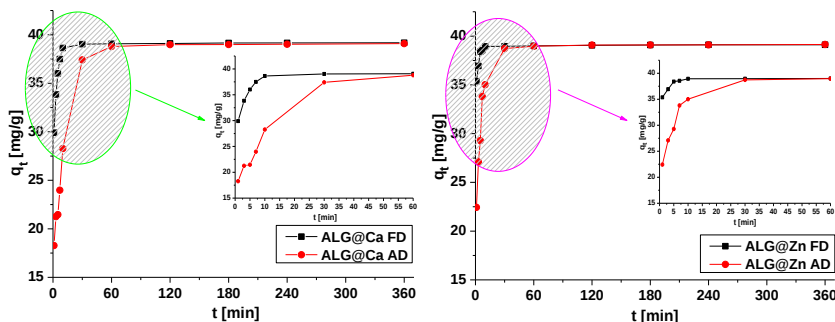
Rys.1. Zsyntezowane sorbenty alginianowe: (A) ALG@Ca FD; (B) ALG@Ca AD; (C) ALG@Zn FD; (D) ALG@Zn AD.

Wyniki: Wyznaczono najbardziej optymalne warunki procesu sorpcji poprzez analizę wpływu pH roztworu (zastosowane warunki: pH= 2-6, $C_0 = 100 \text{ mg/dm}^3$, $m = 0,025 \text{ g}$, $V = 10 \text{ cm}^3$, $t = 480 \text{ minut}$, $T = 293 \text{ K}$) oraz czasu kontaktu faz (zastosowane warunki: $t = 1\text{-}360 \text{ minut}$, pH= 5, $C_0 = 100 \text{ mg/dm}^3$, $m = 0,05 \text{ g}$, $V = 20 \text{ cm}^3$, $T = 293 \text{ K}$). Rysunek 2 przedstawia zmiany pojemności równowagowej (q_e) w zależności od pH roztworu wyjściowego jonów Gd(III) i Yb(III). Najwyższe wartości w/w parametru odnotowano dla wszystkich badanych układów przy pH wynoszącym 5. Dodatkowo zaobserwowano wyższe wartości q_e podczas sorpcji jonów Yb(III). Ponadto adsorpcja jonów Yb(III) była efektywna w szerszym zakresie pH (pH od 2 do 5), podczas gdy dla jonów Gd(III) w zakresie 3-5. Dla pH=6 zaobserwowano spadek wydajności sorpcji dla wszystkich badanych układów.



Rys.2. Wydajność procesu sorpcji jonów Gd(III) i Yb(III) na ALG@Ca FD, ALG@Ca AD, ALG@Zn FD oraz ALG@Zn AD w zależności od pH roztworu.

Analizując wykresy zależności ilości zaadsorbowanych jonów metali (q_t) od czasu t (Rys.3) obserwuje się szybki wzrost pojemności sorpcyjnej w początkowej fazie procesu. Maksymalne wartości q_t są osiągane w krótkim czasie, po czym następuje stabilizacja we wszystkich badanych układach. Ponadto, dla każdego z układów pojemność równowagowa ustala się na poziomie ok. 38-40 mg/g, co sugeruje podobną efektywność w/w procesu, jednakże różny czas ustalenia równowagi sorpcyjnej – dla materiałów liofilizowanych (ALG@Ca FD i (ALG@Zn FD) po 10 minutach, zaś dla materiałów suszonych na powietrzu po 60 minutach (ALG@Ca AD) i 30 minutach (ALG@Zn AD). Stosując stężenie początkowe równe 100 mg/dm³ uzyskano 100% wydajność procesu sorpcji.



Rys.3. Efektywność procesu sorpcji jonów Gd(III) i Yb(III) na ALG@Ca FD, ALG@Ca AD, ALG@Zn FD oraz ALG@Zn AD zależnie od czasu oddziaływań pomiędzy fazami.

W kolejnym etapie badań scharakteryzowano kinetykę procesu sorpcji. Jak zaznaczono wcześniej sorbenty liofilizowane charakteryzowały się szybszym ustaleniem stanu równowagi sorpcyjnej w porównaniu do sorbentów suszonych na powietrzu. Uzyskane dane eksperymentalne odpowiednio dopasowano przy zastosowaniu liniowych postaci modeli kinetycznych pseudo-pierwszego (PFO) oraz pseudo-drugiego (PSO) rzędu. Wyniki dla Gd(III) przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Dopasowanie danych eksperymentalnych do modeli kinetycznych PFO oraz PSO.

Modele kinetyczne	Parametry	ALG@Ca FD	ALG@Ca AD	ALG@Zn FD	ALG@Zn AD
		$C_0 = 100 \text{ mg/dm}^3$			
PFO	q_{exp} [mg/g]	39,18	39,09	39,11	39,14
	q_1 [mg/g]	1,73	9,96	0,78	4,76
	$k_1 \cdot 10^{-2}$ [1/min]	2,40	2,61	2,14	2,58
	R^2	0,763	0,815	0,812	0,768
PSO	q_2 [mg/g]	39,21	39,46	39,12	39,28
	$k_2 \cdot 10^{-2}$ [g/mg·min]	8,62	0,97	19,69	2,60
	R^2	1,00	1,00	1,00	1,00

Na podstawie współczynnika korelacji R^2 ustalono, że model kinetyczny pseudo-drugiego rzędu jest bardziej odpowiedni do opisu kinetyki adsorpcji. Wyższe wartości parametru k_2 uzyskano dla materiałów liofilizowanych, co sugeruje wpływ metody suszenia na szybkości procesu sorpcji – dla tych materiałów równowaga adsorpcyjna została osiągnięta po 10 minutach. Zaobserwowano również, że wartości parametru q_{exp} w każdym z badanych układów są zbliżone do wartości q_2 , co sugeruje dobre dopasowanie modelu PSO.

Wnioski: Przeprowadzone badania wykazały, że zsyntezowane kompozyty na bazie alginianu za pomocą dwóch technik suszenia posiadają wysoką zdolność adsorpcji jonów Gd(III) i Yb(III). Proces sorpcji był zależny od zastosowanych parametrów. Równowaga adsorpcyjna została osiągnięta szybciej dla materiałów liofilizowanych, kinetyka sorpcji przebiegała zgodnie z modelem kinetycznym pseudo-drugiego rzędu. Podsumowując, metoda suszenia wpływała na właściwości adsorpcyjne materiałów alginianowych. Zarówno ALG@Ca, jak i ALG@Zn są obiecującymi sorbentami pierwiastków ziem rzadkich z roztworów wodnych.

Podziękowanie: Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki zgodnie z decyzją nr 2019/35/N/ST8/01390.

Literatura:

1. Y. Chen, Y. Yang, W. Xiong, L. Zhang, W. Xu, G. Duan, C. Mei, S. Jiang, Z. Rui, K. Zhang, Nano Today, 38 (2021) 101204.
2. M. Guastaferrero, E. Reverchon, L. Baldino, Materials, 14 (2021) 1631.
3. F. Escalona-Duran, C. Saez, J. Lobato, C.A. Martinez-Huitle, M.A. Rodrigo, Current Opinion in Electrochemistry, 28 (2021) 100718.
4. A.R.D.V. Morais, É.D.N. Alencar, F.H. Xavier Júnior, C.M. De Oliveira, H.R. Marcelino, G. Barratt, H. Fessi, E.S.T. Do Egito, A. Elaissari, International Journal of Pharmaceutics, 503 (2016) 102.

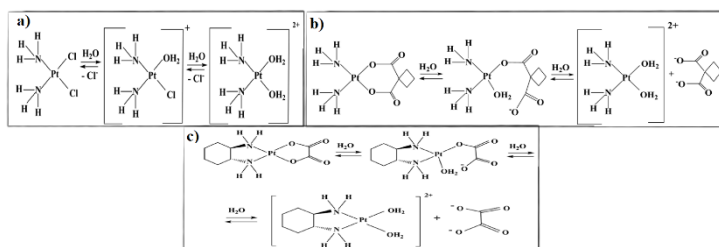
OCENA EFEKTYWNOŚCI USUWANIA METABOLITÓW LEKÓW PRZECIWNOWOTWOROWYCH ZAWIERAJĄCYCH PLATYNĘ Z MODELOWYCH ROZTWORÓW WODNYCH ZA POMOCĄ BIEWĘGLI

K. MORLO, J. DOBRZYŃSKA, R. DOBROWOLSKI, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: W pracy opisano procedurę otrzymywania biewęgla z odpadów pszczelarskich oraz ich charakterystykę fizykochemiczną. Skoncentrowano się na optymalizacji procesu adsorpcji wybranych leków przeciwnowotworowych zawierających platynę z modelowych roztworów wodnych na otrzymanych materiałach. W tym celu zbadano wpływ pH oraz czasu kontaktu faz na adsorpcję cisplatyny, karboplatyny i oksaliplatyny. Dodatkowo określono maksymalne pojemności adsorpcyjne dla tych cytostatyków na uzyskanych adsorbentach.

Wprowadzenie: Leki przeciwnowotworowe zawierające platynę (Pt) zrewolucjonizowały dziedzinę onkologii od momentu odkrycia antynowotworowego działania cisplatyny (Cis-Pt) w latach 60. ubiegłego wieku. Cytostatyki te należą do najczęściej stosowanych chemioterapeutyków. Silne działanie toksyczne Cis-Pt przyczyniło się do opracowania leków mniej toksycznych, takich jak oksaliplatyna (Oksali-Pt) i karboplatyna (Karbo-Pt). Leki te wykazują podobny mechanizm działania, dzięki czemu są skuteczne w zwalczaniu szerokiego zakresu nowotworów. Warto zauważyć, że cytostatyki zawierające Pt tworzą wiązania kowalencyjne z DNA, zakłócając ważne procesy komórkowe i indukując apoptozę tkanek nowotworowych. Mechanizm ich działania opiera się głównie na hydrolizie tych kompleksów (Rys.1). Gdy Cis-Pt zostanie wprowadzona do komórki zachodzi szybka wymiana ligandów chlorkowych przez cząsteczki wody, w wyniku czego tworzą się dodatnio naładowane molekuly. W pierwszym etapie hydrolizy powstaje bardzo reaktywna forma monoakwacis-Pt, natomiast w drugim etapie powstaje diaquakomplex-Pt. Powolna hydroliza Karbo-Pt zachodzi poprzez podwójne uwodnienie do tych samych produktów, jak w przypadku Cis-Pt. Hydroliza zachodzi dwuetapowo, z procesem otwierania pierścienia i akwatacji w pierwszej części, po którym następuje utrata ligandu malonowego i ponowna akwatacja. Hydroliza oksaliplatyny przebiega z otwarciem pierścienia, wiązaniem cząsteczek wody i utratą monodentnego liganda oksalatowego [1, 2]. Podstawowymi trudnościami w terapii nowotworów kompleksami Pt są: brak specyficzności terapeutycznej, nieefektywna akumulacja leków w miejscach występowania nowotworów, ich toksyczność oraz rozwój lekooporności. Poza tym w ciągu pierwszych 24 godz. po podaniu Karbo-Pt jest wydalana w 50-75%, a Cis-Pt jest wydalana w 31-85% w ciągu 51 dni po leczeniu. Przewiduje się, że łącznie 70% podanego leku zostaje wydalone z moczem pacjentów [2, 3]. Badnia przeprowadzone w lubelskich szpitalach w 2015 r. wykazały, że stężenie Pt w ściekach, obecnej głównie jako mono- i diaquakompleksy-Pt, pochodzące z hydrolizy Cis-Pt, może sięgać nawet 200 µg/L. Natomiast Karbo-Pt w większości w ściekach szpitalnych występuje w formie niehydrolizowanej, a Oksali-Pt tworzy aż 17 różnych metabolitów.

Konwencjonalne oczyszczalnie ścieków okazały się nieskuteczne w usuwaniu tych metabolitów. Ich obecność w ekosystemie może skutkować wchłanianiem przez organizmy i potencjalną bioakumulacją przy niskich dawkach, szczególnie w długich okresach ekspozycji na kompleksy Pt. Zarówno cytostatyki jak i ich metabolity charakteryzują się wysoką toksycznością wobec komórek organizmów żywych nawet na poziomie śladowym, dlatego niezbędne jest usuwanie tych form bezpośrednio u źródła ich emisji, tj. w szpitalnych oddziałach onkologicznych. Co więcej, ścieki zawierające Pt można uznać za wtórne źródło jej odzysku [3, 4]. Porównując dostępne metody oczyszczania ścieków, a także recyklingu metali przyjmuje się, że wykorzystanie zjawiska adsorpcji oferuje wiele korzyści, nawet przy niskich stężeniach adsorbatów. Metoda ta może być stosowana zarówno w trybie przetwarzania wsadowego, jak i ciągłego, a także umożliwiać regenerację adsorbentu, wykorzystując np. innowacyjne materiały porowate. Wśród nich znajdują się biowęgle, charakteryzujące się dużą powierzchnią właściwą, wysoką porowatością, podatnością na modyfikacje i różnorodnością grup powierzchniowych [5].



Rys. 1. Mechanizm hydrolizy cisplatyny (a), karboplatyny (b) oraz oksaliplatyny (c).

Część eksperymentalna: W pierwszej kolejności surowiec (zboiny pszczele) do produkcji biowęgla wysuszono w temperaturze 120°C przez 24 godz. Tak przygotowany materiał ekstrahowano heksanem w celu usunięcia pozostałości wosku. Następnie materiały poekstrakcyjne aktywowano fizycznie w temperaturze 820°C w obecności różnych gazów. W rezultacie uzyskano dwa rodzaje biowęgla: aktywowany w atmosferze CO₂, który oznaczono symbolem ZP_CO₂, a także pirolizowany w obecności N₂ o symbolu ZP_N₂. Na otrzymanych biowęglach przeprowadzono optymalizację warunków procesu adsorpcji cytostatyków zawierających Pt, w tym zbadano wpływ pH początkowego na stopień usuwania Cis-Pt, Karbo-Pt i Oksali-Pt, a także określono czas potrzebny na osiągnięcie stanu równowagi w układzie adsorbent-roztwór adsorbentu. Dodatkowo wyznaczono izotermę adsorpcji dla badanych cytostatyków. Proces adsorpcji prowadzono w układzie statycznym, o zadanym pH i stężeniu początkowym adsorbentu. Oznaczenia stężenia Pt prowadzono techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją w piecu grafitowym (GF AAS). Wielkość adsorpcji obliczono na podstawie różnicy stężeń Cis-Pt, Karbo-Pt i Oksali-Pt w roztworze przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu procesu adsorpcji.

Wyniki: Uzyskane biowęgle ze zboin pszczelich poddano charakterystyce fizykochemicznej (Tab. 1). Analiza parametrów porowatości wykazała, że w porównaniu z aktywacją w atmosferze N₂ to modyfikacja CO₂ prowadzi do istotnego rozwinięcia powierzchni

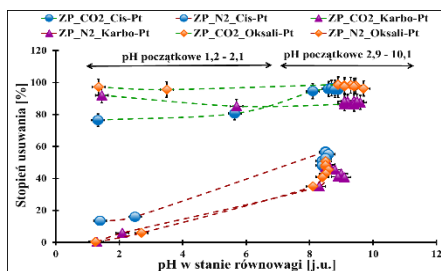
właściwej i wzrostu całkowitej objętości porów. Dodatkowo badania składu pierwiastkowego wykazały, że zawartość węgla i tlenu w obu biowęglach jest zbliżona. Jednocześnie materiały te cechują się stosunkowo wysoką zawartością heteroatomów, takich jak azot i fosfor. Co więcej, oba biowęgla zawierają związki potasu, co może wyjaśniać wyjątkowo wysokie wartości pH zawiesin wodnych tych materiałów.

Tabela 1. Charakterystyka fizykochemiczna uzyskanych biowęgli.

Symbol biowęgla	Parametry porowatości			pH _s	Skład pierwiastkowy (EDS)				
	S _{BET} [m ² /g]	V _T [cm ³ /g]	d _{BH} [nm]		C [wt. %]	N [wt. %]	O [wt. %]	P [wt. %]	K [wt. %]
ZP_CO ₂	622±15	0,63±0,09	4,1±0,8	9,8±0,1	68,8±3,5	3,8±0,1	13,8±0,5	3,8±0,5	5,4±0,3
ZP_N ₂	6,7±0,5	0,02±0,01	10,4±0,3	12,5±0,2	75,2±2,7	6,4±0,3	11,1±0,6	1,6±0,1	2,1±0,1

S_{BET}-powierzchnia właściwa, V_T-całkowita objętość porów, d_{BH}-średnica porów, pH_s – pH 10 mL H₂O będącej w stanie równowagi z 1g badanego biowęgla

Na Rysunku 2 zaprezentowano wpływ pH równowagowego na skuteczność usuwania Cis-Pt, Karbo-Pt i Oksali-Pt. Można zauważyć, że dla obu badanych biowęgli przebieg zależności jest podobny. Warto jednak podkreślić, że biowęgiel aktywowany w atmosferze CO₂ pozwala osiągnąć bardzo wysoki poziom usuwania wszystkich trzech cytostatyków w całym badanym zakresie pH, co czyni go szczególnie obiecującym w kontekście praktycznych zastosowań. Z kolei biowęgiel ZP_N₂ wykazuje skuteczność usuwania cytostatyków mniejszą o około 50% przy pH wyższym niż 2,9, a w warunkach silnie kwaśnych jego efektywność jest bardzo niska. W odniesieniu do mechanizmów hydrolizy i badań środowiskowych można przypuszczać, że w zakresie pH od 1,2 do 2,1 cytostatyki pozostają w formie niehydrolizowanej. Natomiast powyżej pH początkowego 2,9, odpowiadającemu warunkom panującym w rzeczywistych próbkach, dominują ich metabolity. W przypadku biowęgla aktywowanego CO₂ specjacja cytostatyków ma niewielki wpływ na ich usuwanie, co odróżnia go od biowęgla ZP_N₂. Różnica ta wynika najprawdopodobniej z odmiennych mechanizmów adsorpcji. Dalsze badania adsorpcyjne prowadzono w warunkach pH zbliżonych do środowiskowych, wynoszących około 6. Przechodząc do badań kinetyki adsorpcji (Tab. 2), stan równowagi adsorpcyjnej zostaje osiągnięty znacznie szybciej w przypadku biowęgla ZP_CO₂ w odniesieniu do wszystkich badanych cytostatyków, w porównaniu do biowęgla ZP_N₂. W przypadku Karbo-Pt oraz Oksali-Pt równowaga ta jest osiągana już po 5 min., co najprawdopodobniej wynika z szybkiego oddziaływania pierścieni hydrofobowych kompleksów platyny z grupami funkcyjnymi na powierzchni adsorbenta. Z kolei w przypadku Cis-Pt proces adsorpcji jest przynajmniej dwuetapowy. Cis-Pt nie posiada podstawników organicznych, w związku z tym jest najbardziej hydrofilowym związkiem spośród badanych cytostatyków. Jej mechanizm adsorpcji może różnić się od pozostałych, obejmując hydrolizę ligandów chlorkowych oraz utworzenie aquakompleksów-Pt w roztworze. Dodatkowo, Cis-Pt jest kompleksem Pt(II), formy wrażliwej na warunki utleniające, co może prowadzić do utlenienia Pt(II) do Pt(IV). Adsorpcja tych metabolitów może wymagać dodatkowego czasu na stabilizację elektrostatyczną i steryczną.



Rys. 2. Wpływ pH na stopień usuwania cytostatyków zawierających platynę na otrzymanych biowęgłach, $m_{\text{biowęgla}} = 20 \text{ mg}$, $V_{\text{roztworu adsorbentu}} = 5 \text{ mL}$, $C_{\text{cytostatyku}} = 10 \text{ mg/L}$

Oszacowane pojemności adsorpcyjne dla badanych cytostatyków również wykazują wyższe wartości dla biowęgla aktywowanego CO_2 , co najprawdopodobniej jest rezultatem bardziej rozwiniętej powierzchni właściwej oraz znacznych objętości porów. Pojemności adsorpcyjne dla Karbo-Pt i Oksali-Pt są zbliżone, a ich zdolność adsorpcyjna może być silnie związana z podobną strukturą chemiczną i wcześniej wspomnianymi oddziaływaniami hydrofobowymi.

Tabela 2. Porównanie czasów osiągnięcia stanów równowagi adsorpcyjnej i pojemności adsorpcyjnych na biowęgłach względem badanych cytostatyków zawierających platynę.

Symbol biowęgla	Nazwa cytostatyku	Czas osiągnięcia równowagi adsorpcyjnej	Pojemność adsorpcyjna [mg/g]
ZP_ CO_2	Cis-Pt	3 dni	150
	Karbo-Pt	5 min.	220
	Oksali-Pt	5 min.	250
ZP_ N_2	Cis-Pt	6 dni	5,5
	Karbo-Pt	3 godz.	8,3
	Oksali-Pt	3 godz.	10

Wnioski: Podsumowując, aktywacja fizyczna CO_2 prowadzi do uzyskania biowęgla o znacznie bardziej rozbudowanej strukturze porowatej, co przekłada się na jego wyraźnie lepsze właściwości adsorpcyjne, w porównaniu z biowęgłem ZP_ N_2 . Spośród dwóch badanych adsorbentów biowęgiel ZP_ CO_2 wyróżnia się wysoką zdolnością do usuwania cisplatyny, karboplatyny, oksaliplatyny oraz ich metabolitów, bez konieczności regulacji pH początkowego układu. Z tego powodu biowęgiel ZP_ CO_2 jest obiecującym adsorbentem do usuwania metabolitów cytostatyków zawierających platynę z wód odprowadzanych ze szpitali i aglomeracji miejskich.

Literatura:

1. S. Nath, Int. J. Exp. Res. Rev, 37 (2024) 159.
2. D. Obreshkova, Pharmacia, 69 (2022) 645.
3. O.J. Ajala, RINENG, 16 (2022) 100671.
4. J. Czerwiński, Monografie–Politechnika Lubelska, 2015, 53.
5. S. Iftekhar, Environ. Chem. Lett., 20 (2022) 3697.

MODYFIKACJA POWIERZCHNI POLIMERÓW Z UŻYCIEM NADWĘGLANU SODU – PERSPEKTYWY I MOŻLIWOŚCI

I. RYZA¹, J. KARPIŃSKA², U. KLEKOTKA³ ¹Szkoła Doktorska Uniwersytetu w Białymstoku, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, ²Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, ³Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

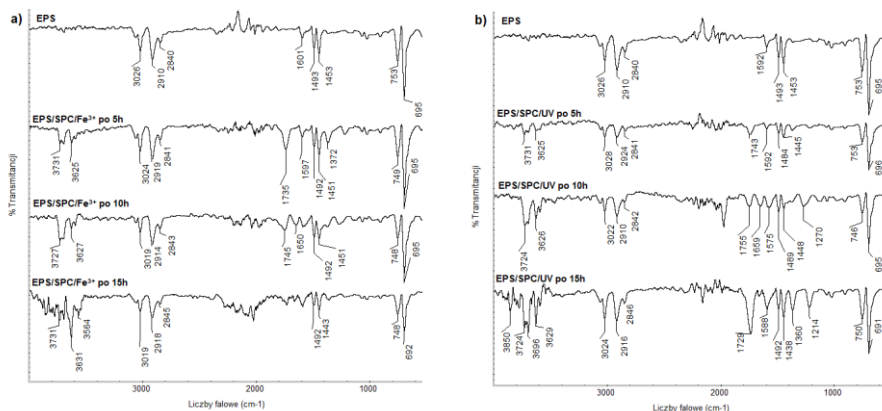
Abstrakt: W pracy opisano źródła polimerów w środowisku wodnym, ich oddziaływanie na organizmy żywe i środowisko naturalne oraz znane metody ich usuwania. W badaniu skupiono się na modyfikacji powierzchni mikrocząstek polistyrenu ekspandowanego przy pomocy nadwęglanu sodu aktywowanego jonami Fe^{3+} lub promieniowaniem UV. Stwierdzono, że w obu układach powierzchnia mikroplastiku staje się bardziej hydrofilowa, a widma FT-IR potwierdzają pojawienie się na niej nowych grup funkcyjnych.

Wprowadzenie: W ostatnich latach poświęca się coraz większą uwagę badaniu wpływu tworzyw sztucznych na organizmy żywe i środowisko. W Unii Europejskiej, w 2021 roku z wygenerowanych 16,13 milionów ton plastikowych odpadów, recyklingowi poddano niecałe 41% [1]. Pozostała ich część jest składowana na wysypiskach śmieci bądź też poddawana spalaniu, jednak żadna z tych metod nie jest neutralna dla środowiska [2]. Tworzywa sztuczne występujące w środowisku można podzielić ze względu na wielkość cząstek: megaplastik (powyżej 1 m), makroplastik (2,5 cm – 1 m), mezoplastik (5 mm – 2,5 cm), mikroplastik (1 μm – 5 mm), nanoplastik (< 1 μm). Ostatnie dwie frakcje znajdują się w każdym możliwym medium – w glebie, w wodach powierzchniowych i podziemnych, w powietrzu, a nawet w chmurach i organizmach żywych [3,4]. W zależności od pochodzenia wyróżnia się mikroplastik pierwotny i wtórny. Jako główne źródła mikroplastiku pierwotnego wymieniane są produkty kosmetyczne, np. peelingi do twarzy czy pasty do zębów oraz środki czyszczące. Mikroplastik wtórny natomiast powstaje w wyniku degradacji tworzyw sztucznych pod wpływem czynników mechanicznych (działanie wiatru, wody, piasku) lub czynników atmosferycznych (temperatura, promieniowanie UV) [5]. Powszechna obecność mikro- i nanoplastików (MPs, NPs) stanowi zagrożenie dla środowiska, poszczególnych ekosystemów, a także zdrowia ludzi. W niedawnych badaniach wykazano interakcję MPs i NPs z mikrobiotą jelitową myszy oraz ich cytotoksyczność i zaburzenie procesów metabolicznych. Narażenie ludzi na te cząstki zachodzi głównie poprzez inhalację lub spożycie, ponieważ mikro- i nanoplastiki są obecne w żywności bądź też pochodzą z opakowań, w których ta żywność jest przechowywana. Istnieje ogromna potrzeba edukacji społeczeństwa nt. ograniczenia użycia materiałów z tworzyw sztucznych oraz ich prawidłowego wykorzystania i utylizacji. Wpływ ostrej i przewlekłej ekspozycji MPs i NPs na funkcjonowanie organizmów ssaków jest wciąż obiektem prowadzonych badań [4], jednak jest już wiadome, że u ludzi wpływa na układ odpornościowy, nerwowy i hormonalny [6]. Na przestrzeni ostatnich pięciu lat liczba publikacji dotyczących mikroplastików wzrosła prawie czterokrotnie, z 1895 w 2020 roku do 7180 w 2024 roku [4, 7], co potwierdza intensywność z jaką prowadzone są badania w tym

temacie. Konieczne jest wprowadzanie rozwiązań między-dyscyplinarnych, które kompleksowo charakteryzują najlepsze warunki degradacji tworzyw sztucznych oraz ich efektywne usuwanie ze środowiska. Biorąc pod uwagę zanieczyszczenie wody MPs należy podkreślić, że współczesne metody oczyszczania wód i ścieków zatrzymują nawet do 98% zanieczyszczeń stałych [8]. Wadą fizycznych metod oczyszczania jest pozostający po tym procesie osad. Często jest on wykorzystywany jako nawóz, przez co zatrzymane MPs są ponownie uwalniane do środowiska, skąd trafiają do naszego pożywienia i wody. Najpowszechniejsze tworzywa sztuczne zanieczyszczające środowisko takie jak politereftalan etylenu (PET), polietylen (PE), polipropylen (PP), polichlorek winylu (PVC) oraz polistyren (PS) są odporne na degradację. Jedną z proponowanych metod usuwania ich ze środowiska jest biodegradacja. Proces biodegradacji tworzyw sztucznych jest badany od lat 70. XX wieku. Biodegradacja jest procesem rozkładu substancji chemicznych lub materiałów organicznych przez mikroorganizmy, takie jak bakterie, grzyby i inne organizmy. Przemiany te mogą zachodzić zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych. Warunkiem koniecznym do efektywnej biodegradacji jest wstępna modyfikacja powierzchni tworzyw sztucznych, wprowadzająca polarne grupy funkcyjne, powodując zwiększenie hydrofilowości tych materiałów. Jest to niezwykle istotny etap, dzięki któremu mikroorganizmy mają lepszą przyczepność do MPs, w efekcie poprawiając wydajność biodegradacji [9]. Do tego celu można zastosować zaawansowane procesy utleniania (*advanced oxidation processes*, AOP), wykorzystujące silnie utleniające związki chemiczne, takie jak np. nadtlenek wodoru lub ozon. Podczas reakcji produkowane są reaktywne cząstki utleniające (*reactive oxidizing species*, ROS) zdolne do intensywnej degradacji zanieczyszczeń i modyfikacji powierzchni MPs oraz NPs, a nawet ich 96% mineralizacji [10]. Jednym z utleniaczy o rosnącym zainteresowaniu jest nadwęglan sodu (*sodium percarbonate*, SPC) o wzorze $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 1,5 \text{H}_2\text{O}_2$. Jest on bezpieczniejszy od ciekłego nadtlenku wodoru w transporcie i użytkowaniu, a także dużo tańszy. Po odpowiedniej aktywacji SPC tworzy rodniki: hydroksylowy ($\bullet\text{OH}$), węglanowy ($\bullet\text{CO}_3^-$) oraz nadtlenkowy ($\bullet\text{O}_2^-$), które odpowiadają za zmiany na powierzchni tworzyw sztucznych [11]. W niniejszej pracy zostanie omówiony proces modyfikacji powierzchni polistyrenu ekspandowanego (EPS) przy pomocy utleniania nadwęglanem sodu aktywowanym promieniowaniem UV lub jonami żelaza Fe^{3+} . Celem badań było opracowanie metody pozwalającej na zmniejszenie hydrofobowości powierzchni EPS wykorzystując do tego przyjazny dla środowiska utleniacz.

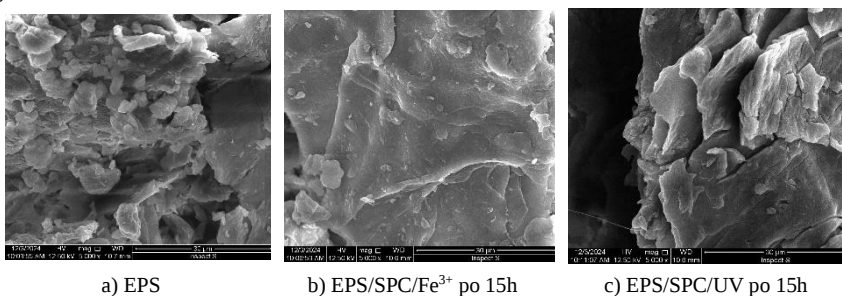
Część eksperymentalna: Utlenianiu poddano zawiesiny wodne zawierające mikrocząstki EPS (z zakresu 100 – 250 μm) o stężeniu 3 g/L. Proces utleniania inicjowano przez dodatek odpowiedniej objętości roztworu SPC ($[\text{SPC}]_0 = 0,025 \text{ mol/L}$), doprowadzeniu mieszaniny do pH 3 i wystawieniu otrzymanej mieszaniny na działanie światła ultrafioletowego o długości fali 254 nm lub dodatku odpowiedniej objętości azotan(V) żelaza(III) ($[\text{Fe}^{3+}]_0 = 0,0025 \text{ mol/L}$). Proces utleniania prowadzono przez 15 godzin, co godzinę dodając odpowiednie objętości samego SPC w przypadku układu z UV lub SPC i jonów Fe^{3+} . Co 5 godzin mieszaniny poredakcyjne poddawano sączeniu, a oddzielone osady zostawiano do wyschnięcia na 24 godziny, po czym badano je przy pomocy spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera z przystawką ATR (ATR FT-IR) oraz skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

Wyniki: Po 5 godzinach trwania reakcji zaobserwowano zmiany w zwilżalności EPS – w obu układach zawiesina MPs w wodzie tworzyła się łatwiej. W przypadku układu SPC/UV po 15 godzinach powierzchnia EPS dodatkowo zmieniła barwę z białej na żółtą. Na Rys. 1. przedstawione są wyniki analizy FT-IR. Porównując widma FT-IR możemy zaobserwować, że już po 5 godzinach prowadzenia procesu utleniania na powierzchni EPS zaczynają pojawiać się pasma od polarnych grup funkcyjnych: powyżej 3600 cm^{-1} (drgania rozciągające niezasocjowanej grupy O–H), $1755\text{--}1735\text{ cm}^{-1}$ (drgania rozciągające grupy karbonylowej C=O) oraz wiele pasm w zakresie $1450\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ (co może odpowiadać drganiom deformacyjnym grupy O–H lub drganiom rozciągającym C–O–C). Mikrocząstki zaczęły zmieniać charakter powierzchni z hydrofobowej na hydrofilową.



Rys. 1. Widma FT-IR mikrocząstek EPS kolejno: przed utlenianiem, po 5, 10 i 15 godzinach utleniania nadwęglanem sodu, aktywowanym a) jonami Fe^{3+} , b) UV.

Badania morfologii EPS uzupełniono o pomiary SEM. Otrzymane obrazy przedstawiono na Rys. 2.



Rys. 2. Obrazy SEM otrzymane dla mikrocząstek EPS a) przed modyfikacją, b) po 15 godzinach utleniania SPC aktywowanym Fe^{3+} oraz c) promieniowaniem UV.

Pokazują, one że powierzchnia EPS po utlenianiu SPC aktywowanym jonami Fe^{3+} staje się bardziej gładka niż powierzchnia pierwotnych cząstek mikroplastiku. Mikrocząstki EPS po wystawieniu na działanie SPC i promieniowania UV są jednocześnie bardziej gładkie niż te pierwotne, lecz również pojawiają się w nich pęknięcia, a ich brzegi są poszarpane. Może to świadczyć o tym, że układ aktywowany promieniowaniem UV stwarza

bardziej drastyczne warunki reakcji, przez co obserwowane są większe zmiany na obrazach SEM.

Wnioski: W opisanej pracy po raz pierwszy opisana została metoda modyfikacji powierzchni polistyrenu ekspandowanego przy pomocy nadwęglanu sodu aktywowanego jonami Fe^{3+} . Zarówno aktywacja fizyczna – promieniowaniem UV, jak i chemiczna – jonami Fe^{3+} dają zadowalające efekty. Oba układy SPC/UV oraz SPC/ Fe^{3+} skutecznie powodują utlenienie zewnętrznej warstwy mikrocząstek i wprowadzają do niej polarne grupy funkcyjne.

Podziękowanie:Praca powstała w ramach realizacji projektu badawczego NCN Opus-26 (umowa nr UMO-2023/51/B/ST10/00157).

Literatura:

1. <https://www.europarl.europa.eu/topics/en/article/20181212STO21610/plastic-waste-and-recycling-in-the-eu-facts-and-figures>, data dostępu: 10.02.2025.
2. A.F.J. Tan, npj Mater. Sustain., 2 (2024) 1.
3. A. Rosińska, B. Karwowska, M. Madela, Inżynieria Środowiska i biotechnologia – wyzwania i nowe technologie, Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa, 2022.
4. C.Q.Y. Yong, Int. J. Environ. Res. Public Health, 17 (2020) 1509.
5. K. Samsonowska, A. Kaszuba, Polimery, 67 (2022) 28.
6. S. Jayavel, Bull Natl Res Cent, 48:110 (2024).
7. Scopus – Analize search results: „microplastics”, data dostępu: 11.02.2025.
8. S. Acarer, Waterci Technol, 88(1) (2023) 1999.
9. S. Miri, Chemosphere, 286 (2022) 131670.
10. X. Wang, Chemosphere, 346 (2024) 140636.
11. Q. Wang, J. Hazard. Mater., 464 (2024) 132934.

SYNTEZA METODĄ OSADZANIA ZE STRĄCANIEM MOCZNIKIEM KATALIZATORÓW CYNKOWO-GLINOWYCH DOTOWANYCH MIEDZIĄ

M. SMYK¹, M. GŁOGOWSKA¹, K. MICHALSKA², K. ANTONIAK-JURAK²,
A. KIERYŚ¹, ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Pl. Marii Skłodow-
skiej-Curie 5, 20-031 Lublin, ²Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Nowych Syntez
Chemicznych, Al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13A, 24-110 Puławy

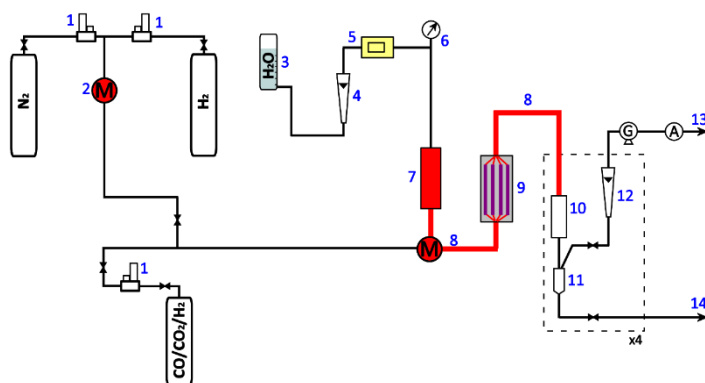
Abstrakt: W niniejszej pracy zaprezentowano katalizatory dotowane miedzią wytwo-
rzone metodą homogenicznego osadzania ze strącaniem mocznikiem, na nanokompozy-
towym nośniku ZnO-ZnAl₂O₄. Celem prowadzonych badań było ustalenie wpływu etapu
dodawania mocznika w trakcie syntezy katalizatorów na ich właściwości fizykoche-
miczne i aktywność katalityczną w reakcji konwersji tlenku węgla z parą wodną.

Wprowadzenie: Katalizatory miedziowe znajdują szerokie zastosowanie w różnych pro-
cesach wytwarzania i przetwarzania wodoru na skalę przemysłową, w tym m.in. w reakcji
konwersji tlenku węgla z parą wodną (ang. *Water Gas Shift*, WGS, $\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CO}_2 + \text{H}_2$). Ostatnie doniesienia literaturowe wskazują, że podejmowane są wysiłki badawcze
nakierowane na opracowanie katalizatorów WGS o nowym składzie, bądź optymalizację
sposobu syntezy znanych formuł. Jednym z przykładów katalizatorów nowej generacji do
procesów WGS są katalizatory, w których jako nośnik wykorzystano nanokompozyt ZnO-
ZnAl₂O₄ [1]. Najczęściej katalizatory miedziowe do procesów WGS wytwarzane są me-
todami strącania i współstrącania [2]. Alternatywną metodą syntezy miedziowych katali-
zatorów WGS może być metoda homogenicznego osadzania ze strącaniem mocznikiem
(ang. *deposition-precipitation*) [3], przy czym dotychczas nie została ona zastosowana do
wytwarzania katalizatorów WGS na nanokompozytowym nośniku ZnO-ZnAl₂O₄. Celem
niniejszej pracy była synteza katalizatorów cynkowo-glinowych dotowanych miedzią me-
todą osadzania ze strącaniem mocznikiem oraz ocena wpływu warunków syntezy na wła-
ściwości fizykochemiczne i aktywność katalityczną w reakcji konwersji tlenku węgla
z parą wodną nowo wytworzonych katalizatorów.

Część eksperymentalna: Syntezę katalizatorów przeprowadzono na nanokompozyto-
wym nośniku ZnO-ZnAl₂O₄ o masie 3 g, który otrzymano w wyniku kalcynacji węglano-
wego prekursora [4], w temperaturze 500 °C przez 4 godziny z narostem 5 °C/min. Pre-
kursorem fazy aktywnej była sól Cu(NO₃)₂·3H₂O (Chempur), której ilość dobrano tak aby
uzyskać nominalne stężenie Cu w gotowym katalizatorze równe 30%. Stosunek masowy
mocznika (Chempur) do soli miedzi wynosił 9,5. Syntezę obu katalizatorów prowadzono
w zamkniętym reaktorze do wysokich temperatur i średnich ciśnień firmy SYL&ANT.
Skład mieszaniny reakcyjnej do syntezy katalizatorów była taki sam, z tą różnicą, że ka-
talizator o nazwie CuZnAl-S wytworzono, poprzez wygrzewanie wodnego roztworu soli
miedzi, mocznika i nośnika od temperatury pokojowej do 90 °C (z narostem 1 °C/min)
z ciągłym mieszaniem. Natomiast, katalizator CuZnAl-G wytworzono w ten sposób, że
roztwór mocznika dodano do mieszaniny reakcyjnej zawierającej roztwór soli Cu i nośnik,

po uzyskaniu przez nią temperatury 90 °C. Po 18 godzinach od osiągnięcia 90 °C, uzyskane zawiesiny odsączono, a otrzymane osady przemywano wodą dejonizowaną. Po wysuszeniu osadów w 120 °C przez 8h, kalcynowano je w temperaturze 350 °C przez 4 h (z narostem 5 °C/min).

Skład pierwiastkowy katalizatorów określono metodą XRF przy użyciu spektrometru Axios mAX (PANalytical), zaś skład fazowy metodą XRD (dyfraktometrem firmy PANalytical Empyrean). Wielkość powierzchni właściwej (S_{BET}) wyznaczono metodą niskotemperaturowej adsorpcji N_2 przy użyciu analizatora sorpcji ASAP 2050 Micromeritics stosując równanie BET [5]. Przed pomiarem zarówno nośnik jak i katalizatory odgazowywano do ciśnienia 10 mmHg w temperaturze 200 °C. Pomiary aktywności katalitycznej wytworzonych katalizatorów przeprowadzono w instalacji, której schemat zamieszczono poniżej.

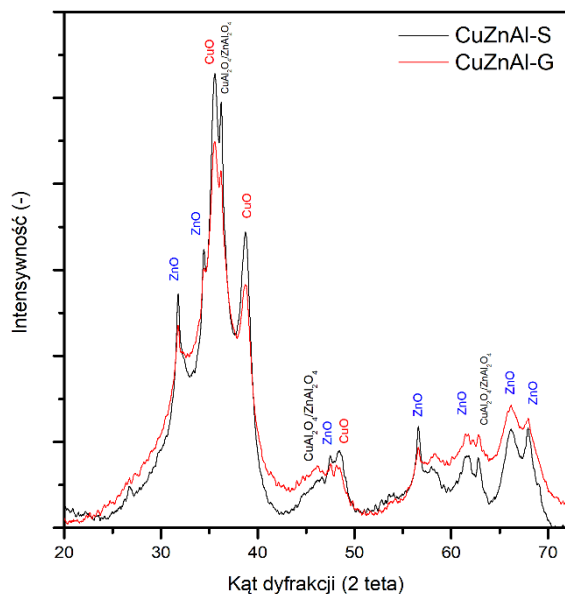


Rys. 1. Schemat instalacji do badania aktywności materiałów katalitycznych w reakcji parowej konwersji CO [6]; gdzie 1 - regulatory strumieni gazu, 2 - mieszalnik gazu, 3 - saturator z wodą destylowaną, 4 - przepływomierz, 5 - pompa dozująca wodę, 6 - manometr, 7 - wytwornica pary, 8 - mieszalnik gazu, 9 – kanałowy reaktor badawczy typu Tiomkina, 10 – chłodnico-separator, 11 - separator kondensatu, 12 - przepływomierz, G - gazomierz, A - chromatograf, 13 - wyciąg, 14 - kondensat.

Redukcję katalizatorów prowadzono w reaktorze w mieszaninie o składzie 5% obj. H_2/N_2 przez 2 godziny w temperaturze 260 °C, po czym strumień gazu redukcyjnego zastąpiono strumieniem gazu procesowego. Każdorazowo do testów katalitycznych (rys. 1) stosowano naważkę katalizatora o masie od 0.25 do 0.3 g o frakcji od 0,16 do 0,1 mm. Badania prowadzono pod ciśnieniem 2.5 MPa, w temperaturze od 200 °C do 260 °C w przepływie gazu ($[\text{Ndm}^3/\text{h}]$: 40 na kanał) i podając 130 g $\text{H}_2\text{O}/\text{h}$. Skład gazu reakcyjnego był następujący: 3% obj. CO, 20% obj. CO_2 , N_2 , reszta H_2 . Skład suchych gazów wylotowych oznaczano przy użyciu chromatografu gazowego GC SRI 310 wyposażonego w metanizer i detektor FID. Szybkość reakcji WGS ($r - \text{Ndm}^3\text{CO} \cdot (\text{g}_{\text{kat}})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) obliczono na podstawie bilansu masowego reaktora z równania: $r = (0,01 \cdot V \cdot \Delta C_{\text{CO}}) \cdot (m_{\text{kat}})^{-1}$, gdzie V to przepływ gazu suchego ($\text{Ndm}^3\text{CO} \cdot \text{h}^{-1}$), zaś ΔC_{CO} to różnica zawartości CO (w stanie suchym i $\Delta C_{\text{CO}} = C_{\text{COwlot}} - C_{\text{COwylot}} - \% \text{ obj.}$), m_{kat} to masa katalizatora (g).

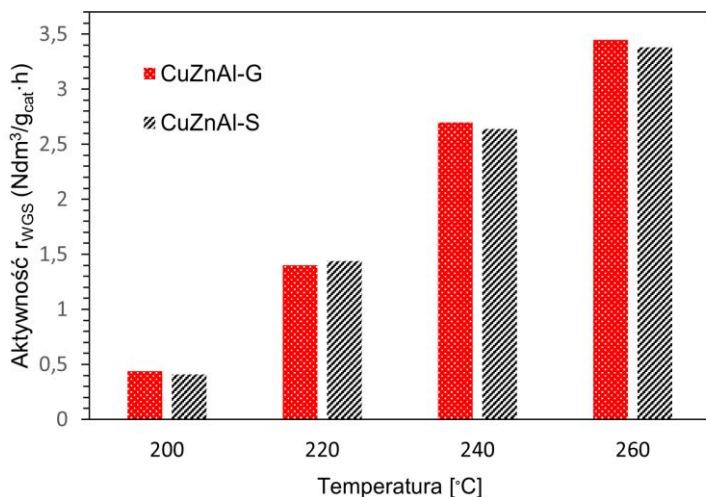
Wyniki: W wyniku kalcynacji węglanowego prekursora otrzymano nanokompozytowy nośnik w postaci lekko żółtego proszku o powierzchni właściwej równej 146 m^2/g . Wpro-

wadzenie tlenku miedzi na nośnik w reakcji osadzania ze strącaniem prowadzi do uzyskania katalizatorów CuZnAl-S i CuZnAl-G o charakterystycznym ciemnozielonym zabarwieniu, których wielkość powierzchni właściwej wynosi odpowiednio 113 m²/g i 117 m²/g. Bez względu na sposób prowadzenia syntezy, oba katalizatory zawierają niemal identyczną zawartość miedzi, równą ($19,7 \pm 0,6$ % wag.) w CuZnAl-G i ($19,8 \pm 0,6$ % wag.) w CuZnAl-S. Wydaje się więc, że moment dodania mocznika do mieszaniny reakcyjnej nie wywiera znaczącego wpływu na wydajność nanoszenia miedzi na nano-kompozytowy nośnik ZnO-ZnAl₂O₄.



Rys. 2. Dyfraktogram świeżych katalizatorów CuZnAl-G i CuZnAl-S.

Na rysunku 2 podstawiono profile XRD świeżych katalizatorów CuZnAl-G i CuZnAl-S. Analiza ich składu fazowego ujawniła nanokompozytową naturę obu katalizatorów. Niezależnie od trybu prowadzonej syntezy nie wykazano wyraźnych różnic w składzie fazowym spreparowanych katalizatorów. W składzie fazowym katalizatorów CuZnAl-G oraz CuZnAl-S obecna jest faza ZnO (LPF 04-015-5830), której refleksy charakterystyczne są dla kątów 2θ : 31,2°, 34,8°; 47,5°; 61,5°, 66,3°, 68,1°, które odpowiadają płaszczyznom dyfrakcyjnym (220), (002), (102), (103), (440), (112) w heksagonalnej fazie tlenku cynku(II). Dodatkowo zidentyfikowano fazę ZnAl₂O₄ (ICDD 01-084-3900) która może częściowo pokrywać się z CuAl₂O₄ przy kącie 2θ : 36,75°, 57,0°, 63°, które odpowiadają płaszczyznom dyfrakcyjnym (311), (422) dla komórek regularnych ściennie centrowanych charakterystycznych dla spinelu ZnAl₂O₄. W składzie fazowym obu próbek obecna jest także faza CuO, której pasma charakterystyczne zidentyfikowano przy kątach 2θ : 35,5°, 38,8°, 46,2°.



Rys. 3. Wykres zależności aktywności katalizatorów CuZnAl-G i CuZnAl-S od temperatury.

Na rysunku 3 przedstawiono aktywność katalizatorów CuZnAl-G i CuZnAl-S w reakcji parowej konwersji CO w badanym zakresie temperatur. Zgodnie z oczekiwaniami, aktywność katalityczna obu katalizatorów rośnie wraz ze wzrostem temperatury. Szybkość reakcji WGS jest nieznacznie wyższa dla katalizatora CuZnAl-G we wszystkich temperaturach, z wyjątkiem reakcji prowadzonej w temperaturze 200 °C w której to katalizator CuZnAl-S wykazał minimalnie większą aktywność.

Wnioski: Zaproponowana metoda homogenicznego osadzania ze strącaniem mocznikiem pozwala wytworzyć katalizatory dotowane miedzią do procesów WGS o wysokim stopniu rozwinięcia powierzchni właściwej i charakterze nano-kompozytowym. Etap syntezy na którym dodawany jest mocznik nie ma znaczącego wpływu na skład fazowy, wielkość powierzchni właściwej ani aktywność w reakcji WGS wytworzonych modelowych katalizatorów.

Literatura:

1. K. Antoniuk-Jurak, P. Kowalik, A. Mrozek, K. Michalska, R. Bicki, W. Próchniak, *Int. J. Hydrogen Energy*, 88 (2024) 913.
2. M. Twigg, *Catalyst Handbook*, Wolfe Publishing Ltd, England, 1989
3. F. Stöwenert, IG Farben, (1943), German Patent 740 634
4. K. Antoniuk-Jurak, A. Mrozek, P. Kowalik, K. Michalska, R. Bicki, zgłoszenie patentowe P. 446 061: Nano-kompozytowy katalizator do konwersji tlenków węgla oraz sposób otrzymywania.
5. S. Brunauer, P.H. Emmett, E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.*, 60 (1938) 309.
6. M. Głogowska, Synteza katalizatorów miedziowych metodą osadzania ze strącaniem mocznikiem do parowej konwersji CO i ich charakterystyka, praca magisterska obroniona w 2024.

WPLYW TEMPERATURY I WARIANTU OGRZEWANIA NA PARAMETRY FIZYKOCHEMICZNE BIEWĘGLI AKTYWNYCH OTRZYMANYCH Z PESTEK GŁOGU

K. TOKARSKA¹, M. WIŚNIEWSKA¹, P. NOWICKI², ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, ²UAM, Wydział Chemii, Zakład Chemii Stosowanej, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: W ramach przeprowadzonych badań wykorzystano pestki głogu do syntezy biewęgli aktywnych. Proces ich wytwarzania obejmował bezpośrednią aktywację fizyczną przy pomocy CO₂, przy czym prekursor ogrzewano w sposób konwencjonalny lub przy zastosowaniu pieca mikrofalowego. Otrzymane materiały scharakteryzowano poprzez wyznaczenie potencjału dzeta na podstawie pomiaru ruchliwości elektroforetycznej wodnych suspensji biewęgli w szerokim zakresie pH. Zbadano również ich zdolność sorpcyjną względem niejonowego surfaktantu (Triton X-100), poprzez wykonanie pomiarów wielkości adsorpcji z roztworów wodnych o różnym pH. Wyniki badań wskazują na wyraźny wpływ temperatury i wariantu ogrzewania na właściwości powierzchniowe oraz pojemność sorpcyjną otrzymanych materiałów węglowych.

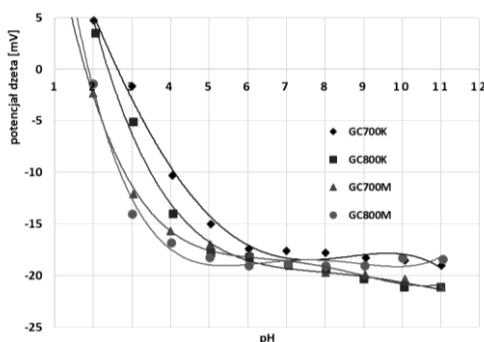
Wprowadzenie: Węgłe aktywne są jednymi z najpopularniejszych adsorbentów stosowanych w procesach oczyszczania wody i ścieków. Są to materiały charakteryzujące się wysoką porowatością oraz dobrze rozwiniętą powierzchnią właściwą, na której znajdują się liczne grupy kwasowe i zasadowe, co przekłada się na ich bardzo dobre właściwości adsorpcyjne oraz szerokie wykorzystanie praktyczne w przemyśle. Węgłe aktywne wytwarza się z różnorodnych prekursorów o wysokiej zawartości węgla pierwiastkowego, zarówno naturalnych, takich jak węgle kopalne, torf, lignina, drewno, czy skorupy orzechów, jak również materiałów syntetycznych, takich jak zużyte tworzywa sztuczne lub inne odpady przemysłowe. Sam proces otrzymywania węgla aktywnych jest całkiem prosty i polega zazwyczaj na karbonizacji prekursora, a następnie aktywacji uzyskanego materiału węglowego przy pomocy odpowiedniego czynnika, tj. pary wodnej lub tlenu węgla(IV). Gdy oba te procesy odbywają się jednocześnie, mamy wówczas do czynienia z tzw. aktywacją bezpośrednią prekursora. Szerokim zainteresowaniem cieszy się także aktywacja chemiczna z wykorzystaniem roztworów chlorku cynku, wodorotlenku potasu lub kwasu fosforowego(V) [1]. Za tym wariantem aktywacji przemawia możliwość stosowania krótszego czasu oraz niższej temperatury obróbki prekursora, wyższa wydajność procesu i przede wszystkim silnie rozwinięta struktura porowata wytwarzanych adsorbentów. Niestety metoda ta wymaga użycia dużych ilości uciążliwych dla środowiska naturalnego odczynników chemicznych. Wspomniana wcześniej aktywacja fizyczna jest metodą tańszą i znacznie bardziej przyjazną środowisku [2], jednak jej produkty posiadają często mniej korzystne parametry teksturalne i zdolności sorpcyjne niż materiały wytwarzane metodą chemiczną. Niemniej ten wariant aktywacji jest zdecydowanie lepszym wyborem w kontekście współczesnego dążenia do realizacji zasad Zielonej Chemii.

Aspekty ekologiczne sprawiają również, że obecne badania nad wytwarzaniem węgli aktywnych koncentrują się na wykorzystaniu jako prekursorów szerokiego spektrum materiałów odnawialnych. Doskonałym przykładem takiego prekursora są m.in. pestki głogu, stanowiące odpad po obróbce owoców tej rośliny. Sam głóg (rodzaj *Crataegus*) występuje powszechnie na terenie Polski i jest ceniony nie tylko ze względów estetycznych (roślina ozdobna sadzona w ogrodach i parkach), ale również z powodu jego właściwości leczniczych. Od wielu lat głóg uważany jest za naturalny środek wspomagający leczenie wielu schorzeń, w szczególności chorób serca i krążenia. Liczne badania naukowe potwierdzają, że wykazuje on działanie przeciwmiażdżycowe, przeciwutleniające oraz obniżające stężenie cholesterolu we krwi, w związku z czym wybrane gatunki głogu znajdują zastosowanie w produkcji wielu preparatów leczniczych [3]. Powszechne występowanie i zastosowanie tej rośliny przemawia za wykorzystaniem powstających odpadów do produkcji biowęgla aktywnych, co też zostało zbadane w ramach niniejszej pracy. Właściwości adsorpcyjne otrzymanych materiałów sprawdzono na przykładzie Tritonu X-100, który jest niejonowym surfaktantem stosowanym zarówno w przemyśle, jak i nauce. Występuje on jako składnik środków czyszczących oraz jest powszechnie wykorzystywany w naukach biologicznych do rozdzielania cząsteczek i ekstrahowania białek błonowych. Wchodzi również w skład buforu do ekstrakcji DNA [4]. Obecność tego surfaktantu w wodzie i ściekach jest wysoce niepożądana ze względu na jego szkodliwe działanie na ludzi i zwierzęta. Jego długotrwała obecność w systemach wodnych ma silnie toksyczny wpływ na żyjące tam organizmy. Triton X-100 powoduje podrażnienia oczu, a w kontakcie ze skórą prowadzi do oparzeń. Po wnikięciu do organizmu może powodować zaburzenia ilości cholesterolu i trójglicerydów we krwi, a także prowadzić do zapalenia wątroby, co może skutkować nawet śmiercią [5]. Dlatego też warto dążyć do opracowania efektywnych metod usuwania tego związku z fazy wodnej.

Część eksperymentalna: Proces wytwarzania biowęgla aktywnych rozpoczęto od zmielenia pestek głogu (G) do uziarnienia 2-4 mm. Następnie przeprowadzono jednoczesną pirolizę i aktywację otrzymanego materiału, stosując dwa warianty ogrzewania. W przypadku ogrzewania konwencjonalnego (K) prekursor umieszczono w łódkach niklowych i wstawiono do gorącego pieca oporowego nagrzanego do temperatury 700 °C lub 800 °C. Proces prowadzono w atmosferze CO₂ (C) przez okres 30 minut (przepływ gazu 250 cm³/min). Wydajność procesu wyniosła odpowiednio 24,9% dla biowęgla GC700K oraz 22,4% dla próbki GC800K. W przypadku ogrzewania mikrofalowego (M) prekursor został umieszczony w kwarcowych tyglach i wstawiony do zimnego pieca, po czym był on ogrzewany do końcowej temperatury 700 °C lub 800 °C w czasie 35/40 minut. Przez kolejne 30 minut prowadzono wygrzewanie materiału w atmosferze CO₂ (przepływ 250 cm³/min), a następnie zawartość pieca chłodzono w strumieniu azotu (przepływ 250 cm³/min). Wydajność procesu wyniosła 14,3% dla biowęgla GC700M oraz 13,4% dla próbki GC800M. Przed przystąpieniem do wykonywania dalszych pomiarów otrzymane biowęgla aktywne odmywano wodą redestylowaną w celu usunięcia zanieczyszczeń (aż do osiągnięcia przewodności poniżej 10 µS/cm). Następnie materiały wysuszono w temperaturze 110 °C. W celu wyznaczenia potencjału dzeta otrzymanych biowęgla aktywnych przygotowano ich suspensje w roztworze elektrolitu podstawowego (nawazka 0,03 g danego biowęgla zdyspergowana przy pomocy ultradźwięków w 250 cm³ roztworu NaCl o stężeniu 0,001 mol/dm³). Porcje otrzymanej suspensji doprowadzono do pH wynoszą-

cego od 2 do 11 ($\pm 0,1$) i przy pomocy aparatu Zetasizer Nano ZS firmy *Malvern Instruments* dokonano pomiaru ruchliwości elektroforetycznej, która została następnie przeliczona na potencjał dzeta. Dla każdego z otrzymanych biowęgli wyznaczono również wielkość adsorpcji Tritonu X-100 w zależności od pH środowiska. Pomiaru dokonano metodą statyczną. W tym celu roztwór surfaktantu o stężeniu 200 ppm (w obecności elektrolitu podstawowego) wprowadzono do kolb Erlenmeyera w ilości po 10 cm³. Do każdej kolby dodano naważkę 0,05 g odpowiedniego biowęgla aktywnego i doprowadzono do pH 3, 6 lub 9. Adsorpcję prowadzono w termostатовanej (temp. 25 °C) wytrząsarce przez 24 h, a po zakończeniu procesu adsorbent oddzielono od roztworu za pomocą wirowania. Pomiar stężenia Tritonu X-100 w roztworze wykonano metodą spektrofotometryczną, wykorzystując spektrofotometr UV/VIS Cary100 Bio firmy *Varian*. Pomiar absorpcji prowadzono przy długości fali 275 nm. Ilość zaadsorbowanego Tritonu X-100 wyznaczono na podstawie różnicy między stężeniem początkowym, a stężeniem roztworu po adsorpcji.

Wyniki: Na Rys. 1. zaprezentowano wyznaczone potencjały dzeta otrzymanych biowęgli aktywnych. Różnice w wielkościach tego parametru są niewielkie, jednak widoczna jest tendencja do wzrostu wartości bezwzględnej potencjału dzeta wraz ze wzrostem temperatury aktywacji w obrębie biowęgli otrzymanych przy pomocy tego samego wariantu ogrzewania.



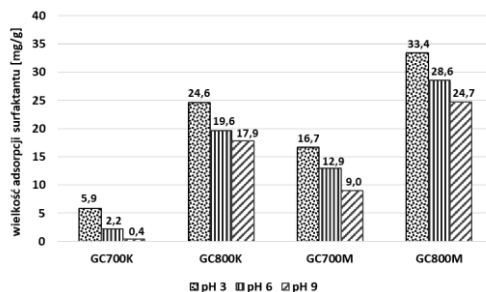
Rys. 1. Wykres zależności potencjału dzeta cząstek biowęgli aktywnych rozproszonych w fazie wodnej od pH roztworu.

Dopasowanie krzywej do naniesionych punktów i jej ekstrapolacja pozwoliły na wyznaczenie punktu izoelektrycznego pH_{iep} badanych materiałów. Ich wartości wraz z wartościami naturalnego pH suspensji wodnych biowęgli umieszczono w Tabeli 1.

Tabela 1. Wartości naturalnego pH suspensji wodnych i punktów izoelektrycznych biowęgli aktywnych.

Biowęgiel aktywny	pH	pH_{iep}
GC700K	6,12	2,63
GC800K	6,47	2,38
GC700M	6,35	1,79
GC800M	6,45	1,87

Suspensje wszystkich próbek mają odczyn lekko kwasowy, co może świadczyć o niewielkiej przewadze ilości kwasowych grup funkcyjnych nad grupami zasadowymi obecnymi na powierzchni uzyskanych adsorbentów. Porównanie wartości punktów izoelektrycznych wskazuje na to, że w przypadku biowęgla otrzymanych przy zastosowaniu ogrzewania mikrofalowego parametr ten jest zauważalnie mniejszy niż dla materiałów ogrzewanych konwencjonalnie. Dane przedstawione na Rys. 2 wyraźnie wskazują, że pH środowiska ma istotny wpływ na adsorpcję Tritonu X-100 na powierzchni otrzymanych biowęgla aktywnych. Największa adsorpcja ma miejsce z roztworów o pH 3, po czym maleje wraz ze wzrostem odczynu układu. Widoczny jest również wpływ parametrów aktywacji na przeprowadzoną adsorpcję – wybrany surfaktant lepiej adsorbuje się na biowęglach otrzymanych w wyższej temperaturze. Ponadto adsorbenty uzyskane na drodze ogrzewania mikrofalowego adsorbują większe ilości Tritonu X-100 niż ich odpowiedniki ogrzewane konwencjonalnie.



Rys. 2. Ilości Tritonu X-100 zaadsorbowane przez biowęgla aktywne z roztworów o różnym pH.

Wnioski: Wyniki badań przeprowadzonych z użyciem biowęgla aktywnych otrzymanych poprzez bezpośrednią aktywację fizyczną pestek głogu wskazują na to, że parametry aktywacji takie jak temperatura i wariant ogrzewania mają wpływ na ich właściwości powierzchniowe. Materiały te wykazują niewielkie, ale zauważalne różnice w wartościach potencjału dzeta oraz położeniu punktów izoelektrycznych. W przypadku adsorpcji Tritonu X-100 na powierzchni uzyskanych materiałów węglowych widoczna jest wyraźna zależność pomiędzy pojemnością sorpcyjną i procedurą aktywacji. Zastosowanie wyższej temperatury wpłynęło na zwiększenie ilości surfaktantu zaadsorbowanego na powierzchni biowęgla, a najskuteczniejszym adsorbentem spośród czterech uzyskanych materiałów okazała się próbka GC800M (pestki głogu aktywowane za pomocą CO₂ w temperaturze 800 °C przy zastosowaniu ogrzewania mikrofalowego) – maksymalna adsorpcja Tritonu X-100 na jej powierzchni wyniosła 33,4 mg/g.

Literatura:

1. R.C. Bansal, M. Goyal, Adsorpcja na węglu aktywnym. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2009.
2. Y. Ding, et.al, Energy Fuels, 36 (2022) 5456.
3. D. Król, Postępy Fitoter., 2 (2011) 122-.
4. M.N. Islam, M.H. Mahmoud, S. Mahbub, et.al., Colloid Polym. Sci. 302 (2024) 213.
5. M. Wiśniewska, et al., Sep. Purif. Technol. 276 (2021) 119297.

MIKROSFERY POLIMEROWE Z LIGNINĄ JAKO PREKURSORY WĘGLI AKTYWNYCH

J. ZACHARCZUK, B. TARASIUK, B. PODKOŚCIELNA, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614, Lublin

Abstrakt: Celem niniejszej pracy jest synteza i badania właściwości mikrosfer polimerowych zawierających ligninę. Do otrzymania tych materiałów użyto autorsko opracowany oligo(uretano-metakrylan), oraz komercyjnie dostępne monomery takie jak: dimetakrylan diuretanowy, dimetakrylan glikolu teraetylenowego, trietoksywinylosilan i ligninę kraft w charakterze modyfikatora. Potwierdzono strukturę uzyskanych kompozytów przy użyciu analizy ATR/FTIR. Wykonano również zdjęcia mikrosfer przy użyciu mikroskopu optycznego ukazujące sferyczną strukturę mikrosfer.

Wprowadzenie: W miarę rozwoju świadomości ekologicznej społeczeństwa, naukowcy prowadzą coraz więcej badań mających na celu opracowanie zrównoważonych i przyjaznych dla środowiska technologii. Szczególny nacisk kładzie się na wykorzystanie biodegradowalnych materiałów pochodzenia naturalnego, takich jak celuloza, chitozan czy lignina, które nie wykazują negatywnego wpływu na środowisko. Jednym z licznych zastosowań naturalnych materiałów polimerowych jest wykorzystanie ich do tworzenia sorbentów. Biopolimerem, zasługującym w tym kontekście na szczególną uwagę jest lignina [1]. Ze względu na swoją powszechność, szeroką dostępność, niewielki koszt oraz unikalne właściwości, lignina stanowi jedną z najbardziej obiecujących alternatyw wśród odnawialnych surowców. Ponadto jest ona drugim pod względem ilości biopolimerem występującym w biomasie lignocelulozowej po celulozie [2]. Lignina składa się głównie z monomerów alkoholu p-kumarylowego i jego pochodnych podstawionych grupami metoksyowymi – alkoholu koniferylowego i synepinowego, tworząc nieregularną strukturę z wieloma grupami funkcyjnymi. Monomery ligniny są połączone za pomocą różnych wiązań kowalencyjnych, wśród których dominują wiązania eterowe oraz wiązania węgiel-węgiel [3]. Lignina, ze względu na obecność licznych grup funkcyjnych, wykazuje wysoką podatność na modyfikacje chemiczne. Pomimo stosunkowo niewielkiej powierzchni właściwej, która ogranicza jej zdolności adsorpcyjne, odpowiednie modyfikacje strukturalne oraz zastosowanie ligniny w postaci mikrosfer umożliwi ich znaczną poprawę. W efekcie dzięki poprawie właściwości adsorpcyjnych, możliwe jest zastosowanie mikrosfer ligninowych jako efektywnych sorbentów w procesach usuwania zanieczyszczeń [1]. Innym potencjalnym zastosowaniem mikrosfer na bazie ligniny jest ich wykorzystanie jako systemy do kontrolowanego uwalniania substancji czynnych w rolnictwie. Kluczową zaletą ligniny w tym kontekście jest jej biodegradowalność, która minimalizuje negatywny wpływ na środowisko. Dodatkowo, jednorodny kulisty kształt mikrosfer sprzyja bardziej równomiernemu uwalnianiu składników aktywnych, co może zwiększyć efektywność ich działania. Istotnym atutem jest również stosunkowo niski koszt produkcji oraz brak konieczności stosowania skomplikowanej aparatury [4]. Interesującym zagadnieniem dotyczącym wykorzystania odnawialnych i ekologicznych materiałów jest również węgiel aktywny wyprodukowany z biomasy. Węgiel aktywny ze względu na dużą powierzchnię

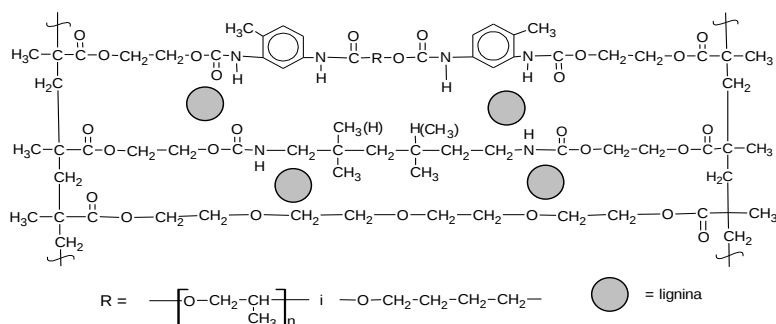
właściwą i wysoki stopień porowatości jest szeroko wykorzystywaną substancją, znajdującą zastosowanie między innymi w oczyszczaniu wody, adsorpcji gazów oraz magazynowaniu energii. W związku z tak dużą popularnością i eksploatacją węgla aktywnego naturalnym wydaje się dążenie do jak najbardziej przyjaznych środowisku metod jego produkcji. Biorąc pod uwagę dużą dostępność i różnorodność zasobów biomasy produkcja węgla aktywnego nie powinna generować wysokich kosztów. Jest to znacząca zaleta ze względu na fakt stale rosnących cen węgla aktywnego produkowanego w sposób tradycyjny z zasobów takich jak węgiel kamienny, torf czy też z pozostałości ropy naftowej. Dodatkowo, produkcja węgla aktywnego z biomasy generuje o połowę niższą emisję gazów cieplarnianych. Węgiel aktywny powstaje poprzez karbonizację surowców w temperaturze 400–800°C w warunkach beztlenowych. Następnie materiał poddawany jest aktywacji fizycznej poprzez zastosowanie wysokiej temperatury i udziału pary wodnej/CO₂ lub aktywacji chemicznej polegającej na impregnacji związkami chemicznymi i ogrzewaniu. Parametry karbonizacji w dużym stopniu wpływają na jakość produktów końcowych, stąd też konieczne jest ich kontrolowanie. Zbyt wysoka temperatura może powodować powstawanie niepożądanych substancji smolistych, które zatykają pory, przez co konieczne są dodatkowe etapy w postaci oczyszczenia. Węgiel aktywny otrzymany z biomasy metodą aktywacji chemicznej może osiągać powierzchnię właściwą rzędu 2000 m²/g, podczas gdy aktywacja fizyczna prowadzi do uzyskania materiału o powierzchni około 1000 m²/g. Chociaż wartości te są wysokie, węgiel aktywny wytwarzany z konwencjonalnych surowców może charakteryzować się powierzchnią właściwą na poziomie około 3000 m²/g [5-6].

Część eksperymentalna: Do otrzymywania mikrosfer polimerowych zastosowano opracowany przez nas oligomer uretano-metakrylanowy (OUM). Otrzymano go w reakcji nadmiaru diizocyjanianu toluilu z glikolem polipropylenowym o $M_w=2000$ g/mol i butanol-1,4-diolem w stosunku molowym 1:2. Po oznaczeniu ilości pozostałych grup NCO, reakcję addycji prowadzono z wyliczoną ilością metakrylanu 2-hydroksyetylu [7]. Oligo(uretano-metakrylan) o $M_w=1150$ g/mol jest gęstą cieczą o lepkości dynamicznej w temp. 25°C 18500 mPa*s i zawartości wiązań podwójnych (winylowych) 2,05 mmola/g. Komercyjny dimetakrylan diuretanowy (DMDU) jest gęstą cieczą o gęstości 1,11 g/ml w 25°C, średniej masie $M_w=470$ g/mol i zawartości wiązań winylowych 4,25 mmola/g. Mikrosfery polimerowe otrzymano metodą polimeryzacji suspensyjnej stosując jako jedną z faz roztwór wodny poli(alkoholu winylowego) i chlorku wapnia. Natomiast drugą fazą (organiczną) była mieszanina następujących związków: oligo(uretano-metakrylan) (OUM), dimetakrylan diuretanowy (DMDU), dimetakrylan glikolu tetraetylenowego (DMGTE), trietoksywinylosilan (TEVSi), inicjator polimeryzacji – α,α' -azobis(izobutyronitryl) w ilości 1,1% w stosunku do monomerów oraz lignina kraft (LK) zwieszona w alkoholu benzylowym. Kopolimeryzację prowadzono przez 18 godzin w temperaturze 80-85°C. Otrzymane mikrosfery przemyto gorącą wodą destylowaną i następnie suszono w temp. 85°C do stałej wagi. Otrzymano kształtne mikrosfery o wymiarach ϕ w granicach 40 - 100 μ m. Skład jakościowy i ilościowy otrzymanych mikrosfer polimerowych przedstawiono w Tabeli 1.

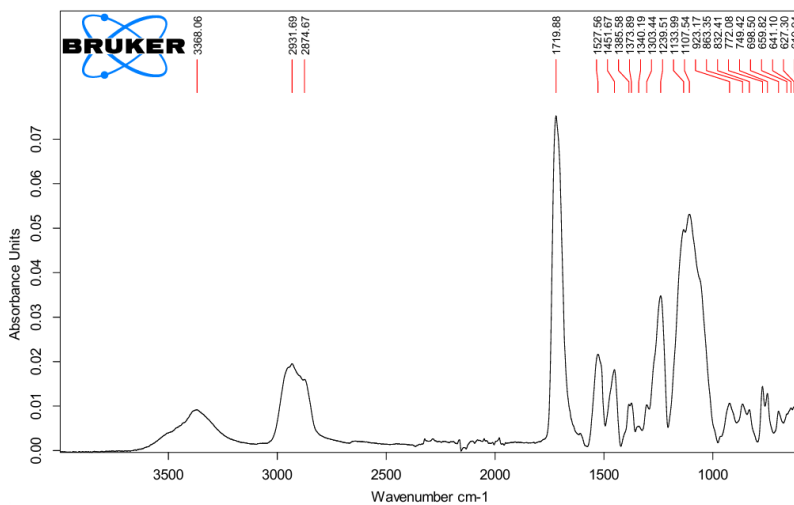
Tabela 1. Skład mikrosfer polimerowych.

Nr	OUM [g]	DMDU [g]	DMGTE [g]	TEVSi [g]	LK [g]
1	8,00	1,80	1,80	1,50	-
2	8,00	1,80	1,80	1,50	3,30

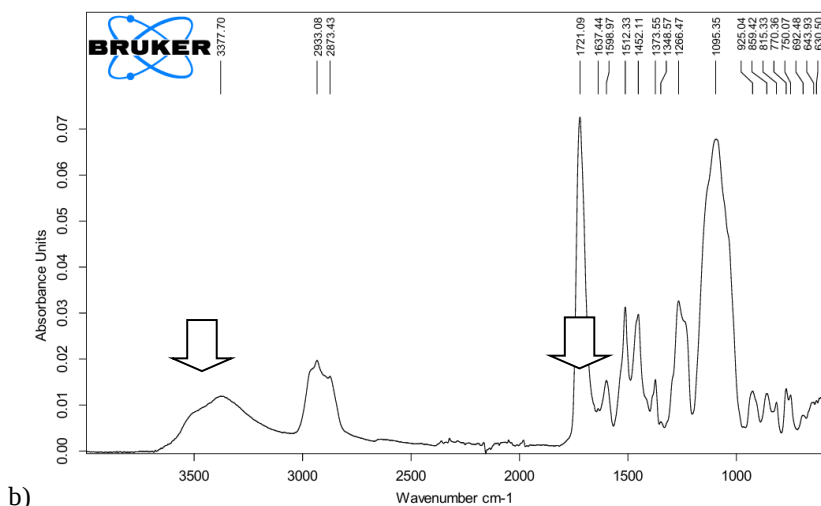
Wyniki: Na Rysunku 1 przedstawiono fragment struktury mikrosfery polimerowej zawierający ligninę kraft. Na Rysunku 2 przedstawiono widma ATR/FTIR polimerowych mikrosfer przed i po modyfikacji ligniną.



Rys. 1. Fragment struktury mikrosfer polimerowych z ligniną.



a)



Rys. 2. Widmo ATR/FTIR, a) wyjściowy materiał, b) z dodatkiem ligniny.

Analizowane widma mają podobny przebieg, ale na widmie pochodnej z ligniną obserwowany jest znaczny wzrost intensywności sygnału pochodzącego od grup -OH obecnych w ligninie (3377 cm^{-1}). Pojawia się także wyraźny sygnał przy 1598 cm^{-1} związany głównie z drganiami rozciągającymi wiązań C=C w układach aromatycznych. Jest to charakterystyczna cecha struktury ligniny, która zawiera pierścienie fenylopropanowe.

Wnioski: Stosując polimeryzację suspensyjną otrzymano nowe, polimerowe mikrosfery na bazie żywicy uretano-metakrylanowej, dimetakrylanu diuretanowego, dimetakrylanu glikolu tetraetylenowego oraz trietoksywinylosilanu z dodatkiem ligniny kraft. Strukturę otrzymanych materiałów potwierdzono przy użyciu analizy ATR/FTIR, a ich kształt zwerfikowano mikroskopem optycznym. Widma ATR/FTIR wykazały, że po dodaniu ligniny wzrosła intensywność sygnału pochodzącego od grup hydroksylowych, co wskazuje na obecność ligniny w kompozycie. Pojawił się także sygnał przy 1598 cm^{-1} , odpowiadający drganiom C=C w pierścieniach aromatycznych, co potwierdza strukturalną obecność *ligniny* w polimerze. W kolejnym etapie badań mikrosfery poddane zostaną karbonizacji a następnie użyte jako efektywne sorbenty w procesach oczyszczania wody z toksycznych związków aromatycznych i farmaceutyków.

Literatura:

1. Y. Ge, L. Qin, i Z. Li, *Materials & Design*, 95 (2016) 141.
2. H. A. Ariyanta i in., *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 32 (2023) 100966.
3. Ł. Kłapiszewski, *WiadChem*, (2021) 1155.
4. J. Sameni, S. Krigstin, S. A. Jaffer, i M. Sain, *Industrial Crops and Products*, 117 (2018) 58.
5. Y. X. Gan, *Activated Carbon from Biomass Sustainable Sources*, *Journal of Carbon Research*, 7 (2021) 21.
6. M. S. Reza i in., *Arab Journal of Basic and Applied Sciences*, 27 (2020) 208.
7. B. Tarasiuk, *Polish Journal of Chemical Technology*, 8 (2006) 95.

WPLYW AKTYWACJI CO₂ NA WŁAŚCIWOŚCI BIOWĘGLI OTRZYMANÝCH Z BIOMASY

B. WAWRZASZEK¹, B. CHARMAS¹, K. JEDYNAK², ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chromatografii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, ²UJK, Instytut Chemii, Zakład Chemii Fizycznej i Teoretycznej, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

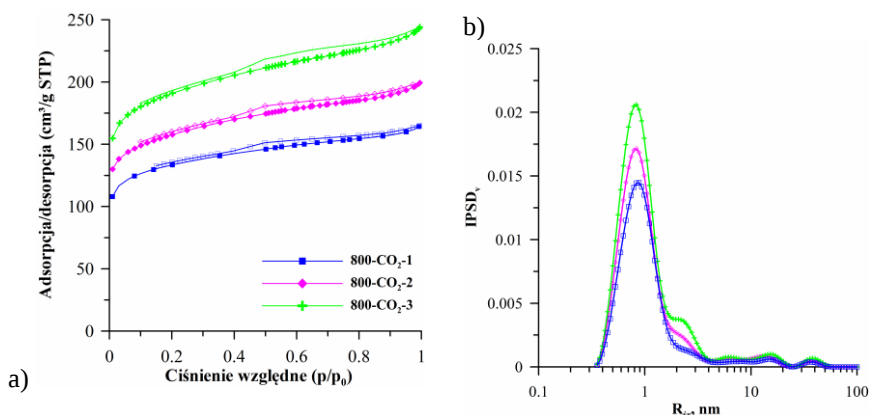
Abstrakt: Aktywacja fizyczna pozwala na znaczną poprawę parametrów strukturalnych biowęgla, nie generując przy tym wtórnych zanieczyszczeń. W pracy scharakteryzowano biowęgle aktywowane CO₂ przy różnych czasach aktywacji. Najwyższą powierzchnię właściwą (651 m²/g) otrzymano dla materiału aktywowanego przez najdłuższy czas (3 godz.) Zaobserwowano wzrost całkowitej zawartości tlenowych grup funkcyjnych na skutek wydłużania czasu aktywacji. Materiały charakteryzują się wysoką zawartością węgla związanego (%FC ~ 84 – 86%) oraz niewielką zawartością popiołów (%A ~ 2 – 4%). Wydłużenie czasu aktywacji wpłynęło na lepsze uporządkowanie struktury węglowej, na co wskazują zmniejszające się wartości współczynników I_D/I_G.

Wprowadzenie: Stały rozwój przemysłu oraz zwiększająca się liczba ludności na świecie niesie za sobą konsekwencje w postaci zwiększającej się ilości odpadów. Powstające zanieczyszczenia stanowią zagrożenie zarówno dla środowiska naturalnego, jak i zdrowia ludzi. Eliminacja powstających zanieczyszczeń jest poważnym wyzwaniem dla świata nauki. Jednym ze sposobów radzenia sobie z powstającymi odpadami, w szczególności biomasą, jest możliwość przetworzenia jej w materiały węglowe, w tym biowęgle. Pozwala to na ograniczenie uwalnianych do atmosfery gazów cieplarnianych powstających w naturalnych procesach rozkładu substancji organicznych oraz na zmniejszenie ilości zalegających w środowisku odpadów. Dodatkowo biowęgle mogą być wykorzystywane w procesach adsorpcji zanieczyszczeń, magazynowania energii, poprawy jakości gleby czy katalizy [1]. Rodzaj użytej biomasy, sposobu aktywacji oraz aktywatora będzie miał znaczny wpływ na finalne właściwości fizykochemiczne otrzymywanych materiałów. Surowy biowęgiel zwykle nie wykazuje rozwiniętej powierzchni i porowatości, jednak zastosowanie odpowiednich metod aktywacji oraz dobór czynnika aktywującego będą miały znaczący wpływ na poprawę tych parametrów. Wyróżnia się dwie główne metody aktywacji: aktywację chemiczną i fizyczną. Aktywacja chemiczna wykazuje lepsze efekty jeśli chodzi o rozwijanie parametrów strukturalnych materiałów, jednak wymaga użycia dodatkowych odczynników chemicznych. Aktywacja fizyczna natomiast nie generuje dodatkowych odpadów podczas procesu, również pozwalając na efektywny rozwój powierzchni i porowatości. Jednym z najczęściej stosowanych środków aktywujących jest CO₂. Jest to czynnik o mniejszej reaktywności w porównaniu do innych czynników utleniających, jednak sprzyja efektywnemu rozwijaniu struktury mikroporowatej [2]. Co ważne, ze względu na endotermiczny charakter reakcji łatwiejsza jest kontrola procesu aktywacji przy wykorzystaniu CO₂.

Część eksperymentalna: Trociny drzew mieszanych umyto bieżącą wodą i wodą destylowaną, a następnie suszono przez 24h w 105°C. Wysuszony materiał zmielono i frakcjonowano, zbierając frakcję w zakresie 1-2 mm wykorzystaną do pirolizy. Proces

pirolizy prowadzono w atmosferze azotu (przepływ 200 cm³/min) stosując narost temperatury 10°C/min, do temperatury 800°C, gdzie następował izotermiczny etap aktywacji CO₂ (przepływ 200 cm³/min) trwający 1, 2 lub 3 godziny. Po tym czasie układ chłodzono w atmosferze N₂ do temperatury pokojowej. Biowęgle aktywowane oznaczono odpowiednio 800-CO₂-1, 800-CO₂-2 i 800-CO₂-3. Do wyznaczenia parametrów strukturalnych wykorzystano dane niskotemperaturowych izoterm adsorpcji/desorpcji N₂ (Micromeritics ASAP 2405, USA). Analizę termiczną przeprowadzono przy użyciu Derivatograph C (Paulik, Paulik, i Erdely, MOM, Węgry). Na podstawie widm Ramana określono strukturę krystaliczną materiałów (mikroskop DMLM Leica Research Grade, Reflex, Renishaw, UK). Chemiczny charakter powierzchni zbadano za pomocą miareczkowania potencjometrycznego metodą Boehma (716DMS Titrino, Metrohm, Szwajcaria) oraz na podstawie widm FT-IR (Perkin-Elmer Spectrum 400-FT-IR/FT-NIR, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA).

Wyniki: Na rys. 1 przedstawiono izotermie adsorpcji/desorpcji N₂ badanych biowęgli aktywowanych. Wszystkie izotermie zaklasyfikować można do typu IV według klasyfikacji IUPAC. Widoczne pętle histerezy należą do typu H4 i są charakterystyczne dla materiałów mikro i mezoporowatych. Wysokie wartości adsorpcji przy niskim ciśnieniu względnym wskazują na obecność w materiałach mikroporów. Wydłużenie czasu aktywacji wpłynęło pozytywnie na rozwój powierzchni właściwej, co przejawia się wyższym położeniem izoterm. S_{BET} zwiększyło się z 455 m²/g (800-CO₂-1) do 651 m²/g (800-CO₂-3), z równoczesnym znacznym wzrostem powierzchni mikroporów oraz całkowitej objętości porów i mikroporów. Wraz z wydłużeniem czasu aktywacji zwiększył się również średni promień porów, co mogło być spowodowane częściowym zniszczeniem szkieletu węglowego struktury mikroporów.



Rys. 1. Niskotemperaturowe izotermie adsorpcji/desorpcji azotu (a) oraz rozkłady wielkości porów (b).

W tabeli 1 przedstawiono dane dotyczące charakterystyki strukturalnej oraz zawartość powierzchniowych grup funkcyjnych badanych biowęgli. Powierzchnia właściwa materiałów wynosi od 455 do 651 m²/g, ze znacznym udziałem mikroporów (S_{mikro} od 152,5 do 419,0 m²/g). Największą powierzchnię właściwą otrzymano dla materiału aktywowanego przez 3 godziny (651 m²/g). Wraz z wydłużeniem czasu aktywacji obserwowany jest wzrost zarówno powierzchni właściwej, jak i porowatości materiałów.

Tabela 1. Charakterystyka biowęgla aktywowanych.

Nazwa próbki	S_{BET} [m ² /g]	S_{mikro} [m ² /g]	V_p [cm ³ /g]	V_{mikro} [cm ³ /g]	R_{sr} [nm]	Gr. kwasowe [mgR/g]	Gr. zasa- dowe [mgR/g]
800-CO₂-1	455	152,5	0,254	0,140	1,12	0,198	0,654
800-CO₂-2	538	345,6	0,307	0,160	1,14	0,193	0,934
800-CO₂-3	651	419,0	0,375	0,194	1,15	0,139	1,046

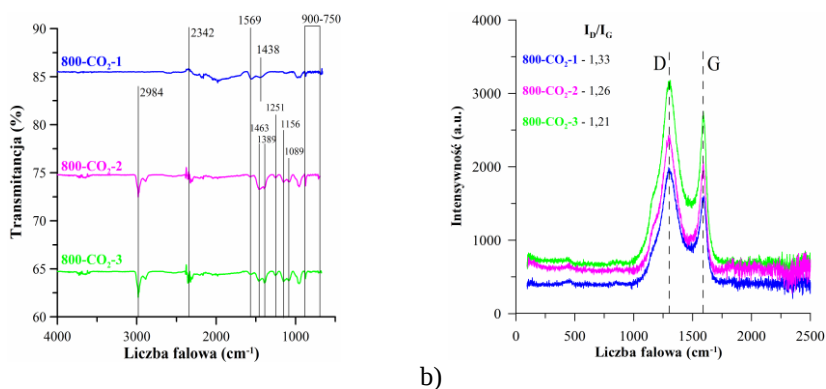
S_{BET} – powierzchnia właściwa, S_{mikro} – powierzchnia mikroporów, V_p – całkowita objętość porów sorpcyjnych, V_{mikro} – objętość mikroporów, R_{sr} - średni promień porów.

Badane materiały zawierają niewielki procent wilgoci (%H) i popiołów (%A) (tabela 2). Wydłużenie czasu aktywacji wpływa na zwiększenie zawartości substancji lotnych (%VC) spowodowane tworzeniem grup funkcyjnych. Równoczesne zmniejszenie udziału węgla stałego (%FC) wynika z intensywnej degradacji węgla na skutek wydłużania czasu działania czynnika aktywującego. Parametry stabilności termicznej C_{thermo} nieznacznie zmniejszają się wraz z wydłużeniem czasu aktywacji, przy czym parametr R50 przyjmuje w zasadzie stałą wartość, wskazując na nieznaczny spadek stabilności termicznej biowęgla wraz ze zwiększającą się intensywnością aktywacji.

Tabela 2. Wyniki analizy termicznej badanych materiałów.

Nazwa próbki	%H	%VC	%FC	%A	C_{thermo}	R50
800-CO₂-1	3,3	11,4	86,4	2,2	0,883	0,596
800-CO₂-2	3,6	12,05	84,3	3,6	0,875	0,607
800-CO₂-3	3,8	14,31	83,8	1,9	0,854	0,601

Zawartość powierzchniowych grup funkcyjnych wyznaczono za pomocą miareczkowania potencjometrycznego metodą Boehma. Na powierzchni badanych biowęgla występują zarówno grupy o charakterze kwasowym jak i zasadowym, ze znaczącą przewagą grup zasadowych (tabela 1). Wraz z wydłużeniem czasu aktywacji obserwuje się spadek zawartości grup kwasowych z równoczesnym wzrostem zawartości grup zasadowych. Analiza FT-IR pozwoliła na potwierdzenie obecności tlenowych grup funkcyjnych na powierzchni biowęgla. Pasma przy $\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ odpowiadają drganiom rozciągającym grup OH i mogą wynikać z obecności nieasocjacyjnych cząsteczek wody. Pasma przy ok. 2300 cm^{-1} przypisuje się drganiom rozciągającym C=O w aldehydach, ketonach i estrach. Pasma przy 1569 cm^{-1} mogą być związane z drganiami grup C=C lub C=O obecnych w ketonach i grupach karboksylowych. W zakresie $1500\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ obserwowane pasma związane są z obecnością grup karbonylowych C=O, co potwierdzają wyniki uzyskane metodą Boehma. Zakres $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ jest charakterystyczny dla drgań rozciągających wiązań C-O. W obszarze $900\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ występujące pasma są związane z drganiami deformacyjnymi C-H poza płaszczyznę pierścieni aromatycznych [3]. Wraz z wydłużaniem czasu aktywacji obserwuje się wzrost intensywności pasm, co wynika z rosnącej zawartości grup funkcyjnych na powierzchni materiałów.



Rys. 2. Widma FT-IR (a) oraz widma Ramana (b) badanych biowęgli.

Spektroskopia Ramana umożliwia określenie dominującej struktury oraz stopnia uporządkowania biowęgla. Na widmach Ramana (rysunek 2b) obserwowane są dwa charakterystyczne piki przy $\sim 1300\text{ cm}^{-1}$ (pasmo D) oraz $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ (pasmo G). Pasmo D ($\sim 1303\text{ cm}^{-1}$) wskazuje na drgania oddychające w pierścieniach aromatycznych oraz jest miarą nieuporządkowania struktur węglowych. Natomiast pasmo G ($\sim 1590\text{ cm}^{-1}$) powstaje w wyniku drgań rozciągających par węglowych sp^2 w pierścieniach aromatycznych oraz strukturach łańcuchowych [4]. Jak wynika z przedstawionych widm, aktywacja nie zmienia położenia pasm, a zwiększa ich intensywność. Stosunki intensywności I_D/I_G (rysunek 2b) zmniejszają się wraz z wydłużeniem czasu aktywacji, co wskazuje na wzrost uporządkowania i zmniejszającą się liczbę defektów w strukturze materiałów.

Wnioski: Aktywacja fizyczna CO_2 w znaczący sposób wpływa na rozwinięcie parametrów strukturalnych biowęgla. Otrzymano materiały o powierzchniach S_{BET} 455 – 651 m^2/g i zawartości mikroporów $\sim 34 - 64\%$. Biowęgla wykazują znaczną zawartość węgla związanego, niewielką zawartość popiołów oraz charakteryzują się dobrą stabilnością termiczną. Wyniki analizy Boehma oraz FT-IR wskazują na znaczną zawartość tlenowych powierzchniowych grup funkcyjnych. Współczynniki intensywności I_D/I_G świadczą o występowaniu defektów w strukturze krystalicznej materiałów. Otrzymane wyniki sugerują, że badane biowęgla aktywowane mogą zostać wykorzystane jako potencjalne adsorbenty zanieczyszczeń.

Literatura:

1. I. Ali, V.K. Gupta, Nat. Protoc., 1 (2006) 2661.
2. S.H. Jung, J.S. Kim, JAAP, 107 (2014) 116.
3. J.L. Figueiredo, M.F.R. Pereira, M.M.A. Freitas, J.J.M. Órfão, Carbon, 37 (1999) 1379.
4. A.C. Ferrari, J. Robertson, Philos. Transact. A Math. Phys. Eng. Sci., 362 (2004) 2477.

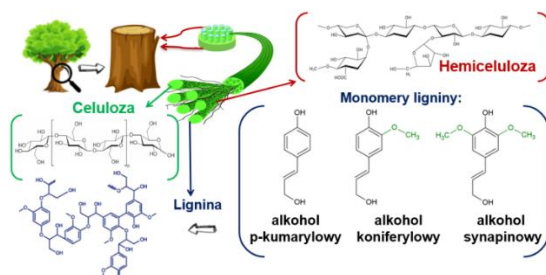
BADANIE PRZYDATNOŚCI UKŁADÓW HYBRYDOWYCH Z UDZIAŁEM LIGNINY JAKO POTENCJALNYCH MATERIAŁÓW SORPCYJNYCH DO USUWANIA JONÓW NIKLU(II)

**A. WOŁOWICZ¹, U. WEPĄ¹, M. WAWRZKIEWICZ¹, B. PODKOŚCIELNA²,
Ł. KLAPISZEWSKI³**, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej,
Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin, ²Wydział Chemii, Katedra Chemii Poli-
merów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin, ³Politechnika Poznańska, Wydział Technologii
Chemicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Berdychowo 4, 60-965 Poznań

Abstrakt: Celem pracy była ocena przydatności funkcjonalnych materiałów hybrydowych z udziałem ligniny (L) otrzymanych metodą polimeryzacji suspensyjnej w formie mikrosfer jako potencjalnych adsorbentów do usuwania jonów niklu(II) z roztworów wodnych. Adsorbenty przygotowano na bazie diwinylobenzenu (DVB) oraz trietylowinylosilanu (TEVS) sieciowanego dimetakrylanem glikolu etylenowego (EGDMA) (S1: EGDMA-DVB-TEVS) z dodatkiem ligniny niemodyfikowanej (S2: EGDMA-DVB-TEVS/L) lub modyfikowanej tlenkiem cyrkonu(IV) (S3: EGDMA-DVB-TEVS-ZrO₂/L) lub tlenkiem cyrkonu(IV) i tlenkiem krzemu(IV) w stosunku 1:1 lub 1:5 (S4: EGDMA-DVB-TEVS-ZrO₂-SiO₂/L (1:1); S5: EGDMA-DVB-TEVS-ZrO₂-SiO₂/L (1:5)). Zbadano wpływ pH na proces sorpcji jonów Ni(II), kinetykę oraz równowagę procesu sorpcji na sorbentach S1-S5. Jako optymalne pH wybrano pH 5. Wpływ czasu kontaktu faz na proces sorpcji jonów Ni(II) zaznacza się w niewielkim stopniu, a maksymalny procent usuwania jonów Ni(II) wynosi 25,5-30,7% dla badanych sorbentów. Szereg przydatności otrzymanych materiałów sorpcyjnych wyznaczony na podstawie maksymalnej pojemności sorpcyjnej przedstawia się następująco: S2 (11,09 mg/g) > S5 (10,8 mg/g) > S1 (9,98 mg/g) > S3 (9,06 mg/g) > S4 (8,22 mg/g).

Wprowadzenie: W związku z narastającym problemem zanieczyszczenia środowiska naturalnego metalami ciężkimi charakteryzującymi się wysoką toksycznością zarówno dla człowieka, zwierząt oraz roślin badania naukowe zmierzają w kierunku poszukiwania skutecznych i niedrogich metod ich usuwania [1,2]. Wśród fizykochemicznych metod usuwania jonów metali ciężkich ze ścieków adsorpcja ma ugruntowaną pozycję i jest szeroko stosowana ze względu m.in. na prostotę procesu, wysoką efektywność, niski koszt czy przyjazność dla środowiska [1,3]. Do usuwania jonów metali ciężkich ze ścieków stosuje się zarówno komercyjne adsorbenty, jak i biosorbenty o różnicowanych właściwościach i wydajności usuwania [1]. Jednym z ogólnie dostępnych i niedrogich materiałów pochodzenia naturalnego jest lignina stanowiąca produkt odpadowy generowany najczęściej w przemyśle celulozowo-papierniczym (Rys. 1). Obok celulozy i hemicelulozy jest ona głównym składnikiem budulcowym biomasy drzewnej i jako odpad w 95-98% poddawana jest spalaniu celem pozyskania energii [4]. Unikalna struktura tego biopolimeru, jego odnawialny charakter oraz szeroka dostępność stwarza możliwości jego szerokiego zastosowania jako komponentu do wielu specyficznych zastosowań takich jak medycyna, elektrochemia, optyka, magazynowanie energii itp. [4-7]. Ponadto lignina wykorzystywana jest do projektowania funkcjonalnych (bio)materiałów w tym hybrydowych znajdujących

zastosowanie jako potencjalne adsorbenty do usuwania zanieczyszczeń m.in. jonów metali ciężkich [4,8-11]. Układy hybrydowe zawierające zazwyczaj organiczne jak i nieorganiczne komponenty wykazują jako całość często odmienne właściwości w porównaniu z poszczególnymi ich składnikami [4]. W literaturze można znaleźć liczne przykłady dotyczące usuwania jonów metali ciężkich z wykorzystaniem sorbentów zawierających niemodyfikowaną lub modyfikowaną ligninę [8,12-17], natomiast przykłady usuwania jonów Ni(II) z roztworów modelowych i ścieków są niezbyt liczne [14,15], dlatego w celu uzupełnienia tej luki zsyntetyzowano nowe materiały hybrydowe zawierające ligninę celem zbadania ich przydatności do usuwania jonów Ni(II) z roztworów wodnych. Wpływ pH oraz badania kinetyki i równowagi w układach Ni(II)-S1-S5 poddano analizie celem wyznaczenia optymalnego pH, maksymalnej pojemności sorpcyjnej oraz szybkości usuwania zanieczyszczenia.



Rys. 1. Lignina i jej monomery.

Część eksperymentalna: W celu oceny przydatności zsyntetyzowanych materiałów sorpcyjnych (S1-S5) do usuwania jonów Ni(II) z roztworów wodnych wykorzystano metodę statyczną. Do badań zastosowano sorbent S1: EGDMA-DVB-TEVS jako materiał referencyjny oraz sorbenty hybrydowe z dodatkiem niemodyfikowanej ligniny (S2: EGDMA-DVB-TEVS/L) oraz ligniny modyfikowanej za pomocą tlenku cyrkonu(IV) (S3: EGDMA-DVB-TEVS-ZrO₂/L) lub tlenku cyrkonu(IV) i tlenku krzemu(IV) w stosunku 1:1 lub 1:5 (S4: EGDMA-DVB-TEVS-ZrO₂-SiO₂/L (1:1); S5: EGDMA-DVB-TEVS-ZrO₂-SiO₂/L (1:5)). Zbadano wpływ pH oraz kinetykę i równowagę procesu sorpcji jonów Ni(II) na materiałach S1-S5. Badania usuwania jonów Ni(II) metodą statyczną przeprowadzono przy zastosowaniu kolbek stożkowych o pojemności 100 mL, do których wprowadzono odpowiednią ilość sorbentu S1-S5 ($W=0,02 \pm 0,0002$ g), a następnie 20 mL roztworu wyjściowego o określonym pH (2-8 dla badań wpływu pH, 5 dla badań kinetycznych i równowagowych) i stężeniu początkowym $C_0=1-75$ mg/L w zależności od badanego aspektu (50 mg/L dla wpływu pH, 10 mg/L dla badań kinetyki oraz 1-75 mg/L dla badań równowagowych). Kolbki następnie wytrząsano w temperaturze pokojowej z użyciem wytrząsarki mechanicznej (Elpin+, typ 357) pracującej przy prędkości wytrząsania 180 cykli na minutę oraz amplitudzie drgań $A=8$ od 1 do 240 minut. Po upływie odpowiedniego czasu ($t=240$ min dla badań wpływu pH, 1-240 min dla badań kinetyki oraz $t=24$ h dla badań równowagowych) fazę wodną oddzielano od sorbentu za pomocą sączenia, a następnie stężenie jonów Ni(II) w przesączu oznaczano metodą płomieniowej atomowej spektrometrii absorpcyjnej (FAAS) (spektrometr Varian AA240FS; długość fali 232,0 nm; prąd lampy 4 mA; szerokość szczeliny 0,2 nm; przepływ powietrze/acetylen

13,5/2 L/min). Na podstawie uzyskanych rezultatów obliczono ilość zaadsorbowanych jonów Ni(II) po czasie t , pojemność sorpcyjną oraz procent usuwania jonów Ni(II) (Tabela 1).

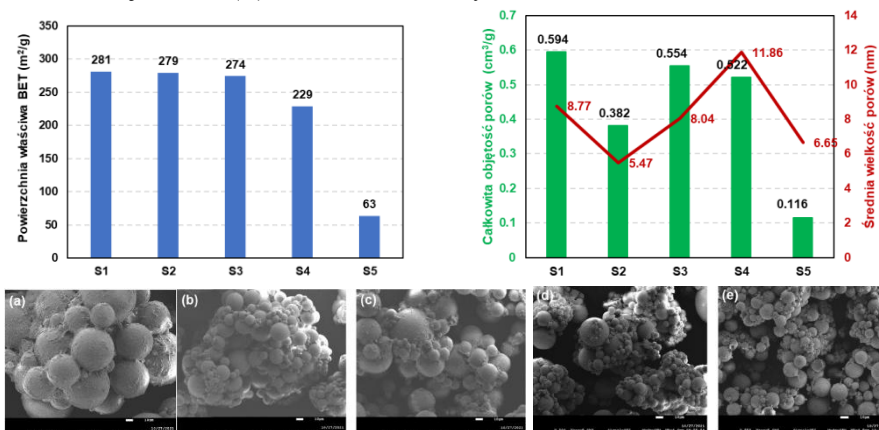
Tabela 1. Charakterystyka parametrów adsorpcyjnych obliczonych dla układów Ni(II)-S1-S5.

Parametr	Wzór	Numer równania
Ilość jonów Ni(II) zaadsorbowanych po czasie t , q_t (mg/g)	$q_t = \frac{(C_0 - C_t) \cdot V}{W}$	(1)
Pojemność sorpcyjna, q_e (mg/g)	$q_e = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{W}$	(2)
Procent usuwania jonów Ni(II), %R	$\%R = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \cdot 100\%$	(3)

gdzie: C_0, C_e – początkowe i równowagowe stężenie jonów Ni(II) w fazie wodnej (mg/L), C_t – stężenie jonów Ni(II) w fazie wodnej po czasie t (mg/L), V – objętość roztworu (mL), W – masa jonitu (g).

Do opisu równowagi adsorpcyjnej jonów Ni(II) na sorbentach S1-S5 wykorzystano liniowe formy modeli izoterm adsorpcji Freundlicha oraz Langmuira [18].

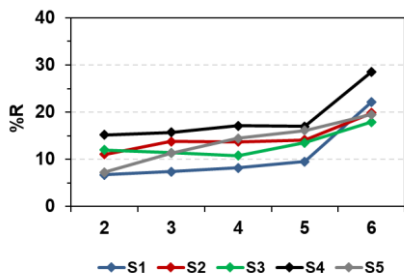
Wyniki: Otrzymano i scharakteryzowano nowe materiały hybrydowe zawierające ligninę (Rys. 2) zgodnie z procedurą opisaną w pracy [18], a następnie materiały te zastosowano do usuwania jonów Ni(II) z roztworów wodnych.



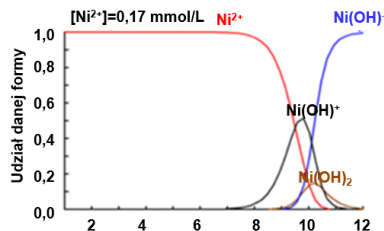
Rys. 2. Właściwości struktury porowatej mikrosfer polimerowych oraz ich obrazy SEM dla sorbentu S1 (a), S2 (b), S3 (c), S4 (d) i S5 (e) [18].

Zbadano wpływ pH w zakresie 2-8 (1 mol/L HCl, 1 mol/L NH₄OH) na proces sorpcji jonów Ni(II) celem wyznaczenia optymalnego pH. Rezultaty badań dla zakresu pH 4-8 przedstawiono na rys. 3. Jak wynika z przedstawionych danych sorpcja jonów Ni(II) zależy od pH, co ściśle związane jest z różnymi formami niklu jakie mogą tworzyć się w roztworze wodnym w zależności od pH (rys. 4). W badanych układach w pH silnie kwaśnym (2-3) efektywność usuwania jonów Ni(II) jest nieznaczna, natomiast obserwuje się nieznaczny wzrost adsorpcji wraz ze wzrostem pH w zakresie pH 4-7 dla wszystkich badanych sorbentów oraz najwyższe wartości %R przy pH 8. Sorbent S1 nie posiadający dodatku ligniny wykazywał z reguły najniższą skuteczność usuwania jonów Ni(II), natomiast sorbenty z dodatkiem ligniny wykazywały wyższą skuteczność adsorpcji w całym

badanym zakresie pH. Najwyższą efektywność sorpcji jonów Ni(II) zaobserwowano dla sorbentu S4 (%R w zakresie od 15,2-28,6%) z dodatkiem ZrO_2 i SiO_2 , które znacznie wzmacniły właściwości adsorpcyjne, a co za tym idzie funkcjonalność sorbentów S4 i S5.

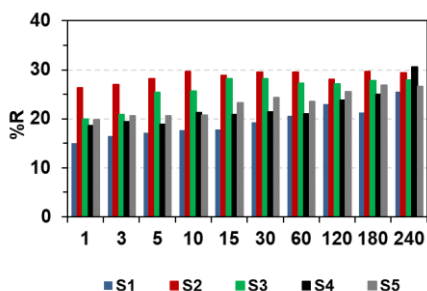


Rys. 3. Wpływ pH na wartość procentowego usunięcia jonów Ni(II) na sorbentach S1-S5.

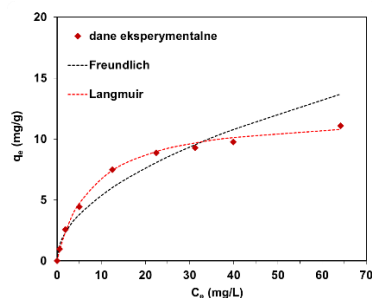


Rys. 4. Formy jonów Ni(II) w roztworze wodnym w zależności od pH.

Z przeprowadzonych badań wynika, iż adsorpcja jonów Ni(II) jest zależna od pH roztworu. Przy niższych wartościach pH, powierzchnia sorbentu jest naładowana dodatnio, co prowadzi do elektrostatycznego odpychania kationów Ni(II) oraz konkurencyjnej sorpcji z jonami H^+ i niższej adsorpcji. W miarę wzrostu pH oraz po przekroczeniu punktu ładunku zerowego ujemnie naładowana powierzchnia sorbentu sprzyja adsorpcji kationów metali. Zaobserwowany wzrost efektywności adsorpcji Ni(II) wraz ze wzrostem pH jest zgodny z doniesieniami literaturowymi. Optymalne pH procesu sorpcji jonów metali ciężkich dla większości sorbentów naturalnych znajduje się w zakresie 4-6 [10-11]. Jako optymalne pH do dalszych badań wybrano pH 5, natomiast pH 8 pomimo, iż %R jest tutaj najwyższy odrzucono z uwagi na możliwość strącania się wodorotlenku niklu zwłaszcza przy wyższych jego stężeniach [19]. Badania kinetyczne wykazały (Rys. 5), że ilość jonów Ni(II) zaadsorbowanych przy danym czasie t oraz %R rosną wraz ze wzrostem czasu kontaktu faz. Wartości q_t mieszczą się w przedziale od 1,07 mg/g do 2,18 mg/g dla sorbentów S1-S5. Wartości %R (dla $t=1$ min) rosną wraz ze wzrostem czasu kontaktu faz (%R dla $t=240$ min) odpowiednio o 10,5% dla S1, 3,1% dla S2, 8,0% dla S3, 12,1% dla S4 oraz 68,0% dla S5. Badania równowagowe pozwoliły na wyznaczenie maksymalnych pojemności sorpcyjnych S1-S5 względem jonów Ni(II), a szereg przydatności badanych sorbentów przedstawia się następująco: S2 (11,09 mg/g) > S5 (10,80 mg/g) > S1 (9,98 mg/g) > S3 (9,06 mg/g) > S4 (8,22 mg/g). Na podstawie obliczonych parametrów równowagowych dla modelu izotermi Freundlicha i Langmuira (Tabela 2), wykresów dopasowania (Rys. 6) oraz porównania wartości współczynników determinacji można stwierdzić, że wyższe wartości R^2 uzyskano dla modelu izotermi Langmuira (0,978-0,999), w porównaniu do izotermi Freundlicha (0,938-0,957). Wskazuje to, że model izotermi Langmuira najlepiej opisuje proces adsorpcji dla wszystkich sorbentów, a szczególnie dla S4 i S5 ($R^2=0,999$) oraz sugeruje powstawanie monowarstwy adsorbentu na powierzchni sorbentu.



Rys. 5. Wpływ czasu kontaktu faz na wartość procentowego usunięcia jonów Ni(II) na sorbentach S1-S5.



Rys. 6. Wykres dopasowania danych uzyskanych podczas sorpcji jonów Ni(II) na sorbencie S2 do izotermi Freundlicha i Langmuira.

Tabela 2. Zestawienie parametrów równowagowych obliczonych na podstawie modelu izotermi Langmuira i Freundlicha dla sorbentów S1-S5.

Parametry		S1	S2	S3	S4	S5
Freundlich	k_F ($\text{mg}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} / \text{g}$)	2,4	1,7	1,3	2,0	3,2
	$1/n$	0,380	0,227	0,121	0,296	0,502
	R^2	0,957	0,956	0,956	0,938	0,945
Langmuir	k_L (L/mg)	0,214	0,127	0,105	0,231	0,561
	Q_0 (mg/g)	11,0	12,1	10,2	8,8	11,1
	R^2	0,985	0,996	0,978	0,999	0,999

Wnioski: Wprowadzenie ligniny prowadzi z reguły do poprawy właściwości sorpcyjnych materiałów hybrydowych względem jonów Ni(II), ale sorpcja tych jonów nie jest ilościowa i zależy zarówno od pH roztworu, czasu kontaktu faz jak i początkowego stężenia jonów Ni(II) w roztworze.

Podziękowania: Praca powstała w ramach projektu „Improving teaching competencies in design of new generation biomaterials from wood waste”, Numer: 2024-1-PL01-KA220-HED-000246133 współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej: KA220-HED - Co-operation partnerships in higher education.

Literatura:

1. Renu, Madhu Agarwal, K. Singh, J. Water Reuse Desalin., 7 (2017) 387.
2. D. Kondej, Bezpieczeństwo Pracy: nauka i praktyka, 2 (2007) 25.
3. F. Fenglian, W. Qi, J. Environ. Manag., 92 (2011) 407.
4. Ł. Kłapiszewski, Wiadomości Chemiczne, 75 (2021) 1155.
5. C. Sanchez, B. Julián, P. Belleville, M. Popall, J. Mater. Chem., 15 (2005) 3559.
6. C. Sanchez, P. Belleville, M. Popall, L. Nicole, Chem. Soc. Rev., 40 (2011) 696.
7. K.E. Lee, N. Morad, T.T. Teng, B.T. Poh, Chem. Eng. J., 203 (2012) 370.
8. F. Ciesielczyk, P. Bartczak, Ł. Kłapiszewski, J. Hazard. Mater., 328 (2017) 150.
9. Ł. Kłapiszewski, K. Siwińska-Stefańska, D. Kołodyńska, Chem. Eng. J., 330 (2017) 518.
10. A. Gierke, R. Lebeda, Ochrona Środowiska, 1 (2001) 9.
11. A. Gala, S. Sanak-Rytlewska, Górnictwo i Geoinżynieria, 34 (2010) 49.
12. Ł. Kłapiszewski, P. Bartczak, M. Wysokowski i in. Chem. Eng. J., 260 (2015) 684.
13. F. Ciesielczyk, Ł. Kłapiszewski, K. Szwarz-Rzepka, T. Jesionowski, Adv. Powder Technol., 25 (2014) 695.
14. M. Wysokowski, Ł. Kłapiszewski, D. Moszyński i in., Mar. Drugs, 12 (2014) 2245.
15. X. Guo, S. Zhang, X. Shan, J. Hazard. Mater., 151 (2008) 134.
16. M.B. N'Gibian, M.T. Klačnja, M.G. Antor, Ecol., Eng. 37 (2011) 2092.
17. D. Mohan, C.U. Pittman, P.H. Steele, J. Colloid Interface Sci., 297 (2006) 489.
18. M. Wawrzekiewicz, B. Podkościelna, T. Jesionowski, Ł. Kłapiszewski, Ind. Crops Prod., 180 (2022) 114785.
19. A.E. Okoronkwo, S.J. Olusegun, Des. Water Treat., 51 (2013) 1989.

WŁAŚCIWOŚCI ADSORPCYJNO-AGREGACYJNE A WŁAŚCIWOŚCI ZWILŻAJĄCE WYBRANEGO SURFAKTANTU SILIKONOWEGO NA GRANICY FAZ Ti6Al4V-ROZTWÓR

K. WOJDAT¹, J. KRAWCZYK¹, J. KARASIEWICZ², ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Zjawisk Międzyfazowych, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, ²UAM, Wydział Chemii, Zakład Chemii i Technologii Związków Krzemu, Ul. Uniwersytetu Poznańskiego, 61-614 Poznań

Abstrakt: Modyfikacja powierzchni stopów tytanu w istotny sposób przyczyniła się do rozwoju medycyny i inżynierii tkankowej. Jednym z celów modyfikacji jest zmniejszenie adsorpcji bakterii na wszczepianym materiale, a tym samym zapobieganie zakażeniu organizmu. Można to osiągnąć modyfikując zwilżalność powierzchni biomateriału poprzez nanoszenie warstw adsorpcyjnych różnych związków. Do związków, które można nanosić jako warstwy powierzchniowe, należą surfaktanty. W tej grupie związków interesujące jest zastosowanie do modyfikacji powierzchni stopu tytanu surfaktantów siloksanowych, które są neutralne dla organizmu człowieka, często posiadają właściwości przeciwbakteryjne, a jednocześnie w znacznym stopniu mogą zmieniać właściwości hydrofilowo-hydrofobowe powierzchni.

Wprowadzenie: Surfaktanty siloksanowe należą do grupy surfaktantów silikonowych, a te należą do szerszej grupy – surfaktantów specjalnych. W surfaktantach specjalnych w łańcuchu hydrofobowym (tzw. ogonie) występują inne pierwiastki niż węgiel i wodór. W przypadku surfaktantów siloksanowych część hydrofobową stanowi metylenowa reszta siloksanu Si-O-Si. Wiązanie Si-O-Si jest bardzo elastyczne, dzięki czemu jego kąt może się zmieniać w zakresie 140-180°, co przekłada się na konformacje, jakie surfaktanty siloksanowe mogą przyjmować na granicy faz oraz gęstość ich upakowania. Dzięki temu surfaktanty siloksanowe mogą obniżać napięcie powierzchniowe wody do niższych wartości niż surfaktanty klasyczne. Szczególnie interesujące są trisiloksany, w których występujące grupy -CH₃ zorientowane są w kierunku powietrza w taki sposób, że ich ułożenie w przestrzeni kształtem przypomina parasolkę. Napięcie powierzchniowe ich wodnych roztworów może mieć bardzo wartości - zbliżone do ok. 20 mN/m [1,2,3].

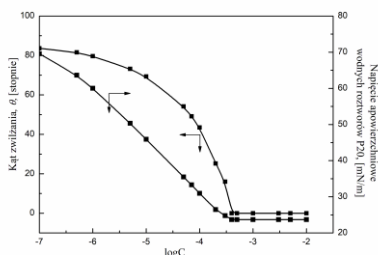
Surfaktanty charakteryzują się właściwościami adsorpcyjnymi oraz agregacyjnymi. Zjawisko adsorpcji surfaktantów na ciele stałym jest procesem złożonym. Może on być następstwem kilku procesów – tworzenia się wiązań wodorowych, oddziaływań kwasowo-zasadowych, oddziaływań dyspersyjnych Londona, adsorpcji na wskutek obecności elektronów π , wymiany jonowej pomiędzy jonami zlokalizowanymi na powierzchni ciała stałego a jonami surfaktantu oraz tworzenia się para jonowych między jonami obecnymi na powierzchni ciała stałego a jonami surfaktantu o przeciwnym ładunku. Adsorpcja surfaktantu może być również wynikiem wiązań hydrofobowych, które wynikają z tendencji ogonów surfaktantu do wzajemnego przyciągania się i niskiego powinowactwa do środowiska wodnego. Agregacja surfaktantów w roztworach nosi nazwę micelizacji. Proces micelizacji zachodzi spontanicznie po przekroczeniu krytycznego stężenia micelizacji

(CMC), które jest wartością charakterystyczną dla danego surfaktantu. CMC jest to stężenie, przy którym rozpoczyna się organizacja monomerów surfaktantów w strukturę miceli, a w roztworze dochodzi do ustalenia się równowagi dynamicznej między monomerami a agregatami [4,5]. Surfaktanty wykazują szereg właściwości użytkowych m.in. właściwości zwilżające, zmiękczające, piorące czy zdolność do hydrofobizacji powierzchni. Właściwości zwilżające cieczy związane są z jej zachowaniem w kontakcie z powierzchnią danego ciała stałego w trakcie procesu zwilżania. W zależności od sił międzycząsteczkowych, ciecz może zwilżać powierzchnię, wtedy cząsteczki cieczy są silnie przyciągane przez cząsteczki ciała stałego i dochodzi do jej rozplywania się, lub nie zwilżać, gdy siły przyciągania są słabe. W zależności od zdolności do zwilżania kropla cieczy może przyjmować różne kształty na powierzchni. W celu określenia właściwości zwilżających danego surfaktantu wykorzystuje się pomiary kąta zwilżania jego roztworów na danej powierzchni. Kąt zwilżania jest to kąt, jaki tworzy styczna do płaszczyzny ciała stałego i styczna do powierzchni kropli w punkcie trójfazowego kontaktu tj. punkcie styku trzech faz: ciało stałe, ciecz i gaz [6]. W medycynie najczęściej wykorzystuje się tytan oraz jego stop o niskiej zawartości włókien międzywęzłowych Ti6Al4V (ELI). Biokompatybilność tytanu i jego stopów wynika ze zdolności tytanu do pasywacji podczas kontaktu z powietrzem atmosferycznym. Dochodzi wtedy do wytworzenia się warstwy pasywacyjnej złożonej z tlenków tytanu, która nie pozwala na przedostawanie się jonów pierwiastków do środowiska, a także wpływa na odporność materiału na korozję. Modyfikacja powierzchni stopów tytanu ma na celu poprawę odporności korozyjnej oraz ograniczenie adhezji bakterii [7].

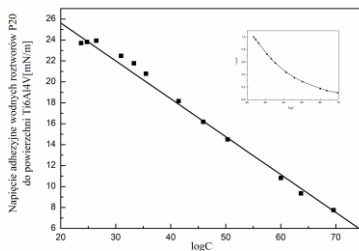
Część eksperymentalna: W ramach przeprowadzonych badań dokonano pomiaru kąta zwilżania wodnych roztworów surfaktantu siloksanowego (3-[3 (hydroksy)(polyetoxy)propyl]-1,1,1,3,5,5,5-heptametylotrisiloksan (P20), $M = 808.5 \text{ g/mol}$). Na początek przygotowano roztwór wyjściowy surfaktantu o stężeniu równym $1 \times 10^{-2} \text{ M}$. Następnie przygotowano roztwory o stężeniach w zakresie od $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ do $5 \times 10^{-3} \text{ M}$. Zmierzono kąt zwilżania tych roztworów na powierzchni odpowiednio przygotowanego stopu tytanu Ti6Al4V (ELI) [7] w temperaturze 293 K. Pomiary wykonano przy wykorzystaniu aparatu DSA30 (KRUSS).

Wyniki: Na podstawie przeprowadzonych pomiarów kąta zwilżania (θ) i napięcia powierzchniowego [8] wodnych roztworów wybranego surfaktantu silikonowego (P20) określono wpływ właściwości adsorpcyjnych i agregacyjnych badanego związku na jego właściwości zwilżające w układzie Ti6Al4V (ELI)/wodny roztwór P20. Z otrzymanych wartości kąta zwilżania oraz zmian tych wartości wraz ze stężeniem surfaktantu wynika, że dodatek P20 do wody korzystnie wpływa na proces zwilżania powierzchni Ti6Al4V (ELI) i wraz ze wzrostem stężenia badanego związku spada także wartość mierzonego kąta zwilżania (Rys.1). Ciekawym jest również, że w zakresie minimalnych wartości napięcia powierzchniowego roztworu kąt zwilżania na powierzchni stopu tytanu jest praktycznie równy zero, czyli obserwujemy całkowite zwilżanie badanego ciała stałego przez roztwór badanego surfaktantu. Niewątpliwie wynika to bardzo niskiej wartości minimalnej badanego roztworu tj. 23.7 mN/m (Rys.1). Wartość taka nie może być otrzymana przy zastosowaniu surfaktantów węglowodorowych. W przypadku klasycznych surfaktantów minimalne wartości napięcia powierzchniowego roztworu mieszają się w granicach 30 mN/m [4]. Tak niskie wartości napięcia powierzchniowego wodnych roztworów P20

wynikają z obecności grup $-CH_3$ na granicy faz woda-powietrze pochodzących z hydrofobowego łańcucha silikonowego [1]. Obszar minimalnego napięcia powierzchniowego badanych roztworów odpowiada także zakresowi stężenia surfaktantu, przy którym w roztworze powstają agregaty surfaktantów ($3 \times 10^{-4} M$) (CMC). Wartości minimalnego kąta zwilżania badanych roztworów na powierzchni Ti6Al4V zbiegają się z tym stężeniem. Podobnie jak w przypadku klasycznych surfaktantów węglowodorowych [4]. Następnie na podstawie otrzymanych wartości θ oraz wartości napięcia powierzchniowego badanych roztworów obliczono napięcie adhezyjne tych roztworów w układzie stop tytanu-roztwór [4] i wyznaczono jego zależność od napięcia powierzchniowego [Rys.2]. Okazało się, że otrzymaną zależność można opisać jedną linią prostą o współczynniku kierunkowym równym -0.36 . Biorąc pod uwagę tę wartość oraz równanie Lucassen-Reynders [4] można stwierdzić, że wielkość adsorpcji badanego surfaktantu na granicy faz Ti6Al4V-woda jest trzy razy mniejsza od tej na granicy faz woda-powietrze.

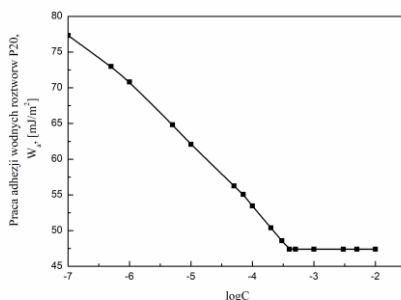


Rys. 1. Izotermiczne zmiany kąta zwilżania i napięcia powierzchniowego wodnych roztworów surfaktantu silikonowego (P20) w funkcji $\log C$.



Rys. 2. Zmiany wartości napięcia adhezyjnego wodnych roztworów surfaktantu silikonowego (P20) w układzie Ti6Al4V (ELI)/roztwór P20 w funkcji $\log C$.

Z kolei analizując zmiany obliczonych wartości pracy adhezji wodnych roztworów P20 stwierdzono, że wartość tego parametru maleje wraz ze wzrostem stężenia surfaktantu w roztworze. Potwierdza to wcześniejsze stwierdzenie, że dodatek P20 korzystnie wpływa na redukcję kąta zwilżania badanych roztworów na powierzchni Ti6Al4V. Tym samym poprzez adsorpcję badanego surfaktantu zmianie ulega także napięcie międzyfazowe na granicy faz woda-powietrze. Będzie to sprzyjało tworzeniu warstwy adsorpcyjnej surfaktantu na powierzchni Ti6Al4V, której właściwości będą zależały bezpośrednio od stężenia surfaktantu w roztworze.



Rys. 3. Zmiany wartości pracy adhezji (W_a) wodnych roztworów surfaktantu silikonowego (P20) do powierzchni Ti6Al4V (ELI).

Właściwości hydrofilowo-hydrofobowe powierzchni stopu tytanu ważne w aspekcie procesu adhezji bakterii na powierzchni również będą się zmieniały. Obecność warstewki adsorpcyjnej surfaktantu o właściwościach bakteriostatycznych i bakteriobójczych wpływa na biokompatybilność Ti6Al4V.

Wnioski: Wodne roztwory surfaktantu silikonowego P20 wykazują całkowitą zwilżalność w badanym układzie Ti6Al4V-roztwór. Zjawisko to zachodzi dzięki specyficznym właściwościom badanego trisiloksanu tj. bardzo niskiej wartości napięcia powierzchniowego oraz niskiej wartości CMC. Wpływ na ten proces mają także właściwości adsorpcyjne tworzącej się warstewki, co z kolei może przekładać się na działanie podnoszące biokompatybilność materiału.

Podziękowania: Badania finansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu LIDER XI, nr umowy LIDER/5/0011/LCies -11/19/NCBR/2020.

Literatura:

1. R. M. Hill, *Specialist Surfactants*, Blackie Academic & Professional, Londyn, 1997, 143.
2. E. G. Schwarz, W.G. Reid, *Ind. Eng. Chem.*, 56 (1964), 26.
3. Z. Huang, S. Zhang, H. Wang, R. Liu, C. Cheng, Z. Liu, Z. Guo, X. Yu, G. He, G. Ai, W. Fu, *J. Agric. Food Chem.*, 68 (2020), 11114.
4. Rosen M.J., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52 (1975), 431
5. O. Grabowska, P. Dywicki, L. Chmurzyński, *Wiadomości Chemiczne*, 74 (2020), 375.
6. E. T. Dutkiewicz, *Fizykochemia granic faz*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, 1998
7. J. Krawczyk, A. M. Gallardo-Moreno, M. L. Gonzalez-Martin, *Molecules*, 27 (2022), 170
8. J. Karasiewicz, J. Krawczyk, *Molecules*, 25 (2020), 5669

OCENA EFEKTYWNOŚCI ZAAWANSOWANYCH PROCESÓW UTLENIANIA Z WYKORZYSTANIEM AKTYWOWANEGO KWASU PEROKSYOCTOWEGO W USUWANIU MIKROPLASTIKU ZE ŚRODOWISKA WODNEGO

P. ZAWIŚLAK^{1,2}, J. KAPELEWSKA², U. KOTOWSKA², ¹Uniwersytet w Białymstoku, Szkoła Doktorska Uniwersytetu w Białymstoku, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245, Białystok, ²Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245, Białystok

Abstrakt: Mikroplastik (MPs), będący wszechobecnym zanieczyszczeniem w środowisku wodnym, stanowi poważne zagrożenie ekologiczne i zdrowotne. Zdolność mikroplastiku do adsorpcji zanieczyszczeń organicznych zwiększa ich potencjał do przenoszenia toksyn w łańcuchu pokarmowym. Konwencjonalne metody oczyszczania ścieków nie zawsze są w stanie zatrzymać wszystkie cząstki plastiku, które wraz ze ściekami trafiają do wód powierzchniowych i gleby. W niniejszej pracy przedstawiono wykorzystanie zaawansowanych procesów utleniania (ang. *Advanced Oxidation Processes, AOPs*) do modyfikacji powierzchni wybranych frakcji mikrocząstek polistyrenu (PS). Jako utleniacz wykorzystano kwas peroksyoctowy aktywowany żelazem (III) oraz światłem UV (254 nm). Otrzymane wyniki potwierdzają zmiany strukturalne na powierzchni wybranego mikroplastiku.

Wprowadzenie: Świat stoi w obliczu szybkiego wzrostu produkcji tworzyw sztucznych. W roku 2023 osiągnęła ona wartość 413,8 milionów ton, z czego w Europie wyprodukowano 54 miliona ton tworzyw polimerowych [1]. Mikroplastik (MPs) definiowany jako heterogeniczna mieszanina różnego kształtu materiałów w postaci fragmentów, włókien, elipsoid, granulek, śrutu, płatków o wielkości w zakresie od 0,1 μm do 5 mm, stanowi poważne zagrożenie ekologiczne i zdrowotne głównie ze względu na ich trwałość, zdolność do adsorpcji zanieczyszczeń oraz potencjalną toksyczność ich dodatków chemicznych [2]. Środowiskowe tworzywa sztuczne, w zależności od ich pochodzenia klasyfikuje się na pierwotne i wtórne. Pierwotne źródła mikroplastiku obejmują m.in. proszki i mikrogranulaty polimerowe wykorzystywane do określonych zastosowań, głównie w kosmetykach, środkach czystości czy przemyśle. Powszechne użycie pierwotnych mikroplastików prowadzi do znacznego uwalniania ich do środowiska poprzez odpady komunalne. Wtórne MPs obejmują tworzywa sztuczne powstałe w wyniku działania światła UV, destrukcji mechanicznej i procesów atmosferycznych na większe fragmenty plastiku, które następnie rozpadają się na drobne cząstki i mikroplastiki [3, 4]. MPs najczęściej występujące w ekosystemach wodnych to polistyren (PS), polietylen (PE), polipropylen (PP) pochodzące z opakowań, folii, produktów jednorazowego użytku, polichlorek winylu (PVC) stosowany do produkcji w rur i kabli, jak również poliestry i poliamidy pochodzące głównie z tekstyliów syntetycznych [5, 6]. Ze względu na ogromne, powszechne wykorzystanie materiałów plastikowych w różnych działaniach ludzkich i branżach przemysłowych, w ostatnich latach ogromne ilości plastiku zostały bezpośrednio lub pośrednio uwolnione do zbiorników wodnych, przy czym ponad 80% z tych odpadów pochodziło

z łądów. Tworzywa sztuczne obecne w środowisku mogą być wykorzystywane przez mikroorganizmy jako źródło węgla niezbędnego do ich procesów metabolicznych. Fragmenty mikroplastików, skolonizowane przez bakterie, grzyby lub glony, łatwo przedostają się do wyższych ogniw łańcucha pokarmowego. Wraz z nimi do organizmów mogą trafiać chemiczne dodatki stosowane w produkcji plastiku, takie jak plastyfikatory, uniepalniacze, barwniki czy przemysłowe filtry UV [3]. Chropowata powierzchnia mikroplastiku, pokryta biofilmem, pełni dodatkowo funkcję nośnika zanieczyszczeń środowiskowych, w tym jonów metali ciężkich oraz związków organicznych, takich jak antybiotyki, leki, sterydy, hormony czy przemysłowe dodatki. Dzięki temu mikrocząstki działają jak gąbka, gromadząc szkodliwe substancje, które mogą być transportowane wraz z ich fragmentami na znaczne odległości. W rezultacie MPs przenosi zanieczyszczenia nawet do obszarów nietkniętych działalnością człowieka, zwiększając ich zasięg i potencjalne zagrożenie dla odległych ekosystemów [7]. Tradycyjne metody usuwania mikrocząstek, takie jak procesy mechaniczne i biologiczne, są ograniczone przez niską skuteczność w eliminacji najmniejszych frakcji. W ostatnich latach zaawansowane procesy utleniania (ang. *Advanced Oxidation Processes, AOPs*) wykazały dużą skuteczność w degradacji MPs i ich dodatków. Ich działanie opiera się na generowaniu rodników hydroksylowych ($\text{OH}^\bullet$), które są jednymi z najsilniejszych utleniaczy. Rodniki te reagują z szeroką gamą zanieczyszczeń, prowadząc do ich całkowitego rozkładu na nieszkodliwe związki, takie jak dwutlenek węgla, woda oraz proste jony nieorganiczne [8]. Wśród najczęściej stosowanych metod zaawansowanego utleniania można wyróżnić kilka głównych grup [9]:

- procesy fotochemiczne wykorzystujące promieniowanie UV ($\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$; UV/O_3 ; fotoliza UV, foto-Fenton);
- procesy chemiczne oparte na reakcjach utleniania (reakcja Fentona, $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$; mokre utlenianie powietrzem, utlenianie w warunkach nadkrytycznych);
- metody elektrochemiczne (elektro-Fenton);
- procesy plazmowe oraz ultradźwiękowe.

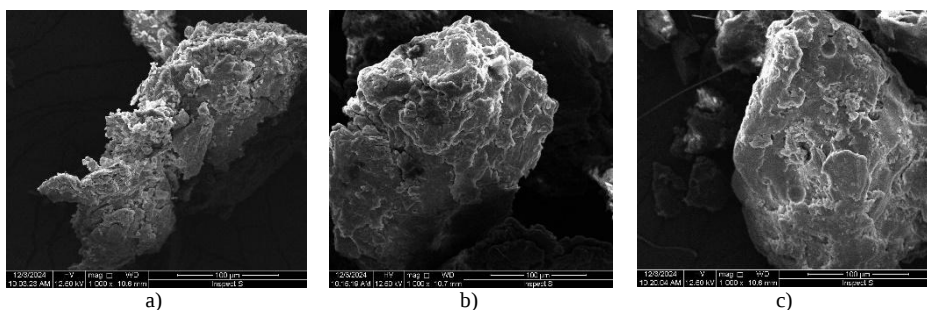
Wpływ parametrów, takich jak pH, temperatura oraz rodzaj katalizatora, ma kluczowe znaczenie dla efektywności tych procesów. Kwas peroksyoctowy (PAA) jest organicznym nadtlenowym związkiem chemicznym, który znajduje szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, opiece zdrowotnej i przemyśle tekstylnym jako środek dezynfekujący i jest uważany za jedną z najbardziej obiecujących alternatyw dla środków dezynfekujących na bazie chloru. Jest dostępny w postaci stabilizowanego roztworu równowagowego, zawierającego kwas nadooctowy, nadtlenek wodoru, kwas octowy i wodę. PAA charakteryzuje się wysokim potencjałem utleniającym, wynoszącym pomiędzy 1,06 a 1,96 V, co czyni go skutecznym utleniaczem [10]. Kwas peroksyoctowy jest wykorzystywany w procesach zaawansowanego utleniania (AOP) do usuwania trudnych do biodegradacji zanieczyszczeń organicznych. W połączeniu z innymi utleniaczami, generuje w odpowiednich warunkach wysoce reaktywne rodniki ($\text{OH}^\bullet$) i ($\text{CH}_3\text{COO}^\bullet$), które skutecznie rozkładają złożone związki organiczne na prostsze, mniej szkodliwe substancje. Procesy te są szczególnie efektywne w oczyszczaniu ścieków przemysłowych oraz wód zawierających toksyczne lub trudno rozkładalne zanieczyszczenia. Dodatkowo, zastosowanie kwasu peroksyoctowego może poprawić efektywność biologicznego oczyszczania ścieków poprzez zwiększenie biodegradowalności zanieczyszczeń [5]. Zaawansowane procesy utleniania z wykorzystaniem silnych utleniaczy takich jak PAA charakteryzują się wysoką skutecznością w degradacji mikrozanieczyszczeń. Ich dużą zaletą jest brak wtórnych odpadów,

ponieważ produkty końcowe reakcji to głównie dwutlenek węgla i woda. Ponadto technologie te można z powodzeniem łączyć z innymi metodami oczyszczania, co zwiększa ich efektywność w trudnych warunkach [10,11].

Celem przedstawionych badań była ocena skutków działania PAA aktywowanego żelazem (III) oraz światłem UV na mikrocząstki PS obecne w wodzie.

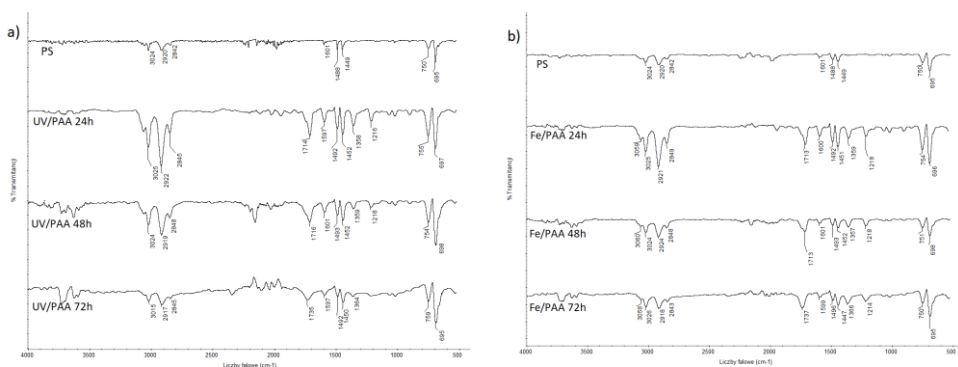
Część eksperymentalna: Utlenianiu poddano roztwór wodny zawierający 100 mg ekspandowanego polistyrenu (PS). Proces utleniania został zapoczątkowany poprzez dodanie odpowiedniej ilości kwasu peroksyoctowego ($[PAA]_0 = 97,5 \text{ mmol/L}$) i naświetlanie powstałej mieszaniny promieniowaniem ultrafioletowym o długości fali 254 nm lub poprzez wprowadzenie jonów żelaza(III) w stężeniu 9,75 mmol/L. Reakcję prowadzono przez 24h, 48h i 72h każdorazowo sącząc i dodając nową porcję utleniacza i aktywatora. PS po utlenianiu suszono przez 24h a następnie poddawano badaniom z użyciem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) oraz spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera z przystawką ATR (ATR FTIR).

Wyniki: Po upływie 72h kontaktu z układami utleniającymi zaobserwowano zmiany powierzchni mikroplastiku w porównaniu z materiałem nie poddawany reakcji. Po kontakcie z układem UV/PAA mikrocząstki PS zmieniły kolor z białego na jasnożółty. W przypadku obu układów utleniających zaobserwowano zwiększenie polarności materiału co objawiało się tworzeniem zawiesiny w wodzie. Badania techniką SEM wykazały, że powierzchnia PS po utlenianiu PAA aktywowanym Fe^{3+} stała się bardziej gładka poza tym nie zaobserwowano znaczących różnic (Rys. 1).



Rys. 1. Obrazy z mikroskopu SEM mikrocząstek PS zarejestrowane przed utlenieniem a), po 72h utleniania w układzie UV/PAA b) oraz po 72h utleniania w układzie Fe^{3+} /PAA c).

Natomiast w widmach FTIR uzyskanych po działaniu UV/PAA oraz Fe^{3+} /PAA na PS pojawiły się nowe sygnały analityczne przy długościach fali 1710-1740 cm^{-1} (drgania rozciągające grup karbonylowych (C=O)) oraz 1200-1220 cm^{-1} (drgania rozciągające grup karbonylowych i hydroksylowych), które potwierdzają zwiększenie polarności powierzchni (Rys. 2).



Rys. 2. Widma FTIR mikrocząstek PS zarejestrowane przed utlenianiem oraz po 24, 48 i 72 godzinach utleniania w układach UV/PAA a) i Fe³⁺/PAA b).

Wnioski: Działanie na mikrocząstki PS roztworem PAA aktywowanym światłem UV lub jonami Fe³⁺ wywołuje modyfikację powierzchni badanego materiału, która polega przede wszystkim na zwiększeniu polarności.

Podziękowanie: Praca powstała w ramach realizacji projektu badawczego finansowanego w ramach konkursu NCN Opus 26 (UMO-2023/51/B/ST10/00157).

Literatura:

1. plasticseurope.org dostęp 27.02.2025
2. K. Samsonowska, Mikroplastik w środowisku naturalnym. Polimery, 67 (2022) 28.
3. K. Rizwan, Environmental Science and Pollution Research, 29 (2022) 86933.
4. A. I. Osman, Environmental Chemistry Letters, 21 (2023) 2129.
5. I. J. Kingsley, Chemical Papers, 77 (2023) 657.
6. A.S. Shafiuddin Ahmed, Science of the Total Environment, 876 (2023) 162414
7. S. Santana-Viera, Trends in Environmental Analytical Chemistry, 29 (2021) 00114
8. X. Wang, Chemosphere, 346 (2024) 140636
9. T. Jamil, Desalination and Water Treatment, 318 (2024) 100387
10. Ch. Shi, Water, 14 (2022) 2309
11. T. Luukkonen, Water Research, 85 (2015) 275.

SORPCJA JONÓW METALI SZLACHETNYCH Z WYKORZYSTANIEM SORBENTA IMPREGNOWANEGO

K. ZINKOWSKA, Z. HUBICKI, G. WÓJCIK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Naturalne zasoby metali szlachetnych maleją z roku na rok ze względu na ich bardzo intensywne wykorzystywanie w różnych dziedzinach. Z tego powodu bardzo istotny staje się recykling tych metali. Doskonałą metodą odzysku metali szlachetnych jest sorpcja ich jonów na sorbentach impregnowanych. W poniższej pracy przedstawiono badania nad możliwością sorpcji jonów Au(III), Pd(II), Pt(IV), Rh(III) na dwóch sorbentach impregnowanych fosforanem tri-n-butylu w różnym stosunku wagowym (1:2 oraz 1:3). Impregnację przeprowadzono za pomocą nowej metody, która nie wymaga użycia toksycznych rozpuszczalników organicznych. Wykazano, że przygotowane sorbenty są selektywne jedynie względem jonów Au(III). Zbadano wpływ kontaktu faz i obecności makroskładnika w postaci jonów Cu(II) na efektywność sorpcji jonów Au(III) z 6 M roztworu HCl, a także możliwość ponownego wykorzystania sorbentów poprzez badania desorpcji jonów Au(III) przy użyciu 1 M tiomocznika w 1 M HCl.

Wprowadzenie: Metale szlachetne posiadają cenne właściwości, dzięki czemu znajdują tak szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach życia. Płatyna, pallad oraz rod odznaczają się świetnymi właściwościami katalitycznymi, dzięki czemu wykorzystywane są w produkcji konwerterów spalin samochodowych. Płatyna jest używana w medycynie, zarówno do pokrywania sprzętu medycznego, jak i do produkcji leków przeciwnowotworowych. Pallad jest szeroko stosowany w stomatologii. Ponadto, metale szlachetne, ale głównie złoto wykorzystuje się do produkcji różnego rodzaju elektroniki [1]. Z tego powodu odzysk metali szlachetnych z surowców wtórnych z upływem czasu staje się coraz ważniejszą kwestią. Ze względu na ubożące zasoby naturalne metali szlachetnych, a także ich intensywne wykorzystywanie w coraz to nowych gałęziach przemysłu dokłada się wszelkich starań, aby poszukiwać metod ich recyklingu. Cenne źródło metali szlachetnych stanowi zużyty sprzęt elektryczny i elektroniczny (ZSEE), w którym zawartość tych metali może niejednokrotnie przekraczać ilości, które można znaleźć w pierwotnych źródłach. Według literatury z 6000 sztuk telefonów komórkowych możliwe jest uzyskanie około 3,5 kg srebra, 300-350 g złota oraz 140 g palladu [2]. Jednakże wciąż poszukuje się efektywnych, tanich, a przy tym przyjaznych środowisku metod odzysku metali szlachetnych. Jednymi z najbardziej obiecujących metod są metody hydrometalurgiczne, polegające na wylugowywaniu pożądanych pierwiastków z surowców wtórnych za pomocą roztworów kwasów i zasad [3]. Najczęściej używanymi w tym celu odczynnikami są m.in. HCl, HNO₃, H₂SO₄ czy też woda królewska. Roztwory po lugowaniu zawierają również jony innych pierwiastków, takich jak: miedź, nikiel, żelazo, glin czy cynk, których stężenie znacznie przekracza stężenie metali szlachetnych [4]. Dlatego wybrane metody separacji muszą być wyjątkowo selektywne względem jonów pożądanych metali. W tym celu wykorzystuje się m.in. strącanie, ekstrakcję rozpuszczalnikową, wymianę jonową czy adsorpcję na materiałach porowatych [5]. W ostatnich latach coraz większą uwagę poświęca

się sorpcji jonów metali szlachetnych na sorbentach impregnowanych. Sorbenty impregnowane łączą w sobie zalety zarówno wymiany jonowej, jak i ekstrakcji ciecz-ciecz. Mezoporowatą matrycę polimerową impregnuje się wybranym ekstrahentem selektywnym względem jonów metali szlachetnych [6]. Opisane w tej pracy badania dotyczą sorbenta Amberlite XAD-16, który został zaimpregnowany fosforanem tri-n-butyłu (TBP) – ekstrahentem wykorzystywanym do odzysku Au(III) w ekstrakcji rozpuszczalnikowej. Przygotowano dwa sorbenty impregnowane o różnym stosunku wagowym za pomocą nowej metody impregnacji bez użycia toksycznych rozpuszczalników organicznych.

Część eksperymentalna: Do badań sorpcji jonów metali szlachetnych użyto makroporowatej żywicy polimerowej o nazwie handlowej Amberlite XAD-16 Wybraną matrycę zaimpregnowano nową metodą z użyciem TBP – fosforanu tri-n-butyłu. W tym celu wymieszano bezpośrednio sorbent oraz ekstrahent, który wcześniej został ogrzany do ok. 70°C. Przygotowano dwa sorbenty impregnowane w stosunku wagowym sorbenta do ekstrahenta 1:2 oraz 1:3. Po impregnacji pozostawiono je do wysuszenia w temperaturze pokojowej na 24 h. Otrzymane materiały wykorzystano do badań nad sorpcją jonów Au(III), Pd(II), Pt(IV), Rh(III) (10 ppm każdego z pierwiastków) z roztworów HCl o stężeniu 6 M w obecności i bez makroskładnika, którym były jony Cu(II) o stężeniu 1000 ppm. Do przeprowadzenia sorpcji odważono 0,4 g sorbenta impregnowanego, który skontaktowano z 100 cm³ chlorkowego roztworu metali szlachetnych. Zbadano wpływ czasu kontaktu faz po 1, 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 1440 minutach oraz możliwość sorpcji jonów metali szlachetnych z układu bez makroskładnika, jak i z jego zawartością. Po procesie sorpcji przeprowadzono również desorpcję zasorbowanych jonów przy użyciu 1 M roztworu tiomocznika w 1 M roztworze HCl. W tym celu 0,4 g sorbenta po sorpcji skontaktowano z 100 cm³ roztworu desorbującego i wytrząsano na wytrząsarce laboratoryjnej przez 24 h. Stężenia jonów metali oznaczano za pomocą optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES).

Współczynnik wydzielania jonów metali został obliczony na podstawie równania: gdzie: %R – współczynnik wydzielania jonów metali szlachetnych; C₀ – stężenie początkowe jonów metali (ppm); C_t – stężenie jonów metali po czasie t (ppm).

$$\%R = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \cdot 100\%$$

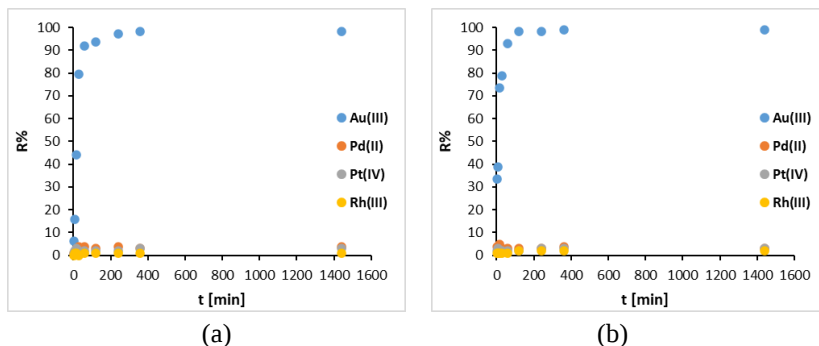
Procent desorpcji został obliczony na podstawie poniższego równania:

$$\%D = \frac{C_d}{C_0 - C_t} \cdot 100\%$$

gdzie: %D – procent desorpcji; C_d – stężenie zdesorbowanych jonów metali (ppm); C₀ – stężenie początkowe jonów metali (ppm); C_t – stężenie jonów metali po czasie t (ppm).

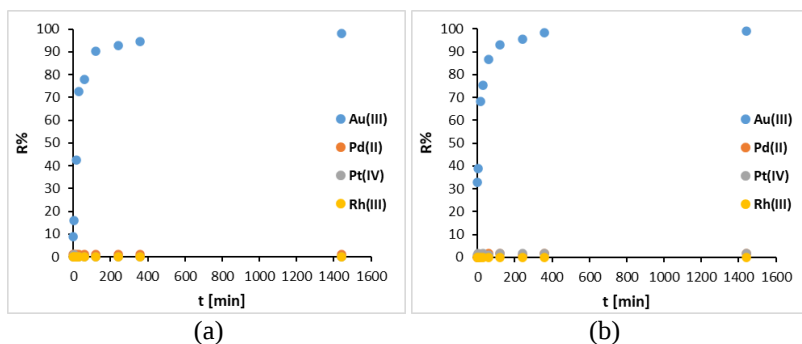
Wyniki: Na wykresie widocznym na rys. 1 przedstawiono zależność współczynnika wydzielania jonów metali szlachetnych od czasu, w jakim sorbent i roztwór były ze sobą w kontakcie. Przygotowane sorbenty okazały się selektywne tylko względem jonów Au(III). Pozostałe jony metali: Pd(II), Pt(IV), Rh(III) nie były sorbowane niezależnie od czasu kontaktu faz. Po 15 minutach na sorbencie Amberlite XAD-16 : TBP (1:2) zostało zasorbowane około 44,2% wszystkich jonów Au(III). W przypadku sorbenta o większej ilości TBP w porach sorpcja jonów Au(III) przebiegała szybciej – po 15 minutach około

73,4% wszystkich jonów zostało usunięte z roztworu. Po 24 godzinach współczynnik wydzielania jonów Au(III) dla sorbenta Amberlite XAD-16 : TBP (1:2) wyniósł 98,2%, natomiast dla sorbenta Amberlite XAD-16 : TBP (1:3) – 99,1%.



Rys. 1. Wykresy zależności współczynnika wydzielania jonów od czasu kontaktu faz w układzie bez makroskładnika dla: (a) Amberlite XAD-16 : TBP (1:2); (b) Amberlite XAD-16 : TBP (1:3).

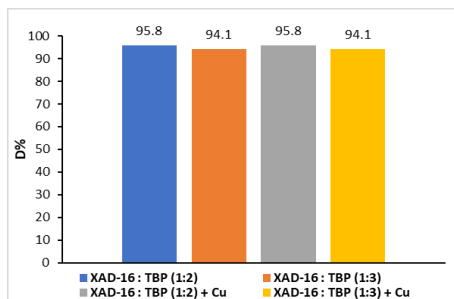
Na rys. 2 przedstawiono zależność współczynnika wydzielania jonów metali szlachetnych od czasu kontaktu faz w układzie zawierającym makroskładnik w postaci jonów Cu(II). Pomimo znacznie wyższego stężenia makroskładnika w układzie sorpcyjnym, jony Cu(II) nie były sorbowane na żadnym z przygotowanych sorbentów. Ponadto obecność makroskładnika nie wpływała na ilość zasorbowanych jonów Au(III). Sorpcja tych jonów następowała nieznacznie wolniej w obecności jonów Cu(II) – po 15 minutach współczynnik wydzielania jonów Au(III) wyniósł 42,4% dla Amberlite XAD-16 : TBP (1:2) oraz 68,1% dla Amberlite XAD-16 : TBP (1:3). Jednakże po 24 h współczynniki wydzielania jonów Au(III) dla obydwu sorbentów były takie same jak w układzie, który nie zawierał jonów miedzi – 98,2% (1:2) oraz 99,1% (1:3).



Rys. 2. Wykresy zależności współczynnika wydzielania jonów od czasu kontaktu faz w układzie z makroskładnikiem dla: (a) Amberlite XAD-16 : TBP (1:2); (b) Amberlite XAD-16 : TBP (1:3).

Jak widać na rys. 3 jony Au(III) są efektywnie usuwane zarówno z sorbentów używanych w układzie bez, jak i z zawartością makroskładnika. Wyniki desorpcji były takie same, mimo obecności jonów Cu(II). Po 24 h procenty desorpcji wynosiły 95,8% w przypadku

sorbenta przygotowanego w stosunku 1:2 oraz 94.1% w przypadku sorbenta przygotowanego w stosunku 1:3. To udowadnia możliwość ponownego wykorzystania sorbentów Amberlite XAD-16 : TBP (1:2 oraz 1:3).



Rys. 3. Procenty desorpcji jonów Au(III) z sorbentów Amberlite XAD-16 : TBP (1:2 oraz 1:3).

Wnioski: Na podstawie wyników badań, można stwierdzić, że obecność makroskładnika w postaci jonów Cu(II) nie wpływa na efektywność sorpcji jonów Au(III) na przygotowanych sorbentach. Ilość zasorbowanych i zdesorbowanych jonów Au(III) była taka sama w przypadku obydwu układów sorpcyjnych. Sorbenty impregnowane Amberlite XAD-16 : TBP (1:2 i 1:3) mogą być użyteczne przy procesie odzysku jonów Au(III), jednocześnie skutecznie separując inne jony metali, które pozostają w roztworze.

Literatura:

1. M. Grehl, *Precious Metals Handbook*, Umicore AG, Hanau-Wolfgang 2012.
2. A. Cieszyńska, *Towarozn. Problemy Jakości*, 4 (2016) 43.
3. J. Cui, L. Zhang, *J. Hazard. Mater.*, 158 (2008), 228.
4. U. Jadhav, H. Hocheng, *Sci. Rep.*, 5 (2015) 14574.
5. A. Tancuk, V. Stazi, A. Akcil, E.Y. Yazici, H. Deveci, *Miner. Eng.*, 25 (2012) 28.
6. S. Batra, A. Awasthi, M. Iqbal, D. Datta, *Rev. Chem. Eng.*, 38 (2020) 209.

SORPCJA JONÓW Cd(II) NA POWIERZCHNI BIEWĘGLI MODYFIKOWANYCH SUBSTANCJAMI ŻELUJĄCYMI W OBECNOŚCI KONKURENCYJNYCH JONÓW METALI

S. GUSTAW, D. KOŁODYŃSKA, UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Uzyskany został nanokompozyt (SAGXA#BC) na bazie biowęgla zmodyfikowanego substancjami żelującymi tj. agar, alginian sodu oraz gumą ksantanową w celu polepszenia procesu sorpcji jonów kadmu(II) z roztworów wodnych. Dodatkowo skuteczność procesu sorpcji jonów kadmu(II) zbadano w obecności jonów metali konkurencyjnych takich jak jony niklu(II), kobaltu(II) i żelaza(III).

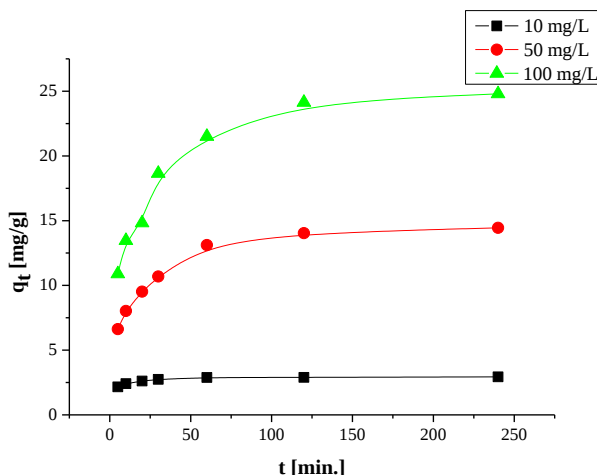
Wprowadzenie: Współczesny świat zmaga się z poważnym problemem środowiskowym, jakim jest skażenie środowiska toksycznymi, nieorganicznymi jonami metali ciężkich. Przyczyną tego zjawiska jest działalność człowieka, a w głównej mierze górnictwo, przemysł oraz rolnictwo. Kadm jest pierwiastkiem, który posiada działanie toksyczne na organizmy żywe, a do tego cechuje się łatwym wchłanianiem i bioakumulacją. Najbardziej szkodzi organom, w których gromadzi się w największych ilościach tj. kościach, wątrobie i nerkach [1]. Wykorzystanie nanokompozytów na bazie biowęgla okazuje się być skutecznym rozwiązaniem w procesie sorpcji tego rodzaju jonów z roztworów wodnych. Modyfikowanie biowęgla substancjami żelującymi posiada liczne zalety do których należy zaliczyć: zapewnienie większej wytrzymałości mechanicznej materiału oraz wprowadzenie nowych grup funkcyjnych zapewniających wysoką wydajność sorpcji jonów metali. Substancje żelujące wykorzystywane są na co dzień w przemyśle spożywczym i cechuje je całkowita biodegradowalność, co oznacza, że ulegają naturalnemu rozkładowi pod wpływem mikroorganizmów, nie pozostawiając toksycznych substancji w środowisku [2,3].

Część eksperymentalna: W badaniach został wykorzystany kompozyt na bazie biowęgla modyfikowany substancjami żelującymi: agar, alginian sodu i gumą ksantanową (SAGXA#BC). Biowęgiel mielono w młynku przez 2 min. Odważono 0,375 g gumy agar, 0,250 g gumy ksantanowej, 0,250 g alginianu sodu i odpowiednią ilość zmielonego biowęgla. Do zlewki 100 ml wlewo 50 ml wody destylowanej. W kolejnym kroku dodano odważone substancje żelujące i mieszano w temperaturze 373 K przez 60 min. Szybkość mieszania była równa 700 obrotów/min. Do zlewki dodano odważoną porcję biowęgla i mieszano z zachowaniem wcześniejszych warunków procesu przez 1 h. Uzyskaną mieszaninę wdroplono do 5% roztworu CaCl_2 za pomocą pompy perystaltycznej. Pozostawiono na 24 h. Usieciowany polimer przemyto wodą destylowaną, aż do usunięcia resztkowych jonów Cl^- . Otrzymany materiał suszono na powietrzu przez 48 h. Efektywność procesu sorpcji jonów kadmu(II) zbadano przez zmierzenie stężenia w/w jonów w roztworach przed i po procesie sorpcji za pomocą optycznego spektrometru emisyjnego (ICP-OES 720 ES, Varian). Ilość zaadsorbowanych jonów (q_t) obliczono ze wzoru:

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m}$$

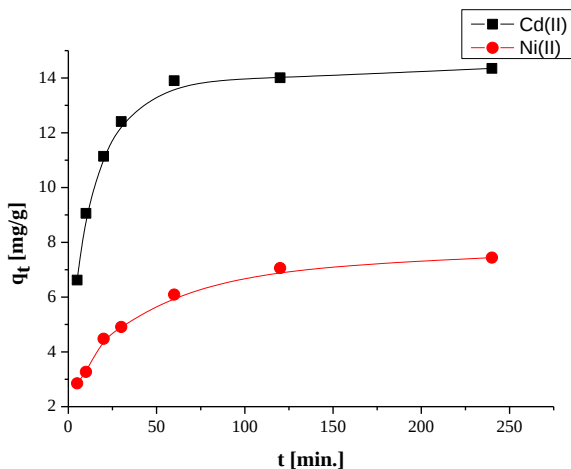
gdzie: C_t to stężenie roztworu po czasie t , C_0 to początkowe stężenie roztworu (mg/L), (mg/L), m to masa sorbentu (g), V to objętość roztworu (L).

Wyniki: Na rysunku 1 przedstawiono wpływ czasu kontaktu faz na efektywność procesu sorpcji jonów Cd(II) na powierzchni modyfikowanego biowęgla (SAGXA#BC).



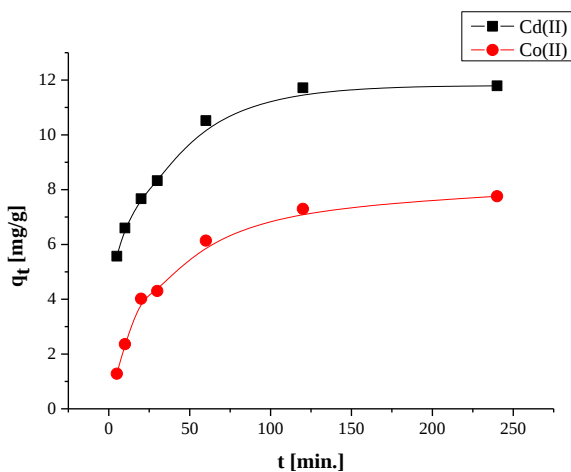
Rys.1. Wpływ czasu kontaktu faz na efektywność procesu sorpcji jonów Cd(II) na SAGXA#BC modyfikowanego dla stężeń 10, 50, 100 mg/L i pH 6.

Ze względu na wysoką wydajność procesu sorpcji na powierzchni biowęgla modyfikowanego (SAGXA#BC) najniższym stężeniem dla danej masy sorbentu, przy którym można zauważyć optymalny przebieg procesu sorpcji jest stężenie 100 mg/L. Rysunek 2 przedstawia wyniki wpływu konkurencyjnej adsorpcji jonów Cd(II) i Ni(II) na powierzchni biowęgla modyfikowanego (SAGXA#BC). Stężenie całkowite 100 mg/L.



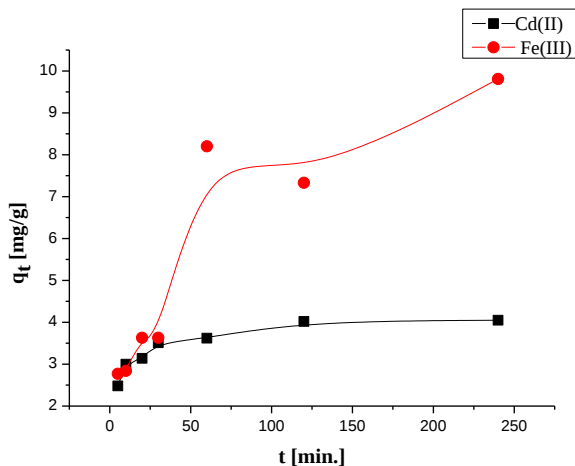
Rys.2. Wpływ obecności jonów Ni(II) na efektywność procesu sorpcji jonów Cd(II) na SAGXA#BC dla stężeń każdego z jonów po 50 mg/L i pH 6.

Obecność jonów Ni(II) nie wpływa znacząco na wydajność procesu sorpcji jonów Cd(II), co świadczy o selektywności sorpcji modyfikowanego biowęgla (SAGXA#BC) w stosunku do jonów kadmu(II). Rysunek 3 przedstawia wyniki wpływu konkurencyjnej adsorpcji jonów Cd(II) i Co(II) na powierzchni modyfikowanego biowęgla (SAGXA#BC).



Rys.3. Wpływ obecności jonów Co(II) na efektywność procesu sorpcji jonów Cd(II) na SAGXA#BC dla stężeń każdego z jonów po 50 mg/L i pH 6.

Obecność jonów Co(II) ma niewielki wpływ na obniżenie wydajności procesu sorpcji jonów Cd(II) na modyfikowanym biowęgla (SAGXA#BC). Rysunek 4 przedstawia wyniki wpływu konkurencyjnej adsorpcji jonów Cd(II) i Fe(III) na powierzchni modyfikowanego biowęgla (SAGXA#BC).



Rys.4. Wpływ obecności jonów Fe(III) na efektywność procesu sorpcji jonów Cd(II) na SAGXA#BC dla stężeń każdego z jonów po 50 mg/L i pH 6.

Obecność jonów Fe(III) ma znaczący wpływ na wydajność procesu sorpcji jonów Cd(II) na biowęglu modyfikowanym (SAGXA#BC). Przyczyną tego zjawiska wyższy stopień utlenienia jonów Fe(III) w porównaniu do jonów Cd(II), przez co zajmuje on wyższe powinowactwo do miejsc aktywnych na powierzchni modyfikowanego biowęglu. W wyniku tego mniejsza ich ilość jest dostępna dla jonów Cd(II).

Wnioski: Badania wykazały, że biowęgiel zmodyfikowany substancjami żelującymi SAGXA#BC może być skutecznie wykorzystywany jako sorbent do usuwania jonów Cd(II) z wód, nawet w obecności jonów konkurencyjnych tj. Ni(II), Co(II). Sorbent ten charakteryzuje się najwyższym powinowactwem do jonów Fe(III).

Literatura:

1. H. Czczot, M. Majewska, *Farmacja Polska*, 66 (2010) 243.
2. U. Menaka, I. Wijesekara, *Food Chemistry Advances*, 6 (2025) 1.
3. H. Yang, F. Zhang, Y. Chen, Y. Xie, R. Wang, Y. He, P. Song, *International Journal of Biological Macromolecules*, 291 (2025) 1.

WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I ZASTOSOWANIE NANOCZĄSTEK TLENKU ŻELAZA DO SELEKTYWNEJ SORPCJI

N. ŻUK, E. GRABIAS-BLICHAZ, J. FLIEGER, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
Wydział Farmacji, Zakład Chemii Analitycznej, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin

Abstrakt: Żelazo jest stosunkowo tanim i szeroko rozpowszechnionym materiałem. Nanocząstki tlenku żelaza (IONPs - iron oxide nanoparticles) są unikalnym narzędziem stosowanym w medycynie i biochemii, na przykład jako środki kontrastowe do obrazowania metodą rezonansu magnetycznego; farmaceutyki sterowane magnetycznie; oraz adsorbenty magnetyczne do izolacji kultur subkomórkowych, makrocząsteczek tj. białka, czy DNA. Ekstrakcja do magnetycznej fazy stałej (*MSPE- Magnetic Solid Phase Extraction*) jest coraz częściej stosowana także do separacji i wstępnego zagęszczania związków organicznych i jonów metali np. w procesie oczyszczania wody. W niniejszej pracy przedstawiono syntezę oraz charakterystykę fizykochemiczną IONPs syntetyzowanych metodą koprecypitacji. IONPs wykorzystano do usuwania chlorofilu z ekstraktu z pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica* L.) [6], a także do oczyszczania ekstraktów z chmielu (*Humulus lupulus* L.) w celu pozyskania cennego antyoksydanta jakim jest ksantohumol [7].

Wprowadzenie: Nanomateriały to materiały, których rozmiary (w co najmniej jednym wymiarze) mieszczą się w przedziale od 1 do 100 nm. Nanomateriały zawierające żelazo to głównie żelazo zerowartościowe (*ZVI- Zero Valent Iron*), nanostopy żelaza lub nanocząstki typu rdzeń-powłoka (*core-shell*) a także tlenki żelaza [1]. Nanocząstki tlenków żelaza to określenie ogólne, które obejmuje takie indywidualne chemiczne jak tlenki, wodorotlenki i oksywodorotlenki składające się z kationów Fe(II) i/lub Fe(III) oraz anionów O^{2-} i/lub OH^- . W składzie nanomateriałów określanych jako tlenki żelaza zidentyfikowano $Fe(OH)_3$, $Fe(OH)_2$, $Fe_5HO_8 \times 4H_2O$, Fe_3O_4 , FeO , kilka polimorfów $FeOOH$ i Fe_2O_3 . Głównymi zaletami tych nanomateriałów jest niska cena, łatwa dostępność oraz stosunkowo niska toksyczność i biodegradowalność [4]. Jako materiał magnetyczny do tworzenia adsorbentów wykorzystywane są głównie nanocząstki magnetytu (Fe_3O_4) ponieważ w porównaniu z innymi tlenkami żelaza mają właściwości magnetyczne określane jako superparamagnetyczne (*SPIONs- Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles*) [2,3]. Dzięki tym właściwościom nanocząstki magnetyczne i materiały wytworzone na ich bazie zyskały szerokie perspektywy zastosowań w magnetycznej ekstrakcji do fazy stałej (*MSPE- Magnetic Solid Phase Extraction*). Dzięki doskonałym właściwościom magnetycznym, IONPs można łatwo oddzielić od roztworu za pomocą zewnętrznego pola magnetycznego lub tzw. separacji o wysokim gradiencie magnetycznym (*HGMS- High Grade Magnetic Separation*), która jest procesem szeroko stosowanym w przetwórstwie rud [5]. Ta technika pozwala na przeprowadzanie procesów, w których cząstki materiałów słabo magnetycznych są odzyskiwane z materiałów niemagnetycznych np. w procesie przetwarzania rud żelaza, pierwiastków ziem rzadkich i in.. Zaletą separacji magnetycznej jest możliwość recyklingu lub regeneracji materiałów sorpcyjnych. Dzięki dobrym zdolnościom ad-

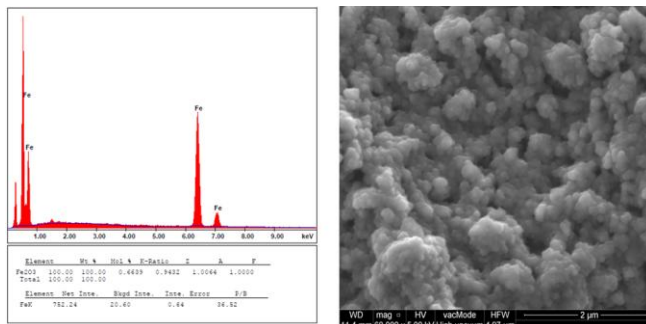
sorpcyjnym nanocząstki IONPs są stosowane do magnetycznego rozdzielania białek i enzymów umożliwiając w krótkim czasie przygotowanie próbek do badań przy użyciu spektrometrii masowej.

W niniejszej pracy przedstawiono syntezę oraz charakterystykę fizykochemiczną IONPs, a także wykorzystanie ich do pozyskiwania cennych antyoksydantów.

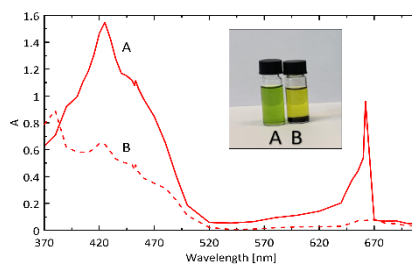
Część eksperymentalna: IONPs wykorzystane w badaniach zsyntetyzowano za pomocą chemicznej koprecypitacji. Proces prowadzono z użyciem roztworów FeCl_3 i FeSO_4 w środowisku zasadowym. Do roztworów soli żelaza(II) i żelaza(III) zmieszanych w stosunku 1:2 dodano wodny 25% amoniak, co powodowało powstanie czarnego osadu. Nanocząstki Fe_3O_4 oddzielono w polu magnetycznym, przemycano i użyto do dalszych badań. IONPs zostały scharakteryzowane za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) z analizatorem dyspersji energii, (EDS). W celu przeprowadzenia procesu sorpcji chlorofilu z ekstraktów roślinnych, przygotowano acetonowe ekstrakty ze świeżych liści pokrzywy zwyczajnej. Na 2,5g surowca użyto 50 ml rozpuszczalnika i całość umieszczono w łaźni ultradźwiękowej na 1 godzinę. Po tym czasie ekstrakty odwirowano i przefiltrowano. Czas sorpcji i masa IONPs zostały zoptymalizowane za pomocą analizy spektrofotometrycznej i chromatograficznej ekstraktów. IONPs wykorzystane zostały również do oczyszczania ekstraktów z szyszek chmielu. W tym celu sporządzono acetonowy ekstrakt z szyszek chmielu *Dary Natury*. Ekstrakcję prowadzono przez 1 godzinę w łaźni ultradźwiękowej w temperaturze 22°C. IONPs w ilości od 0 do 800 mg dodano do 1 ml ekstraktu i umieszczono w rotorze, w temperaturze pokojowej. Następnie fazy rozdzielono magnesem. Górną fazę ciekłą analizowano chromatograficznie. Proces oczyszczania ekstraktów został zoptymalizowany, co pozwoliło uzyskać ksantohumol o wysokiej czystości.

Wyniki: Do analizy morfologii nanocząstek wykorzystano skaningową mikroskopię elektronową (SEM). Dominującą formą IONPs były kształty kuliste, z zauważalną agregacją nanocząstek. Analiza EDS wskazała sygnały przy 6,4 i 7,1 keV, przypisywane żelazu (Fe). Na rysunku 1 przedstawiono wyniki analizy SEM-EDS. Do potwierdzenia sorpcji chlorofilu wykorzystano metodę HPLC i analizę spektrofotometryczną ekstraktów roślinnych. Rysunek 2 ilustruje zmianę absorbancji ekstraktu acetonowego *Urtica dioica* L. rozcieńczonego 8 razy przed i po kontakcie z IONPs. Przed sorpcją widmo absorpcyjne w zakresie 370-670 nm jest charakterystyczne dla chlorofilu, z przerwą absorpcyjną w obszarze zielonym. Po dwóch godzinach kontaktu z IONPs intensywność absorpcji przy $\lambda_{\text{max}} = 423$ nm znacznie spadła, a pasmo Q przy 662 nm prawie zniknęło. Karotenoidy, zwykle maskowane przez chlorofil, nadały supernatantowi żółty kolor, wraz z trzema charakterystycznymi pasmami absorpcji zlokalizowanymi w niebiesko-fioletowej części widma. Analiza HPLC ekstraktów i supernatantów po kontakcie z IONPs potwierdziła selektywną sorpcję chlorofilu A. W tym celu 3 ml ekstraktu acetonowego zawierającego nie więcej niż 4,02 mg mL^{-1} chlorofilu A połączono z 3,2 g IONP i po 48 godzinach mieszania nanocząstki oddzielono za pomocą magnesu. Po rozdzieleniu faz, supernatant poddano analizie HPLC. Rysunek 3 przedstawia chromatogram ekstraktu (a), chromatogram fazy ciekłej po 48 godzinach kontaktu z IONP (b) i chromatogram standardu chlorofilu a o stężeniu 3,65 mg/ml (c). Pomiary wykonywane przed sorpcją i po sorpcji dowiodły niemal 100% sorpcji chlorofilu A. Dodatkowo, po upływie nie mniej niż 72 godzin kontaktu ekstraktów z IONPs, stwierdzono ubytek karotenoidów i izolację luteiny. Analiza HPLC widm standardu luteiny i luteiny wyizolowanej pokazała, że powyższa metoda izolacji zapewnia odzysk

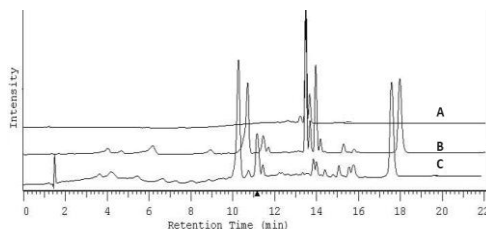
99,13% luteiny o czystości widma 0,9973. Na rysunku 4 przedstawiono chromatogramy ekstraktu przed i po sorpcji z IONPs wraz z chromatogramem wzorca luteiny.



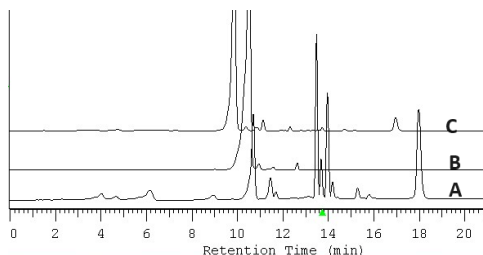
Rys. 1. Widmo EDS i obraz SEM dla IONPs.



Rys.2. Widmo ekstraktu acetonowego *Urtica dioica* L. (linia ciągła) i widmo uzyskane po 2 godzinach kontaktu z IONPs.

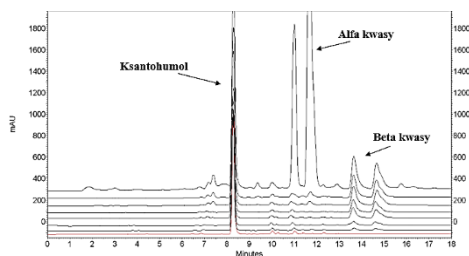


Rys.3. Chromatogram ekstraktu acetonowego z *Urtica dioica* L. (a), chromatogram standardu chlorofilu a o stężeniu 3,65 mg mL⁻¹ (b) chromatogram po 48 godzinach kontaktu z IONP (c).



Rys.4. Chromatogram ekstraktu acetonowego z *Urtica dioica* L. (a), chromatogram standardu luteiny o stężeniu 0,57 mg mL⁻¹ (b), chromatogram ekstraktu po 72 godzinach kontaktu z IONP (c).

IONPs okazały się również skuteczne w oczyszczaniu ekstraktów chmielowych i izolacji ksantohumolu. Ekstrakt acetonowy zawierał 101.07 $\mu\text{g/ml}$ ksantohumolu. IONPs w pierwszej kolejności usuwają z ekstraktu alfa kwasy. Beta kwasy można usunąć, zwiększając czas kontaktu lub zwiększając ilość nanocząstek (rysunek 5). Jednak wraz z nimi, nanocząstki częściowo usuwają również ksantohumol. Po 24 godzinach kontaktu 700 mg IONP z 1 ml ekstraktu acetonowego, ubywa 60% ksantohumolu. Stężenie ksantohumolu w oczyszczonym ekstrakcie wyniosło $40,59 \pm 2,84 \mu\text{g/ml}$.



Rys. 5. Chromatogramy HPLC zarejestrowane po 0 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 7,5 h, 9,5 h, 22 h, 24 h (od góry do dołu) po zmieszaniu 1 ml ekstraktu acetonowego z szyszek chmielu i 700 mg IONPs.

Literatura:

1. X. Q. Li, D. W. Elliott, W. Zhang, Crit. Rev. Solid State Mater. Sci., 31 (2006) 111.
2. B. Kharisov, et al. Rsc Advances 2.25 (2012) 9325.
3. M. Mahmoudi, M. A. Sahraian, M. A. Shokrgozar, S. Laurent, ACS Chem. Neurosci., 2 (2011) 118.
4. M. Hofmann-Amttenbrink, B. von Rechenberg, H. Hofmann, Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications, in Nanostructured Materials for Biomedical Applications, 2009, Transworld Research Network, Kerala, India.
5. B. Nowack, Chapter 1. Pollution Prevention and Treatment Using Nanotechnology, Nanotechnology, Volume 2: Environmental Aspects, ed. H. Krug, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., KGaA, Weinheim, 2008.
6. J. Flieger, N. Żuk, S. Pasieczna-Patkowska, M. Kuśmierz, R. Panek, W. Franus, J. Baj, G. Buszewicz, G. Teresiński, W. Płaziński, International Journal of Molecular Sciences, 25 (2024) 3152.
7. N. Żuk, S. Pasieczna-Patkowska, J. Flieger, Materials 17 (2024) 4827.

ZASTOSOWANIE KATIONOWEJ CELULOZY I KWASU ALGINOWEGO DO USUWANIA MIKROPLASTIKÓW Z UKŁADÓW WODNYCH

K. GOŁĘBIEWSKA, E. GRZĄDKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Plastik stanowi wszechobecne zanieczyszczenie powietrza, gleb oraz wód. Cząstki plastiku powstałe w wyniku procesów degradacji i fragmentacji pozostają w środowisku, gdzie mogą być przyjmowane przez inne organizmy żywe wraz z pokarmem. Ich obecność w organizmie pogarsza stan zdrowia. Dlatego też istnieje pilna potrzeba opracowania metod usuwania mikro i nanoplastików ze środowiska. Aktualnie wykorzystywane koagulanty i flokulanty przemysłowe stanowią w większości związki organiczne, np. poliakrylamid oraz nieorganiczne, zawierające metale takie jak żelazo lub glin. Odnaczają się one dużą efektywnością podczas procesów koagulacji i flokulacji, aczkolwiek mogą także stanowić zagrożenie dla zdrowia człowieka. Pro-ekologiczną alternatywą w procesach oczyszczania wody jest stosowanie naturalnie występujących substancji, pozyskiwanych z roślin lub bakterii. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu rodzaju elektrolitu i bioflokulantu na proces usuwania mikrocząstek będących pochodną polistyrenu. Wykorzystanymi metodami badawczymi była spektrofotometria UV-VIS oraz analiza potencjału dzeta. W badaniach wykorzystano dwa bioflokulanty – kationową celulozę oraz kwas alginowy – w różnych stężeniach, a także dwa koagulanty o jednakowej sile jonowej, chlorek sodu i chlorek wapnia.

Wprowadzenie: Tworzywa sztuczne podczas codziennego użytkowania ulegają procesom degradacji, czego skutkiem jest powstawanie zanieczyszczeń w postaci cząstek o wymiarach mikro (10^{-6} m) bądź nano (10^{-9} m). Procesy fragmentacji dzieli się na fizyczne, chemiczne i biologiczne. Duży stosunek powierzchni do objętości zanieczyszczeń tego typu oraz tendencja do tworzenia agregatów, to właściwości, dzięki którym cząstki materiałów syntetycznych są w stanie rozprzestrzeniać się powietrzu, glebie oraz środowisku wodnym [1]. Rozdrobnione tworzywa sztuczne są w stanie pozostawać w środowisku przez setki lat [2]. Cząstki plastiku są w stanie dostawać się do wnętrza organizmów żywych ze spożywanym pokarmem, z powietrzem lub kontakt ze skórą [3], powodując liczne problemy zdrowotne, m.in. stan stresu oksydacyjnego czy efekt genotoksyczny [4]. Zanieczyszczenia te łatwo przekraczają barierę krew-mózg [5] i inne bariery biologiczne, negatywnie wpływając na funkcje komórkowe i tkankowe organizmów [6]. Źródłami spożywanych mikroplastików są najczęściej owoce morza, cukier, sól, miód oraz woda butelkowana. Oprócz tego, tkanki roślinne są w stanie pobierać cząstki tworzyw sztucznych i magazynować je w swoich tkankach, wdrażając mikroplastiki do obiegu łańcucha pokarmowego [7]. Usuwanie cząstek plastiku ze środowiska jest możliwe poprzez procesy fizyczne, chemiczne i biologiczne. W przypadku oczyszczania wody do powszechnie stosowanych metod zalicza się: ozonowanie, filtrację membranową, adsorpcję, koagulację i flokulację jak i oczyszczanie w oparciu o obróbkę biologiczną [6]. Rośliny i bakterie są źródłami naturalnych substancji polimerycznych, które poprzez zdolności flokulacyjnych

znalazły zastosowanie w procesie oczyszczania wód. Te biopolimery są zdolne do usuwania zanieczyszczeń organicznych (w tym tworzyw sztucznych) jak i nieorganicznych (np. metali ciężkich) [8]. Często stosowanymi bioflokulantami są pochodne skrobi (takie jak skrobia kationowa), guma guar, chitozan i alginiany, które klasyfikowane są jako nietoksyczne i przyjazne środowisku [9]. Pojęcia koagulacji i flokulacji są często błędnie używane zamiennie. Koagulacja to proces, w którym po dodaniu koagulantu następuje neutralizacja ładunków cząstek zawieszonych w roztworze, czego efektem jest ich agregacja. Związkami koagulującymi mogą być sole nieorganiczne, których działanie opiera się na destabilizacji układu poprzez wywoływanie zmian w podwójnej warstwie elektrycznej otaczającej cząstki zawieszone w roztworze [10]. Flokulacja natomiast obejmuje dodanie do układu flokulantu, którym jest związek wielkocząsteczkowy inicjujący agregację cząstek. Sam proces można podzielić na dwa etapy – flokulację perikinetyczną, w której kluczową rolę odgrywają ruchy Browna – oraz flokulację ortokinetyczną, indukowaną przez mechaniczne mieszanie [9]. Tak powstałe agregaty mogą następnie ulec sedimentacji pod wpływem działania siły grawitacji.

Część eksperymentalna: Proces badań rozpoczęto od przygotowania roztworów reagentów. Odważkę mikroplastiku (MP) (rozgałęziony kopolimer poli[p-(chlorometylo)styren-co-styren] o masie 75 mg, zdyspergowano w 50 ml wody. Następnie przygotowano serię dziesięciu układów pomiarowych ze stałą objętością MP (1,5 ml wyjściowej dyspersji w 3 ml próbki). Do części z nich układów dodano także koagulanty lub bioflokulanty. Stężenia roztworów elektrolitów w próbkach wynosiły odpowiednio 0,1 mol/dm³ dla NaCl oraz 0,033 mol/dm³ dla CaCl₂, co zapewniło siłę jonową 0,1 mol/dm³, natomiast stężenia bioflokulantów – kationowej celulozy CC ($M_w=4,20 \cdot 10^5$ Da) i kwasu alginowego ($M_w=1,49 \cdot 10^6$ Da) w próbkach wynosiły 15 i 30 ppm. Obydwa bioflokulanty pozyskano z oferty Sigma-Aldrich. Skład badanych układów był następujący: próbka 1: MP/0,1 NaCl, próbka 2: MP/0,1 CaCl₂, próbka 3: MP/0,1 NaCl/15 ppm AA, próbka 4: MP/0,1 NaCl/30 ppm AA, próbka 5: MP/0,1 NaCl/15 ppm CC, próbka 6: MP/0,1 NaCl/30 ppm CC, 7: MP/0,1 CaCl₂/15 ppm AA, próbka 8: MP/0,1 CaCl₂/30 ppm AA, próbka 9: MP/0,1 CaCl₂/15 ppm CC, próbka 10: MP/0,1 CaCl₂/30 ppm CC. Analizę właściwości flokulacyjnych rozpoczęto od wyznaczenia stopnia usuwania z wykorzystaniem spektrofotometru Cary 100 Bio UV-Visible (Varian Instruments). Zadany program trwał 1 godzinę, wykonując pomiary w interwałach 5 minut dla długości fali 500 nm. Układy poddawane analizie obejmowały stężenia 15 i 30 ppm dla kwasu alginowego (AA) i kationowej celulozy (CC). Z otrzymanych wyników następnie obliczono stopień usuwania dla ośmiu układów zawierających flokulanty (Tabela 1). Dokonano również analizy potencjału dzeta badanych próbek (NanoZS, Malvern Instruments). Zmierzoną ruchliwość elektroforetyczną przeliczono na potencjał dzeta korzystając z równania Smoluchowskiego. W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących rodzaju flokulacji zachodzącej w badanych układach przeprowadzono także badania adsorpcyjne. Przygotowane suspensje wytrząsano przez 3 h w stałej temperaturze, a następnie wirowano trzykrotnie przez 20 min przy 12 000 obrotach (wirówka MPW-352R) do momentu uzyskania klarownego roztworu. Po otrzymaniu przesącza przystąpiono do oznaczania adsorpcji poprzez zmieszanie 1 cm³ przesącza z 5 cm³ stężonego (95%) kwasu siarkowego(VI). Przygotowaną serię próbek poddano analizie na aparacie Cary 100 Bio UV-Visible (Varian Instruments) przy długości fali 315 nm. Wielkość

adsorpcji polimerów w próbkach analizowano z różnicy stężeń związku wielkocząsteczkowego przed i po procesie adsorpcji, korzystając z krzywych kalibracyjnych.

Wyniki: Z wyników zamieszczonych w Tabeli 1 wynika, że w układzie MPs/0,1 CaCl₂/30 ppm AA proces flokulacji był najefektywniejszy w porównaniu z resztą badanych roztworów, a stopień usunięcia MPs z próbki wynosił ponad 40%. Najślabszą efektywność usuwania MPs uzyskano w układzie MPs/0,1 NaCl/ 15 ppm AA. Wynika to najprawdopodobniej z tego, że w pierwszym z wymienionych układów adsorpcja bioflokulantu na powierzchni MPs zachodziła najbardziej efektywnie. Analiza przedstawionych wyników pozwala także wyciągnąć wnioski dotyczące wpływu rodzaju koagulantu na stopień usuwania MPs. W układach w których koagulantem był NaCl uzyskano gorsze stopnie usuwania w porównaniu z układami z dodatkiem CaCl₂. Najprawdopodobniej wynika to z tego, że w przypadku jonów elektrolitów zawierających dwuwartościowy kationy adsorpcja bioflokulantu na powierzchni MPs jest lepsza. Zestawione wyniki wskazują na zależność między wydajnością procesu koagulacji a wartościowością przeciwnonu. Przedstawione wyniki pozwalają także na porównanie wpływu rodzaju bioflokulantu na efektywność usuwania MPs. W układach zawierających AA uzyskano lepsze wyniki usuwania cząstek stałych niż w przypadku CC. Dla koagulantu CaCl₂ stopień usuwania MPs był mniejszy dla mniejszego stężenia AA (15 ppm), natomiast dla NaCl wydajniejsze okazało się być większe stężenie (30 ppm) AA. Najprawdopodobniej efekt ten jest wypadkową flokulacji mostkowej zachodzącej na skutek adsorpcji bioflokulantów na powierzchni mikroplastików jak i samej obecności makrocząsteczek polisacharydów w układzie (flokulacja zubożeniowa). W celu określenia najbardziej prawdopodobnych mechanizmów adsorpcji bioflokulantów na MPs przeprowadzono także pomiary adsorpcji (Tabela 1). Z uzyskanych wyników widać, że najczęściej wyższa wielkość adsorpcji powoduje skuteczniejsze usuwanie MPs z układów. Niemniej jednak brak stuprocentowej korelacji pomiędzy wielkością adsorpcji a stopniem usuwania MPs z układów może wskazywać, że mechanizmem odpowiedzialnym za flokulację obok flokulacji mostkowej, może być także flokulacja zubożeniowa. Dodatkowych informacji na temat uzyskanych układów dostarczyła analiza wartości potencjału dzeta (Tabela 1). Potencjały dzeta układów zawierających tylko koagulanty były ujemne i wynosiły odpowiednio -5,95 mV dla NaCl i -3,29 mV dla CaCl₂. Wpływ dodatku bioflokulantów na potencjał elektrokinetyczny był zależny od charakteru chemicznego używanego dodatku. Anionowy kwas alginowy obniżał wartość potencjału dzeta, a obniżenie to zwiększało się wraz ze wzrostem stężenia polisacharydu w układzie. Jeśli chodzi o kationową celulozę, to polisacharyd ten powodował wzrost potencjału dzeta. W tym przypadku wzrost ten był proporcjonalny do stężenia polisacharydu w układzie. Omawiane efekty wpływu obecności bioflokulantów o różnym charakterze chemicznym na potencjał dzeta wynikają głównie z obecności w warstwie dyfuzyjnej podwójnej warstwy elektrycznej dodatkowego ładunku pochodzącego od zjonizowanego, zdysocjowanego polisacharydu zaadsorbowanego na powierzchni MPs.

Tabela 1. Stopień usuwania MPs z badanych układów za pomocą bioflokulantów i koagulantów, wielkość adsorpcji bioflokulantów (AA i CC) na powierzchni MPs oraz wartości potencjałów dzeta badanych układów.

Układ	Stopień usuwania MPs za pomocą bio- flokulantów po 1h [%]	Wielkość adsorpcji bioflokulantów na MPs [ppm]	potencjał dzeta [mV]
MPs/0,1 NaCl	---	---	-5,95
MPs/0,1 CaCl ₂	---	---	-3,29
MPs/0,1 NaCl/ 15 ppm AA	0	0	-7,15
MPs/0,1 NaCl/ 30 ppm AA	15,46	0	-8,71
MPs/0,1 NaCl/ 15 ppm CC	4,69	0,35	6,04
MPs/0,1 NaCl/ 30 ppm CC	14,48	0,27	9,29
MPs/0,1 CaCl ₂ / 15 ppm AA	13,12	3,33	-3,76
MPs/0,1 CaCl ₂ / 30 ppm AA	40,89	10,54	-5,85
MPs/0,1 CaCl ₂ / 15 ppm CC	17,35	1,61	8,90
MPs/0,1 CaCl ₂ / 30 ppm CC	9,49	0,92	9,69

Wnioski: Spośród ośmiu układów zawierających mikroplastik, koagulant i bioflokulant, największy stopień usuwania odnotowano dla roztworu zawierającego 0,033 mol/dm³ CaCl₂ i 30 ppm AA. Jeśli chodzi o dobór odpowiedniego koagulantu, to sole metali dwuwartościowych są efektywniejsze w usuwaniu MPs w porównaniu z solami metali jednowartościowych. Kationowa celuloza okazała się być mniej efektywnym bioflokulantem niż kwas alginowy. Należy jednak podkreślić, że stopień usuwania na poziomie 40% nie jest wystarczający i należy przeprowadzić dodatkową optymalizację układów poprzez zmianę stężeń koagulantów i flokulantów, aby uzyskać bardziej satysfakcjonujące rezultaty.

Literatura:

1. Q. Liu et. al., Science of The Total Environment, 851 (2022) 157991.
2. R. Ahmed et.al, Chemosphere, 293 (2022) 133557.
3. K. Grote et. al., Materials, 16 (2023) 3123.
4. F. Mahmud et. al., Cells 13 (2024) 1788.
5. V. Kopatz et.al, Nanomaterials 13(8) (2023) 1404.
6. L. Hong et. al, Chemical Engineering Journal, 469 (2023) 143848.
7. E. Persiani et. al., Biomedicines 11 (2023) 264.
8. H. Kolya et. al, Sustainability, 15 (2023) 9844.
9. J. Bratby, Coagulation and Flocculation in Water and Wastewater Treatment, IWA Publishing, Londyn 2016.
10. E. Vollen, Flocculation: Processes and Applications, Nova Science Publishers, New York 2019.

KINETYKA SORPCJI JONÓW CERU(III) I SAMARU(III) NA BIOKOMPOZYTACH ALGINIANOWO-PEKTYNOWYCH

M. DACKA, D. FILA, D. KOŁODYŃSKA, UMCS, Instytut nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Przeanalizowano proces sorpcji jonów Ce^{3+} i Sm^{3+} na biokompozytach alginianowo-peptynowych (ALG@PEC) sieciowanych jonami wapnia oraz cynku. Ze względu na biodegradowalność i biokompatybilność biokompozyty te stanowią atrakcyjne materiały sorpcyjne. Celem badań była ocena efektywności sorpcji w zależności od rodzaju kationu sieciującego oraz początkowego stężenia jonów metali ziem rzadkich. Analiza kinetyki sorpcji obejmowała różne czasy kontaktu. Ponadto, określono podstawowe parametry opisujące proces sorpcji, takie jak pojemność równowagowa (q_e), procent sorpcji (%S) oraz współczynnik podziału (K_d). Do modelowania kinetyki wykorzystano równania pseudo-pierwszego (PFO) oraz pseudo-drugiego rzędu (PSO).

Wprowadzenie: Alginian sodu jest naturalnym polisacharydem liniowym, który można ekstrahować z alg zwanych brunatnicami lub syntetyzować w hodowlach mikrobiologicznych. Jest nietoksyczny i biodegradowalny, a jego właściwości fizyczne i biologiczne mogą być modyfikowane różnymi metodami. Charakteryzuje się dobrą rozpuszczalnością w środowisku wodnym, przez co konieczne jest jego sieciowanie jonami metali, aby uzyskać nierozpuszczalną strukturę [1]. Pektyna również zaliczana jest do polisacharydów o strukturze liniowej. Można ją pozyskać z różnych surowców roślinnych, np. skórek owoców cytrusowych lub jabłek. Dzięki swoim właściwościom, takim jak biokompatybilność, biodegradowalność oraz zdolność do tworzenia cienkich warstw, połączenie tych dwóch substancji jest szeroko wykorzystywane w produkcji materiałów opatrunkowych. Ze względu na ich silnie hydrofilowy charakter, oba biopolimery wykazują tendencję do destrukuryzacji oraz utraty stabilności w środowisku fizjologicznym. W celu poprawy ich właściwości mechanicznych poddaje się je procesowi sieciowania, najczęściej z wykorzystaniem jonów wapnia Ca^{2+} [2]. Proces sieciowania jonowego alginianu sodu polega na zastępowaniu jonów sodu jonami wapnia bądź cynku, w wyniku tego kation Ca^{2+} lub Zn^{2+} oddziałuje jonowo z dwiema grupami karboksylowymi pochodzącymi z odrębnych łańcuchów polimerowych. Substytucja jonów Na^+ na Ca^{2+} lub Zn^{2+} w strukturze alginianu sodu jest procesem prostym, zachodzącym podczas mieszania wodnego roztworu alginianu sodu z roztworem chlorku wapnia bądź chlorku cynku [3].

Część eksperymentalna: W celu określenia kinetyki procesu sorpcji wybranych jonów pierwiastków ziem rzadkich na biokompozytach alginianowo-peptynowych o stosunku wagowym ALG:PEC 5:1 sieciowanych za pomocą jonów wapnia oraz cynku przeprowadzono badania w zależności od wpływ czasu kontaktu faz na proces sorpcji jonów Ce^{3+} oraz Sm^{3+} o początkowych stężeniach 50, 100 i 200 mg/dm³. Eksperyment przeprowadzono dla różnych czasów kontaktu: 1, 3, 5, 7, 10, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480 i 1440 minut. Analizę wykonano w celu oceny efektywności sorpcji w zależności od rodzaju sie-

ciującego kationu oraz stężenia roztworu. Pozwoliło to na identyfikację najlepszego wariantu sorbentu dla określonych warunków środowiskowych. W celu obliczenia podstawowych parametrów charakteryzujących proces sorpcji wyznaczono pojemność sorpcyjną q_t [mg/g] w danym czasie t , pojemność równowagową q_e [mg/g], procent zaadsorbowanych na sorbencie jonów metali %S oraz współczynnik podziału K_d [cm³/g]. Ponadto, w ramach badań wyznaczono podstawowe parametry kinetyczne i równowagowe procesu sorpcji jonów Ce^{3+} i Sm^{3+} na kompozytach ALG@PEC sieciowanych jonami Ca^{2+} oraz Zn^{2+} stosując równania kinetyczne pseudo-pierwszego rzędu (PFO) oraz pseudo-drugiego rzędu (PSO).

Wyniki: Przeprowadzony eksperyment składał się z analizy przebiegu procesu sorpcji w funkcji czasu oraz dopasowania uzyskanych wyników do modeli kinetycznych. Poniżej przedstawiono wyniki badań obejmujące parametry uzyskane wskutek dopasowania danych eksperymentalnych do odpowiednich równań kinetycznych (Tabela 1).

Tabela 1. Parametry modelu kinetycznego pseudo-pierwszego (PFO) oraz pseudo-drugiego (PSO) rzędu dla sorpcji jonów Ce^{3+} i Sm^{3+} na biokompozytach ALG@PEC/ Zn^{2+} .

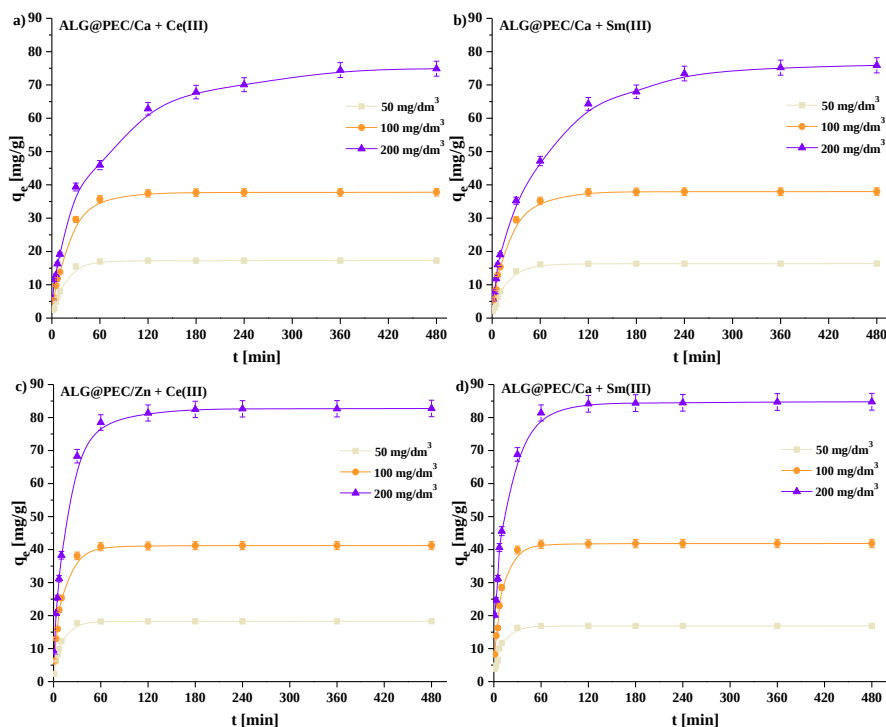
C ₀ [mg/dm ³]	q _e [mg/g]	PFO			PSO		
		q _{1,cal} [mg/g]	k ₁ [1/min]	R ²	q _{2,cal} [mg/g]	k ₂ [g/mg·min]	R ²
ALG@PEC/Zn ²⁺ + Ce ³⁺							
50	18,27	2,58	0,020	0,739	18,33	0,0169	1,000
100	41,23	10,25	0,022	0,886	41,40	0,0064	1,000
200	82,93	28,90	0,014	0,811	83,52	0,0017	1,000
ALG@PEC/Zn ²⁺ + Sm ³⁺							
50	16,88	2,87	0,019	0,777	16,94	0,0190	1,000
100	41,86	7,87	0,018	0,806	42,01	0,0074	1,000
200	84,87	26,56	0,015	0,835	85,30	0,0024	1,000

Współczynniki determinacji (R^2) dla modelu PSO dla ALG@PEC/ Zn^{2+} we wszystkich analizowanych przypadkach wynoszą 1,000 (Tabela 1). Z kolei wartości R^2 dla modelu PFO wykazują wyraźnie niższe wartości, zwłaszcza dla niższych stężeń, co wskazuje na lepsze dopasowanie modelu kinetycznego pseudo-drugiego rzędu. Ponadto, wartości $q_{2,cal}$ są bardziej zbliżone do doświadczalnych wartości pojemności równowagowych (q_e), co również potwierdza przewagę tego modelu nad PFO. Dodatkowo wartości stałych szybkości sorpcji (k_2) w modelu PSO maleją wraz ze wzrostem początkowego stężenia jonu metalu, co sugeruje, że proces sorpcji przebiega wolniej w przypadku wyższych stężeń. Podobne zależności obserwowane są dla biokompozytu ALG@PEC/ Ca^{2+} (Tabela 2). We wszystkich analizowanych przypadkach wartości R^2 dla modelu PSO wynoszą 1,000. Również i w tym przypadku wartości k_2 dla modelu PSO maleją wraz ze wzrostem początkowego stężenia jonów Ce^{3+} i Sm^{3+} . ALG@PEC/ Zn^{2+} wykazuje nieco wyższe wartości q_e niż ALG@PEC/ Ca^{2+} , zwłaszcza przy wyższych stężeniach metali, co sugeruje, że Zn^{2+} jako jon sieciujący sprzyja uzyskaniu większej pojemności sorpcyjnej.

Tabela 2. Parametry modelu kinetycznego pseudo-pierwszego (PFO) oraz pseudo-drugiego (PSO) rzędu dla sorpcji jonów Ce^{3+} i Sm^{3+} na biokompozytach ALG@PEC/ Ca^{2+} .

C ₀ [mg/dm ³]	q _e [mg/g]	PFO			PSO		
		q _{1,cal} [mg/g]	k _i [1/min]	R ²	q _{2,cal} [mg/g]	k ₂ [g/mg·min]	R ²
ALG@PEC/Ca ²⁺ + Ce ³⁺							
50	17,28	4,39	0,017	0,770	17,40	0,0088	1,000
100	37,82	13,83	0,015	0,814	38,18	0,0030	1,000
200	75,82	56,81	0,009	0,976	77,33	0,0005	1,000
ALG@PEC/Ca ²⁺ + Sm ³⁺							
50	16,35	4,64	0,019	0,825	16,46	0,0094	1,000
100	37,99	14,43	0,018	0,857	38,34	0,0031	1,000
200	76,54	59,16	0,010	0,979	78,27	0,0005	1,000

Dla zsyntezowanych biokompozytów zarówno ilość adsorbowanych jonów Ce^{3+} oraz Sm^{3+} , procent sorpcji, jak i współczynniki podziału wzrastały wraz z czasem kontaktu faz, niezależnie od początkowego stężenia jonu metalu. W przypadku ALG@PEC/ Zn^{2+} wartości %S > 99% dla jonów Ce^{3+} osiągnięto po 60 minutach dla stężenia 50 mg/dm³ (99,87%), po 120 minutach dla 100 mg/dm³ (99,83%) oraz po 240 minutach dla 200 mg/dm³. Najwyższy współczynnik podziału osiągnięto dla 50 mg/dm³ (316303,36 cm³/g). W przypadku Sm^{3+} %S osiągnął maksymalną wartość powyżej 99% dla 50 i 100 mg/dm³ po 60 minutach, zaś dla 200 mg/dm³ po 120 minutach. Najwyższe K_d odnotowano również dla stężenia 50 mg/dm³ (12621314,49 cm³/g). Analizując wyniki dla kompozytu ALG@PEC/ Ca^{2+} %S > 99% dla jonów Ce^{3+} odnotowano po czasie kontaktu faz równym 120 minut (50 mg/dm³), 180 minut (100 mg/dm³) i 1440 minut (200 mg/dm³), przy czym K_d osiągnęło maksimum dla 50 mg/dm³ (1717453,72 cm³/g). W przypadku Sm^{3+} %S > 99% osiągnięto dla 50 i 100 mg/dm³ po 120 minutach, natomiast dla 200 mg/dm³ po 480 minutach. Najwyższą wartość K_d uzyskano również dla stężenia 50 mg/dm³ (23698526,51 cm³/g). Wyniki wskazują na wysoką skuteczność sorpcji jonów Ce^{3+} i Sm^{3+} dla obu biokompozytów, dla których równowaga procesu została osiągnięta szybciej przy niższych stężeniach początkowych metali. Zaobserwowano dodatkowo, że sorpcja jonów Sm^{3+} przebiega szybciej na materiałach alginianowych. Na podstawie uzyskanych wyników, we wszystkich powyższych przypadkach można stwierdzić, że w początkowym etapie procesu zachodzi gwałtowny wzrost ilości zaadsorbowanych jonów metali, po czym następuje stopniowa stabilizacja (Rys.1). Kompozyty ALG@PEC/ Zn^{2+} wykazują szybsze tempo sorpcji i wyższe wartości q_e niż kompozyty ALG@PEC/ Ca^{2+} , co sugeruje lepszą dostępność miejsc aktywnych. Wyższe stężenia początkowe metali prowadzą do większej pojemności sorpcyjnej, ale wydłużają czas osiągnięcia równowagi. Zauważono dodatkowo, na podstawie wartości współczynnika podziału, że zarówno kompozyt ALG@PEC/ Ca^{2+} , jak i ALG@PEC/ Zn^{2+} charakteryzuje się większym powinowactwem do jonów Sm^{3+} niż do jonów Ce^{3+} , co można wyjaśnić większą masą atomową samaru(III).



Rys. 1. Wydajność sorpcji jonów Ce^{3+} i Sm^{3+} na kompozytach alginianowo-pektynowych w zależności od czasu kontaktu faz.

Wnioski: Przeprowadzone badania wykazały, że biokompozyty alginianowo-pektynowe sieciowane jonami Zn^{2+} wykazują wyższą pojemność sorpcyjną w porównaniu do biokompozytów sieciowanych jonami Ca^{2+} , szczególnie w warunkach wyższych stężeń jonów metali. Kompozyty sieciowane Zn^{2+} charakteryzowały się szybszą kinetyką sorpcji niż ich odpowiedniki sieciowane Ca^{2+} . Wartości współczynnika podziału wskazują, że najwyższą efektywność sorpcji uzyskano przy początkowych stężeniach 50–100 mg/dm³ osiągając wydajność sorpcji bliską 100%. Z uwagi na większą pojemność sorpcyjną oraz szybszą kinetykę sorpcji, biokompozyty ALG@PEC/ Zn^{2+} mogą stanowić bardziej efektywne sorbenty do usuwania jonów metali ziem rzadkich z roztworów wodnych.

Podziękowania: Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki zgodnie z decyzją nr 2019/35/N/ST8/01390.

Literatura:

1. A. Cano-Vicent, A. Tuñón-Molina, H. Bakshi, R. Sabater i Serra, Iman M. Alfagih, M. M. Tambuwala, Á. Serrano-Aroca, ACS Omega, 8 (2023) 24396.
2. Y. Zhu, Z. Yao, Y. Liu, W. Zhang, L. Geng, T. Ni, International Journal of Nanomedicine, 15 (2020) 334.
3. J. Walczak, J. Marchewka, J. Laska, Engineering of Biomaterials, 132 (2015) 19.

SYNTEZA HYBRYDOWYCH UNIEPALNIACZY DO MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH

D. ANTOSZ, K. DAWIDEK, K. DZIUBA, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Organicznej i Krystalochemii, Gliniana 33, 20-614 Lublin

Abstrakt: Z powodu licznych regulacji przemysł chemiczny i materiałowy musi poszukiwać alternatywy dla halogenopochodnych uniepalniaczy, które dotychczas były stosowane jako bardzo efektywne związki hamujące rozprzestrzenianie się ognia, aczkolwiek wykazują działanie szkodliwe dla zdrowia ludzkiego i środowiska [1]. Istnieje jednak możliwość zastosowania bezpieczniejszych i łatwo dostępnych syntetycznych uniepalniaczy na bazie związków nieorganicznych, organicznych lub ich hybrydowych kompozycji, które z powodzeniem mogą zastąpić tradycyjne związki uniepalniające.

Wprowadzenie: Uniepalniacze (antypireny) dodawane są do różnych materiałów w celu zapobiegania ich zapalenia, a także spowolnienia rozprzestrzeniania się ognia [1]. Uniepalniacze stosowane są jako dodatki redukujące palność poprzez fizyczne mechanizmy działania oraz reakcje chemiczne (reakcje w fazach stałej i gazowej). W fazie gazowej środki te hamują reakcję egzotermiczną (utlenianie) poprzez eliminację rodników i ograniczają oddawanie energii do polimeru. Środki zmniejszające palność mogą również powodować tworzenie bariery termicznej jako wynik zwęglania powierzchni skondensowanej fazy, co zapobiega transferowi ciepła do palącego się polimeru. Zwiększone zwęglanie redukuje dostępność palnych gazów do płomienia, co skutkuje jego ugaszeniem. Antypireny odgrywają kluczową rolę w przemyśle dla utrzymania odpowiednich standardów bezpieczeństwa użytkowników poprzez zwiększenie odporności polimerów na działanie ognia. Są one również istotne w branżach transportu, budownictwa i elektroniki. Uniepalniacze zapewniają wysoką ognioodporność w materiałach konstrukcyjnych, co minimalizuje ryzyko pożaru i w przypadku zagrożenia ogranicza rozprzestrzenianie ognia oraz przedłuża czas na ewakuację. Antypireny hamują proces rozwoju ognia jednak bardzo często generują toksyny, które stanowią znaczne zagrożenie dla środowiska i zdrowia ludzi.

1.1 Klasyfikacja uniepalniaczy stosowanych w materiałach kompozytowych: Uniepalniacze można podzielić na grupy na podstawie ich mechanizmu działania lub składu chemicznego. Wyróżnia się uniepalniacze nieorganiczne tj. związki magnezu, glinu, boru, krzemu i polifosforany oraz organiczne, które można podzielić ze względu na obecność tlenu, azotu, krzemu, fosforu lub grup halogenowych [2]. Powszechnie stosowane dotychczas uniepalniacze halogenowe, do których należą np. polibromowane estry aryłowe (TBPDO), bisfenole (TBBPA) lub chlorowane alkeny, są jednak stopniowo wycofywane ze względu na ich toksyczność, właściwości rakotwórcze i negatywny wpływ na środowisko [3].

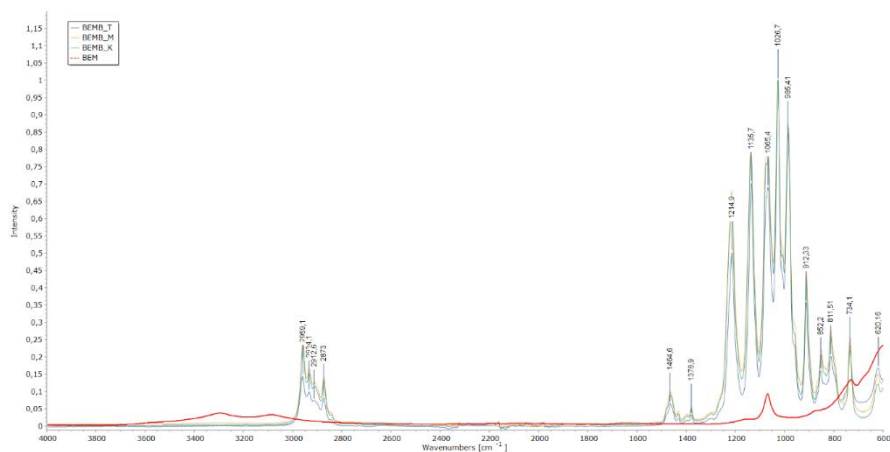
1.2 Uniepalniacze nieorganiczne: Do grupy uniepalniaczy nieorganicznych należy m.in. wodorotlenek glinu, wodorotlenek magnezu, boran cynku oraz tlenki antymonu, tytanu, cyrkonu lub molibdenu. Ich działanie polega na rozkładzie termicznym, w wyniku którego uwalniane są niepalne gazy, takie jak para wodna czy dwutlenek węgla, które rozcieńczają palne gazy i tworzą izolacyjną warstwę na powierzchni materiału [4]. Uniepalniacze nieorganiczne są stosowane w przemyśle tworzyw sztucznych, kablowym i budowlanym.

lanym jednak do ich skuteczności wymagane są wysokie stężenia, co zwykle wpływa niekorzystnie na właściwości mechaniczne takich materiałów oraz jest ekonomicznie nieoptyczne.

1.3 Hybrydowe uniepalniacze fosforoorganiczne: Nieorganiczne lub organiczne środki opóźniające palenie na bazie fosforu są efektywnymi zamiennikami uniepalniaczy halogenowych z uwagi na niską toksyczność, mniejszą bioakumulację w środowisku, oraz biodegradowalność. [5]. Natomiast, fosforany glinu należą do klasy związków będących hybrydowym połączeniem materiałów organicznych i nieorganicznych, których synteza została początkowo opracowana w celu uzyskania materiałów nanofunkcjonalnych [6]. Materiały o podobnych właściwościach znalazły już zastosowanie w produkcji nanokompozytów polimerowych np. jako wypełniacze, których dodatek korzystnie wpływa na właściwości mechaniczne, optyczne, elektryczne oraz termiczne, które są znacznie lepsze w porównaniu do tradycyjnych kompozytów [7].

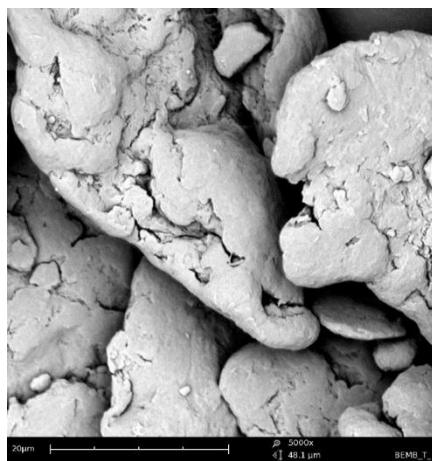
Część eksperymentalna: Alkilowe i aryłowe fosforany glinu zastosowane jako uniepalniacze nie pogarszają właściwości mechanicznych polimerowych materiałów kompozytowych, które wykazują odporność na wysokie temperatury i bezpośredni płomień oraz są bezpieczne dla środowiska [8]. Na potrzeby wielogramowej syntezy dibutylofosforanu glinu, nowego hybrydowego związku o potencjalnych właściwościach uniepalniających oraz ze względów ekonomicznych, w naszych badaniach wykorzystano łatwo dostępne komercyjne odczynniki bemit (PURAL SB, Sasol) oraz dibutylofosforan (Merck). Natomiast, w celu zoptymalizowania metody wytwarzania tego typu związków, przeprowadzono badania wpływu temperatury reakcji na wydajność oraz strukturę produktu. Substraty, bemit oraz fosforan dibutyłu ogrzewano w temperaturze wrzenia rozpuszczalników tj. toluen (110,6 °C), ksylen (138–142 °C, mieszanina izomerów), mezytylen (164,7 °C), które pozwalają na prowadzenie reakcji w wysokich temperaturach oraz na efektywne odprowadzenie wody ze środowiska reakcji z zastosowaniem nasadki azeotropowej. W celu otrzymania dibutylofosforanu glinu, mieszaninę fosforanu dibutyłu 50 mL, (47,2 g, 0,22 mola) i bemitu (4,19 g, 0,07 mola) w 250 mL rozpuszczalnika toluen (T), ksylen (K) lub mezytylen (M) ogrzewano w temperaturze wrzenia z zastosowaniem nasadki azeotropowej przez 24 godz. Po ochłodzeniu surowy produkt odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem, oczyszczono w toluenie z wykorzystaniem aparatu Soxhleta z zanieczyszczeń poreakcyjnych oraz wysuszono pod zmniejszonym ciśnieniem w temp. 65 °C.

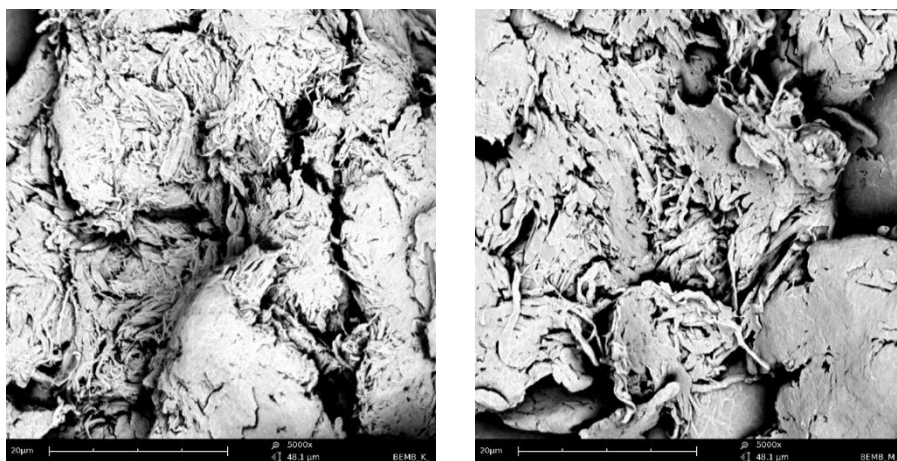
Wyniki: W każdej reakcji, niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika i temperatury uzyskano białe drobnoziarniste proszki z wydajnością przekraczającą 80%, które po wysuszeniu zostały poddane analizie ATR (TENSOR 27, Bruker). Rysunek 1 przedstawia porównanie widm zarejestrowanych z wykorzystaniem transformacji Fouriera (FT-IR) dla próbek bemitu i trzech czystych produktów jego reakcji z fosforanem dibutyłu w różnych warunkach temperaturowych. Wszystkie widma FT-IR otrzymanych dibutylofosforanów glinu zawierają charakterystyczne pasma absorpcyjne (2959-2873 cm^{-1}) pochodzące od alifatycznego łańcuch węglowego oraz trzy silne nowe sygnały przy 1215, 1136 i 1065 cm^{-1} , które można przypisać drganiom rozciągającym wiązań P-O-C oraz symetrycznym i asymetrycznym drganiom rozciągającym w mostkach Al-O-P-O-Al charakterystycznych dla fosforanów glinu posiadających tego typu budowę strukturalną, grupy funkcyjne oraz układ wiązań wewnętrznych.



Rys. 1. Widma próbek ATR/FT-IR bemitu (BEM) i dibutylofosforanów glinu (BEMB_T, K, M).

Natomiast, na rysunku 2 przedstawiono zestawienie zdjęć zarejestrowanych w technice wysokorozdzielczej skaningowej mikroskopii elektronowo-jonowej (Quanta 3D FEG, FEI) dla próbek proszków: bemitu i trzech produktów otrzymanych w jego reakcji z dibutylofosforanem w różnych rozpuszczalnikach tj. toluen, ksylen i mezytylen oraz odpowiednich do ich temperatury wrzenia, warunkach reakcji.





Rys. 2. Zdjęcia próbek SEM bemitu (BEM) i dibutylofosforanów glinu (BEMB_T, K, M).

W porównaniu do bemitu, różnice strukturalne i w morfologii powierzchni są najwyraźniej zauważalne w przypadku produktów otrzymanych w ksylenie i mezytylenie, gdy temperatura reakcji przekraczała 140 °C. W celu sprawdzenia preparatywnej użyteczności i skalowalności metody, synteza dibutylofosforanu glinu została powtórzona w optymalnych warunkach z zastosowaniem ksylenu, w skali wielogramowej. Otrzymany tą wydajną oraz prostą technicznie metodą dibutylofosforan glinu otwiera drogę do powszechniejszego wykorzystania tego typu hybrydowych materiałów jako wypełniaczy oraz jako alternatywnego rozwiązania dla halogenopochodnych uniepalniaczy w tradycyjnych i nanokompozytach polimerowych.

Literatura:

1. A.B. Morgan, J.W. Gilman, *Fire Mater*, 37 (2013) 259.
2. T. Grover, A. Khandual, K.N. Chatterjee, R. Jamdagni, *Colourage* (2014) 29.
3. I. Gajlewicz., M. Lenartowicz, *Przetwórstwo Tworzyw*, 20 (2014) 216.
4. A. Al-Mosawi, *Journal of Silicate Based and Composite Materials*, 74 (2022) 2.
5. L. Bo-Wen, Z. Hai-Bo, W., Yu-Zhong, *Advance Materials*, 34 (2022) 2107905.
6. Z. Florjańczyk, A. Wolak, M. Dębowski, A. Plichta, J. Ryszkowska, J. Zachara, A. Ostrowski, E. Zawadzak, M. Jurczyk-Kowalska, *Chemistry of Materials*, 19 (2007) 5584.
7. M. Kacperski, *Kompozyty*, 3 (2003) 225.
8. K. Dziuba, K. Wnuczek, P. Wojtachnio, R. Sonnier, B. Podkościelna, *Materials*, 16 (2023) 426.

BADANIE WPŁYWU pH NA SORPCJĘ JONÓW MIEDZI(II) NA SORBENTACH ZAWIERAJĄCYCH LIGNINĘ KRAFT

A. WOŁOWICZ¹, W. MAZUR¹, M. WAWRZKIEWICZ¹, B. PODKOŚCIELNA²,
UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie
2, 20-031 Lublin, ²Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614
Lublin

Abstrakt: Celem pracy było dokonanie przeglądu literatury pod kątem możliwości zastosowania sorbentów z dodatkiem ligniny kraft jako efektywnych materiałów do usuwania jonów metali ciężkich ze szczególnym uwzględnieniem jonów Cu(II). Oceniono także wpływ pH na usuwanie jonów Cu(II) na trzech zsyntetyzowanych polimerowych sorbentach na bazie żywicy epoksydowej Epidian 5 (Ep5) oraz trietylenocztteroaminie (TECZA) bez (Ep5-1g TECZA) oraz z dodatkiem komercyjnie dostępnej ligniny kraft (KL) w ilości 30% wt. i 40% wt. (Ep5-1,5 g TECZA-30% wt. KL; Ep5-1,5 g TECZA-40% wt. KL). Badania metodą statyczną wykazały znaczny wpływ pH zarówno na ilość jonów Cu(II) zaadsorbowaną przy danym czasie kontaktu faz (q_t , mg/g) jak i na procent usuwania jonów Cu(II) (%R). Jako optymalne pH do dalszych badań wybrano pH 5. Procent usuwania jonów Cu(II) z reguły rośnie wraz ze wzrostem pH roztworu z 2 do 7 i wynosi od 0,5% do 99,2% dla wszystkich badanych sorbentów.

Wprowadzenie: Lignina pochodzi z biomasy lignocelulozowej i jest drugim najbardziej obfitym biopolimerem i podstawowym surowcem na Ziemi [1,2]. Razem z celulozą i hemicelulozą stanowią główny składnik budulcowy biomasy drzewnej [3]. Roczna produkcja ligniny w biosferze wynosi około 100 miliardów ton. Szacuje się, że około 1,5-1,8 miliarda ton ligniny jest produkowanych ze źródeł przemysłowych, z czego 50-70 milionów ton pochodzi z przemysłu celulozowo-papierniczego [1]. Lignina jest naturalnym polimerem aromatycznym o wysoce rozgałęzionej i złożonej strukturze molekularnej. Ligninę można uważać jako spolimeryzowany produkt trzech podstawowych monomerów fenylopropanowych -powtarzających się jednostek znanych łącznie jako „monolignole”. Jak dowodzą badania naukowe w skład ligniny wchodzi trzy podstawowe mery: alkohol koniferylowy, alkohol p-kumarylowy oraz alkohol synapinowy [1]. W zależności od rodzaju rośliny udział poszczególnych monomerów może być zróżnicowany i uzależniony od jej pochodzenia, gatunku drewna czy strefy klimatycznej, w której występuje.[3]. Poszczególne monomery łączą się ze sobą za pomocą wiązań kowalencyjnych różnego typu tj. wiązania eterowe oraz wiązania węgiel-węgiel, a najczęściej występującym rodzajem wiązania w ligninie w zależności od rodzaju drewna jest wiązanie eterowe β -O-4 [3]. Przemysłowymi źródłami ligniny jest między innymi lignina kraft (z ang. *kraft lignin*, KL), lignina siarczynowa (z ang. *sulfite lignin*), sodowa (z ang. *soda lignin*) i organiczna (z ang. *organosolv lignin*). Najważniejszym rodzajem ligniny produkowanym w 85% światowej produkcji przemysłowej jest KL, która wytwarzana jest jako produkt uboczny w procesie obróbki materiałów lignocelulozowych w wyniku roztwarzania siarczanowego. Rocznie około 50-90 milionów ton KL jest wykorzystywane do produkcji energii, a około 2% KL do wytwarzania produktów o wartości dodanej. Innym rodzajem ligniny jest lignina sodowa wytwarzana jako produkt uboczny z lnu, słomy, włókien niedrzewnych powstająca

w procesie roztwarzania sodowego. Natomiast za pomocą obróbki rozpuszczalnikami organicznymi otrzymujemy ligninę organosolv [4,5]. W trakcie rozwłókniania alkalicznego podczas produkcji papieru, oraz rozwłókniania siarczynowego lignina pod wpływem między innymi wysokiej temperatury, ulega depolimeryzacji do rozpuszczalnych w wodzie składników o niskiej masie cząsteczkowej czego skutkiem jest lignina alkaliczna (z ang. *alkali lignin*) oraz lignosulfonian sodu (z ang. *sodium lignosulfonate*) [6]. Lignina posiada różne grupy funkcyjne: karboksylowe, fenolowe, metoksyłowe oraz alifatyczne grupy hydroksylowe. Dzięki tym grupom funkcyjnym i różnym sposobom modyfikacji ligninę wykorzystuje się do syntezy funkcjonalnych materiałów, materiałów hybrydowych, biomateriałów oraz polimerów o specjalnych właściwościach do usuwania szkodliwych jonów metali ciężkich z roztworów modelowych i ścieków [7]. Metoda adsorpcji jest jedną z szeroko stosowanych metod eliminacji zanieczyszczeń ze względu na prostą aparaturę i obsługę, wysoką efektywność, możliwość zastosowania różnego typu sorbentów, możliwość usuwania zanieczyszczeń na różnym poziomie stężeń itp. [8]. Nadal jednak stoi ona przed wyzwaniem związanym z obniżeniem kosztów materiałów sorpcyjnych oraz zwiększeniem wydajności usuwania jonów metali ciężkich. W ostatnich latach materiały z biomasy mają duże perspektywy zastosowania ze względu na swoje unikalne właściwości m.in. biodegradowalność, powszechną dostępność, przyjazność dla środowiska, biokompatybilność, dlatego wykazują duży potencjał w przygotowywaniu adsorbentów. Trójwymiarowa struktura amorficzna ligniny oraz obecność grup funkcyjnych daje możliwości jej łatwej modyfikacji [9]. Aby zwiększyć reaktywność ligniny można ją sieciować z innymi materiałami, modyfikować poprzez utlenianie, estryfikację, sulfonowanie, aminowanie czy przeprowadzać szczepioną kopolimeryzację [9]. Celem pracy było zbadanie wpływu pH na efektywność usuwania jonów Cu(II) na nowych zsyntetyzowanych materiałach zawierających ligninę kraft.

Część eksperymentalna: Badanie wpływu pH na proces sorpcji jonów Cu(II) na biosorbentach: Ep5-1g TECZA; Ep5-1,5 g TECZA-30% wt. KL; Ep5-1,5 g TECZA-40% wt. KL prowadzono metodą statyczną. Sorbent o masie $0,0200 \pm 0,0002$ g wprowadzono do kolbek stożkowych, do których następnie dodano 20 ml roztworu o początkowym stężeniu jonów Cu(II) $C_0 = 50$ mg/L oraz pH od 2 do 8. pH roztworów ustalano z wykorzystaniem 1 mol/L roztworu HCl oraz NH_4OH . Próbkę wytrząsano z prędkością 180 cykli/min. (amplituda=8) przez 4 h w temperaturze pokojowej. Po upływie czasu fazy oddzielono metodą filtracji, a następnie oznaczono zawartość Cu(II) po procesie sorpcji z wykorzystaniem metody absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją w płomieniu (FAAS) (długość fali 324.8 nm, prąd lampy 4 mA, szerokość szczeliny 0.5 nm, przepływ powietrze/acetylen 13.5/2 L/min). Na podstawie uzyskanych danych obliczono ilość jonów Cu(II) zaadsorbowanych przy czasie $t=4$ h (q_t , mg/g):

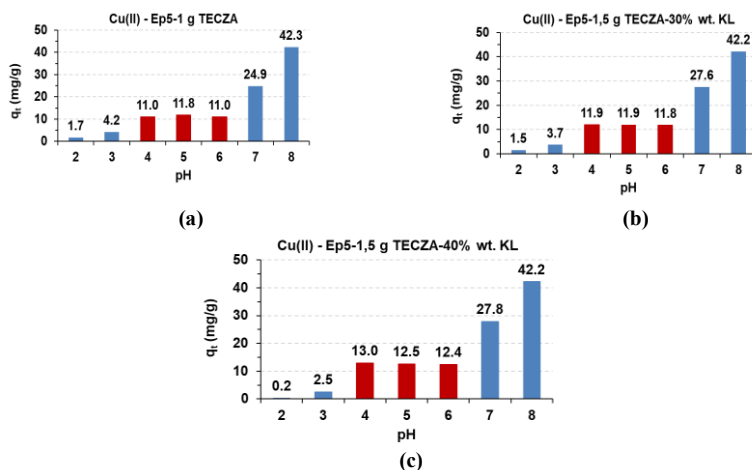
$$q_t = \frac{(C_0 - C_t) \cdot V}{m} \quad (1)$$

oraz procent usuwania jonów Cu(II) (%R):

$$\%R = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \cdot 100\% \quad (2)$$

gdzie: C_0, C_e – początkowe i równowagowe stężenie jonów Cu(II) w fazie wodnej (mg/L), C_t – stężenie jonów Cu(II) w fazie wodnej po czasie t (mg/L), V – objętość roztworu (20 mL), m – masa jonitu ($0,0200 \pm 0,0002$ g).

Wyniki: Metale ciężkie, pochodzące głównie z działalności człowieka jako źródła antropogeniczne m.in. z przemysłu, są obecne w ściekach i stanowią poważny problem ze względu na swoją toksyczność zarówno dla ludzi jak i ekosystemów wodnych [10]. Optimalizacja procesu sorpcji celem doboru odpowiednich warunków eksperymentalnych zapewniających wysoki stopień usunięcia danego zanieczyszczenia jest niezwykle istotny, dlatego często w trakcie badań bierze się pod uwagę szereg różnych czynników, wśród których pH może odgrywać istotną rolę. Wpływ pH na efektywność usuwania jonów Cu(II) na sorbentach Ep5-1 g TECZA; Ep5-1,5 g TECZA-30% wt. KL; Ep5-1,5 g TECZA-40% wt. KL przedstawiono na Rys. 1.



Rys. 1. Wpływ pH na ilość jonów Cu(II) zaadsorbowanych przy $t=4h$ na sorbentach (a) Ep5-1 g TECZA, (b) Ep5-1,5 g TECZA-30% wt. KL, (c) Ep5-1,5 g TECZA-40% wt. KL.

Miedź w roztworach wodnych w zależności od pH może przyjmować różne formy. W środowisku kwaśnym (pH 1-5) dominującą formą są kationy Cu^{2+} , których udział wynosi 100%. Przy pH w zakresie od 6 do 8 udział Cu^{2+} maleje i zaczyna tworzyć się forma $Cu(OH)^+$, której maksymalny udział obserwowany jest przy pH ok. 7.5. Przy pH od 9 do 12 dominującą formą miedzi jest $Cu(OH)_2$ z niewielką ilością $Cu(OH)^+$, $Cu(OH)_3^-$ i $Cu(OH)_4^{2-}$, podczas gdy przy $pH > 10$ są to formy $Cu(OH)_4^{2-}$ i $Cu(OH)_3^-$ [11]. Jak wynika z Rys. 1 usuwanie Cu(II) z roztworu wodnego poprzez adsorpcję jest silnie zależne od początkowego pH roztworu, które określa ładunek powierzchniowy adsorbentu, stopień jonizacji i specjację adsorbentu. Można zauważyć, że pojemność sorpcyjna dla wszystkich badanych sorbentów Ep5-1 g TECZA, Ep5-1,5 g TECZA-30% wt. KL oraz Ep5-1,5 g TECZA-40% wt. KL znacząco wzrasta wraz ze wzrostem pH roztworu od 2 do 8. Przy pH silnie kwaśnym niski stopień usunięcia jonów Cu(II) można przypisać obecności wysokiego stężenia jonów H^+ , które konkurują z jonami Cu(II) o miejsca adsorpcyjne w/w sorbentów oraz elektrostatycznym odpychaniem jednoimiennie naładowanych ładunków. W miarę wzrostu pH roztworu, odpychanie elektrostatyczne między kationami i ładunkiem powierzchni adsorbentu zmniejsza się i mniej jonów H^+ bierze udział w konkurencyjnej sorpcji z jonami Cu(II) o miejsca adsorpcyjne, co pozwala na zwiększenie wychwytu Cu(II). Przy wyższej wartości $pH \geq 6$ zdolność adsorpcji jest jeszcze wyższa, ponieważ obok adsorpcji jonów Cu(II) miedź może się także wytrącać z roztworu w postaci

wodorotlenku $\text{Cu}(\text{OH})_2$. Ogólnie rzecz biorąc, mechanizmy interakcji między jonami $\text{Cu}(\text{II})$ i sorbetami z dodatkiem ligniny kraft są funkcją pH, która obejmuje adsorpcję lub adsorpcję i wytrącanie. Dlatego jako optymalne pH do dalszych badań wybrano $\text{pH}=5$ przy którym nie obserwuje się strącania $\text{Cu}(\text{II})$. Procent usuwania jonów $\text{Cu}(\text{II})$ rośnie także ze wzrostem pH i wynosi od 3.4 do 99.2% dla sorbentu Ep5-1 g TECZA, od 3.0 do 99.0% dla sorbentu Ep5-1,5 g TECZA-30% wt. KL oraz od 0.5 do 98.9% dla sorbentu Ep5-1,5 g TECZA-40% wt. KL. Wpływ pH na proces sorpcji jonów $\text{Cu}(\text{II})$ na sorbentach zawierających ligninę wykazali także inni naukowcy [2,12]. Pozyskiwaną z czarnego ługu ligninę kraft wykorzystano jako sorbent jonów $\text{Cu}(\text{II})$ i $\text{Cd}(\text{II})$. Wykazano dużą zależność sorpcji jonów $\text{Cu}(\text{II})$ i $\text{Cd}(\text{II})$ od pH. Przy $\text{pH} \leq 2$ sorpcja jest nieznaczna natomiast wraz ze wzrostem pH o 3 jednostki wzrasta efektywność usuwania w/w jonów do 90-95%. Przy $\text{pH} \geq 8$ zaobserwowano wytrącenie się wodorotlenków metali, które wraz z sorpcją determinują efektywność usunięcia toksycznych jonów [2]. Podobną zależność zaobserwowano także w trakcie sorpcji jonów $\text{Cu}(\text{II})$ przez ligninę organosolv. Wzrost pH w zakresie od 3.5 do 5.5 powoduje wzrost ilości zaabsorbowanych jonów $\text{Cu}(\text{II})$ z 0.081 mg/g (%R=2.97%) do 1.10 mg/g (%R=40.74%) . Nie zaobserwowano natomiast adsorpcji przy pH poniżej 3.5 [12].

Wnioski: Dodatek ligniny kraft w ilości 30 i 40% wt. powoduje nieznaczne zwiększenie procentu usuwania jonów $\text{Cu}(\text{II})$ z roztworów wodnych, a pH wpływa w znaczny sposób na efektywność sorpcji tych jonów i może być jednym z istotnych parametrów, który należy wziąć pod uwagę w trakcie optymalizacji procesu sorpcji.

Podziękowania: Praca powstała w ramach projektu „Improving teaching competencies in design of new generation biomaterials from wood waste”, Numer: 2024-1-PL01-KA220-HED-000246133 współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej: KA220-HED - Co-operation partnerships in higher education.

Literatura:

1. M. Norgren, H. Edlund, Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 19 (2014) 409.
2. D. Mohan, Ch.U. Pittman Jr., P.H. Steele, J. Colloid Interface Sci., 297 (2006) 489.
3. Ł. Klapiszewski, Wiadomości chemiczne, 75 (2021) 1155.
4. M. Stanisz, Ł. Klapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, Int. J. Biol. Macromol., 186 (2021) 181.
5. I. Haq, P. Mazumder, A.S. Kalamdhad, Biores. Technol., 312 (2020) 123636.
6. W. Wang, Y. Hou, W. Huang, X. Liu, P. Wen, Y. Wang, Z. Yu, S. Zhou, Biores. Technol., 320 (2021) 124361.
7. L. Dessbesell, M. Paleologou, M. Leitch i in., Renew. Sust. Energ. Rev., 123 (2020) 109768.
8. Z. Zhang, Y. Chen, D. Wang, D. Yu, Ch. Wu, Indust. Crop. Prod., 193 (2023) 116119.
9. J. Geng, F. Gu, J. Chang, J. Hazard. Mater., 375 (2019) 174.
10. R.M. Agarwal, K. Singh, J. Water Reuse Desal., 7 (2017) 387.
11. B. Yang, X. Tong, Z. Deng, X. Lv, J. Chem., 1-7 (2016) 627929.
12. B. Acemioğlu, A. Samil, M.H. Alma, R. Gundogan, J. Appl. Polym. Sci., 89 (2003) 1537.

BIODEGRADOWALNE KOMPOZYCJE POLI(BURSZTYNIANU BUTYLENU) Z NATURALNYMI NAPEŁNIACZAMI - CHARAKTERYSTYKA ODPORNOŚCI CHEMICZNEJ I PODATNOŚCI NA BIODEGRADACJĘ

P. SADO¹, E. SASIMOWSKI², M. GROCHOWICZ¹, ¹Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Polimerów Gliniana 33, 20-614 Lublin, ²Politechnika Lubelska, Wydział Mechaniczny, Katedra Technologii i Przetwórstwa Tworzyw Polimerowych, ul. Nadbystrzycka 36, 20-618 Lublin

Abstrakt: Celem przeprowadzonych badań była ocena zachowania biokompozytów poli(bursztynianu butylenu) zawierających jako napelniacze kredę i otręby pszenne. Określono wpływ ilości i rodzaju napelniaczy na odporność chemiczną kompozytów w środowisku kwasowym oraz alkalicznym. Ponadto badane kompozyty poddano biodegradacji w glebie i określono ich podatność na rozkład w warunkach naturalnych.

Wprowadzenie: Ze względu na bogatą różnorodność budowy chemicznej i wynikające z niej unikalne właściwości fizyko-chemiczne, polimery znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach życia takich, jak np. przemysł spożywczy, przemysł farmaceutyczny, kosmetyczny czy odzieżowy [1]. Z roku na rok obserwuje się wzrost zapotrzebowania na tworzywa sztuczne, co przekłada się na wzrost ich produkcji. W konsekwencji wzrasta też zanieczyszczenie środowiska wytworzonymi przez człowieka tworzywami sztucznymi, które są znajdowane w postaci śmieci w wodzie oraz na lądzie [2]. Niewłaściwie zagospodarowane plastikowe śmieci nie ulegają w środowisku naturalnym całkowitemu rozkładowi, czynniki zewnętrzne mogą jedynie powodować ich rozpad na tzw. mikroplastik. Wpływa on negatywnie na organizmy ludzi i zwierząt powodując poważne choroby zagrażające życiu. Ze względu na rosnącą świadomość szkodliwego wpływu mikroplastiku oraz substancji toksycznych, które migrują z tworzyw sztucznych do środowiska (np. ftalany czy bisfenol A), na istoty żywe poszukiwane są ich bezpieczniejsze zamienniki, które ulegają całkowitemu rozkładowi w środowisku na bezpieczne substancje. Polimery biodegradowalne i biopolimery oraz ich kompozyty stanowią interesującą alternatywę dla polimerów niedegradowalnych. Istnieje wiele czynników, dzięki którym ulegają one rozkładowi, a jednym z nich jest degradacja dzięki mikroorganizmom, zwana biodegradacją [3]. Wadą polimerów biodegradowalnych jest ich wysoka cena, dlatego też uwaga naukowców zwrócona jest w stronę kompozytów, których matrycę stanowią polimery biodegradowalne, a rolę napelniaczy pełnią substancje naturalne, takie jak np. roślinne odpadki z przemysłu spożywczego [4,5]. Wykorzystanie napelniaczy naturalnych obniża koszt tworzywa, często wpływa na przyspieszenie jego biodegradacji oraz powoduje zmniejszenie zanieczyszczenia środowiska. Wprowadzenie do powszechnego użycia tworzyw biodegradowalnych ogranicza w niektórych sektorach gospodarki zapotrzebowanie na plastiki ropopochodne i przyczynia się do zmniejszenia wpływu jednorazowych tworzyw polimerowych na planetę. Jednym z tzw. zielonych polimerów jest poli(bursztynian butylenu) (PBS), którego kompozyty z dodatkiem różnej ilości naturalnych wypełniaczy, takich jak kreda i otręby pszenne, są tematem tej pracy.

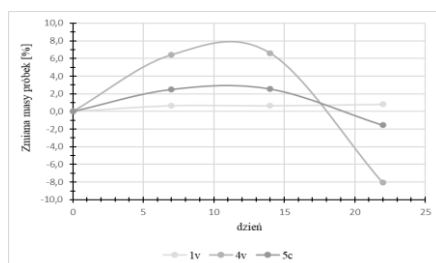
Część eksperymentalna: Badaniom poddano próbki PBS oraz kompozytów PBS z otrębami pszennymi i kredą, których skład pokazano w Tabeli 1. Odporność chemiczną próbek zbadano w środowisku kwasowym i alkalicznym. W tym celu umieszczono próbki o zbliżonej wielkości i znanej masie w butelce szklanej zawierającej roztwór wodny kwasu chlorowodorowego o stężeniu 1 mol/dm^3 i drugiej zawierającej roztwór wodny wodorotlenku sodu (1 mol/dm^3). Stosunek masy do objętości roztworu w przypadku środowiska kwasowego wynosił ok. 1 g/100ml , a w środowisku zasadowym ok. $1,100 \text{ g/100ml}$. W określonym czasie próbki wyjmowano z butelek, przepłukiwano wodą destylowaną i po osuszeniu ważono. Pomiary prowadzono w temperaturze pokojowej.

Tabela 1. Skład wagowy badanych kompozytów PBS z otrębami pszennymi i kredą.

Próbka	PBS [%]	Kreda [%]	Otręby [%]
1	100	-	-
2	70	30	-
3	40	30	30
4	70	-	30
5	85	-	15
6	85	15	-
9	70	15	15

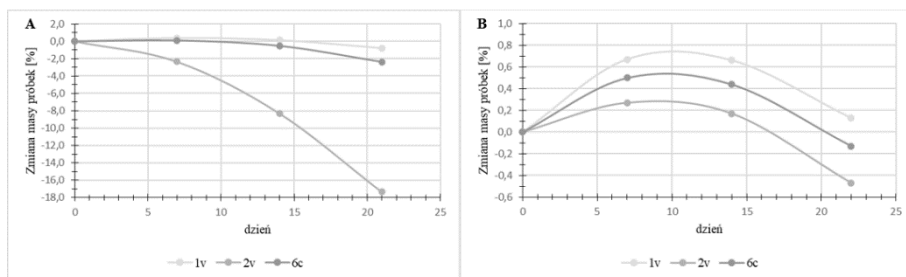
Biodegradację biokompozytów oraz czystego PBS zbadano w glebie o $\text{pH}=6,5$ w temperaturze pokojowej. Przygotowano próbki o zbliżonej wielkości i znanej masie po czym umieszczono w ziemi pobranej z ogrodu z dodatkiem ziemi z kompostownika i regularnie podlewano. Próbki wyjmowano z ziemi w równych odstępach czasu, oczyszczano i ważono.

Wyniki: Rys.1 przedstawia wykres zmiany masy próbek w środowisku kwasowym, w czasie. Po 14 dniach zaobserwowano wzrost masy próbek zawierających otręby (4 i 5). Po tym czasie widoczny jest spadek masy spowodowany rozkładem próbek w środowisku kwasowym. Masa PBS nie uległa znacznym zmianom, natomiast dla próbek 4 (30% otrębów) i 5 (15% otrębów) obserwuje się spadek odpowiednio 8% i 1% masy.



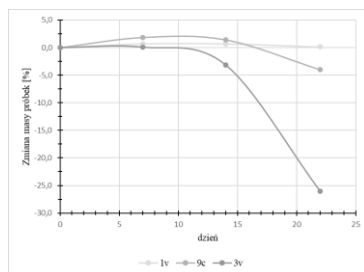
Rys. 1. Zmiana masy próbek 4, 5 i PBS w środowisku 1M kwasu chlorowodorowego.

Na rys.2 A przedstawiono zmianę masy próbek zawierających kredę i czysty PBS. Wykazują one mniejszą podatność na degradację w środowisku kwasowym w porównaniu do próbek zawierających otręby. Początkowo zaobserwowano przyrost masy związany z absorpcją wody, później niewielki spadek masy, nieprzekraczający 0,5%.



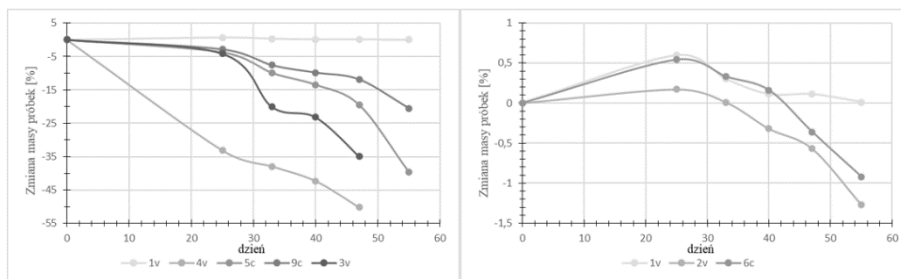
Rys. 2. Zmiana masy próbek 2 i 6 i PBS w środowisku: A) 1M kwasu chlorowodorowego; B) 1M roztworu wodorotlenku sodu.

Kompozyty trójskładnikowe w środowisku kwasowym wykazały początkowo przyrost masy związany z absorpcją wody (rys. 3). Po 14 dniach zaobserwowano spadek masy próbek wynikający z ich degradacji, który ostatecznie wyniósł dla kompozytu 3 (30% kredy i 30% otrębów) 26%, a dla 9 (15% otrębów i 15% kredy) - 4%.

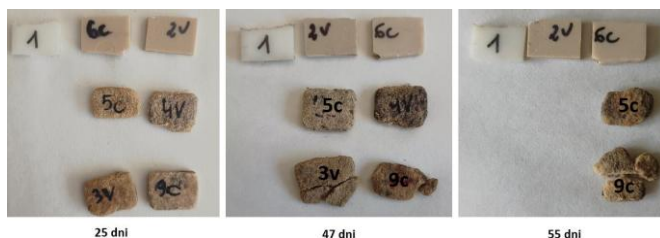


Rys. 3. Zmiana masy próbek 3, 9 i PBS w środowisku 1M roztworu kwasu chlorowodorowego.

Odporność kompozytów na działanie środowiska alkalicznego jest dużo mniejsza niż kwasowego. Po 3 dniach zaobserwowano całkowitą degradację próbek zawierających otręby oraz kredę i otręby. W próbkach zawierających tylko kredę po 14 dniach zaobserwowano degradację powierzchni próbek, a po 22 dniach zaobserwowano spadek masy próbek 2 i 6 o odpowiednio 17% i 2% (rys. 2 B). Wyniki zmiany masy próbek po biodegradacji w glebie przedstawiono na rys. 4. Zaobserwowano, że obecność otrębów w kompozytach znacznie przyspiesza ich degradację, szczególnie widoczne jest to dla kompozytu 4 zawierającego 30% otrębów. Dla próbek 3 i 4 po 55 dniach biodegradacji stwierdzono ich całkowitą dezintegrację, która uniemożliwiła ich zważenie. Próbkę zawierającą tylko kredę i PBS wolniej degradują w glebie, widoczny jest dla nich niewielki spadek masy o ok. 1% po 53 dniach badania. W przypadku biokompozytów trójskładnikowych nie zaobserwowano początkowego gwałtownego spadku masy jak w przypadku próbek zawierających tylko otręby, ale po 47 dniach badania wykazały one znaczne ubytki masy: 3 – 35%, a 9 – 12%. Zdjęcia próbek (rys 5) pokazują znaczne zmiany w morfologii kompozytów zawierających otręby, natomiast PBS jak i kompozyty dwuskładnikowe z kredą nie zmieniły wyglądu nawet po 53 dniach badania.



Rys. 4. Zmiana masy badanych próbek po biodegradacji w glebie.



Rys. 5. Zdjęcia badanych próbek po biodegradacji w glebie.

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań odporności chemicznej stwierdzono, że kompozyty PBS zawierające kredę ulegają degradacji w mniejszym stopniu w przeciwieństwie do biokompozytów zawierających otręby. Dodatek otrębów do kompozytów zmniejsza ich odporność chemiczną w środowisku alkalicznym, kwasowym i w glebie w porównaniu z czystym PBS. Biokompozyty zawierające otręby i kredę wykazują wolniejszą degradację, niż te zawierające tylko otręby. Brak odporności badanych kompozytów na działanie środowiska alkalicznego wynika z hydrolizy zasadowej wiązań estrowych i amidowych obecnych w napelniaczu roślinnym. Otręby wykazują również dużą wrażliwość na enzymatyczną hydrolizę, co przyczynia się do przyspieszenia biodegradacji kompozytów w glebie.

Literatura:

1. J.F. Rabek, Polimery i ich zastosowania interdyscyplinarne, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2020
2. M. MacLeod, P.H.H. Arp, B.M. Tekman, A. Jahnke, Science, 373 (2021) 61
3. T. Letcher, Plastic Waste and Recycling, Environmental Impact, Societal Issues, Prevention, and Solutions, Academic Press 2020
4. K. Serwańska-Leja, G. Lewandowicz, Polish Journal of Environmental Studies, 19 (2010) 255
5. E. Sasimowski, M. Grochowicz, K. Janczak, A. Nurzyńska, A. Belcarz-Romaniuk, Materials 18 (2025) 293

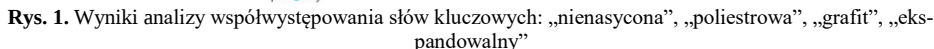
WPLYW GRAFITU EKSPANDOWALNEGO NA PALNOŚĆ I DYMOTWÓRCZOŚĆ NIENASYCONYCH ŻYWIC POLIESTROWYCH

A. DOWBYSZ¹, M. SAMSONOWICZ¹, B. KUKFISZ², ¹Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, Wiejska 45A, 15-351 Białystok, ²Akademia Pożarnicza, Wydział Inżynierii Bezpieczeństwa i Ochrony Ludności, Juliusza Słowackiego 52/54, 01-629 Warszawa

Abstrakt: W ostatnich latach grafit ekspandowalny (GE) cieszy się rosnącym zainteresowaniem jako nietoksyczny środek niepalniący. Celem pracy jest analiza wpływu GE na palność i dymotwórczość nienasyconych żywic poliestrowych. Rezultaty badań wskazują, że GE stosowany w mieszaninach wykazuje dużo większą efektywność niż stosowany samodzielnie, a wytworzona warstwa zwęglona jest zwarta i zmniejsza nie tylko palność, ale też wydzielanie gazowych produktów rozkładu.

Wprowadzenie: Jedną z niewielu wad nienasyconych żywic poliestrowych jest ich wysoka palność i wydzielanie dużej ilości dymu podczas spalania. Zastosowanie kompozytów na bazie tego rodzaju żywic jest ograniczone z uwagi na niespełnienie wymogów dotyczących zapewnienia bezpieczeństwa pożarowego. Jedną z metod ograniczania palności jest zastosowanie środków niepalniących. Związki na bazie węgla stanowią jedną z wielu grup i obejmują m.in. jedno- i wielościenne nanorurki węglowe, tlenek grafenu, grafen, fulereny czy grafit ekspandowalny (GE) [1]. GE, jako nietoksyczny, może stanowić alternatywę dla środków niepalniących stanowiących obecnie zagrożenie dla środowiska. Celem pracy jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy w zakresie modyfikacji nienasyconych żywic poliestrowych dodatkiem GE i jego wpływu ich palność i dymotwórczość.

Wyniki: GE to rodzaj pęczniącego środka niepalniącego, który pełni funkcję porotwórczą. Podczas rozkładu termicznego intensywnie rozszerza się w podwyższonej temperaturze, dzięki czynnikowi interkalacyjnemu wydzielającemu gazy, co powoduje powstanie uporządkowanej wielowarstwowej struktury. W przypadku zbyt gwałtownego pęcznienia i wystąpienia nadmiernej ekspansji zaobserwować można „efekt popcornu”, skutkujący uzyskaniem zbyt luźnej struktury niespełniającej roli fizycznej warstwy ochronnej [2]. Mechanizm działania GE w zmniejszaniu palności polimerów obejmuje oddziaływanie w fazie stałej. Jego obecność powoduje wytworzenie zwartej struktury zwęgliny stanowiącej barierę termiczną, a obserwowane zjawisko migracji do powierzchni materiału na początku ogrzewania zwiększa jego efektywność działania. GE stosowany samodzielnie nie wpływa na zdolność zwęglania tworzywa i oddziałuje jak chemicznie obojętny wypełniacz w fazie stałej. Wysoki współczynnik przewodzenia ciepła GE powoduje jednak zmniejszenie wzrostu temperatury na powierzchni materiału wydłużając czas zapłonu [3]. Analizę bibliometryczną obejmującą współwystępowanie nie mniej niż trzech słów kluczowych wykonano w programie VOSviewer 1.6.20. Dokonano przeglądu artykułów badawczych opublikowanych w latach 2015-2025 indeksowanych w bazie Scopus. Sieć bibliometryczną przedstawiono na rysunku 1.



87

lania a wnętrzem materiału. Efektem tego jest zmniejszenie wartości pHRR o 7 % w stosunku do żywicy niemodyfikowanej w przypadku kompozytu zawierającego 4 % wag. WMM. Wprowadzenie GE do kompozytu powoduje dużo większe zmniejszenie pHRR (o 56,8 % i 31,6 % dla kompozytów zawierających odpowiednio 4 i 6 % wag. GE) poprzez wytwarzanie dużej ilości ekspandowanych warstw zwęglonych. Wytworzenie zwęgliny o zwartej strukturze wpłynęło również na zmniejszenie całkowitego wydzielonego dymu (TSR). W przypadku dodatku 1 % wag. WMM, TSP zredukowane zostało o 28 % w porównaniu do żywicy niemodyfikowanej. Dodatek 6 % wag. GE wpłynął na dalsze zwiększenie o 72 %. Chociaż autorzy powołują się na występujący efekt synergizmu, nie przeprowadzono badań kompozytów modyfikowanych wyłącznie dodatkami GE. Shih i in. [6] zbadali wpływ GE oraz mieszanin GE i APP oraz GE i fosforanu trifenylu (TPP) na palność nienasyconej żywicy poliestrowej. Dodatek GE w ilości 10 % wag. wpływa na zmniejszenie palności o czym świadczy zwiększenie LOI o 3 % w stosunku do żywicy niemodyfikowanej (19 %). Kompozyty zawierające GE i 15 % wag. TPP oraz GE i 25 % wag. APP osiągnęły wartość LOI równą odpowiednio 24 % i 25,5 %. Wartości te są wyższe niż uzyskane dla kompozytów zawierających pojedyncze dodatki TPP i APP, a rezultaty wskazują na ich działanie addytywne. Mechanizm działania wyjaśniono na podstawie rezultatów uzyskanych z pirolitycznej chromatografii gazowej. Podczas rozkładu termicznego rozpoczyna się proces ekspansji powodując powstawanie porowatej struktury, gdy temperatura zwiększa się do ponad 220 °C. Hamuje ona dyfuzję tlenu i transport ciepła do matrycy kompozytu utrudniając tworzenie się mniejszych cząstek zmniejszając palność materiału. Badania w pracy [7] dotyczyły oceny palności i dymotwórczości nienasyconej żywicy poliestrowej modyfikowanej 15 % wag. dodatkiem polifosforanu melaminy (PMM) i 5 % wag. dodatkiem innego środka uniepalniającego, w tym modyfikowanym montmoryllonitem (MMT), syntetyczną krzemionką (K) i GE. Wartość LOI niemodyfikowanej żywicy wyniosła 20,1 %, podczas gdy modyfikowanej PMM była tylko nieznacznie większa (22,5 %). Dodatek GE spowodował znaczące zwiększenie LOI do 29,7 %. Spośród wartości uzyskanych dla pozostałych kompozycji zawierających PMM i MMT lub PMM i K wartość ta była największa. Co ciekawe, modyfikacja żywicy wyłącznie dodatkiem PMM spowodowała zwiększenie pHRR o 33 % w stosunku do żywicy niemodyfikowanej. W przypadku kompozytów zawierających PMM i MMT oraz PMM i K odnotowano nieznaczne zmniejszenie pHRR, odpowiednio o 4 % i 2 %. Wartości pHRR kompozytu zawierającego PMM i EG była o 55 % mniejsza niż dla żywicy niemodyfikowanej. Na podstawie wartości całkowitej ilości wydzielanego dymu (TSR) uzyskanej dla badanych kompozytów stwierdzono, że spośród badanych żywic, tylko ta modyfikowana PMM i EG charakteryzuje się mniejszą dymotwórczością. Zmniejszenie TSR było niemal dwukrotne, podczas gdy dla pozostałych kompozytów wartości te były niemal trzykrotnie większe niż dla żywicy niemodyfikowanej. Autorzy wskazują na występowanie zjawiska synergizmu między dodatkami PMM i GE, ale nie przeprowadzono badań porównawczych dla kompozycji żywicy zawierającej wyłącznie dodatek GE. Niewątpliwie jednak wprowadzenie GE do żywicy z MPP sprzyjało szybszemu wytworzeniu ochronnej warstwy zwęglonej stanowiącej barierę przed transportem gazów i małowcząsteczkowych produktów degradacji między kompozytem a strefą spalania. Rezultaty badań prowadzonych dla nienasyconych żywic poliestrowych modyfikowanych dodatkiem GE podsumowano i przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Parametrów opisujące palność i dymotwórczość żywic modyfikowanych GE

Skład mieszanin uniepalniających i zawartość procentowa dodatków [% wag.]	LOI* [%]	pHRR* [kW/m ²]	TSR* [m ² /m ²]	Literatura
GE – 8 WMM – 1	26,4 (20,5)	281 (860)	1495,84 (5362,88)	[5]
GE – 10	22 (19)	-	-	[6]
GE – 10 TPP – 15	24 (19)	-	-	
GE – 10 APP – 25	25,5 (19)	-	-	
GE – 5 PMM – 15	29,7 (20,1)	158,6 (350,28)	3251,2 (5762,7)	[7]

* wartości podane w nawiasie dotyczą niemodyfikowanej żywicy

Wnioski: Zmniejszanie palności nienasyconych żywic poliestrowych realizowane jest najczęściej poprzez dodatek środków uniepalniających. Rosnącym zainteresowaniem cieszy się grupa związków na bazie węgla, wśród której znajduje się m.in. GE. Mechanizm jego działania opiera się na oddziaływaniu w fazie stałej poprzez wytwarzanie powłoki ochronnej stanowiącej barierę termiczną między powierzchnią materiału a strefą spalania. Przedstawione rezultaty badań nienasyconych żywic poliestrowych modyfikowanych GE wskazują, że dodatek ten stosowany samodzielnie nie powoduje znacznego zmniejszenia palności. Może to być spowodowane luźną strukturą warstwy zwęglonej powstającej podczas spalania. Dodatek innych środków uniepalniających takich jak WMM, TPP czy APP znacznie zwiększa jego efektywność, szczególnie jeżeli obserwowany jest efekt synergizmu. Warto zaznaczyć, że w przypadku mieszanin obserwowane jest zarówno ponad dwukrotne zmniejszenie pHRR, jak i TSR, co stanowi o jednoczesnym zmniejszaniu palności i dymotwórczości. Dalsze badania powinny skupić się na zastosowaniu GE jako składnika mieszanin uniepalniających poprawiających efektywność pęczenia powstających warstw zwęglonych.

Literatura:

1. A. Dowbysz i in., *Materials*, 17 (2024), 1.
2. Z. Cheng i in., *Polym Degrad Stab*, 178 (2020), 1.
3. A. Laachachi i in., *Polym Degrad Stab*, 117 (2015), 22.
4. Y. Wang i in., *Prog Org Coat*, 132 (2019), 178.
5. J. He i in., *J Appl Polym Sci*, 47881 (2019), 1.
6. Y. Shih, *Polym Degrad Stab*, 86 (2004), 339.
7. E. Kicko-Walczak i in., *Przem Chem*, 93 (2014), 914.

W POSZUKIWANIU IDEALNEGO MATERIAŁU HYBRYDOWEGO DO ZASTOSOWAŃ STOMATOLOGICZNYCH

O. GROCHOWICZ¹, J. SATŁAWSKI¹, K. SARNA-BOŚ², ¹Studenci II roku kierunku lekarsko-dentystycznego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ²Zakład Protetyki Stomatologicznej Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 6, 20-093 Lublin

Abstrakt: Leczenie próchnicy wymaga stosowania wypełnień dentystycznych. W ich charakterze wykorzystywane są obecnie różnorodne materiały hybrydowe bazujące na żywicach polimerowych i wypełniaczach nieorganicznych. Charakteryzują się one dobrymi właściwościami mechanicznymi i fizycznymi, są łatwe w opracowaniu i spełniają wymagania estetyczne. Pomimo tego, że materiały hybrydowe są bezkonkurencyjne na rynku wypełnień, wciąż trwają prace nad udoskonalaniem ich właściwości i funkcjonalności. Celem pracy jest przedstawienie najnowszych trendów dotyczących syntezy materiałów stosowanych do wypełnień dentystycznych.

Wprowadzenie: Według definicji WHO, próchnica to proces patologiczny, umiejscowiony, pochodzenia zewnątrzustrojowego, prowadzący do odwapnienia i proteolitycznego rozpadu twardych tkanek zęba [1]. Jest chorobą infekcyjną i transmisyjną. Głównymi czynnikami etiologicznymi próchnicy są: substrat, czyli podaż odpowiednich węglowodanów, bakterie, podatność powierzchni zęba oraz czas, w którym współlistnieją wszystkie trzy pierwsze czynniki. Pomimo licznych badań etiopatomechanizm próchnicy zębów nie został w pełni wyjaśniony. Bakterie próchnicotwórcze obecne w jamie ustnej są składnikiem płytki nazębnej, która rozwija się z błonki nabytej. Stanowi ona barierę dyfuzyjną, a także ochronną przeciwko abrazji, atrycji i erozji. Z drugiej strony jest miejscem adhezji bakterii. Z kolei płytka nazębna jest to skupisko wielu różnych mikrokolonii bakterii otoczonych ochronną matrycą z kanałami dyfuzyjnymi dla środków odżywczych, enzymów i tlenu. Odpowiednia higiena jamy ustnej oraz szeroko pojęta profilaktyka powinny skutkować ograniczeniem rozwoju próchnicy. Jednak pomimo dużej świadomości społeczeństwa, próchnica jest chorobą, która dotyka szeroko populację i wymaga leczenia. W celu uzupełniania ubytków w zębach stosowane były różne materiały na bazie metali, ceramiki, cementów, a w obecnym czasie głównie używane są materiały kompozytowe. Kompozyty dentystyczne na bazie żywic polimerowych znacznie odmieniły branżę stomatologiczną, wprowadzając mniej inwazyjne metody opracowywania ubytków, a także dając nieporównywalnie lepsze efekty estetyczne od uzupełnień metalowych i amalgamatowych. Jako materiał łatwy w obróbce i wypełnianiu ubytków, poprawiają pracę kliniczną. Kompozyt dentystyczny składa się z matrycy, którą stanowi organiczna żywica polimerowa oraz z nieorganicznego wypełniacza. Dodatkowo zawiera pigmenty, umożliwiające dopasowanie odpowiedniego odcienia do koloru naturalnego zęba, czynnik spajający, a także inicjator polimeryzacji. Każdy z tych składników ma znaczenie dla uzyskania pomyślnego odbudowy kompozytowej zęba. Matryce żywiczne to aktywne układy monomerów bazowych, rozcieńczalników i monomerów sieciujących

cych. Najczęściej używane są: bisfenol A-metakrylan glicydyłu (bis-GMA) i etoksylowany dimetakrylan bisfenolu A (bis-EMA), które nadają kompozytowi wytrzymałość mechaniczną poprzez tworzenie gęsto usieciowanej struktury polimerowej; dimetakrylan uretanu (UDMA), dimetakrylan glikolu trietylenowego (TEGDMA) czy dimetakrylan dekanodiolu (D₃MA), które nadają większą elastyczność matrycy ze względu na obecność w ich strukturze dłuższych łańcuchów alkilowych [2]. Mechaniczne i fizyczne właściwości kompozytów przed i po polimeryzacji są uzależnione od rodzajów monomerów a także stosunku frakcji monomerowej. Matryca żywiczna powinna charakteryzować się dobrą odpornością mechaniczną, elastycznością, wytrzymałością, adhezją oraz małym skurczem polimeryzacyjnym. Ważnym aspektem jest unikanie skurczu polimeryzacyjnego, który prowadzi do nieszczelności wypełnienia i w konsekwencji nawracania próchnicy. Pomimo, że żywice na bazie bis-GMA i bis-EMA wykazują mały skurcz polimeryzacyjny, udowodniono że uwalniany jest z nich toksyczny bisfenol A (BPA), który uważa się za substancję szkodliwą dla organizmu człowieka w wysokich stężeniach. Z tego względu poszukuje się alternatywy dla tych monomerów. W literaturze pojawiają się doniesienia na temat możliwości użycia nowych monomerów, które nie zawierają BPA i dodatkowo poprawiają właściwości kompozytów. Wśród nich można wymienić m.in. dimetakrylową pochodną 9,9'-bis[4-(2-hydroksyetoksy)fenylo]fluorenu (bis-EFMA) [3], trimetakrylową pochodną (4-hydroksytrifenylo)metanu (TTM) [4], dimetakrylową pochodną uretanową 2EMATE-BDI w połączeniu z UDMA [5] czy też żywicę bazującą na materiale ORMOCER [6]. Materiałami przyszłości, które mogą poszerzyć asortyment matryc żywicznych są materiały bioaktywne, które są biokompatybilne i wykazują właściwości antybakteryjne i remineralizujące. Wykazano, że żywice zawierające czwartorzędowe amonowe metakrylany w formie bromków lub chlorków wykazują działanie bakteriobójcze i są w stanie zmniejszyć przyleganie bakterii [7]. Z kolei wprowadzenie do żywicy monomerów kwasowych jak np. piromelitowej pochodnej dimetakrylanu glicerolu, sprzyja uwalnianiu jonów wapnia i jonów fosforanowych z wypełnienia i wpływa na remineralizację szkliwa [8]. W skład materiału kompozytowego wchodzi też wypełniacz, które mają właściwości inne niż matryca żywiczna. Głównym celem wprowadzania wypełniaczy jest poprawa właściwości mechanicznych i fizycznych powstałych kompozytów dentystycznych. Wpływ wypełniacza na te właściwości zależy od jego rodzaju, wielkości, kształtu, morfologii, dyspersji i orientacji w żywicy polimerowej oraz morfologii i chemii jego powierzchni. Jako wypełniacze stosuje się najczęściej substancje nieorganiczne takie jak: różnego typu materiały krzemionkowe, ceramiczne, metale, minerały naturalne, a także wypełniacze polimerowe w postaci usieciowanych cząstek. W tabeli 1 przedstawiono stosowane wypełniacze oraz ich charakterystykę. Obecnie uważa badaczy skierowana jest w stronę wypełniaczy o nanometrowych rozmiarach. Kompozyty nanofilowe uważane są za jedno z najlepszych materiałów hybrydowych, które są dobrym wyborem zwłaszcza w zębach przednich, gdzie estetyka i trwałość są kluczowe. Zastosowane w ich strukturze nanocząsteczki wpływają na osiągnięcie mniejszego skurczu polimeryzacyjnego, trwalszego i odporniejszego na ścieranie i pękanie wypełnienia. Wprowadzenie nanocząstek do kompozytu zwiększa udział procentowy materiału wypełniającego i pośrednio wytrzymałość na naprężenia bez wpływu na lepkość kompozycji.

Tabela 1. Rodzaje wypełniaczy stosowane w kompozytach dentystycznych [9].

Wypełniacz	Kształt cząstek	Rozmiar cząstek	Właściwości
Materiały na bazie krzemionki			
Nanocząstki krzemionki	sferyczne nanocząstki	195–920 nm (D)	Właściwości mechaniczne (wytrzymałość na ściskanie/zginanie)
Kalcynowana kolloidalna krzemionka	klastrowe sferyczne nanocząstki	1–3 μm (D)	Właściwości mechaniczne (wytrzymałość na zginanie/ściskanie, twardość)
Bioaktywne szkło krzemianowe	mikro/nanocząsteczki	5,6 μm / 70 nm (D)	Działanie antybakteryjne i remineralizujące
Włókno szklane	krótkie mikrowłókna	250–500 μm (L), 5 μm (D) 200–400 μm (L), 17 μm (D)	Właściwości mechaniczne (ciągliwość, wytrzymałość na zginanie)
Materiały ceramiczne			
Al ₂ O ₃ -0.5B ₂ O ₃ -SiO ₂ ZrO ₂	mikro/nanocząstki	8–16,9 μm (D) 50 nm (D)	Właściwości mechaniczne, działanie antybakteryjne
Metale			
Ag, TiO ₂ , Au	nanocząstki/nanorurki	Ag: 10–15 nm (D) TiO ₂ : 10 nm (D), 200 nm (L) Au: 5 nm (D)	Właściwości antybakteryjne
Cząstki mineralne			
Nanorurki haloizytowe	nanorurki	30–70 nm (D), 1–3 μm (L)	Właściwości mechaniczne, działanie antybakteryjne
Hydroksyapatyt	nanokryształy / klastry o mikronowych rozmiarach	nanocząstki/ 5–6 μm (D) 1–4 μm (D)	Właściwości mechaniczne, antybakteryjne i remineralizujące
Fosforan wapnia	mikro/nanocząstki	116 nm (D) 15–23 μm (D)	Efekt remineralizujący
Zeolity	nanocząstki	<4 μm (D)	Efekt remineralizujący
Cząsteczki na bazie polimeru			
usieczowane cząsteczki polimerowe	mikro/nanocząstki	–	Właściwości mechaniczne, działanie antybakteryjne

Podstawowymi właściwościami mechanicznymi wymaganymi od kompozytów zapewniającymi trwałą odbudowę zębów są: moduł sprężystości i wytrzymałość. Pierwszy z nich odzwierciedla wewnętrzne właściwości mechaniczne materiału i w sposób matematyczny określa odporność na przyłożone obciążenia tj. ściskanie, rozciąganie, co jest istotne biorąc pod uwagę powstające w jamie ustnej siły żucia. Pożądane jest uzyskanie wyższej wartości modułu sprężystości przy uzupełnieniach zębów bocznych, gdyż siły okluzyjne działające na te zęby są większe od sił działających na zęby przednie. Moduł sprężystości można kontrolować m.in. poprzez kształt i rozmiar wypełniacza, czy rodzaj żywicy. W aspekcie wytrzymałości mechanicznej obiecujące wydają się tzw. samonaprawiające się sieci polimerowe, które po wystąpieniu mikropęknięć są w stanie odbudować defekty strukturalne [10].

Ze względu na dużą wilgotność i częste zmiany pH i temperatury, środowisko jamy ustnej może stanowić wyzwanie dla stabilności fizycznej i chemicznej kompozytu. Kwasy wytwarzane w wyniku fermentacji węglowodanów przez bakterie takie jak *Streptococcus Mutans* mogą stopniowo pogarszać estetykę i funkcjonalność kompozytów, co może powodować wytworzenie nieszczelności na brzegach uzupełnienia, które stanowią najbardziej podatne na kolonizację bakteryjną obszary. Dodatkowo na adhezję bakterii duży wpływ mają cechy powierzchni takie jak chropowatość i swobodna energia powierzchniowa. Dlatego odpowiednia obróbka powierzchni materiału hybrydowego tj. dokładne wykończenie i polerowanie zapobiegają tworzeniu się biofilmu umożliwiając właściwą odbudowę. Skorelowano powstawanie biofilmu z wielkością cząsteczek wypełniacza i stwierdzono, że kompozyty mikrohybrydowe są podatne na większą adhezję bakterii niż kompozyty nanohybrydowe [9]. Poza tym, żywice bazujące na metakrylanach są podatne na hydrolizę wiązań estrowych w środowisku jamy ustnej oraz absorpcję wody, co powoduje zmniejszenie ich okresu użytkowania. Prowadzone są prace nad żywicami zawierającymi zamiast estrów związki tiolowe, eterowe czy amidowe [10]. Proces polimeryzacji materiałów hybrydowych skutkuje zazwyczaj skurczem polimeryzacyjnym wywołanym przez czynniki chemiczne i termiczne. Wpływ tego zjawiska ma istotne znaczenie biorąc pod uwagę aspekt długowieczności i trwałości materiałów dentystycznych. Skurcz może prowadzić do niższej skuteczności wiązania, zmniejszając właściwości fizyczne i mechaniczne wypełnienia, co może powodować mikroprzeciek i uszkodzenia uzupełnienia. Stworzono różne metody wpływania na skurcz materiałów hybrydowych tj. półprodukty o niskim module sprężystości i różne mechanizmy inicjacji polimeryzacji.

Wnioski: Hybrydowe kompozyty dentystyczne zrewolucjonizowały rynek wypełnień. Wytrzymałe i antybakteryjne żywice dentystyczne są niezbędne do naprawy kształtu i funkcji zębów. Jednakże nadal brakuje genialnego sposobu na osiągnięcie synergistycznego wzmocnienia tych dwóch właściwości i wciąż trwają poszukiwania idealnego materiału hybrydowego, który wytrzyma obciążenia okluzyjne, będzie stabilny w trudnych warunkach jamy ustnej, będzie zapobiegał przywieraniu i wzrostowi biofilmu, wykazując przy tym zdolności do remineralizacji i samonaprawy.

Literatura:

1. B. Pawka, P. Dreher, J. Herda i in., Probl Hig Epidemiol, 91 (2010) 5.
2. X. Xu, L. He, B. Zhu, J. Li, J. Li, Polym Chem 8 (2017) 807.
3. J. He, HM Kopperud, Dent Mater 34 (2018) 1003.
4. A.A. Perez-Mondragon AA, C.E. Cuevas-Suarez, J.A. Gonzalez-Lopez, N. Trejo-Carbajal, M. Melendez-Rodríguez, A.M. Herrera-Gonzalez, Dent Mater 36 (2020) 542.
5. A.P. Fugolin, A.B. de Paula, A. Dobson, V. Huynh, et al., Dent Mater 36 (2020) 884.
6. E. Klauer, R. Belli, A. Petschelt, U. Lohbauer U. Clin Oral Invest 23 (2019) 2113.
7. L. Cheng, K. Zhang, M.D. Weir, M.A. Melo, X. Zhou, H.H. Xu, Nanomedicine 10 (2015) 627.
8. L. Zhang, M.D. Weir, L.C. Chow, J.M. Antonucci, J. Chen, H.H. Xu, Dent Mater. 32 (2016) 285.
9. K. Cho, G. Rajan, P. Farrar, L. Prentice, B.G. Prusty, Composites Part B 230 (2022) 109495.
10. A.P.P. Fugolin, C.S. Pfeifer, J Dent Res, 96 (2017) 1085.

ZASTOSOWANIA KOMPOZYTÓW HYDROKSYAPATYT/TLENEK TYTANU -KRÓTKI PRZEGLĄD

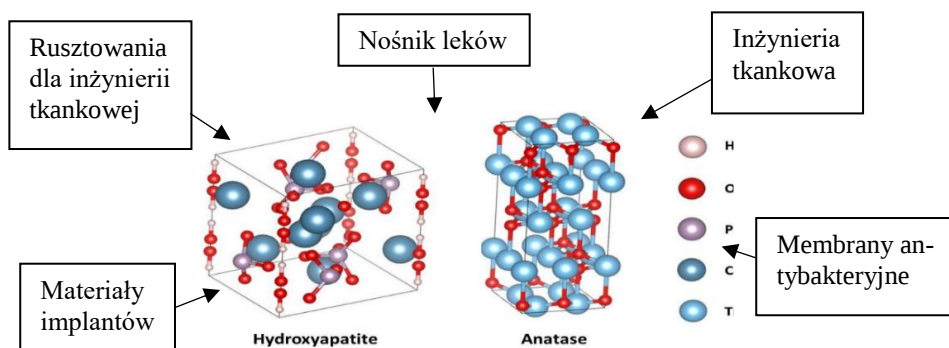
A.C. SZAPOWICZ, E. SKWAREK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Kompozyty tytanu-hydroksyapatytu (Ti-HA) wyróżniły się jako imponująca klasa biomateriałów ze względu na połączenie wytrzymałości mechanicznej, odporności na korozję i bioaktywności. Tytan zapewnia integralność strukturalną i trwałość; podczas gdy hydroksyapatyt ściśle naśladuje zawartość minerałów w kościach, co zapewnia większe przyleganie komórek i tworzenie nowej tkanki. Niniejszy artykuł wprowadza do tlenków tytanu, ich bioaktywnych właściwości, hydroksyapatytu połączonych w kompozytach Ti-HA, a także kluczowych zastosowań zarówno medycznych, jak i niekonwencjonalnych, które wykorzystują szerokie zastosowania tych wszechstronnych kompozytów.

Wprowadzenie: Tytan (Ti) jest ceniony w inżynierii biomedycznej za wysoką wytrzymałość, niską gęstość i odporność na korozję. W środowiskach fizjologicznych tworzy warstwę TiO_2 , chroniącą przed uwalnianiem jonów. Istnieją trzy główne formy krystaliczne TiO_2 : anataz, rutyl i brukit. Anataz cechuje się aktywnością fotokatalityczną, hamuje wzrost drobnoustrojów i może przekształcać się w rutyl pod wpływem ciepła. Rutyl jest termodynamicznie stabilny, odporny na korozję i poprawia biokompatybilność. Brukit wpływa na chropowatość powierzchni i adsorpcję białek, lecz występuje rzadko. Fazę tlenku tytanu można kontrolować poprzez obróbkę cieplną, atmosferę przetwarzania i domieszki [1-3]. Hydroksyapatyt (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ jest ceniony za podobieństwo do kości oraz osteokonduktywność [4], wspierając osteointegrację i regenerację tkanek. Jego heksagonalna struktura ułatwia wiązanie z kością, czyniąc go bioaktywnym materiałem implantacyjnym. HA można modyfikować poprzez substytucję jonami (np. Mg^{2+} , Zn^{2+} , F^-), co wpływa na jego właściwości mechaniczne, rozpuszczalność i reakcję biologiczną. Jednak ze względu na kruchość, HA często łączy się z metalami, takimi jak tytan, tworząc kompozyty o zwiększonej wytrzymałości i bioaktywności [5,6]. Kompozyty tytanu i hydroksyapatytu (Ti-HA) łączą w sobie niezwykle właściwości mechaniczne, wytrzymałość, ciągliwość i odporność na korozję tytanu z bioaktywnymi i osteokondukcyjnymi właściwościami hydroksyapatytu (HA) [7] [8]. Tytan jest już podstawą ortopedii i stomatologii ze względu na wysoki stosunek wytrzymałości do masy i ochronną warstwę tlenkową, a mimo to jest stosunkowo bioinertny [9]. Tymczasem hydroksyapatyt ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) bardzo przypomina fazę mineralną ludzkiej kości, promując przyleganie komórek i wrastanie tkanek, chociaż jest podatny na kruchość pod dużym obciążeniem [4]. Naukowcy starali się zatem połączyć HA z tytanem, albo jako fazę wzmacniającą w matrycy tytanowej, albo jako warstwę powlekaną, zapewniając zarówno stabilność strukturalną, jak i zwiększoną integrację biologiczną [8]. Metody wytwarzania obejmują metalurgię proszków, a także spiekanie plazmą iskrową, które wykorzystuje prąd impulsowy do szybkiej konsolidacji proszków przy jednoczesnym zachowaniu bioaktywnej fazy HA [10]. Ponadto podejścia do wytwarzania addytywnego, takie jak selektywne topienie laserowe lub osadzanie energii kierowanej, mogą wytwarzać implanty dostosowane

do indywidualnych potrzeb pacjenta [7]. Głównym celem w rozwoju Ti-HA jest dostosowanie mikrostruktury i porowatości w celu zrównoważenia wytrzymałości mechanicznej z osteokonduktywnością [6]. Kontrolowane sieci porów, szczególnie w rusztowaniach, wspomagają przepływ składników odżywczych, co jest niezbędne do solidnej regeneracji kości [11]. Aby dodatkowo promować aktywność przeciwbakteryjną lub wzrost kości, do sieci HA można dodać jony domieszkowe, takie jak magnez, cynk lub srebro [5]. Domieszki te mogą poprawić zarówno integralność mechaniczną, jak i funkcjonalność biologiczną kompozytu, co pokazuje, w jaki sposób strategie domieszkowania udoskonalają zachowanie implantu. Zrównoważenie ciągliwości tytanu z wrodzoną kruchością hydroksyapatytu (HA) jest niezbędne do uzyskania odpowiedniej wytrzymałości na pękanie w kompozytach tytanowo-hydroksyapatytowych [12]. Wprowadzenie mikroporów o wielkości od 1 do 10 μm zwiększa powierzchnię i poprawia adsorpcję białka, podczas gdy makropory o wielkości 100–500 μm wspomagają migrację komórek, co jest kluczowe dla pomyślnej integracji tkanki [11]. Ponadto stabilność ochronnej warstwy tlenku tytanu zależy od pH: warunki kwaśne mogą przyspieszyć rozpuszczanie HA, co podkreśla znaczenie projektowania kompozytu w celu zminimalizowania korozji i uwalniania jonów [13]. Wreszcie strategie domieszkowania, takie jak wprowadzanie Zn^{2+} , Mg^{2+} lub Sr^{2+} , mogą znacznie zwiększyć działanie przeciwbakteryjne i potencjał osteogenny, często poprzez produkcję reaktywnych form tlenu (ROS), które hamują kolonizację drobnoustrojów [5]. Kompozyty Ti-HA są szeroko stosowane w implantach nośnych, takich jak endoprotezy stawu biodrowego, płytki kostne i protezy stomatologiczne. Wysoki stosunek wytrzymałości do masy i odporność na korozję tytanu zapewniają trwałość strukturalną w czasie, podczas gdy jego składnik hydroksyapatytowy (HA) naśladuje fazę mineralną kości, ułatwiając bezpośredni kontakt kości z implantem i przyspieszając proces integracji. Jest to szczególnie korzystne w miejscach nośnych, gdzie wczesna stabilność ma kluczowe znaczenie dla uniknięcia mikroruchów i potencjalnego uszkodzenia implantu [14]. Ti-HA można również wytwarzać w postaci porowatych rusztowań, które odtwarzają architekturę kości gąbczastej. Te porowate konstrukcje ułatwiają infiltrację komórek, dyfuzję składników odżywczych i wrastanie naczyń, które są kluczowymi składnikami naturalnej regeneracji kości. Ich porowatość można modyfikować za pomocą technik, jak selektywne topienie laserowe, spiekanie plazmą iskrową lub stosowanie cząstek utrzymujących przestrzeń w celu uzyskania integralności mechanicznej, jednocześnie tworząc idealne mikro środowisko dla osteoblastów i komórek naczyniowych. W miarę regeneracji tkanki kostnej w obrębie tych struktur, składniki HA sprzyjają biointegracji, podczas gdy matryca tytanowa zapewnia stabilność w podtrzymywaniu konstrukcji nośnej [15]. Zakażenia związane z implantami pozostają krytycznym wyzwaniem klinicznym; w związku z tym kompozyty Ti-HA są coraz częściej opracowywane jako powłoki antybakteryjne. Poprzez dodanie pewnych domieszek (np. Ag^+ lub Zn^{2+}) lub TiO_2 w fazie anatazu, powłoki te mogą hamować adhezję bakterii i tworzenie biofilmu, zmniejszając tym samym ryzyko zakażeń pooperacyjnych [16]. Ponadto kontrolowane uwalnianie gatunków jonowych z sieci HA może dodatkowo zapobiegać kolonizacji bez wpływu na biokompatybilność; dzięki czemu takie powłoki są idealne do zastosowań w implantach ortopedycznych i stomatologicznych, w których zanieczyszczenie mogłoby zagrozić rekonwalescencji pacjenta [16]. Materiały kompozytowe zawierające formę anatazową TiO_2 wykazują właściwości fotokatalityczne w świetle UV lub widzialnym, wytwarzając reaktywne formy tlenu (ROS), które degradują zanieczyszczenia organiczne, hamują wzrost drobnoustrojów

i usuwają biofilmy. Właściwości te są wykorzystywane w szpitalach, urządzeniach medycznych i środowiskach o dużym natężeniu ruchu, aby tworzyć samoczyszczące się powierzchnie i utrzymywać sterylne warunki [2]. Chociaż te materiały kompozytowe są najlepiej znane ze swoich zastosowań w biomedycynie, mają również wiele innych zastosowań (Rysunek 1) Ti-HA służy jako powłoka ochronna w środowiskach podatnych na korozję i aktywność biologiczną, takich jak inżynieria morska lub w zakładach przetwórstwa chemicznego [18]. W szczególności, gdy jest stosowany jako warstwa barierowa na metalowych elementach stosowanych w tych warunkach, zmniejsza zarówno degradację chemiczną, jak i biofouling, jednocześnie wydłużając żywotność funkcjonalną poprzez wy-



Rys. 1. Struktura hydroksyapatytu z anatazem i jego zastosowania [17].

korzystanie jego stabilności chemicznej i właściwości barierowych tytanu w trudnych warunkach [19]. Porowate lub nanostrukturyzowane kompozyty Ti-HA mogą być dostosowane do zwiększenia adsorpcji molekularnej i procesów transferu elektronów, co czyni je skutecznymi platformami do bioczułników lub katalizy [9]. Zastosowania bioczułników wykorzystują składnik HA do selektywnego wiązania docelowych biocząsteczek, podczas gdy tytan zapewnia ścieżki przekazywania sygnału; do katalizy wykorzystanie funkcjonalizujących powierzchni ze specyficznymi domieszkami może tworzyć miejsca aktywne, które umożliwiają reakcje chemiczne. Te zastosowania kompozytów Ti-HA pokazują, w jaki sposób te wielofunkcyjne powierzchnie nie tylko służą jako niezbędne biomateriały dla medycyny regeneracyjnej, ale są również niezbędnymi wielofunkcyjnymi powierzchniami w innych dziedzinach, w których odporność na korozję, działanie antybakteryjne lub fotokataliza są niezbędne.

Wnioski: Kompozyty tytanowo-hydroksyapatytowe stanowią niezwykle wszechstronną i obiecującą klasę materiałów, które oferują zarówno trwałość mechaniczną, jak i zgodność biologiczną. Kompozyty te łączą doskonałe właściwości strukturalne tytanu i odporność na korozję z wyższą osteokonduktywnością i bioaktywnością hydroksyapatytu w przypadku implantów nośnych, przyspieszając szybszy wzrost kości.

Literatura

1. J. Kim, D. Lee, K. Park, *Journal of Thermal Spray Technology*, 3 (2015) 34.
2. Y. Liu, Z. Chen, J. Wang, *Journal of Materials Chemistry B*, 8 (2020) 7642.

3. G.D. Yuan, R. Che, H.B. Xu, Q.C. Liao, L.M. Peng, *Advanced Materials*, 21 (2009) 2158.
4. S. Arora, S. Mehta, R. Chauhan, *Progress in Organic Coatings*, 23 (2017) 17.
5. X. Li, C. Yao, J. Shen, S. Zhu, Y. Kong, C. Yao, Y. Zhou, J. Xia, *Micromachines*, 8 (2024) 1277.
6. D. Chen, Q. Li, Y. Zhou, *Surface and Coatings Technology*, 2 (2017) 66.
7. J.D. Avila, K. Stenberg, S. Bose, A. Bandyopadhyay, *Acta Biomaterialia*, 4 (2021) 54678.
8. R. Comin, M.P. Cid, L. Grinschpun, C. Oldani, N.A. Salvatierra, *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 34 (2017) 1.
9. T.J. Webster, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2 (2009) 233.
10. K. Niespodziana, K. Jurczyk, J. Jakubowicz, M. Jurczyk, *Materials Chemistry and Physics*, 123 (2010) 160.
11. R. Singh, S. Verma, N. Patel, *Materials Letters*, 17 (2016) 34.
12. M. Desai, S. Verma, P. Chandra, *Journal of Biomedical Materials Science: Polymer Edition*, 17 (2019) 55.
13. W. Zhao, H. Liu, X. Chen, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2 (2016) 1213.
14. P. Zhao, D. Huang, G. Liu, *Biomedical Engineering Advances*, 12 (2021) 237.
15. X. Wang, H. Li, Y. Zhang, *International Journal of Biomedical Materials Research*, 17 (2023) 456.
16. A.K. Gupta, N. Reddy, P. Singh, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 3 (2018) 55.
17. A.R. Noviyanti, E.N. Asyiah, M.D. Permana, D. Dwiyanti, Suryana, D.R. Eddy, *Crystals*, 12 (2022) 1599.
18. M. Reddy, P. Chandra, D. Singh, *Journal of Thermal Spray Technology*, 12 (2017) 654.
19. R. Smith, T. Jones, *Materials Science and Engineering A*, 23 (2022) 542

PORÓWNANIE WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH KOMPOZYTÓW NA BAZIE GLINKI ŻÓLTEJ I HYDROKSYAPATYTU OTRZYMANYCH METODAMI MECHANOCHEMICZNĄ I MOKRĄ

K. KOWALSKA, E. SKWAREK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Glinka żółta i hydroksyapatyt stanowią niedrogie i łatwo dostępne składniki do syntezy nowych, wielofunkcyjnych kompozytów. W niniejszej pracy porównano wybrane właściwości kompozytów na bazie tych materiałów, otrzymanych dwiema metodami: mechanochemiczną oraz mokrą. Otrzymane produkty zostały scharakteryzowane przy użyciu mikroskopii skaningowej (SEM) oraz spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Dodatkowo określono wielkość cząstek, wartość potencjału dzeta oraz gęstość ładunku powierzchniowego metodą miareczkowania potencjometrycznego. Przeprowadzono również badania adsorpcji i desorpcji azotu w celu analizy właściwości porowatych kompozytów.

Wprowadzenie: Glinka jest nietoksyczna, tania i łatwo dostępna. Materiały ilaste są doskonałymi adsorbentami ze względu na dużą powierzchnię właściwą w stosunku do wielkości cząstek. Kaolin, który jest głównym składnikiem żółtej glinki, powszechnie występuje w glebie i skałach osadowych, przyczyniając się do zwiększenia stabilności mechanicznej gleby. Jego zastosowanie w przemyśle jest szerokie np. produkcja ceramiki czy adsorpcja zanieczyszczeń [1]. Hydroksyapatyt jest naturalnie występującą formą apatytu wapnia o wzorze $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Stanowi około 50% masy kostnej i jest źródłem doskonałych właściwości osteointegracyjnych i ostokonduktywnych. Jest odporny na obciążenia ściskające, a makroporowatość jego porów pozwala na wielokrotne wykorzystanie jego właściwości mechanicznych. Obiecujące wyniki uzyskuje się zarówno poprzez upakowanie hydroksyapatytu w inne cząsteczki, jak i połączenie hydroksyapatytu z cząsteczkami penetrującymi jego gąbczaste struktury [2]. Połączenie opisanych składników w kompozyt może być nową formą dostarczania np. substancji bioaktywnych dla przemysłu farmaceutycznego lub kosmetycznego. Kompozyty te można łatwo modyfikować, dostosowując je do bieżących potrzeb takich gałęzi nauki jak np. inżynieria tkankowa. Po szerszej analizie fizykochemicznej poszczególne składniki można dobrać tak, aby potencjał był największy i najlepiej wykorzystany, a układy identyfikowane jako koloidalne były jak najbardziej stabilne [3]. Metoda mechanochemiczna opiera się na intensywnym mieszaniu i mieleniu reagentów, co może prowadzić do powstawania bardziej homogenicznych struktur o wysokiej stabilności. Metoda mokra natomiast umożliwia precyzyjną kontrolę nad parametrami procesu, co może wpływać na mikrostrukturę oraz stopień interakcji pomiędzy składnikami.

Część eksperymentalna: Kompozyty nr 1, 2, 3 (Tabela 1) uzyskano przy użyciu młyna nożowego o pojemności masy 400 g i prędkości 24000 obr./min. metodą syntezy mechanochemicznej. Składniki odważono i mielono w młynie nożowym przez 3 minuty.

Synteza metodą mokrą: W celu otrzymania kompozytu nr 4 (Tabela 1) do kolby, która zawierała 200 cm³ wody destylowanej, odmierzone 0,77 g glinki, następnie zanurzono w łaźni wodnej podgrzanej do temperatury 100°C. We wkraplaczach umieszczono po 150 cm³ roztworów (CH₃COO)₂Ca i K₂HPO₄ do otrzymania hydroksyapatytu i wkraplano je przez 30 minut. Kolejnym etapem syntezy było gotowanie mieszaniny reakcyjnej przez 1 h przy zachowaniu stałej temperatury i energicznego mieszania mechanicznego. Następnie otrzymany osad wielokrotnie przemywano wodą destylowaną aż do uzyskaniu stałego przewodnictwa. Następnie kompozyt wysuszono i rozdrobniono w młynku.

Tabela 1. Skład procentowy kompozytów.

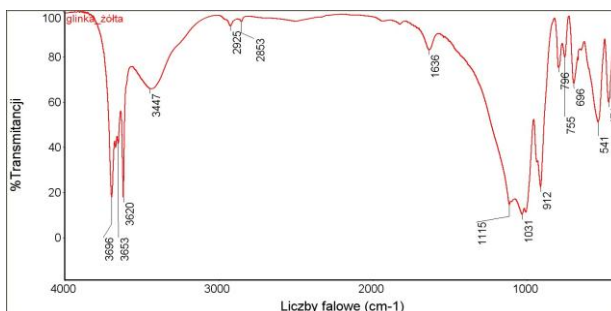
Numer kompozytu	Glinka żółta [%]	Glinka żółta wypalona w 200°C [%]	Hydroksyapatyt [%]
1	100	-	-
2	-	100	-
3	95	-	5
4	50	-	50

Widma uzyskano przy użyciu urządzenia Nicolet 8700A FTIR sprzężonego z modulem spektrometru Nicolet NXR FT Raman firmy Thermo Scientific. Pomiary wielkości cząstek i potencjału zeta wykonywano za pomocą ZetaSizer 3000 (Malvern Instruments). Gęstość ładunku powierzchniowego określono za pomocą miareczkowania potencjometrycznego. Do wykonania adsorpcji i desorpcji azotu wykorzystano urządzenie ASAP 2420 firmy Micromeritics Inc. USA.

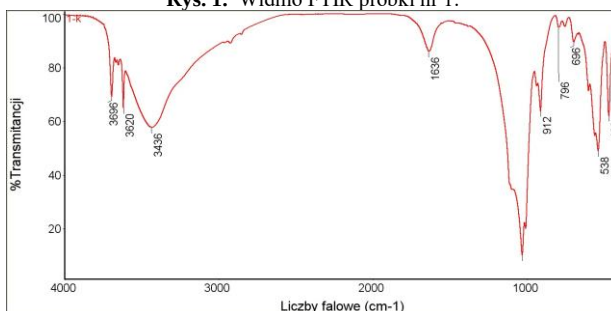
Wyniki: Powierzchnia właściwa była zróżnicowana, jednak można było zauważyć, że dla pojedynczego komponentu jakim była glinka żółta powierzchnia była (ok. 12 m²/g) ponad dwa razy mniejsza niż dla kompozytu otrzymanego metodą mokrą (ok. 32 m²/g). Objętość porów również uległa prawie 3 krotnemu zwiększeniu (z 0,06 cm³/g do 0,15 cm³/g), natomiast wielkość porów oscylowała na podobnym pułapie (ok. 20 nm). W widmach możemy rozpoznać pasma charakterystyczne dla składników kompozytu (Rysunek 1 i 2). Możemy zauważyć pewne różnice w widmach przedstawionych próbek (Tabela 2). Występują pewne różnice w wielkości cząstek kompozytów, jednak głównie wielkości plasują się pomiędzy 900 a 1300 nm, co pozwala je sklasyfikować głównie jako mikrokompozyty. Pomiar wielkości cząstek wykonano na mokro.

Tabela 2. Porównanie widma FTIR próbek.

Charakterystyka pasm	Długość fali dla próbki 1	Długość fali dla próbki 4
Kaolin	3696 cm ⁻¹ 3653 cm ⁻¹ 3620 cm ⁻¹ 1115 cm ⁻¹ 1031 cm ⁻¹	3696 cm ⁻¹ 3620 cm ⁻¹ 1115 cm ⁻¹ 1031 cm ⁻¹
Hydroksyapatyt	1636 cm ⁻¹ 471 cm ⁻¹	1636 cm ⁻¹ 469 cm ⁻¹
-OH	-	3436 cm ⁻¹

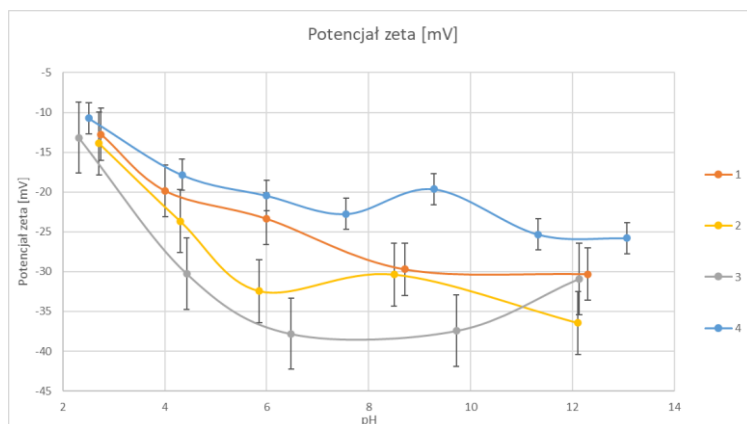


Rys. 1. Widmo FTIR próbki nr 1.



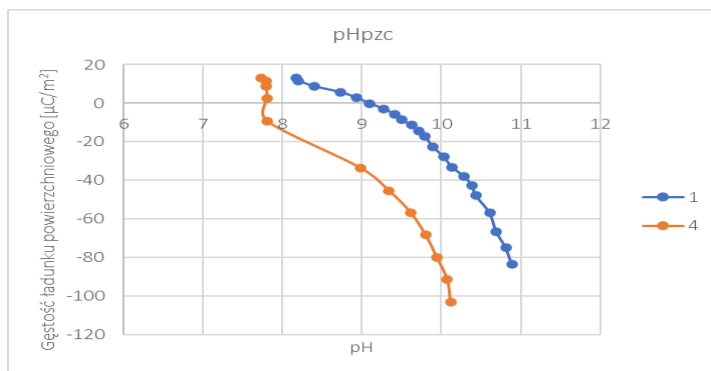
Rys. 2. Widmo FTIR próbki nr 4.

Wyniki pomiarów potencjału dzeta (Rysunek 3) w zakresie pH od 2 do 6 wykazały, że wzrost pH w tym zakresie powoduje szybki spadek wartości potencjału dzeta. W zakresie pH od 6 do 12 wyniki stabilizują się. Próbka 2 w układzie kompozyt/roztwór elektrolitu są stabilne koloidalnie w zakresie pH od 4 do 12. Badane kompozyty charakteryzowały się wartościami potencjału zeta od -10 mV do -37 mV. Punktów pH_{iep} (isoelectric point) dla poszczególnych próbek możemy spodziewać się dla pH poniżej 2. Możemy to wytłumaczyć porowatością materiału i nakładaniem się w nich podwójnych warstw elektrycznych oraz obecność na powierzchni grup fosforanowych i hydroksylowych.



Rys. 3. Potencjał dzeta.

Punkt pH_{pzc} (point of zero charge) został wyznaczony metodą miareczkowania potencjometrycznego. Dla próbki nr 4 wartość pH_{pzc} wynosi 7,8, natomiast dla próbki nr 1 jest równa 9. Otrzymane wyniki wskazują, że metoda syntezy ma istotny wpływ na wartość tego parametru, który charakteryzuje podwójną warstwę elektryczną. Zmiana wartości pH_{pzc} sugeruje różnice w właściwościach powierzchniowych badanych materiałów, co może wpływać na ich zdolność do adsorpcji jonów. Wartość pH_{pzc} określa punkt, w którym powierzchnia adsorbentu nie wykazuje ładunku (jest on równy 0) – poniżej tej wartości dominuje ładunek ujemny, natomiast powyżej dodatni. Oznacza to, że próbka o pH_{pzc} = 7,8 może wykazywać lepszą adsorpcję anionów w środowisku lekko kwaśnym, podczas gdy próbka o pH_{pzc} = 9 będzie bardziej efektywna w adsorpcji kationów w zakresie pH zasadowego. Zaobserwowane różnice mogą wynikać ze sposobu organizacji powierzchni kompozytów, stopnia interakcji między składnikami oraz potencjalnych zmian w strukturze chemicznej wywołanych procesem syntezy. W konsekwencji, wybór odpowiedniej metody otrzymywania kompozytów może być kluczowy dla ich zastosowania w procesach adsorpcji zanieczyszczeń jonowych, katalizie czy inżynierii środowiska.



Rys. 4. Punkt pH_{pzc}.

Wnioski: Zarówno kompozyty otrzymane metodą mechanochemiczną, jak i te uzyskane metodą mokrą wykazują różnice w właściwościach fizykochemicznych. Połączenie gliny żółtej z hydroksyapatytem pozwala na zwiększenie objętości i dostępności porów, co może znacząco wpłynąć na ich zdolność do adsorpcji. Dzięki temu kompozyty te mogą znaleźć zastosowanie jako nośniki dla różnych związków bioaktywnych, rozszerzając ich potencjalne wykorzystanie w medycynie, farmacji czy inżynierii materiałowej.

Literatura:

1. L. Mounia, L. Belkhirib, J.-C. Bollinger, A. Bouzazad, A. Assadid, A. Tirrib, F. Dahmounee, K. Madanie, H. Reminie, *Appl. Clay Sci.*, 153 (2018) 38.
2. W. Wang, K.W.K. Yeung, *Bioact. Mater.*, 2 (2017) 224.
3. A. Biedrzycka, E. Skwarek, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 334 (2024) 103308.

BIOMATERIAŁY HYDROŻEŁOWE STABILIZOWANE POLIFOSFORANAMI – BADANIA STRUKTURALNE I POWIERZCHNIOWE

A. WAWSZCZAK, D. KOŁODYŃSKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

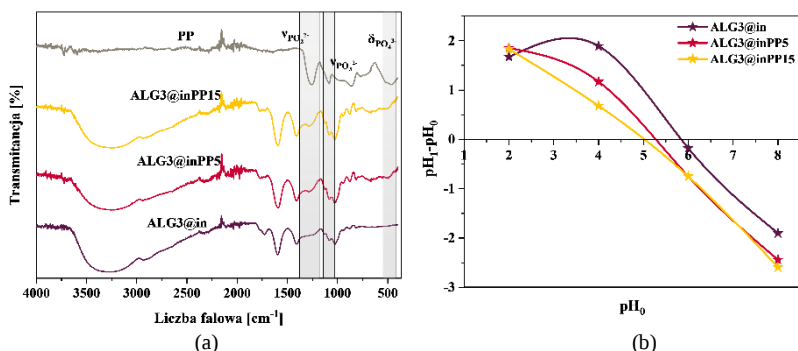
Abstrakt: Hydrożele na bazie naturalnych polisacharydów, takich jak alginian wapnia, odgrywają kluczową rolę w inżynierii biomateriałów. Ich szerokie zastosowanie obejmuje m.in. inżynierię tkankową, systemy dostarczania leków oraz adsorpcję jonów metali. Jednak ich stabilność w środowisku wodnym stanowi istotne ograniczenie. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu modyfikacji polifosforanami na właściwości fizykochemiczne hydrożeli alginianowych, w szczególności ich strukturę powierzchniową oraz właściwości chemiczne. Charakterystykę materiałów przeprowadzono z wykorzystaniem spektroskopii w podczerwieni (FTIR), analizy składu pierwiastkowego (EDS), pomiaru izoterm adsorpcji i desorpcji azotu (ASAP) oraz wyznaczenia punktu ładunku zerowego (pHpzc). Uzyskane wyniki potwierdziły skuteczną funkcjonalizację matryc polifosforanami, prowadzącą do zmian w strukturze chemicznej, modyfikacji właściwości powierzchniowych oraz zwiększenia ich potencjału adsorpcyjnego wobec kationowych zanieczyszczeń.

Wprowadzenie: Hydrożele polisacharydowe ze względu na swoją biokompatybilność, biodegradowalność i zdolność do wiązania jonów metali znajdują zastosowanie w inżynierii biomateriałów [1]. Alginian wapnia, będący jednym z najczęściej wykorzystywanych biopolimerów, tworzy trójwymiarową sieć w wyniku jonowego sieciowania wapniem. Jednakże jego ograniczona stabilność w roztworach wodnych, prowadzi do szybkiej degradacji struktury hydrożelu [2]. Celem poprawienia stabilności alginianu wapnia może być modyfikacja polifosforanami, które mogą pełnić rolę dodatkowych czynników sieciujących lub stabilizatorów hydrożeli. Polifosforany dzięki swojej zdolności do wiązania jonów wapnia mogą skutecznie spowolnić degradację matryc alginianowych. Ponadto, polifosforany mogą modyfikować właściwości chemiczne i powierzchniowe alginianu, co zwiększa ich potencjalną przydatność w inżynierii biomateriałów, w tym w adsorpcji jonów i zastosowaniach biotechnologicznych [3–5]. W niniejszej pracy przedstawiono analizę strukturalną i powierzchniową hydrożeli alginianowych poddanych modyfikacji polifosforanami. Charakterystyka otrzymanych matryc została przeprowadzona z wykorzystaniem metod spektroskopowych oraz technik adsorpcyjnych w celu oceny wpływu funkcjonalizacji na strukturę chemiczną, właściwości powierzchniowe oraz potencjalną efektywność w procesach sorpcyjnych.

Część eksperymentalna: W procesie syntezy matryc biopolimerowych zastosowano alginian sodu, węglan wapnia, glukono- δ -laktone oraz etanol. Roztwór wodny alginianu sodu przygotowano o stężeniu masowym 3%. W trakcie procesu rozpuszczania alginianu sodu w wodzie zastosowano niewielką ilość etanolu w początkowej fazie mieszania. Dodatek etanolu został użyty w celu ułatwienia homogenizacji roztworów wodnych alginianu sodu.

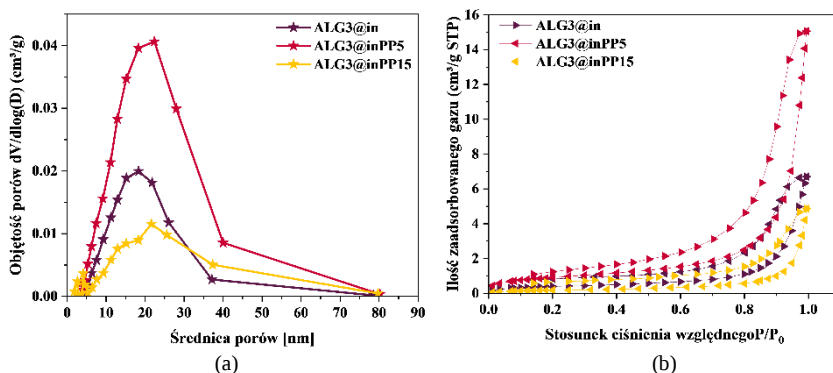
Do mieszaniny wprowadzono odważkę węglanu wapnia w określonym stosunku do alginianu sodu, oznaczonym jako 0,15:1 m/m. Węglan wapnia zdyspergowano przy użyciu mieszadła magnetycznego. Dodano glukono- δ -lakton, a następnie przelano do form i pozostawiono do usieciowania przez 24 godziny. Uformowane żele poddano procesowi zamrażania, a potem liofilizacji celem uzyskania struktury porowatej.

Wyniki: Na rys.1a przedstawiono widma FTIR matrycy niezmodyfikowanej (ALG3@in), zmodyfikowanych (ALG3@inPP5 i ALG3@inPP15) oraz polifosforanu (PP). Zaobserwowano pasma charakterystyczne drgania rozciągające OH w zakresie $3600\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$, dla grupy karboksylanowej (COO^-) w tym drgania C-O przy 1585 cm^{-1} (asymetryczne) i 1410 cm^{-1} (symetryczne)[6,7]. Ponadto, rozciągające drgania C-O-C obserwuje się przy 1086 cm^{-1} , oraz pojawienie się dodatkowych sygnałów związanych z obecnością grup fosforanowych (P=O , P-OH).



Rys.1. (a) Widma FTIR (b) Zależność początkowego pH₀ od zmiany pH (pH₁ - pH₀).

Wprowadzenie polifosforanu do matrycy alginianu sodu obniża punkt ładunku zerowego (pH_{pzc}) matrycy (rys.1b). Wprowadzenie dodatkowych grup kwasowych powoduje zwiększenie gęstości ładunków ujemnych na powierzchni matrycy. W rezultacie zmodyfikowana matryca będzie wykazywać silniejsze przyciąganie elektrostatyczne w kierunku zanieczyszczeń kationowych w szerszym zakresie warunków pH, potencjalnie poprawiając jej wydajność w zastosowaniach opartych na adsorpcji.



Rys.2. (a) Rozkład objętości porów w funkcji średnicy porów (b) Izotermy adsorpcji azotu.

Na rys.2a przedstawiono rozkład wielkości porów w strukturze analizowanych próbek. Półka ALG3@inPP5 wykazuje największą objętość porów, z maksimum przy około 15 nm, z kolei ALG3@in i ALG3@inPP15 wykazują mniejsze objętości porów, co wskazuje na zmniejszoną porowatość lub możliwe zablokowanie porów. Rozkład objętości porów sugeruje, że proces modyfikacji wpływa na właściwości teksturalne materiału, przy czym ALG3@inPP15 wykazuje najniższą porowatość. Izotermy adsorpcji-desorpcji azotu (rys.2b) potwierdzają te obserwacje. Wszystkie próbki wykazują izotermy typu IV z pętlami histerezy typu H3, charakterystycznymi dla materiałów mezoporowatych. Izoterma ALG3@inPP5 wykazuje najwyższy pobór azotu, szczególnie przy wysokich ciśnieniach względnych ($P/P_0 > 0,8$). W tabeli 1 zestawiono wyniki udziału masowego oraz atomowego poszczególnych pierwiastków w badanych matrycach na podstawie przeprowadzonej analizy EDS. Zawartość wapnia waha się od 2,49% dla ALG3@in, poprzez 2,06% dla ALG3@inPP5, do 3,45% dla ALG3@inPP15, co wskazuje na możliwą intensyfikację sieciowania w obecności większej ilości polifosforanu. W matrycach po modyfikacji potwierdzono obecność fosforu – od 0,76% (ALG3@inPP5) do 2,37% (ALG3@inPP15) [8].

Tabela 1. Wyniki analizy EDS (udział masowy – Wt% i udział atomowy – At%).

	ALG3@in		ALG3@inPP5		ALG3@inPP15	
	At%	Wt%	At%	Wt%	At%	Wt%
C K	45,03	36,76	41,45	33,27	40,11	31,62
O K	50,16	54,65	52,16	55,83	52,63	55,46
Na K	3,91	6,10	5,25	8,07	4,78	7,21
P K	-	-	0,37	0,76	1,17	2,37
Ca K	0,91	2,49	0,77	2,06	1,32	3,45

Wyznaczono również parametr Ca/P na podstawie stosunku molowego wapnia do fosforu, który pozwala na ocenę równowagi między tymi pierwiastkami w strukturze matrycy. Wraz ze wzrostem udziału polifosforanów w matrycy parametr Ca/P zmienia się odpowiednio z 2,08 w ALG3@inPP5 do 1,13 w ALG3@inPP15.

Wnioski: Analiza FTIR potwierdza pomyślne włączenie polifosforanu (PP) do matrycy alginianu, o czym świadczy obecność dodatkowych pasm związanych z fosforanem ($P=O$, $P-OH$) w modyfikowanych próbkach. Zaobserwowana zmiana wartości pH_{pzc} sugeruje, że wprowadzenie polifosforanów wpływa na rozkład ładunku powierzchniowego, zwiększając zdolność materiału do interakcji z kationami. Dzięki temu, w zastosowaniach, które wymagają selektywnego wiązania jonów, modyfikacja za pomocą PP może poprawić wydajność i stabilność matrycy alginianowej. Ponadto, szerszy zakres pH, w którym zmodyfikowana matryca pozostaje aktywna, zwiększa jej wszechstronność w zastosowaniach środowiskowych i przemysłowych, w tym do usuwania metali ciężkich i kontrolowanego uwalniania jonów. Dodatek polifosforanów do matrycy alginianowej wpływa na ilość wapnia i fosforu, powodując zmiany w molowym stosunku Ca/P. Zmniejszenie tej wartości z 2,08 (ALG3@inPP5) do 1,13 (ALG3@inPP15) wskazuje na wzrost inkorporacji fosforanów, co może zmienić usieciowanie i strukturalny układ matrycy. Na podstawie uzyskanych wartości parametru Ca/P można oszacować różnice w potencjalnej rozpuszczalności, ponieważ wraz ze wzrostem jego wartości zmniejsza się rozpuszczalność danej fazy. Wyższy parametr Ca/P sugeruje obecność faz bogatych wapni o niższej rozpuszczalności a tym samym większej stabilności w środowiskach wodnych niż wartość Ca/P

może świadczyć o lepszej bioresorbowalności matrycy, co jest szczególnie istotne przy zastosowaniach opierających się na kontrolowanym uwalnianiu wapnia i fosforanu.

Literatura:

1. Lee, K.Y.; Mooney, D.J., *Prog. Polym. Sci.*, 37 (2012) 106.
2. Augst, A.D.; Kong, H.J.; Mooney, D.J., *Macromol. Biosci.*, 6 (2006) 623.
3. Hilbig, J.; Hartlieb, K.; Gibis, M.; Herrmann, K.; Weiss, J., *Food Hydrocoll.*, 101 (2020) 105487.
4. Zhou, H.; Kong, S.; Liu, Z.; Pan, Y.; Liu, Y.; Luo, M.; Deng, L., *Mater. Lett.*, 180 (2016) 184.
5. Müller, W.E.G.; Neufurth, M.; Wang, S.; Tolba, E.; Schröder, H.C.; Wang, X., *Eur. Cells Mater.*, 31 (2016) 174.
6. Mchich, Z.; Stefan, D.S.; Mamouni, R.; Saffaj, N.; Bosomoiu, M., *Polymers (Basel)*, 16 (2024) 233257.
7. Zaineb, T.; Uzair, B.; Rizg, W.Y.; Alharbi, W.S.; Alkhalidi, H.M.; Hosny, K.M.; Khan, B.A.; Bano, A.; Alissa, M.; Jamil, N., *Pharmaceutics*, 14 (2022) 122764.
8. Chittoo, B.S.; Sutherland, C., *J. Environ. Eng.*, 145 (2019) 1519.

NOWOCZESNE I ZRÓWNOWAŻONE TECHNIKI EKSTRAKЦИИ SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH Z PRODUKTÓW NATURALNYCH

M. KRYSKOWICZ¹, M. KALINOWSKA¹, R. CHOIŃSKA², ¹Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45A, 15-351 Białystok, ² Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego – PIB, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

Abstrakt: Wdrażanie idei zrównoważonego rozwoju oraz zasad gospodarki obiegu zamkniętego pociąga za sobą konieczność optymalizacji procesów analitycznych oraz stosowanie nowoczesnych i zrównoważonych technik ekstrakcji. W porównaniu do klasycznych metod, nowoczesne techniki ekstrakcji pozwalają na zmniejszanie zużycia energii, wody i emisji dwutlenku węgla oraz stosowanie rozpuszczalników bardziej przyjaznych środowisku zgodnie z ideą „zielonej chemii”. Niniejsza praca stanowi krótki przegląd nowoczesnych technik ekstrakcji substancji bioaktywnych z produktów naturalnych m.in. ekstrakcji płynem w stanie nadkrytycznym, ekstrakcji rozpuszczalnikiem pod ciśnieniem, ekstrakcji micelarnej i enzymatycznej.

Wprowadzenie: Tradycyjne metody ekstrakcji substancji bioaktywnych z produktów naturalnych to zwykle metody tanie, ale charakteryzujące się stosunkowo niską efektywnością ekstrakcji przy jednoczesnym dużym zużyciu energii, czasu i generujące znaczne ilości odpadów [1]. Dlatego istotne jest wprowadzanie nowych i zrównoważonych technik ekstrakcyjnych, które pozwalają zmniejszyć negatywny wpływ na środowisko naturalne oraz zwiększyć efektywność ekstrakcji [2,3]. Wśród nich można wymienić: ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami (ang. ultrasound-assisted extraction, UAE), ekstrakcję wspomaganą mikrofalami (ang. microwave-assisted extraction, MAE), szybką ekstrakcję rozpuszczalnikami pod ciśnieniem (ang. pressured solvent extraction, PSE), ekstrakcję przy użyciu płynu w stanie nadkrytycznym (ang. supercritical fluid extraction, SFE), ekstrakcję enzymatyczną (ang. enzyme-assisted extraction, EAE) czy ekstrakcję micelną (ang. micellar system extraction, MSE) (Rys. 1) [4,5]. Ww. techniki charakteryzują się większą wydajnością, mniejszym zużyciem rozpuszczalników, energii, czasu w porównaniu z technikami klasycznymi, jednak ich stosowanie wymaga często kosztownej aparatury oraz dobrze przeszkolonego personelu [2,3]. Niektóre z nich są już z dużym powodzeniem stosowane w przemyśle, np. SFE, UAE, a inne wykorzystywane są w głównie w skali laboratoryjnej [5].



Rys. 1. Zrównoważona ekstrakcja substancji bioaktywnych z produktów naturalnych [6].

Wyniki: Przegląd danych literaturowych dotyczący metod ekstrakcji produktów naturalnych wskazuje, że nowoczesne i zrównoważone techniki są bardziej efektywne oraz przyjazne dla środowiska w porównaniu do klasycznych. Pozwalają na pełną automatyzację procesów, redukcję zużycia rozpuszczalników, jednoczesną ekstrakcję kilku próbek. Ponadto, umożliwiają sprzężenie z aparaturą pomiarową, co pozwala na równoczesny rozdział oraz analizę jakościową i ilościową składników ekstraktu (np. SFE-HPLC, SFE-MS). Automatyzacja procesów przekłada się również na wzrost powtarzalności procesu ekstrakcyjnego oraz redukcję personelu badawczego. W tabeli 1 porównano wybrane techniki ekstrakcji pod względem warunków eksperymentalnych oraz podano przykłady zastosowania [7-16].

Tabela 1. Porównanie technik ekstrakcyjnych i ich zastosowanie [7-16].

Metoda	Warunki procesu	Zalety	Wady	Przykład zastosowania
Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami (UAE)	Fale ultradźwiękowe: 20-50kHz, 140-160dB; zjawisko kawitacji; Rozpuszczalniki: woda, etanol* i inne; umiarkowana ilość temp. pokojowa (ok. 24°C) lub wyższa; ciśnienie: atmosferyczne (1 atm)	Brak skomplikowanej aparatury; możliwość ekstrakcji w niskiej temp., szeroka gama rozpuszczalników	Konieczna filtracja po skończonym procesie	Produkt: skórki pomarańczy; temp. pokojowa, 20 kHz, 10 min., wodny roztwór kwasu cytrynowego, produkt ekstrakcji: pektyny; wydajność 27%
Ekstrakcja wspomagana mikrofalami (MAE)	Promieniowanie mikrofalowe; Rozpuszczalniki: woda, etanol i inne polarne; temp.: powyżej temp. wrzenia rozpuszczalnika (~20-200°C); ciśnienie: zwykle <14 bar; możliwość do <103 bar, atmosferyczne w systemie otwartym	Krótki czas ekstrakcji (~3-30 min.); małe ilości rozpuszczalnika (~10-30 ml); możliwość ekstrahowania kilku próbek w jednym czasie	Wysokie koszty; rozpuszczalnik musi posiadać zdolność absorpcji mikrofal; możliwość rozkładu substancji termolabilnych	Produkt: zielona herbata; 350W, 5 min., rozpuszczalnik: woda, związki bioaktywne: taniny; wydajność 17%
Szybka ekstrakcja rozpuszczalnikami pod ciśnieniem (PSE)	Rozpuszczalniki: woda, etanol i inne; temp.: ~50-200°C; ciśnienie: 50-200 bar	Krótki czas ekstrakcji (~5-30 min.); małe ilości rozpuszczalnika (~10-100 ml); automatyzacja procesu; brak konieczności filtracji	Wysokie koszty sprzętu; możliwość rozkładu substancji termolabilnych	Produkt: wyłoki z trzciny cukrowej; temp.: 120°C; ciśnienie: 100 bar, czas: 60 min.; rozpuszczalnik woda/NaOH; związki bioaktywne: ksylan, wydajność: 33,31%
Ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym (SFE)	Zwykle jako rozpuszczalnik CO ₂ w stanie nadkrytycznym (74 bar, temp. 31 °C), możliwe polarne kosolwenty; temp.: 30-220 °C; ciśnienie: 100-690 bar	Krótki czas ekstrakcji (~10-60 min.); małe ilości rozpuszczalnika (~2-20 ml); automatyzacja procesu; brak konieczności filtracji; możliwość sprzężenia z HPLC, MS	Wysokie koszty sprzętu; trudność w ekstrakcji związków polarnych	Produkt: nasiona jabłek, temp.: 40°C; ciśnienie: 240 bar; czas: 140 min., rozpuszczalnik: CO ₂ ; związki bioaktywne: lipidy; wydajność: 20,5%
Ekstrakcja enzymatyczna (EAE)	Stosowane enzymy hydrolityczne rozkładające związki wielko-cząsteczkowe; rozpuszczalnik: najczęściej woda;	Wysoko ekologiczna metoda, brak zaawansowanego sprzętu	Wysoki koszt produkcji enzymów; problemy z doborem enzymu; możliwe śladowe ilości białek	Produkt: wyłoki z oliwek; temp.: 60°C, 120min., zawartość enzymu: 2%; rozpuszczalnik: etanol i

	temp. i pH: optymalne dla danego enzymu; ciśnienie: atmosferyczne (1atm)			woda; związki bioaktywne: polifenole; wydajność 34%
Ekstrakcja micelarna (MSE)	Rozpuszczalnik: surfaktanty, temp.: pokojowa lub wyższa; ciśnienie: atmosferyczne (1atm)	Niski koszt metody; wysoka selektywność	Ryzyko niskiego odzysku substancji; metoda czasochłonna	Produkt: skórki grantu; rozpuszczalnik: 13.1% lecytyna, pH 4.1 i 13.9% NaCl; temp. 50.9 °C; związki bioaktywne: antyoksydanty

* przykłady rozpuszczalników zaliczanych do „zielonych”

Wnioski: Różnorodność istniejących, zrównoważonych technik ekstrakcyjnych pozwala na wybranie optymalnej, w odniesieniu do rodzaj surowca, ekstrahowanej substancji i wydajności ekstrakcji. Decydującym czynnikiem rozwoju poszczególnych technik będzie możliwość skalowania procesów i wdrożenia rozwiązań w przemyśle. Biorąc pod uwagę rosnący i prężnie rozwijający się rynek bio-produktów, w tym suplementów diety, farmaceutyków i kosmetyków na bazie ekstraktów naturalnych, oraz biomateriałów, zapotrzebowanie na ekstrakty z surowców naturalnych będzie ciągle wzrastało.

Podziękowania: Praca została wykonana w ramach zadań realizowanych w projekcie finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki nr 2021/43/B/NZ9/03102.

Literatura:

1. https://chemia.ug.edu.pl/sites/default/files/_nodes/strona-chemia/33539/files/techniki_separacyjne.pdf 05.02.2025 r.
2. A. Mena-García, A. Ruiz-Matute, A. Soria, M.L Sanz, Trends in Anal. Chem. 119 (2019) 115612.
3. A. Zaky, D. Witrowa-Rajchert, M. Nowacka, Sustainability, 16(16) (2024) 7001.
4. N. Putra, D.N. Rizkiyah, A. Abdul Aziz, M.A. Che Yunus, I. Veza, I. Harny, A. Tirta, Sustainability, 15(1) (2023) 830.
5. S. Tyszkiewicz, Technika-Technologia, 71 (2017) 24.
6. <https://sk-skrjlj.com/en/green-extraction> 23.02.2025 r.
7. Q. Zhang, L.G. Lin, W.C. Ye, Chinese medicine, 13 (2018) 1.
8. D. Malenica, L.S. Maciel, K. Herodes, M. Kass, R. Bhat, Sustainability, 16 (2024) 2765.
9. A. Pieczykolan, rozprawa doktorska, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, 2022.
10. M. Kawka, M. Pilarek, K. Sykłowska-Baranek, A. Pietrosiuk, Prospects in Pharmaceutical Sciences, 15 (2017) 60.
11. L. Barp, A.M. Višnjevec, S. Moret, Foods, 12 (2023) 2017.
12. M. Usman, M. Nakagawa, S. Cheng, Processes, 11 (2023) 3444.
13. S.S. Hosseini, F. Khodaiyan, M. Kazemi, F. Khodaiyan, Int. J. Biol. Macromol, 125 (2019) 621.
14. L. Khaleghipour, J.A. Linares-Pastén, H. Rashedi, S. Siadat, A. Jasilionis, S. Al-Hamimi, R. Sardari, E. Karlsson, Biotechnol. Biofuels, 14 (2021) 153.
15. G. Ferrentino, S. Giampiccolo, K. Morozova, N. Haman, S. Spilimbergo, M. Scampicchio, Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 64 (2020) 102428.
16. P.R. More, S.S. Arya, Food and Humanity, 3 (2024) 100346.

NOWOCZESNE STRATEGIE PRODUKCJI PEKTYNAZ WYKORZYSTYWANYCH DO UTYLIZACJI ODPADÓW Z PRODUKCJI ROLNO-SPOŻYWCZEJ

S. PANASEVICH, I. TSYBULSKI, A. DOWBYSZ, M. SAMSONOWICZ, Politechnika Białostocka, Instytut Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45A, 15-351, Białystok

Abstrakt: Pektynazy to kluczowe enzymy katalizujące rozkład pektyn, które znajdują zastosowanie w przemyśle spożywczym, tekstylnym i biotechnologii środowiska. Ich rola w procesach utylizacji odpadów rolno-spożywczych przyczynia się do zredukowania ilości odpadów organicznych i wprowadzenia bardziej zrównoważonych strategii przemysłowych. Produkcja pektynaz odbywa się za pomocą fermentacji mikrobiologicznej, wykorzystując zarówno fermentację zanurzeniową, jak i fermentację na podłożu stałym. W artykule przedstawiono wybrane nowoczesne strategie produkcji pektynaz oraz ich znaczenie dla gospodarki obiegu zamkniętego.

Wprowadzenie: Pektynazy to enzymy katalizujące rozkład pektyn, skomplikowanych polisacharydów, które stanowią kluczowy składnik ścian komórkowych roślin. Enzymy te są szeroko stosowane w różnych gałęziach przemysłu, zwłaszcza w spożywczym i tekstylnym, a także odgrywają coraz ważniejszą rolę w biodegradacji odpadów agroprzemysłowych, co wpisuje się w strategię zrównoważonego rozwoju. Pektynazy dzielą się na trzy główne klasy: poligalakturonazy (PG), pektynoesterazy (PE) oraz pektynolizy (PL), które różnią się sposobem działania na pektyny [1]. Dzięki swoim właściwościom są wykorzystywane m.in. do klarowania soków, fermentacji winiarskiej, ekstrakcji olejków eterycznych oraz w procesach oczyszczania ścieków [2]. Proces oczyszczania ścieków z wykorzystaniem pektynaz pozwala na odzyskiwanie związków biologicznie aktywnych, takich jak fenole, które mogą mieć zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, w tym farmaceutycznym czy kosmetycznym [3,4]. Dzięki temu możliwy jest nie tylko recykling cennych zasobów, ale także zmniejszenie wpływu przemysłowych ścieków na środowisko. Pektynazy mogą być produkowane przez dużą liczbę mikroorganizmów, w tym bakterie [5], drożdże [6], grzyby strzępkowe [7] oraz grzyby endofityczne [8]. Wśród tych mikroorganizmów szczególne znaczenie mają grzyby strzępkowe, takie jak *Aspergillus niger*, które są jednymi z głównych producentów pektynaz. Grzyby te, dzięki zdolności do wykorzystywania odpadów rolniczych jako źródła węgla, odgrywają istotną rolę w biotechnologicznym przetwarzaniu biomasy odpadowej. Produkcja pektynaz przez te mikroorganizmy jest szczególnie cenna w kontekście zrównoważonego rozwoju, gdyż przyczynia się do zmniejszenia ilości odpadów roślinnych w przemyśle rolno-spożywczym. Pektynazy pochodzące od *Aspergillus niger*, ze względu na swoje właściwości, zostały uznane przez Agencję Żywności i Leków (FDA) za „Generalnie uznane za bezpieczne” (GRAS), co umożliwia ich szerokie zastosowanie w przemyśle [9]. Wykorzystanie odpadów rolno-spożywczych w produkcji pektynaz stanowi innowacyjne rozwiązanie w biotechnologii środowiskowej. Skórki owoców i warzyw, takie jak cytrusy, banany, słodkie ziemniaki i mango, są cennym źródłem węgla dla mikroorganizmów produkujących enzymy. Wy-

tłoki jabłkowe, kiwi, brzoskwiń i winogron stanowią bogate w pektyny substraty do fermentacji. Dodatkowo, odpady agropromysłowe, takie jak wytloki oleju z dyni, sezamu, orzeszków ziemnych i oleju słonecznikowego, mogą być skutecznie wykorzystywane w tym procesie. Produkcja pektynaz została również zgłoszona przy użyciu wycieków trzciny cukrowej, kolb kukurydzy, łusek soi, miąższu buraka cukrowego, łusek jęczmienia oraz ekstraktu herbacianego jako źródła azotu. Ponadto, odpady browarniane, ścieki kanalizacyjne, ścieki drenażowe, łodygi tytoniu, melasa oraz soki warzywne i owocowe mogą być stosowane jako substraty płynne, przyczyniając się do redukcji odpadów i poprawy efektywności bioprocessów fermentacyjnych [2]. Współczesna produkcja pektynaz opiera się na fermentacji mikrobiologicznej, stosując zarówno fermentację zanurzeniową (SmF), jak i fermentację na podłożu stałym (SSF). Fermentacja zanurzeniowa (SmF) to proces, w którym mikroorganizmy rozwijają się w płynnej pożywce. Metoda ta jest często stosowana do produkcji pektynaz bakterii lub drożdży, które są hodowane w kontrolowanych warunkach. Dzięki łatwej regulacji parametrów takich jak temperatura, pH, aeracja oraz mieszanie, proces fermentacji może być szybko zoptymalizowany, co pozwala na uzyskanie wysokiej wydajności produkcji enzymów [2]. Przykładami mikro-organizmów wykorzystywanych w SmF są *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum* i *Trichoderma reesei*, które są znane z efektywnej produkcji pektynaz w płynnych pożywkach. Fermentacja zanurzeniowa jest jednak kosztowna pod względem zużycia energii, ponieważ wymaga ciągłej aeracji i mieszania, a także może prowadzić do produkcji niepożądanych produktów ubocznych, które obniżają wydajność procesu. Fermentacja na podłożu stałym (SSF) jest metodą, w której mikroorganizmy rosną na stałym substracie, takim jak odpady roślinne, trociny, słoma czy inne lignocelulozowe materiały. Proces ten odbywa się w warunkach o minimalnej ilości wolnej wody, co imituje naturalne środowisko wielu mikroorganizmów, umożliwiając im wzrost na odpadowych materiałach agropromysłowych, co obniża koszty produkcji. W porównaniu do tradycyjnej fermentacji zanurzeniowej (SmF), SSF charakteryzuje się wyższą wydajnością, lepszą cyrkulacją tlenu oraz minimalizowaniem konieczności stosowania środków antybiotycznych. Technika ta jest szczególnie wykorzystywana do produkcji metabolitów, w tym enzymów pektynolitycznych, przez grzyby, bakterie oraz inne mikroorganizmy. Do produkcji pektynaz w metodzie SSF wykorzystywane są różne organizmy. Wśród grzybów często stosowane są *Aspergillus sojae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus awamori* oraz *Pleurotus sajorcaju*. Bakterie takie jak *Bacillus subtilis* SAV-21 i *Bacillus licheniformis* również wykazują zdolność do produkcji pektynaz w tym procesie. Dodatkowo, drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, izolowane z odpadów owocowych i przemysłowych, również zostały zastosowane do produkcji pektynazy w metodzie SSF [10]. Nowoczesne podejście do produkcji pektynaz wykorzystuje inżynierię genetyczną, która zwiększa efektywność produkcji i stabilność enzymów w trudnych warunkach przemysłowych. Modyfikacje genetyczne mikroorganizmów prowadzą do wyższej ekspresji genów pektynaz, co poprawia aktywność enzymów i ich właściwości katalityczne. Dzięki tym technologiom mikroorganizmy mogą być dostosowane do specyficznych warunków przemysłowych, co wpływa na jakość i efektywność procesów oraz zwiększa ich zastosowanie w różnych branżach przemysłu wykorzystujących procesy enzymatyczne [2]. W Tabeli 1 przedstawiono przykłady metod produkcji pektynaz z zastosowaniem różnych technik fermentacyjnych i różnych źródeł substratu. Przedstawiono również efektywności enzymatyczną pektynaz otrzymanych daną metodą.

Tabela 1. Przykłady zastosowania nowoczesnych strategii produkcji pektynaz z udziałem różnych mikroorganizmów.

Organizm	Metoda produkcji	Źródło substratu	Zastosowanie przemysłowe	Efektywność (U/mL lub U/g)	Literatura
<i>Grzyby Aspergillus japonicus</i>	SSF	Skórki marakui	Klarowanie soków owocowych	30.2± 0.33 U/g or 3.02±0.33 U/mL	[11]
<i>Aspergillus niger</i> LFP-1	SmF	Pektyny z owoców cytrusowych (zepsute pomarańcze)	Przetwórstwo soków fermentacja	7.41 U/mL	[9]
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	SSF	Odpady z przetwórstwa pomarańczy	Produkcja enzymów przemysłowych	PG:44,58 U/g PL:16,53 U/g PE: 74 U/g	[12]
<i>Aspergillus terreus</i> NCFT 4269.10	SSF	Odpady owocowe (skórki bananowe)	produkcja enzymów przemysłowych (zwiększenie produkcji pektynaz)	6500 ± 1116,21 μg/g (= U/g)	[13]
<i>Bacterie Bacillus licheniformis</i> KIBGE-IB4	SmF	Biomasa alg		2457±3,31 U mg ⁻¹	[14], [15]
<i>Drożdże Saccharomyces cerevisiae</i>	SSF	medium fermentacyjne zawierające: 1% sorbitanu potasu, ksylozę jako źródło węgla, azot potasu jako źródło azotu oraz 3,5% stężenie otrąb pszennych.	Biokontrola rozkładu owoców pomarańczy i jabłek.	35,19 U/mL	[16]

Zastosowanie technologii CRISPR-Cas9 w produkcji pektynaz: Technologia CRISPR-Cas9 stanowi nowoczesne narzędzie inżynierii genetycznej, umożliwiające precyzyjną modyfikację mikroorganizmów wykorzystywanych do produkcji enzymów [2]. W kontekście pektynaz technologia ta umożliwia zwiększenie ekspresji genów kodujących te enzymy poprzez wprowadzenie wielu ich kopii do strategicznych loci o wysokiej aktywności transkrypcyjnej. Nowoczesne podejścia, takie jak systemy umożliwiające jednoczesne wprowadzenie wielu kopii genu *peA* w *Aspergillus niger*, prowadzi do znacznego wzrostu wydajności enzymatycznej. Dzięki CRISPR-Cas9 możliwe jest również eliminowanie konkurencyjnych szlaków metabolicznych, co dodatkowo zwiększa efektywność produkcji pektynaz [17]. Zastosowanie tej technologii w przypadku *A. niger* otwiera nowe możliwości dla biotechnologii enzymatycznej. Rozwój metod edycji genomu, takich jak CRISPR-HDR w połączeniu z systemami selekcji wizualnej, może jeszcze bardziej

usprawnić produkcję pektynaz i obniżyć jej koszty, przyczyniając się do efektywnej bio-konwersji odpadów rolniczych [18].

Wnioski: Nowoczesne strategie produkcji pektynaz, oparte na fermentacji mikrobiologicznej i wykorzystaniu odpadów rolno-spożywczych, wspierają rozwój zrównoważonych technologii przemysłowych. Fermentacja na podłożu stałym umożliwia efektywne wykorzystanie biomasy odpadowej, redukując wpływ przemysłu spożywczego na środowisko i uzyskując cenne enzymy. Z kolei fermentacja zanurzeniowa pozwala na lepszą kontrolę procesu, co sprzyja uzyskiwaniu wysokiej wydajności pektynaz. Inżynieria genetyczna pozwala na optymalizację wydajności enzymatycznej przez zwiększenie ekspresji genów pektynaz, co czyni procesy bardziej efektywnymi i ekonomicznymi. Dalsze badania nad optymalizacją warunków fermentacji i modyfikacjami mikroorganizmów mogą przyczynić się do bardziej ekologicznej produkcji pektynaz, wspierając gospodarkę o obiegu zamkniętym i zrównoważony rozwój przemysłu enzymatycznego.

Literatura:

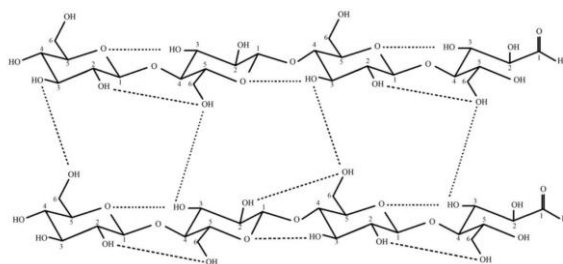
1. M.T. Mat Jalil, N.A. Zakaria, N.H. Salikin, D. Ibrahim, J. Genet. Eng. Biotechnol., 21 (2023) 45.
2. S. Dwivedi, K. Yadav, S. Gupta, A. Tanveer, S. Yadav, D. Yadav, World J. Microbiol. Biotechnol. 39 (2023) 305.
3. P. Štambuk, D. Tomašković, I. Tomaz, L. Maslov Bandić, Biotech, 6 (2016) 224.
4. E. Gil-Martín, T. Forbes-Hernández, A. Romero, D. Cianciosi, F. Giampieri, M. Battino, Food Chem., 378 (2022) 131918.
5. F. Guo, X. Li, J. Zhao, G. Li, P. Gao, X. Han, BioMed Res Int, 7 (2019) 8146948.
6. M. Haile, W.H. Kang, Microorganisms 7 (2019) 401.
7. F.S. Ire, E.G. Vinking, J. Adv. Biol. Biotechnol. 10 (2016) 1.
8. J. Shubha, C. Srinivas, Afr J Biotech. 16 (2017) 2248.
9. C. Rodriguez, A. Gonzalez, Biochem. Eng. J., 115 (2022) 88.
10. M.K. Patidar, S. Nighojkar, A. Kumar, A. Nighojkar, Biotech., 8 (2018) 199.
11. N.C. Guimarães, N.N. Glienke, A.G. Contato, R.M. Galeano, C.R. Marchetti, M.P. Rosa, S. S. Simas, A. L. O. Zanoelo, F. F. Masui, D. C. Giannesi, World J. Microbiol. Biotechnol., 39 (2023).
12. F.C. Laswai, J.W. Matofari, J.M. Nduko, Biomass Conversion and Biorefinery, 14 (2024) 25173.
13. S. Sethi, A. Datta, B.L. Gupta, S. Gupta, Biotech, 6 (2016) 36.
14. S. Haile, A. Ayele, Sci. World J., (2022) 15.
15. S. Pervez, F. Shahid, A. Aman, S.A. Ul Qader, Biocatalysis and Biotransformation, 35 (2017) 310.
16. N.G. El Gamal, S.M. Atalla, N.S. El-Mougy, M.M. Abdel-Kader, Bioscience Research, 15 (2018) 4136.
17. Y. Li, C. Li, Y. Fu, Q. Zhang, J. Ma, J. Zhou, J. Li, J. Du, Synth. Syst. Biotechnol, 9 (2023) 209.
18. H. Dong, J. Zheng, D. Yu, B. Wang, J. Microbiol. Methods, 163 (2019) 105655.

CELULOZA BAKTERYJNA - WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE, METODY PRODUKCJI I ZASTOSOWANIE

J. PROTAZIUK, D. KIDAJ, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Celuloza bakteryjna to naturalny biopolimer wytwarzany przez wybrane gatunki bakterii. Ze względu na szczególne właściwości fizykochemiczne, tj. wytrzymałość mechaniczną, elastyczność i higroskopijność, znajduje zastosowanie w różnych gałęziach gospodarki, np. w medycynie, inżynierii tkankowej, przemyśle spożywczym, papierniczym, czy tekstylnym. W przeciwieństwie do celulozy roślinnej, bakterie produkują czystą, wolną od innych polimerów celulozę, co zmniejsza konieczność oczyszczania produktu. Wybór metody produkcyjnej celulozy mikrobiologicznej (fermentacja statyczna lub mieszana) zależy od jej końcowego zastosowania.

Wprowadzenie: Celuloza jest jednym z najpowszechniej występujących biopolimerów na Ziemi i ze względu na swoje szczególne właściwości znajduje zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Pospolitym źródłem tego węglowodanu są rośliny, u których celuloza, wraz z ligniną i hemicelulozą, tworzy ścianę komórkową. Obecność w materiale roślinnym dodatkowych polimerów stanowi wyzwanie w przemysłowym wykorzystaniu celulozy, ze względu na konieczność oczyszczania tego związku. Rośliny nie są jednak jedynym producentem celulozy. Również niektóre mikroorganizmy są zdolne do syntezy tego biopolimeru. Celuloza pochodzenia mikrobiologicznego, w przeciwieństwie do celulozy z roślin, jest wolna od charakterystycznych dla komórek roślinnych domieszek innych polimerów, co w połączeniu z jej unikalnymi właściwościami fizykochemicznymi gwarantuje użyteczność w wielu dziedzinach [1, 2]. Celuloza bakteryjna to liniowy homopolisacharyd składający się z cząsteczek β -D-glukopiranozy połączonych wiązaniami β -1,4-glikozydowymi, warunkującymi obecność wolnych grup hydroksylowych na powierzchni polimeru (Rys. 1). Ze względu na dużą liczbę atomów tlenu i grup hydroksylowych, w celulozie bakteryjnej występują liczne wiązania wodorowe [1, 2].



Rys. 1. Struktura chemiczna celulozy bakteryjnej [1, 2].

Zdolność do syntezy celulozy bakteryjnej wykazują gatunki bakterii należące m. in. do rodzajów *Komagataeibacter*, *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Sarcina*. Najlepszym producentem celulozy okazała się bakteria *Gluconacetobacter xylinus* [3, 4]. Te Gram-ujemne pałeczki są zdolne do wykorzystania glukozy w biosyntezie czystej celulozy na drodze fermentacji octowej. Proces obejmuje fosforylację glukozy przez glukokinazę, po której następuje izomeryzacja powstałego glukozo-6-fosforanu do glukozo-1-fosforanu w obecności fosfoglukomutazy. Produktem szlaku jest glukozodifosforan urydyny (UDP- glukoza), który ulega procesowi polimeryzacji do celulozy przy udziale zlokalizowanego na zewnętrznej błonie komórkowej kompleksu syntazy celulozy [1, 3]. Poza komórką bakteryjną dochodzi do tworzenia między- i wewnątrzłańcuchowych wiązań wodorowych, co umożliwia dostępną grup hydroksylowych. Dzięki siłom Wan der Wallsa liniowe cząsteczki celulozy formują krystaliczne nanowłókna (fibryle elementarne), o średnicy około 1,5 nm. Fibryle elementarne układają się w mikrofibryle, tworzące wstążki celulozowe. Jest to możliwe dzięki wiązaniom wodorowym. Każda ze wstążek posiada około 1000 łańcuchów glukanu i może osiągnąć długość 1–9 μm oraz grubość 3–4 nm. Celuloza bakteryjna najczęściej występuje w postaci krystalicznej, charakteryzującej się uporządkowaniem i równoległym ułożeniem poszczególnych pasm oraz warstw, przez co polimer ma postać arkuszy ułożonych w stosy. Taka struktura przekłada się na wytrzymałość na rozciąganie [1, 2, 5]. Poza stabilizacją struktury krystalicznej, wiązania wodorowe odgrywają znaczącą rolę w wiązaniu cząsteczek wody w strukturze biopolimeru i dlatego celuloza bakteryjna może występować w postaci silnie uwodnionego biofilmu, w którym zawartość wody sięga 98%. Taka struktura znacząco poprawia wytrzymałość mechaniczną i elastyczność biopolimeru. Wyjątkową odporność na rozciąganie i sprężystość celulozy bakteryjnej można również przypisać jej trójwymiarowej strukturze, za którą odpowiadają nanowłókna układające się w skompresowane, płaskie arkusze [1, 2]. Przemysłowa produkcja celulozy bakteryjnej odbywa się z wykorzystaniem procesów biotechnologicznych. W zależności od przeznaczenia, polimer powstaje metodą fermentacji statycznej lub mieszanej. Produkt fermentacji statycznej jest formowany na powierzchni podłoża hodowlanego, natomiast w przypadku fermentacji mieszanej ma on postać niewielkich, nieregularnych agregatów zawieszonych w podłożu. Tak powstałe biopolimery różnią się morfologią i właściwościami, jednak zachowują zbliżoną strukturę przestrzenną. Wybór metody produkcji zależy od przeznaczenia produktu. Fermentacja statyczna jest wykorzystywana do otrzymywania polimeru odpornego na rozciąganie i charakteryzującego się wysoką zdolnością do zatrzymywania wody. Taka forma celulozy ma zastosowanie jako składnik stosowanych w medycynie opatrunków na rany oraz kosmetycznych masek na twarz. Produkt fermentacji mieszanej z kolei, wykazuje większą stabilność i dlatego jest wykorzystywany w produkcji artykułów spożywczych. Tak otrzymany produkt należy jednak oczyścić w celu usunięcia komórek bakteryjnych lub ich pozostałości. Proces oczyszczania obejmuje trzy nieskomplikowane etapy: zawieszenie celulozy bakteryjnej w roztworze alkalicznym w temperaturze 100°C przez 15–20 min, oddzielenie celulozy od alkalicznego roztworu oraz przemycie produktu wodą destylowaną, by zneutralizować odczyn pH [6]. Wraz z rozwojem przemysłu wzrasta świadomość negatywnych skutków różnych procesów produkcyjnych na środowisko. Chcąc zminimalizować wpływ tego sektora gospodarki na klimat, należy dążyć do optymalizacji produkcji i zrównoważonego wykorzystania odpadów. Okazuje się, że produkty odpadowe z produkcji przemysłowej mogą zostać wykorzystane w produkcji celulozy bakteryjnej jako

źródło węgla i azotu w pożywce. Wykorzystanie odpadów wspomaga zarządzanie pozostałościami poprodukcyjnymi i częściowo niweluje problem ich utylizacji, a także znacznie obniża koszty produkcji celulozy bakteryjnej. Źródło składników odżywczych przy produkcji celulozy mikrobiologicznej mogą stanowić: melasa buraczana, drożdże piwne, niezdatne do wykorzystania w przemyśle spożywczym owoce, odpady pofermentacyjne oraz kolby kukurydzy [6, 7]. Celuloza bakteryjna znajduje zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Na szczególną uwagę zasługuje jej użyteczność w biomedycynie. Polimer ten jest materiałem elastycznym, odpornym na odkształcenia pod wpływem naprężeń, czym przypomina tkanki miękkie. Cecha ta przekłada się na jego wykorzystanie w inżynierii tkankowej. Dzięki przepuszczalności dla cieczy i gazów oraz biokompatybilności i sprężystości, biopolimer znajduje też zastosowanie w tworzeniu opatrunków na rany. Wykazano, że w przypadku uszkodzeń skóry użycie opatrunków z celulozy bakteryjnej z komórkami pluripotencjalnymi znacząco przyspiesza proces gojenia. Trójwymiarowa, przypominająca ludzki kolagen, struktura stanowi podstawę do wykorzystania celulozy jako substytutu skóry. Porowatość, zdolność do formowania określonych struktur i hemokompatybilność pozwalają na stosowanie tego biopolimeru w tworzeniu sztucznych naczyń krwionośnych, szczególnie tych o niewielkiej średnicy (<5 mm) [5]. Połączenie naturalnego polimeru jakim jest celuloza bakteryjna z materiałami organicznymi lub nieorganicznymi pozwala na opracowanie kompozytu o ulepszonych właściwościach. Przykładem takiego wykorzystania celulozy bakteryjnej jest kompozyt zawierający dodatkowo hydroksyapatyt do stosowania w regeneracji i rekonstrukcji tkanki kostnej [6]. Celuloza bakteryjna znalazła też zastosowanie w implantologii stomatologicznej, gdzie częstym powikłaniem po zabiegach jest zanik kości w okolicy wprowadzonego implantu w wyniku stanu zapalnego. W kontekście tego problemu istotną rolę odgrywają produkty komercyjne zawierające biogenną celulozę bakteryjną, które służą do leczenia niedoboru kostnego wokół implantu, pozwalając na przywrócenie tkance jej pierwotnej funkcji. Wykazano, że tego typu produkty wspomagają regenerację tkanki przyzębia poprzez zmniejszenie odpowiedzi zapalnej. Celuloza bakteryjna, jako składnik preparatów farmaceutycznych, odpowiada za kontrolowane uwalnianie substancji czynnych będących składnikiem leków, co wpływa na skuteczność terapeutyczną substancji i bezpieczeństwo pacjenta. Wymienione zastosowania nie byłyby możliwe, gdyby nie biokompatybilność i nietoksyczność celulozy bakteryjnej [5, 8]. Celuloza bakteryjna znalazła zastosowanie również w przemyśle spożywczym. Stosowana jako błonnik obniża poziom cholesterolu i wykazuje zerową kaloryczność, co w połączeniu ze zdolnością do utrzymywania wilgoci i ciekawą strukturą czyni ją świetnym dodatkiem do żywności. Jest dodawana do produktów spożywczych jako stabilizator, środek zawieszający, zagęszczający i żelujący. Dodatkowo poprawia stabilność żywności w szerokim zakresie temperatur [9]. Celuloza bakteryjna została uznana przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków za bezpieczny dodatek do żywności [9]. Ponadto spożywanie produktów zawierających ten polimer korzystnie wpływa na zdrowie człowieka poprzez zmniejszanie ryzyka chorób przewlekłych, takich jak: cukrzyca, otyłość i choroby układu krążenia [6]. Polimer ten jest również używany w przemyśle celulozowo-papierniczym jako spoiwo w produkcji papieru. Tak wytworzony materiał charakteryzuje się zwiększoną wytrzymałością mechaniczną i trwałością [9]. Celuloza bakteryjna wykorzystywana jest także w przemyśle tekstylnym. Synteza włókien wiskozy przez mikroorganizmy jest znacznie bardziej przyjazna środowisku niż tradycyjne metody, gdyż nie wymaga wycinki ogromnej ilości drzew i użycia szkodliwych dla środowiska związków chemicznych w procesie obróbki materiału roślinnego [9].

Wnioski: Celuloza bakteryjna ze względu na swoją biokompatybilność, biodegradowalność i nietoksyczność stanowi obiecujący materiał, który znajduje zastosowanie w wielu gałęziach gospodarki: medycynie, inżynierii tkankowej, przemyśle spożywczym, papierniczym, czy tekstylnym. Dzięki możliwości zastosowania produktów odpadowych produkcja tego biopolimeru wpisuje się w założenia zielonej produkcji jako zrównoważona i przyjazna środowisku.

Literatura:

1. D. Lahiri, M. Nag, B. Dutta, A. Dey, T. Sarkar, S. Pati, H.A. Edinur, Z. Abdul Kari, N.H. Mohd Noor, R.R. Ray, *Int. J. Mol. Sci.*, 22 (2021) 12984.
2. V. D. Girard, J. Chaussé, P. Vermette, *J. Appl. Polym. Sci.*, 141 (2024) 55163.
3. M.A. Cruz, O. Flor-Unda, A. Avila, M.D. Garcia, L. Cerda-Mejia, *Coatings*, 14 (2024) 1401.
4. R.A.H. Almihyawi, E. Musazade, N. Alhussany, S. Zhang, H. Chen, *Sci. Rep.*, 14 (2024) 10848.
5. S. Gorgieva, J. Trček, *Nanomaterials*, 9 (2019) 1352.
6. C. Zhong, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 8 (2020) 605374.
7. A. Kadier, R.A. Ilyas, M.R.M. Huzaifah et al., *Polymers*, 13 (2021) 3365.
8. E.P.C.G. Luz, P.H.S. Chaves, L.A.P. Vieira, *Carbohydr. Polym.*, 237 (2020) 116174.
9. S.M. Choi, K.M. Rao, S.M. Zo, E.J. Shin, S.S. Han, *Polymers*, 14 (2022) 1080.

DZIAŁANIE LUDZKIEJ KATELICYDYNY NA BAKTERIE *LEGIONELLA LONGBEACHAE* W MODELOWYCH UKŁADACH BŁONOWYCH

K. PASTUSZAK¹, M. JURAK¹, B. KOWALCZYK², J. TARASIUK², K. STYK²,
M. PALUSIŃSKA-SZYSZ², ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Zjawisk Międzyfazowych,
Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin, ²UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii,
Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033
Lublin

Abstrakt: Bakterie *Legionella longbeachae* wywołują infekcje dróg oddechowych, które u osób z obniżoną odpornością mogą być śmiertelne. Dzięki wyjątkowym zdolnościom adaptacyjnym pojawiają się szczepy *L. longbeachae* odporne na antybiotyki stosowane w leczeniu legionellozy [1]. Poszukiwane są zatem nowe substancje lecznicze, które mogłyby zwalczać zakażenia bakteryjne. Szczególnie dużym zainteresowaniem cieszą się peptydy przeciwdrobnoustrojowe występujące naturalnie w organizmie człowieka, takie jak ludzka katelicydyna LL-37. Peptyd ten oddziałuje z fosfolipidami budującymi błony bakteryjne, co może prowadzić do zmian w ich organizacji, zaburzenia prawidłowego funkcjonowania i w konsekwencji do śmierci drobnoustroju. Celem przedstawionych badań było określenie wpływu peptydu LL-37 na modelowe błony *L. longbeachae*, zbudowane z fosfolipidów (PL) wyizolowanych z tych bakterii. Modelowe błony bakteryjne utworzono przy użyciu techniki monowarstw Langmuira i zarejestrowano zależności ciśnienia powierzchniowego od średniej powierzchni przypadającej na cząsteczkę (izotermi π -A) podczas ich symetrycznej kompresji. Równocześnie wykonano zdjęcia morfologii powierzchni stosując mikroskopię kąta Brewstera (BAM). Wyniki analiz wykazały znaczny wpływ katelicydyny na organizację cząsteczek fosfolipidów na granicy faz i strukturę powierzchni monowarstw. Modelowe błony *L. longbeachae* w obecności peptydu charakteryzowały się mniejszą stabilnością, większą elastycznością i bardziej heterogeniczną powierzchnią niż monowarstwy utworzone bez dodatku LL-37.

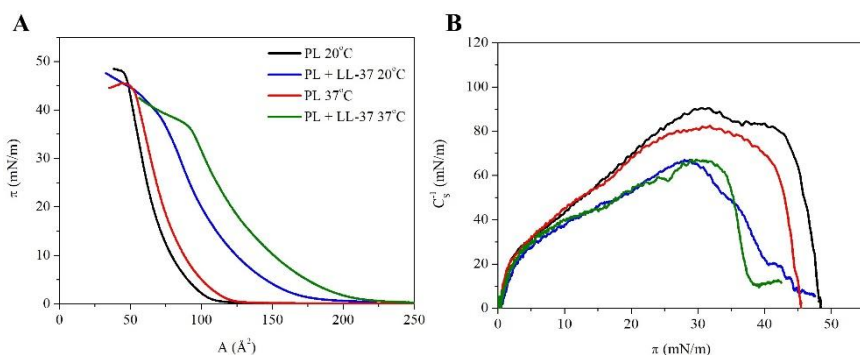
Wprowadzenie: Bakterie *Legionella*, występujące naturalnie w glebach i zbiornikach wodnych, mogą wywoływać infekcje płucne, takie jak choroba legionistów lub gorączka Pontiac [2]. Na skutek wdychania skażonego wodno-powietrznego aerozolu drobnoustroje dostają się do płuc człowieka i prowadzą do rozwoju choroby. Struktura błon komórkowych, zawierających fosfolipidy (PL), warunkuje bezpośrednie oddziaływanie bakterii *Legionella* z komórkami gospodarza, a także determinuje ich patogenność. Skład oraz fizyko-chemiczne właściwości lipidów wpływają na przepuszczalność błony oraz odporność na antybiotyki. Jednym z gatunków wywołujących poważne zakażenia jest *L. longbeachae*, odpowiedzialna za większość zachorowań na legionellozę w Australii i Nowej Zelandii [3]. Szczególnie narażone są osoby starsze lub z obniżoną odpornością, a zakażenia tego typu w 5-30% przypadków są śmiertelne, mimo poprawnej diagnozy i szybko wdrożonego leczenia. W związku ze wzrostem częstości zakażeń u ludzi, jak również rosnącą opornością bakterii na antybiotyki stosowane w leczeniu legionellozy, poszukiwane są nowe substancje lecznicze. Związkiem, który w ostatnich latach budzi zainteresowanie naukowców jest peptyd naturalnie występujący w organizmie człowieka

– ludzka katelicydyna LL-37. Peptyd ten, syntetyzowany przez komórki nabłonkowe, leukocyty i makrofagi, wykazuje aktywność immunomodulującą i przeciwbakteryjną oraz stanowi jedną z pierwszych linii obrony organizmu przeciwko infekcjom [4]. Podwyższony poziom tego peptydu wykazano w surowicy osób cierpiących na bakteryjne zapalenie płuc [5]. Częsteczką peptydu LL-37 charakteryzuje się konformacją helikalną i dodatnim ładunkiem w pH fizjologicznym co pozwala przypuszczać, że peptyd ten może oddziaływać z fosfolipidami budującymi błony komórkowe *L. longbeachae*. Poznanie mechanizmu działania peptydu LL-37 na błony *L. longbeachae* może w przyszłości pozwolić na opracowanie nowych środków bakteriobójczych i skutecznych schematów leczenia legionellozy. Celem pracy było określenie wpływu peptydu LL-37 na właściwości fizykochemiczne modelowych błon bakteryjnych *L. longbeachae*. Utworzono je techniką monowarstw Langmuira przy użyciu mieszaniny fosfolipidów wyizolowanych z komórek tych bakterii.

Część eksperymentalna: Bakterie *L. longbeachae* hodowano na pożywce BCYE przez 3 dni, w 37°C i 5% CO₂, w wilgotnej atmosferze. Fosfolipidy (PL) wyizolowano z masy bakteryjnej zgodnie z procedurą Bligh i Dyer [6], wysuszone strumieniem azotu i zważono. Otrzymane lipidy rozpuszczono w mieszaninie chloroformu (≥99,9%, Avantor Performance Materials Poland S.A.) i metanolu (≥99,9%, ROMIL Chemicals Ltd.) w stosunku objętościowym 4:1, a następnie badano przy użyciu techniki monowarstw Langmuira. W celu przygotowania ciekłej fazy nośnej (subfazy) dla fosfolipidów, rozpuszczono sól fizjologiczną buforowaną fosforanami (PBS, Sigma-Aldrich) w ultraczystej wodzie uzyskując roztwór o pH 7,4. Sporządzonym buforem wypełniono wannę Langmuira (KSV Nima, Biolin Scientific), a na powierzchnię subfazy nanoszono po kropli roztwór fosfolipidów (PL). Po odczekaniu 10 minut w celu odparowania rozpuszczalników, prowadzono kompresję monowarstwy przy użyciu symetrycznych barierek ze stałą szybkością 10 mm/min. Podczas kompresji, rejestrowano zależności ciśnienia powierzchniowego (π) od średniej powierzchni przypadającej na cząsteczkę (A), tzw. izotermę π - A , stosując wagę z płytką Wilhelmgiego. Jednocześnie wykonano zdjęcia morfologii powierzchni kompresowanej monowarstwy przy zastosowaniu mikroskopu kąta Brewstera (nanofilm_ultrabam, Accurion). Przyrząd wyposażony jest w laser o mocy 50 mW, który emituje promieniowanie o długości fali 658 nm, skierowane na subfazę pod kątem 53,2°. Podczas analiz z dodatkiem peptydu LL-37 (≥95%, Sigma-Aldrich), wodny roztwór katelicydyny nanoszono kroplowo na czystą subfazę i pozostawiano na 2 godziny. Następnie dozowano mieszaninę fosfolipidów i kompresowano monowarstwę do jej załamania. Pomiar prowadzono w 20°C i 37°C, utrzymując temperaturę za pomocą termostatu Lauda Alpha RA 8.

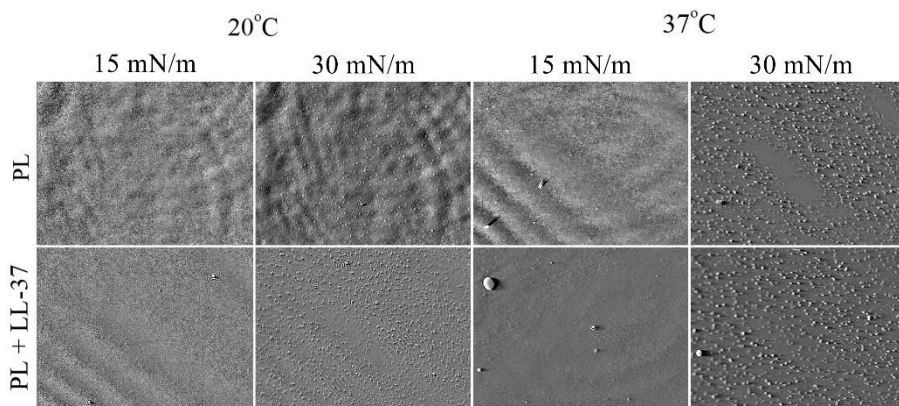
Wyniki: W celu określenia wpływu ludzkiej katelicydyny na modelowe błony *L. longbeachae*, zarejestrowano zależności ciśnienia powierzchniowego w funkcji średniej powierzchni przypadającej na cząsteczkę (izotermę π - A) oraz na ich podstawie wyznaczono moduł ściśliwości w funkcji ciśnienia powierzchniowego (C_s^{-1} - π). Uzyskane wyniki przedstawiono na Rys. 1. Peptyd LL-37 znacząco wpływa na organizację cząsteczek fosfolipidów na granicy faz ciecz-powietrze. Analizując izotermę π - A (Rys. 1A), obserwuje się istotne przesunięcie w kierunku większych wartości średniej powierzchni A , co wskazuje na ekspansję modelowych błon w obecności LL-37. Silniejszy efekt występuje w wyższej temperaturze – w 20°C zarejestrowano przesunięcie wynoszące 67 Å², zaś

w 37°C 108 Å². Wpływ peptydu jest również widoczny w postaci obniżenia wartości ciśnienia załamania monowarstwy, czyli momentu przejścia struktury dwuwymiarowej w trójwymiarową. Spadek ten wynosi 6,2 mN/m w 20°C i 8,6 mN/m w 37°C, sugerując mniejszą stabilność monowarstw kompresowanych w obecności peptydu, w porównaniu do tych zawierających tylko fosfolipidy. Zależności modułu ściśliwości C_s^{-1} w funkcji ciśnienia powierzchniowego π (Rys. 1B) także wskazują na silne oddziaływania LL-37 z fosfolipidami. Parametr C_s^{-1} określa elastyczność (stopień upakowania i uporządkowania) monowarstw, przy czym im większa wartość, tym bardziej upakowane są cząsteczki na granicy faz, a błona mniej ściśliwa. Bez dodatku LL-37, maksymalne wartości C_s^{-1} w 20°C i 37°C wynoszą odpowiednio 91 mN/m i 83 mN/m, co potwierdza występowanie monowarstw w stanie cieczy rozprężonej (LE), przy czym błony utworzone w 37°C charakteryzuje większa ściśliwość. Obecność katelicydyny skutkuje obniżeniem wartości C_s^{-1} do 67 mN/m w obu temperaturach, świadcząc o większej elastyczności (mniejszym upakowaniu i uporządkowaniu) tych modelowych błon. Prawdopodobną przyczyną takiego zachowania fosfolipidów są ruchy termiczne cząsteczek, prowadzące m.in. do tworzenia mniejszej ilości wiązań wodorowych między składnikami modelowej błony [7], a tym samym ułatwiające oddziaływania z peptydem.



Rys. 1. Izotermie π - A (A) oraz zależności modułu ściśliwości w funkcji ciśnienia powierzchniowego C_s^{-1} - π (B) wyznaczone dla monowarstw fosfolipidów wyizolowanych z bakterii *L. longbeachae* z i bez dodatku peptydu, w 20°C i 37°C.

W celu dalszej analizy właściwości fizykochemicznych modelowych błon, podczas kompresji wykonano zdjęcia morfologii powierzchni monowarstw utworzonych z i bez dodatku peptydu LL-37. Modelowe błony fosfolipidowe bez dodatku LL-37 charakteryzują się obecnością licznych kulistych domen przy wysokim stopniu kompresji. Na Rys. 2 przedstawiono obrazy uzyskane przy ciśnieniu powierzchniowym równym 15 mN/m i 30 mN/m. W wyższej temperaturze obserwuje się większą heterogeniczność powierzchni w porównaniu do 20°C, co wskazuje na istotny wpływ temperatury na mieszalność składników błony. To zjawisko może wynikać ze wspomnianych powyżej wzmożonych ruchów termicznych molekuł oraz utrudnionego tworzenia wiązań wodorowych między cząsteczkami fosfolipidów, prowadzące do separacji faz i w konsekwencji do niejednorodności powierzchni.



Rys. 2. Zdjęcia morfologii powierzchni ($720\ \mu\text{m} \times 400\ \mu\text{m}$) uzyskane dla monowarstw fosfolipidów wyizolowanych z bakterii *L. longbeachae* z i bez dodatku peptydu, w 20°C i 37°C .

Peptyd LL-37 wpływa na morfologię modelowych błon - zarówno w 20°C , jak i w 37°C odnotowano większe ilości skondensowanych domen. Wskazuje to na preferencyjne oddziaływanie katelicydyny z wybranymi klasami fosfolipidów i/lub modyfikację wzajemnych oddziaływań między cząsteczkami fosfolipidów przez peptyd. Jednakże, aby dokładnie określić przyczynę obserwowanego zjawiska, konieczne są dalsze badania z zastosowaniem indywidualnych klas fosfolipidów izolowanych z *L. longbeachae*.

Wnioski: Wyniki analiz wskazują na znaczny wpływ peptydu LL-37 na zachowanie cząsteczek fosfolipidów na granicy faz oraz właściwości fizykochemiczne modelowych błon bakteryjnych *L. longbeachae*. Monowarstwy kompresowane w obecności katelicydyny charakteryzują się mniejszą stabilnością. Widoczny jest również mniejszy stopień upakowania i uporządkowania cząsteczek, co przekłada się na większą elastyczność modelowych błon. Peptyd wykazując różne powinowactwo do poszczególnych klas fosfolipidów modyfikuje morfologię powierzchni błony i prowadzi do bardziej intensywnej separacji faz zwiększając heterogeniczność układu. Powyższe obserwacje potwierdzają przeciwdrobnoustrojowe działanie ludzkiej katelicydyny względem *L. longbeachae*, które jest związane ze zmianami w organizacji fosfolipidów błonowych.

Literatura:

1. B.B. Pereira, M. Marrafa, C. Cruz, et al., Antibiotics, 13 (2024) 1121.
2. M.A. Moffa, C. Rock, P. Galiatsatos, et al., Epidemiol. Infect., 151 (2023) e133.
3. S. Schmidt, S. Mondino, L. Gomez-Valero, et al., PLoS Pathog., 20 (2024) e1012534.
4. D. Xhindoli, S. Pacor, M. Benincasa, et al., Biochim. Biophys. Acta Biomembr., 1858 (2015) 546.
5. K. Majewski, E. Kozłowska, P. Żelechowska, E. Brzezińska-Błaszczyk, Centr. Eur. J. Immunol., 43 (2018) 453.
6. E.G. Bligh, J.W. Dyer, Can. J. Biochem. Physiol., 37 (1959) 911.
7. T.I. Mizan, P.E. Savage, R.M. Ziff, J. Phys. Chem. 100 (1996) 403.

BAKTERIE JAKO NARZĘDZIE W ODZYSKU METALI KRYTYCZNYCH TECHNOLOGICZNIE Z ODPADÓW

**M. ZABIELSKA-KONOPKA¹, E. ZAMBRZYCKA-SZELEWA², B. GODLEW-
SKA-ŻYŁKIEWICZ²,** ¹UwB, Szkoła Doktorska, K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, ²UwB, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

Abstrakt: Rosnące zapotrzebowanie na metale z grupy platynowców (PGE) wymaga alternatywnych podejść do ich recyklingu z odpadów. Dziesięciolecia podstawowych badań laboratoryjnych w obszarze biosorpcji pokazały, że bakterie wykazują wysoki i wszechstronny potencjał w odzyskiwaniu PGE. Pomimo, że całkowita liczba badań nad biosorpcją PGE wzrosła ponad dziesięciokrotnie, przełożenie tego potencjału na skuteczne, praktyczne strategie odzyskiwania i ponownego wykorzystania PGE z próbek rzeczywistych nadal stanowi wyzwanie, z wieloma barierami do przewycięzania. W pracy omówiono potencjał i zastosowanie bakterii w biosorpcji PGE. Temat ten jest szczególnie ważny, ponieważ recykling Pt, Pd i Rh stanowi niecałą 1/3 ich całkowitego zużycia.

Wprowadzenie: Wraz z postępem technologicznym wzrasta zapotrzebowanie na nowoczesne produkty, które wyróżniają się innowacyjnością oraz unikalnymi właściwościami, odpowiadając tym samym na rosnące oczekiwania konsumentów. Metale z grupy platynowców należą do grupy pierwiastków krytycznych technologicznie, których dostawy w Unii Europejskiej są obarczone wysokim ryzykiem. Potencjał katalityczny, stabilność chemiczna oraz wysoka odporność na korozję i utlenianie sprawiają, że są one niezbędne w syntezie chemicznej, przemyśle motoryzacyjnym, elektronicznym, a także w produkcji ogniw paliwowych. Z tego względu coraz większą uwagę zwraca się na recykling i odzysk Pt, Pd i Rh z odpadów, zwłaszcza z katalizatorów samochodowych oraz urządzeń elektronicznych. Recykling oszczędza surowce naturalne, minimalizuje ilość odpadów, zmniejszając zanieczyszczenie środowiska oraz ogranicza zużycie energii [1]. W 2023 r. całkowita pierwotna i wtórna podaż Rh, Pd i Pt wyniosła odpowiednio 30,7, 290,9 i 220,5 ton, podczas gdy zapotrzebowanie na te metale wynosiło odpowiednio 34,7, 322,6 i 236,6 ton. Recykling Rh, Pd i Pt, głównie ze zużytych katalizatorów samochodowych, osiągnął poziom 8,9, 87,3 i 40,4 ton, co stanowiło tylko 25,6, 27,1 i 17,1 % ich całkowitego zużycia [2]. Do odzyskiwania PGE z odpadów na skalę przemysłową stosowane są metody pirometalurgiczne i hydrometalurgiczne. Metody pirometalurgiczne wymagają jednak stosowania wysokich temperatur, co prowadzi do dużego zużycia energii, emisji gazów i produkcji żużla. W późniejszych etapach często konieczne jest włączenie procesów hydrometalurgicznych i elektrochemicznych. W procesach hydrometalurgicznych platynowce dzyskuje się poprzez ługowanie odpadów w odpowiednim czynniku, a następnie separację i oczyszczanie PGE. Wadą tej metody są powstające płynne odpady, które stanowią zagrożenie dla środowiska [3]. Poziom odzysku platynowców zależy od skuteczności i efektywności każdego z etapów tworzących łańcuch recyklingu. Nowoczesna gospodarka wymaga alternatywnych, przyjaznych dla środowiska podejść do recyklingu z odpadów. Z tego względu alternatywą dla tradycyjnych procesów odzyskiwania PGE jest biosorpcja, podczas której jako sorbenty wykorzystuje się biomateriały lub mikroorganizmy.

Chociaż przez wiele lat biosorpcja była stosowana głównie do usuwania metali ze ścieków, ostatnie znaczące postępy w tej dziedzinie rozszerzyły jej zastosowanie do odzyskiwania PGE z innych odpadów. W niektórych przypadkach biosorpcja stosowana jest w połączeniu z innymi procesami, na przykład bioługowaniem czy biooksydacją. Biosorbenty, np. biomasa odpadowa z przemysłu rolniczego czy spożywczego, są zazwyczaj tanie i mogą wykazywać porównywalną pojemność sorpcyjną z komercyjnie dostępnymi adsorbentami [4]. Do tej pory zbadano potencjał biomateriałów, takich jak odpady rolnicze (łupiny nasion, liście [5]), odpady przemysłowe (biomasa odpadowa z przetwórstwa żywności [6]) oraz inne materiały polisacharydowe (chitozan, celuloza [7]). Stwierdzono, że nie wykazują one odpowiednich właściwości pod względem stabilności i selektywności, co nie pozwala na ich skuteczne zastosowanie do odzyskiwania PGE z próbek rzeczywistych. Lepszymi właściwościami sorpcyjnymi charakteryzują się mikroorganizmy, w tym bakterie [8-22], glony [23], grzyby [24] i drożdże [24], co wynika z różnorodności struktury ich ścian komórkowych, grup funkcyjnych oraz dużej powierzchni właściwej. W obrębie danej grupy organizmów właściwości biosorpcyjne są na ogół porównywalne ze względu na podobny skład ściany komórkowej. Zauważono jednak, że bakterie wykazują wyższy potencjał biosorpcji PGE ze względu na wyższy stosunek powierzchni do objętości i większą liczbę potencjalnie aktywnych miejsc wiązania [25]. Dodatkowo, ich zdolność do wzrostu w kontrolowanych warunkach, odporność na zmienne warunki środowiskowe oraz pojemność sorpcyjna sprawiają, że stanowią one obiecujący materiał w recyklingu tych metali [4]. Proces biosorpcji jest zróżnicowany i może zachodzić według różnych mechanizmów, w tym wymiany jonowej, fizycznej adsorpcji (np. oddziaływania elektrostatyczne), mikrostrącania bądź kompleksowania [25]. Zarówno otoczki komórkowe bakterii gram-ujemnych, jak i gram-dodatnich posiadają ładunek ujemny, dzięki czemu są w stanie przyciągać kationy metali, które sorbują się na powierzchni. Wysokie pH sprzyja elektrostatycznemu przyciąganiu i sorpcji kationów ze względu na ogólny wzrost ładunku ujemnego na powierzchni komórki i deprotonacji grup funkcyjnych, podczas gdy niższe pH sprzyja interakcjom anionów z komórkami ze względu na protonację grup funkcyjnych. Kluczowe znaczenie w procesie odzysku PGE mają grupy aminowe, imidazolowe, fosforanowe, hydroksylowe, karbonyłowe, siarczanowe i tiolowe. Większość proponowanych biosorbentów jest oparta na nieuruchomionych i/lub martwych komórkach. Unieruchomienie mikroorganizmów zwiększa ich wytrzymałość mechaniczną oraz odporność na zmienne warunki, takie jak temperatura, pH. Komórkę można unieruchomić przy użyciu technik pułapkowania, wytwarzania wiązań kowalencyjnych pomiędzy grupami funkcyjnymi a grupami reaktywnymi nośnika czy też sieciowania przestrzennego komórek [4,25]. Stosowanie martwej biomasy bakterii pozwala na jej wielokrotne zastosowanie, a także podnosi efektywność procesów sorpcji i desorpcji [8]. Dodatkowo, efektywność biosorpcji PGE można zwiększyć poprzez modyfikację powierzchni miejsc wiązania, najczęściej przy użyciu kwasu lub zasady, sieciowanie, a także poprzez modyfikację genotypu bakterii. Zaawansowane techniki inżynierii genetycznej, w tym te wykorzystywane w biologii syntetycznej, pozwalają na precyzyjne projektowanie nowych biosorbentów poprzez modyfikację oraz inżynierię biologicznych systemów. Do tej pory zbadano potencjał różnych gatunków bakterii do sorpcji PGE (Tabela 1).

Tabela 1. Zastosowanie różnych gatunków bakterii do biosorpcji PGE.

Metal	Gatunek/modyfikacja/unieruchomienie	Lit.	Metal	Gatunek/modyfikacja/unieruchomienie	Lit.
Pt(IV)	<i>Escherichia coli</i>	8-10	Pd(II)	<i>Shewanella oneidensis MR-1</i>	17
Pt(IV)	<i>Escherichia coli</i> / polietylenoimina	9	Pt(IV), Pd(II)	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	18
Pt(IV)	<i>Escherichia coli</i> / białko EC20	10			
Pt(IV), Pd(II)	<i>Escherichia coli</i> BL21	11	Pt(IV), Pd(II)	<i>Desulfovibrio fructosivorans</i>	18
Pt(IV), Pd(II)	<i>Escherichia coli</i> BL21/ białko EC20	11	Pt(IV), Pd(II)	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	18
Pt(IV)	<i>Escherichia coli</i> BL21/ poli(chlorowo-dorek allilaminy)/ włókno chitozanowe	12	Pd(II)	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	19
Pt(IV), Pd(II)	<i>Providencia vermicola</i>	11, 13	Ru(III)	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> / kwasy	20
Pd(II)	<i>Providencia vermicola</i> / -/ alginian wapnia	14	Pt(IV), Pd(II)	<i>Bacillus subtilis</i>	15
Pt(IV), Pd(II)	<i>Shewanella putrefaciens</i>	15	Pd(II)	<i>Enterococcus faecalis</i>	21
Pt(IV), Pd(II), Rh(III)	<i>Shewanella algae</i>	16	Pd(II)	<i>Corynebacterium glutamicum</i> / polietylenoimina	22

Największą popularnością i wysokim potencjałem w sorpcji Pd i Pt cieszy się biomasa bakterii *Escherichia coli*, często zmodyfikowana białkiem EC20 (analog fitochelatyny z 20 powtarzającymi się jednostkami glutaminianu i cysteiny) [10,11], polietylenoiminą (PEI) [9] oraz poli(chlorowodorkiem allilaminy) (PAA/HCl), gdzie dodatkowo biomasę unieruchomiono na włóknie chitozanowym [12]. Wykazano, że przemysłowa odpadowa biomasa *E. coli* jest zdolna do selektywnego wiązania Pd(II) w roztworze zawierającym Pd(II) i Pt(IV) [8]. Biomasa modyfikowana PEI pozwoliła na pięciokrotne zwiększenie sorpcji jonów Pt (108,8 mg/g) ze ścieków przemysłowych, w porównaniu do surowej biomasy [9]. Tan i in. [10] wykazali, że szczep *E. coli*, posiadający na swojej powierzchni białko wykazuje znaczny wzrost biosorpcji Pt (239,9 mg/g) w zoptymalizowanych warunkach w porównaniu z oryginalnym szczepem (173,2 mg/g). Badania rozszerzono wykazując, że komórki *E. coli* niemodyfikowane i genetycznie zmodyfikowane białkiem EC20 pobierają odpowiednio 88,2 % i 97,5 % Pd oraz 93,2 % i 100 % Pt ze ścieków zawierających duże ilości Al i Na. Co więcej, komórki te można było ponownie wykorzystać do biosorpcji Pd, uzyskując w drugim cyklu wydajność sorpcji na poziomie >85 %, przy czym komórki genetycznie zmodyfikowane pozwoliły na sorpcję ponad 93,8 % jonów Pd ze ścieków, wykazując lepsze właściwości sorpcyjne w porównaniu z równocześnie badaną biomasą *Providencia vermicola*. Jednocześnie bakterie utraciły zdolność do wychwytywania Pt z tych ścieków [11]. W porównaniu do komercyjnych żywic jonowymennych, biomasa bakterii *E. coli* zmodyfikowana PAA/HCl i unieruchomiona na włóknie chitozanowym, wykazała całkiem dobrą wydajność w usuwaniu Pt(IV). Zużyte biosorbenty można było regenerować w pięciu cyklach sorpcji/ desorpcji z wydajnością desorpcji ponad 90,2 % [12]. Dużym powodzeniem i wysokim potencjałem do odzyskiwania PGE ze zużytych katalizatorów samochodowych i e-odpadów cieszą się bakterie redukujące siarkę: *Shewanella putrefaciens* [15], *Shewanella algae* [16], *Desulfovibrio desulfuricans* [18,19]. Zatrzymywanie PGE na tych bakteriach wykracza poza to, które

można przypisać samej biosorpcji, i w obecności mrówczanu jako reduktora może zachodzić również bioredukcja Pd(II) do Pd(0) [16]. Najbardziej obiecujące wyniki biosorpcji Pd i Pt uzyskano przy użyciu *Desulfovibrio desulfuricans*. Zaobserwowano, że równowaga sorpcji przy pH 3 została osiągnięta w ciągu 15 min, a maksymalne wartości wynosiły 190 mg/g i 90 mg/g suchej biomasy, odpowiednio dla akumulacji Pd i Pt [18]. Tylko jedna praca dotyczy odzysku Ru(III) przy użyciu szczepu *Rhodopseudomonas*. Poddana wstępnej obróbce kwasami biomasa wykazała dobrą zdolność sorpcji Ru(III) w czystych roztworach metali (Cu, Zn, Ni), jednak jej zastosowanie w roztworach rozcieńczonych ścieków przemysłowych, spowodowało drastyczny spadek wydajności biosorpcji Ru [20].

Wnioski: Bakterie mają ogromny potencjał w odzyskiwaniu PGE z odpadów. Choć technologia ta wciąż wymaga optymalizacji, jej ekologiczność, selektywność oraz niski koszt sprawiają, że jest to obiecująca alternatywa dla tradycyjnych metod. Badania pokazują, że każda prosta modyfikacja ma znaczący wpływ na selektywność i pojemność sorpcyjną biosorbentów poprzez zmianę dostępności, liczby, rodzaju miejsc aktywnych i ich form chemicznych. Większość obecnych badań z udziałem bakterii przeprowadzono na modelowych roztworach metali, często dwu- lub trzyskładnikowych. Wpływ obecności metali występujących w próbkach rzeczywistych na sorpcję PGE był mało badany. W związku z tym przyszłe prace powinny skupiać się na badaniu mechanizmu sorpcji z wieloskładnikowych roztworów modelowych i próbek rzeczywistych.

Literatura:

1. L. MacDonald, i in., Resour. Conserv. Recycl., 205 (2024) 107590.
2. Johnson matthey, PGM market report may (2024).
3. S. Karim, i in., Bioresour. Technol., 18 (2022) 101069.
4. A. Ghomi, i in., J Environ Chem Eng, 8 (2020) 103996.
5. B. C. Choudhary, i in., JCTB, 92 (2017) 1667.
6. D. Oke, i in., J. Environ. Chem. Eng., 2 (2014) 1061
7. H. Hong, i in., Carbohydr. Polym., 228 (2020) 115424
8. S. Kim, i in., J. Hazard. Mater. 283 (2015) 657
9. S.W. Won, i in., Bioresour. Technol., 101 (2010) 1135.
10. L. Tan, i in., Ecotoxicol Environ Saf., 169 (2019) 103.
11. L. Tan, i in. Bioprocess Biosyst Eng., 43 (2020) 1885.
12. J. Mao, i in., Sep. Purif. Technol., 143 (2015) 32.
13. H. Xu, i in., RSC Adv. 12 (2017) 7060.
14. J. Xie, i in., Water Air Soil Pollut. 231 (2020) 36.
15. K. Tanaka, i in., Plos One, 10 (2015) 127417.
16. N. Saitoh, i in., Solid State Phenomena, 262 (2017) 563.
17. H. Xu, i in., J. Mol. Liq., 255 (2018) 333.
18. I. de Vergas, i in., JCTB, 79 (2004) 49.
19. N.J. Creamer, i in., Biotechnol Lett., 28 (2006) 1475.
20. G. Colica, i in., Appl Microbiol Biotechnol., 95 (2012) 381.
21. J. Cui, i in., Chem. Eng. J, 328 (2017) 1051.
22. S.W. Won, i in., Bioresour. Technol., 102 (2011) 3888.
23. S.-I. Miyashita, i in., J. Hazard. Mater. Adv. 3 (2021) 100015.
24. B. Godlewska-Żyłkiewicz, i in., Water, 11 (2019) 1.
25. S. Karim, Y.-P. Ting, Resour. Conserv. Recycl., 170 (2021) 105588.

PRODUKCJA SIDEROFORÓW PRZEZ SZCZEPY *PSEUDOMONAS* W WARUNKACH STRESU KADMOWEGO

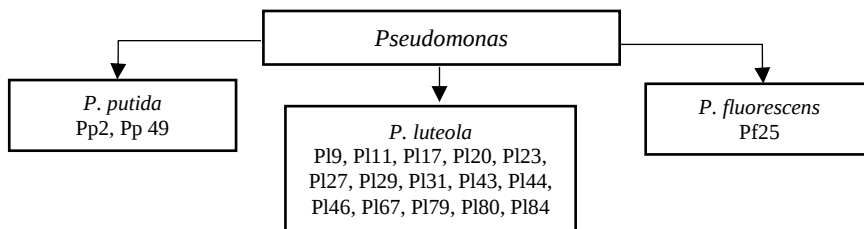
M. TYSZKO, M. MAJEWSKA, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Siderofory (nośniki Fe) są metabolitami wtórnymi mikroorganizmów. Charakteryzują się niską masą cząsteczkową i dużym powinowactwem do jonów Fe^{+3} . Mogą również chelatować jony innych metali (Mn, Cd, Cu, Zn itp.). Do badań wybrano 18 szczepów należących do trzech gatunków *Pseudomonas* (*P. luteola*, *P. putida* i *P. fluorescence*). Wszystkie bakterie produkowały siderofory na podłożu MM9 bez Fe, a ich ilość zależała od badanego szczepu. Po dodaniu Fe^{+3} do MM9 produkcja sideroforów przez badane bakterie obniżyła się średnio o 70%. Wprowadzenie do podłoża $5 \mu\text{g Cd ml}^{-1}$ w różny sposób oddziaływało na produkcję sideroforów. Cztery szczepy produkowały istotnie mniej sideroforów, natomiast 8 szczepów istotnie więcej niż na MM9 bez Cd. Pozostałe 6 szczepów nie reagowało na to stężenie Cd w podłożu. Dodanie do podłoża $50 \mu\text{g Cd ml}^{-1}$ nie wpłynęło negatywnie na namnażanie komórek, ale istotnie obniżyło produkcję sideroforów przez badane szczepy, z wyjątkiem *P. putida* 2, który zintensyfikował ich produkcję. Najwięcej sideroforów, zarówno w podłożu czystym jak i skażonym Cd, produkował szczep *P. luteola* 23 i *P. fluorescence* 25.

Wprowadzenie: Żelazo jest jednym z głównych pierwiastków skorupy ziemskiej (5%) i niezbędnym pierwiastkiem w metabolizmie organizmów [1, 2]. Charakteryzuje się wysoką podatnością na zmiany stopnia utlenienia $\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{+3}$ oraz dużą łatwością tworzenia uwodnionych jonów i organicznych kompleksów. Żelazo w warunkach tlenowych i alkalicznych ulega precipitacji (Fe^{3+}), co bardzo silnie ogranicza jego dostępność dla organizmów, natomiast w warunkach redukcyjnych i kwaśnych ulega mobilizacji i przekształceniu do formy biodostępnej (Fe^{2+}). Zatem niedobór żelaza dla roślin i mikroorganizmów glebowych nie jest związany z jego brakiem, ale ograniczoną rozpuszczalnością w warunkach tlenowych [1]. Mikroorganizmy oraz rośliny, aby zwiększyć wychwytywanie żelaza z gleby produkują i wydzielają organiczne chelatory nazywane sideroforami. Siderofory (nośniki żelaza), to wtórne metabolity o niskiej masie cząsteczkowej (200-2000 Da) i dużym powinowactwie do jonów Fe^{+3} . Ich synteza jest indukowana przede wszystkim niedoborem żelaza w formie biodostępnej [2-4]. Siderofory kontrolują u mikroorganizmów również poziom wirulencji [2], konkurencyjność [5], aktywność przeciwbakteryjną [2], a także tolerancję na stres oksydacyjny [2] i metale ciężkie [4]. Siderofory są klasyfikowane na podstawie ich pochodzenia (roślinne, bakteryjne, grzybowe) lub na podstawie struktury cząsteczki i obecności odpowiednich ligandów tworzących wiązania koordynacyjne z jonami Fe^{+3} (typ katecholowy, hydroksamowy, karboksylanowy i mieszany) [2, 5, 6]. W ostatnich latach zaobserwowano, że siderofory chelatują również jony innych metali, np. Mn, Cd, Cu, Zn [2-6], a ich produkcja przez mikroorganizmy jest nawet wydajniejsza w obecności metali ciężkich [4-6]. Mei i wsp. [4] udowodnili, że Cd indukował komórki *P. aeruginosa* do syntezy sideroforów z grupy piowerdyn. Kompleksy piowerdyn

dyna-Cd nie były rozpoznawane przez receptory na powierzchni komórki i nie były akumulowane wewnątrzkomórkowo. Uznali zatem produkcję sideroforów za jeden z mechanizmów łagodzenia toksyczności Cd. Vishwakarma i Hait [6] stosując siderofory *P. aeruginosa* do bioługowania Li odzyskali około 99% tego pierwiastka ze zużytych baterii LCO. Tym samym udowodnili, że siderofory chelatujące inne metale niż Fe mają wysoki potencjał bioremediacyjny. Celem przeprowadzonych badań było określenie wydajności produkcji sideroforów w warunkach stresu kadmowego i niedoboru żelaza przez szczepy bakteryjne należące do rodzaju *Pseudomonas* wyizolowane z gleb nieskażonych.

Część eksperymentalna: Do badań wybrano 18 szczepów należących do rodzaju *Pseudomonas* (*P. luteola*, *P. putida* i *P. fluorescence*) charakteryzujących się różną wrażliwością na kadm [7]. Bakterie te zostały wyizolowane z gleby pochodzącej z północno-zachodniej części Ziemi Wedla Jarlsberga na Spitsbergenie [7, 8].



Rys. 1. Przynależność gatunkowa szczepów z rodzaju *Pseudomonas* określona na podstawie testów biochemicznych API20NE [7, 8].

Bakterie hodowano na podłożu MM9 o składzie: 4 g glukozy, 3 g peptonu K, 3 g KH_2PO_4 , 1 g NH_4Cl , 0,5 g NaCl , 0,2 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$, 0,1 g $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$, 1000 ml H_2O , pH 6,7) oraz na zmodyfikowanym MM9 z dodatkiem: (a) 0,2 g $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$, (b) 0,01 g lub (c) 0,05 g $\text{CdCl}_2 \times 2,5 \text{ H}_2\text{O}$. Podłoża (10 ml) inokulowano 0,1 ml zawiesiny komórek bakteryjnych w roztworze soli fizjologicznej (0,9% NaCl) o gęstości 0,5 w skali McFarlanda. Inkubację prowadzono w warunkach stacjonarnych, w temperaturze 28°C przez 7 dni. Po zakończeniu hodowli zebrano podłoża metodą wirowania (15 minut, 10 000 rpm) i określono aktywność chelatowania żelaza przez bakteryjne siderofory przy użyciu metody Schwyn'a i Neilands'a [6, 9]. Mieszaninę reakcyjną Fe-CAS-HDTMA przygotowano mieszając trzy roztwory (Tabela 1) w proporcji 5:1:4.

Tabela 1. Roztwory do przygotowania mieszaniny reakcyjnej [6, 9].

Roztwór 1	121 mg chromo-azuroł sulfonianu (CAS) w 100 ml wody dejonizowanej
Roztwór 2	1 mM roztwór $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ w 10 mM roztworze HCl
Roztwór 3	729 mg HDTMA w 400 ml wody dejonizowanej

Podłoża po hodowli bakterii i Fe-CAS-HDTMA mieszano w stosunku 1:1 (v/v) i pozostawiono w temperaturze 22°C przez 15 minut. Absorbancję mierzono spektrofotometrycznie przy długości fali 600 nm [6]. Aktywność chelatowania Fe przez siderofory obecne w podłożu pohodowlanym obliczono według wzoru:

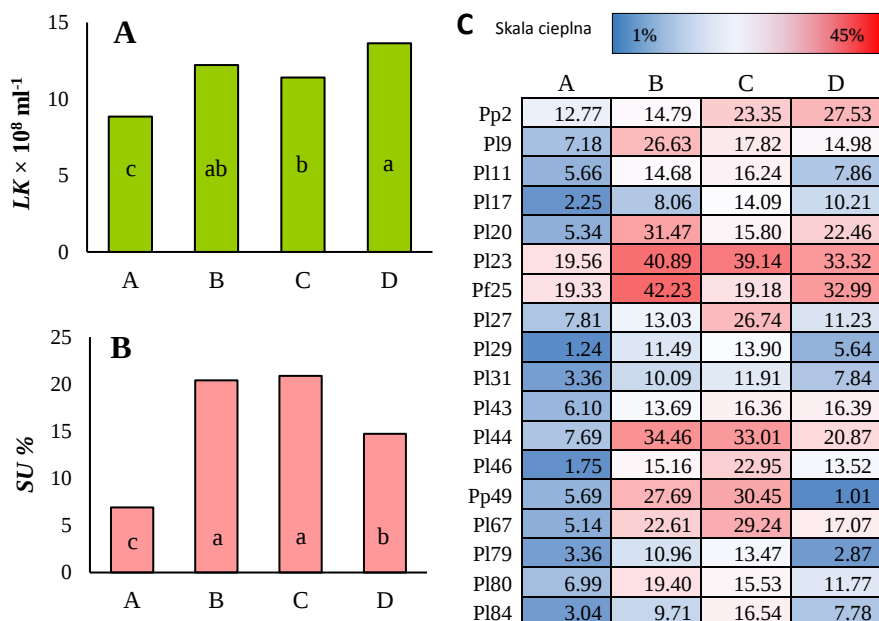
$$SU [\%] = \frac{(A_K - A_B)}{A_K} \times 100$$

SU oznacza procent aktywnych jednostek sideroforowych odpowiedzialnych za chelatowanie Fe obecnego w kompleksie Fe-CAS i obniżenie absorbancji próby badanej (A_B) względem absorbancji próby kontrolnej (A_K), nie zawierającej sideroforów bakteryjnych [6]. Metoda ta opiera się na założeniu, że im więcej sideroforów w podłożu po hodowli bakterii, tym wyższy poziom dekoloryzacji mieszaniny Fe-CAS-HDTMA (Rys. 2).



Rys. 2. Wynik reakcji dekoloryzacji kompleksu Fe-CAS przez siderofory produkowane przez *P. luteola* 23 (A) i *P. putida* 49 (B) hodowane na podłożu MM9 z dodatkiem 50 $\mu\text{g Cd ml}^{-1}$.
 A_K – próba kontrolna, A_B – próby badane

Wyniki: Wszystkie szczepy *Pseudomonas* namnażały się na podłożu minimalnym MM9 oraz jego modyfikacjach (Rys. 3A). Generalnie uzyskano istotnie statycznie wyższą liczbę bakterii rosnących na bezzelazowym MM9 (śr. $12,2 \cdot 10^8 \text{ ml}^{-1}$) niż na MM9 z Fe^{+3} (śr. $8,8 \cdot 10^8 \text{ ml}^{-1}$). Wprowadzenie Cd do bezzelazowego MM9 w dawce 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ nie zmieniło w sposób statystycznie istotny liczby komórek, która wynosiła, $11,4 \cdot 10^8 \text{ ml}^{-1}$. Natomiast w hodowlach prowadzonych na podłożu z 50 $\mu\text{g Cd ml}^{-1}$ liczebność bakterii była najwyższa i wynosiła $13,6 \cdot 10^8 \text{ ml}^{-1}$ (Rys. 3A). Jony Fe^{+3} wprowadzone do MM9 (40 $\mu\text{g ml}^{-1}$) negatywnie wpływały również na produkcję sideroforów (Rys 3B). Po uśrednieniu, ilość sideroforów w tym podłożu stanowiła jedynie 34% ilości określonej w podłożu MM9 bez Fe^{+3} . Wprowadzenie do podłoża 5 $\mu\text{g Cd ml}^{-1}$ różnie oddziaływało na produkcję sideroforów przez badane szczepy. Stwierdzono, że na podłożu z 5 $\mu\text{g Cd ml}^{-1}$ szczepy *P. luteola* 9, 20, 80 i *P. fluorescence* 25 produkowały istotnie mniej sideroforów, natomiast szczepy *P. luteola* 17, 27, 29, 46, 67 i 84 oraz *P. putida* 2 i 49 istotnie więcej niż na podłożu nie uzupełnionym tym metalem (Rys. 3C). Wyższa dawka Cd (50 $\mu\text{g ml}^{-1}$) w podłożu wzrostu bakterii spowodowała istotny spadek produkcji sideroforów w porównaniu do hodowli prowadzonych na podłożu bez Cd (Rys. 3B-C). Wyjątkiem był szczep *P. putida* 2. Ilość sideroforów w płynie po hodowli tego szczepu zwiększyła się wraz ze zwiększeniem stężenia Cd w podłożu. Produkcja sideroforów przez szczepy *P. putida* 49 i *P. luteola* 79 została bardzo silnie zredukowana w podłożu zawierającym 50 $\mu\text{g Cd ml}^{-1}$ i wynosiła odpowiednio 1,0% SU i 2,9% SU. Przy tak wysokiej dawce Cd nadal największą ilość sideroforów stwierdzano w hodowlach *P. luteola* 23 (33,3% SU) i *P. fluorescence* (32,9% SU), choć była to ilość istotnie statystycznie niższa niż w podłożu bez Cd (odpowiednio 40,9% SU 42,2% SU).



Rys. 3. Średnia liczebność bakterii (A) i średnia ilość sideroforów w płynach pochowalanych (B) w zależności od rodzaju podłoża hodowlanego, jak również mapa cieplna (C) obrazująca różnice w ilości sideroforów produkowanych przez poszczególne szczepy *Pseudomonas*.

Wartości średnie reprezentowane na wykresach przez słupki oznaczone różnymi literami są istotnie statystycznie ($p < 0,05$; Test HSD Tukeya).

LK – liczba komórek bakterii w 1 ml hodowli

SU – procent jednostek sideroforowych odzwierciedlających ilość sideroforów w podłożu pochowalnym

A – podłoże MM9 z dodatkiem Fe^{3+}

B – podłoże MM9 bez żelaza

C – podłoże MM9 z dodatkiem $5 \mu\text{g Cd ml}^{-1}$

D – podłoże MM9 z dodatkiem $50 \mu\text{g Cd ml}^{-1}$

Wnioski: Żelazo dodane do podłoża w formie $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ istotnie obniżyło produkcję sideroforów przez wszystkie badane szczepy *Pseudomonas*. Choć wprowadzenie do podłoża $50 \mu\text{g Cd} \cdot \text{ml}^{-1}$ nie wpływało negatywnie na namnażanie komórek, to istotnie obniżyło produkcję sideroforów przez szczepy *Pseudomonas*, z wyjątkiem *P. putida* 2, który zintensyfikował ich produkcję w takich warunkach. Najwięcej sideroforów, zarówno w podłożu czystym jak i skażonym Cd produkował szczep *P. luteola* 23 i *P. fluorescence* 25.

Literatura:

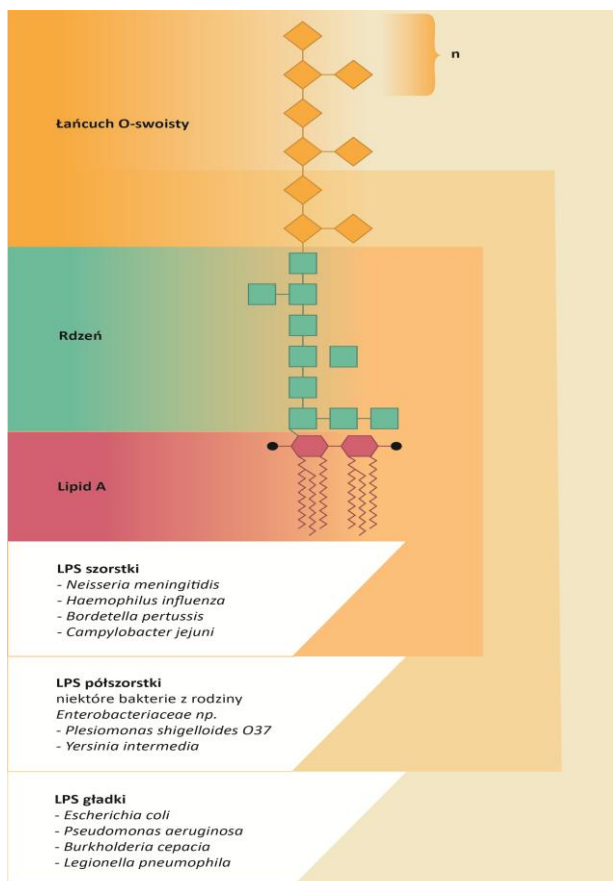
1. A. Kabata-Pendias, B. Szeke, Pierwiastki śladowe w geo- i biosferze. IUNG-PIB, Puławy 2012.
2. A. Khan, P. Singh, A. Srivastava, Microbiol. Res. 212-213 (2018) 103.
3. S. Behera, S. Das, Microbiol. Res. 273 (2023) 127399.
4. S. Mei, W. Bian, A. Yang, P. Xu, X. Qian, L. Yang, X. Shi, A. Niu, J. Hazard. Mater. 469 (2024) 133876.
5. M. Majewska, A. Słomka, A. Hanaka, Environ. Sci. Pollut. Res. 31 (2024).
6. A. Vishwakarma, S. Hait, Process Biochem. 146 (2024) 115.
7. M. Tyszko, M. Majewska, Nauka i Przemysł. Lubelskie Spotkania Studentów. UMCS, Lublin 2024.
8. A. Hanaka, E. Ozimek, M. Majewska, A. Rysiak, J. Jaroszuk-Ścisł, Int. J. Mol. Sci. 20 (2019) 1207.
9. B. Schwyn, J.B. Neilands, Anal. Biochem. 160 (1987) 47.

ZNACZENIE MODYFIKACJI LIPOPOLISACHARYDU *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* W PATOGENEZIE BAKTERII

J. TARASIUK¹, B. KOWALCZYK¹, K. PASTUSZAK², M. JURAK², M. PALUSIŃSKA-SZYSZ¹, ¹UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; ²UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Zjawisk Międzyfazowych, pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: *Legionella pneumophila* jest jednym z czynników etiologicznych zapalenia płuc, najczęściej nabytego w środowisku zamieszkania. W patogenie rozwoju zakażenia uczestniczy wiele czynników wirulencji, w tym lipopolisacharyd (LPS, endotoksyna). LPS *L. pneumophila*, który jest integralnym składnikiem zewnętrznej membrany, odgrywa decydującą rolę na wszystkich etapach oddziaływania tych bakterii z komórkami gospodarza. LPS uwalniany z powierzchni komórki bakteryjnej prowadzi do szeregu reakcji biologicznych, które indukują fizjologiczne i morfologiczne zmiany w tkankach organizmu człowieka. Podczas zakażenia wywołanego przez *L. pneumophila* środowisko organizmu człowieka jest kontrolowane przez komórki odpornościowe. *L. pneumophila* moduluje syntezę i strukturę LPS skutecznie uciekając spod kontroli układu immunologicznego gospodarza.

Wprowadzenie: Pałeczki *Legionella* powszechnie występują w środowisku wodnym. Pomimo ich występowania w naturalnych zbiornikach wodnych, w środowisku nie stanowią one zagrożenia zdrowotnego. Większość przypadków zakażenia ludzi związana jest z transmisją mikroorganizmów przez antropogeniczne systemy dystrybucji wody. Do infekcji bakteriami *Legionella* dochodzi najczęściej w wyniku wdychania skażonego patogenami aerozolu [1]. Zakażenie pałeczkami *Legionella* może mieć różne konsekwencje dla zdrowia człowieka, począwszy od bezobjawowych infekcji, zespołu grypopodobnych objawów zwanych gorączką Pontiac, po ciężkie zapalenie płuc połączone z niewydolnością wielonarządową. W procesie rozwoju zakażenia bakterie *Legionella* wykorzystują szereg różnych czynników wirulencji, w tym składniki ściany komórkowej. Budowa ściany komórkowej *L. pneumophila* jest typowa dla Gram-ujemnych bakterii – składa się z błony zewnętrznej i błony wewnętrznej, pomiędzy którymi znajduje się warstwa peryplazmy. Dominującym składnikiem błony zewnętrznej Gram-ujemnych bakterii, odgrywającym kluczową rolę w funkcjonowaniu mikroorganizmu, jest lipopolisacharyd. LPS pełni funkcję bariery, która chroni komórkę bakterii przed wnikaniem cząsteczek toksycznych, takich jak antybiotyki czy kwasy żółciowe, oraz stanowi jeden z głównych czynników zjadliwości. Ze względu na swoją lokalizację jest pierwszą komponentą rozpoznawaną przez układ immunologiczny gospodarza [2]. Bakterie syntetyzują enzymy, które modyfikują LPS w celu zmiany jego właściwości i dostosowania bakterii do dynamicznie zmieniającego się środowiska, w którym zamieszkują. Ogólna struktura cząsteczki LPS bakterii Gram-ujemnych jest zasadniczo konserwatywna. Składa się z trzech odrębnych regionów połączonych kowalencyjnie tj. łańcucha O-swoistego, rdzenia oligosacharydowego oraz lipidu A (Rys. 1).



Rys. 1. Schemat budowy LPS (zmodyfikowany wg [3]).

Łańcuch O-swoisty *L. pneumophila* jest rzadko występującym w przyrodzie homopolimerem zbudowanym z 10 do 75 reszt kwasu acetimidoylamino-7- acetamido-8-acetylo-3,5,7,9-tetradeksoxy-D-glicero-D-galakto-non-2-ulozonowego (kwasu legionaminowego, Leg5Am7Ac) i jego izomeru, kwasu 4-epilegionaminowego o konfiguracji D-glicero-D-talo [4]. Kwas legionaminowy *L. pneumophila*, szczep Philadelphia 1, nie zawiera wolnych grup hydroksylowych przy węglu 5, 7 i 8 i podstawiony jest odpowiednio grupą *N*-acetymidylową, *N*-acetylową i *O*-acetylową. Część zewnętrzna rdzenia LPS *L. pneumophila* zbudowana jest z ramnozy (Rha), mannozy (Man), acetylochinosamin (QuINAc) oraz acetyloglukozaminy (GlcNAc) [5]. Region zewnętrzny rdzenia, podobnie jak łańcuch O-swoisty, ma charakter hydrofobowy. Właściwości hydrofobowe rdzenia zewnętrznego determinowane są przez grupy *N*-acetylowe, grupy metylowe oraz grupy *O*-acetylowe [5, 6]. W przeciwieństwie do części zewnętrznej, część wewnętrzna rdzenia jest hydrofilna. Region ten składa się z dwóch cząsteczek kwasu 3-deoksy-D-manno-oktulozonowego (Kdo) oraz jednej reszty mannozy [5, 7]. Część cukrowa lipidu A *L. pneumophila* serogrupa 1 (sg1) zbudowana jest z dwóch cząsteczek 2,3-diamino-2,3-dideoksy-D-glukozy (GlcN3N). Do disacharydu lipidu A przyłączone są kwasy tłuszczowe. Grupy

-NH₂ 2,3-diamino-2,3-dideoksy-D-glukozy w pozycji 3 i 3' podstawione są przez hydrokyskwas. W lipidzie A *L. pneumophila* grupy hydroksylowe reszt 3-hydrokyskwasów przy nieredukującym końcu GlcN3N, podstawione są przez drugorzędowe kwasy tłuszczowe, tworząc heksaacylową strukturę z asymetrycznym (4 + 2) rozmieszczeniem kwasów na szkielecie cukrowym. Podobieństwo strukturalne składników powierzchniowych *L. pneumophila* do makromolekuł komórek eukariotycznych jest jedną ze strategii wykorzystywaną przez te bakterie podczas kolonizacji komórek żywicieli. Kwas legionaminowy *L. pneumophila* sg1 wykazuje taką samą konfigurację strukturalną, tj. D-glicero-D-galakto, jak kwas 5-acetamido-neuraminowy, występujący na powierzchni komórek ssaczy, który zaangażowany jest w przekazywanie sygnałów między komórkami oraz reakcje immunologiczne. Molekularna mimikra kwasu legionaminowego i kwasu neuraminowego jest istotna zarówno w procesie adhezji, jak również modulacji odpowiedzi immunologicznej na infekcję. LPS *L. pneumophila* jest dużo słabszym induktorem prozapalnych cytokin w porównaniu do lipopolisacharydu bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* [8]. Najważniejszym regionem LPS determinującym jego aktywność biologiczną jest lipid A. Długołańcuchowe kwasy tłuszczowe przyłączone do disacharydu zbudowanego z 2,3-diamino-2,3-dideoksy-D-glukozy są składnikami lipidu A *L. pneumophila*, które warunkują ochronę przed degradacją lipidu A/LPS przez esterazy i/lub amidazy ameb w trakcie wewnątrzkomórkowego wzrostu bakterii [9]. LPS *L. pneumophila* podlega zmienności fazowej, która skorelowana jest z obniżoną wirulencją na modelu świnek morskich, zmniejszoną replikacją w makrofagach linii HL60 i komórkach *Acanthamoeba castellanii*, oraz upośledzoną opornością na surowicę [10]. Zmienność fazowa *L. pneumophila* sg1 szczep RC1 wpływa na zmianę struktury łańcucha O-swoistego oraz profilu kwasów tłuszczowych lipidu A, a w szczepie 811 sprawia, że kwas legionaminowy pozbawiony jest N-metylacji oraz lipid A zbudowany jest z krótszych hydrokyskwasów (3-OH 16:0, 3-OH 18:0) [11, 12]. Obecność grup O- i N-acetylowych oraz grup metylowych w łańcuchu O-swoistym i zewnętrznym regionie rdzenia determinuje silne właściwości hydrofobowe LPS *L. pneumophila* sg1, sprzyjające lokalizacji bakterii w aerozolu i ułatwiające adhezję do błony komórek makrofagów [9, 10]. Na wysoką hydrofobowość LPS *L. pneumophila* sg1 ma wpływ obecność grupy O-acetylowej przyłączonej do grupy hydroksylowej przy węglu 8 kwasu legionaminowego za pośrednictwem O-acetylotransferazy kodowanej przez gen *lag-1*. Obecność genu *lag-1* koreluje ze zwiększoną wirulencją bakterii *L. pneumophila*, gdyż gen ten jest częściej identyfikowany w izolatach klinicznych [13].

Wyniki: Badania przeprowadzone na mutantach w strukturze LPS *L. pneumophila* pozwoliły określić rolę poszczególnych komponentów endotoksyny w patogenności bakterii. Mutacja punktowa w obrębie genu *lag-1* kodującego O-acetylotransferazę skutkowała tym, że powtarzające się podjednostki kwasu legionaminowego tworzące łańcuch O-swoisty pozbawione były grup O-acetylowych. Mutacja spowodowała również, że bakterie syntetyzowały LPS o skróconym łańcuchu polisacharydowym. W konsekwencji tych modyfikacji bakterie wykazywały odmienną topologię komórki, zmieniony skład lipidowy i białkowy, obniżoną zdolność do produkcji pęcherzyków membrany zewnętrznej, jak również upośledzoną zdolność przyłączania się do komórek gospodarza (makrofagów linii THP-1 oraz *A. castellanii*) [14]. Badania pokazały, że oprócz grup O-acetylowych również podstawniki N-metylowe przyłączone do kwasu legionaminowego LPS *L. pneumophila* decydują o oddziaływaniu z komórkami gospodarza oraz wpływają na modulację produkcji prozapalnych cytokin [dane niepublikowane]. Wykazano, że nie tylko część

O-swoista, ale także część rdzeniowa LPS *L. pneumophila* odgrywa istotną rolę w początkowych etapach infekcji. Mutacja w obrębie ORF7 spowodowała, że ramnoza części rdzeniowej LPS pozbawiona była grup O-acetylowych. W konsekwencji mutant słabiej oddziaływał z makrofagami linii THP-1 oraz wykazywał zwiększoną adhezję do komórek *A. castellanii*. Mutacja w ORF7 spowodowała, że bakterie lepiej namnażały się wewnątrz ww. komórek gospodarzy. Dodatkowo szczep defektywny w syntezie rdzenia LPS miał zmieniony profil lipidowy, a także był silniejszym induktorem czynnika martwicy nowotworów (TNF- α) oraz słabiej stymulował produkcję interleukiny 6 (IL-6) w porównaniu do szczepu dzikiego [15]. Badania przeprowadzone na mutantach defektywnych w syntezie LPS wykazały, że część polisacharydowa LPS *L. pneumophila*, jej długość oraz rodzaj i liczba podstawników, wpływają na zmianę składu membrany komórki bakteryjnej, determinując oddziaływanie z komórkami gospodarza oraz modulując reakcje immunologiczne.

Wnioski: Znajomość struktury, modyfikacji oraz szlaków biosyntezy LPS *L. pneumophila* może okazać się pomocna w opracowaniu nowych leków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym.

Literatura:

1. A.T. Yu, A. Kamali, D.J. Vugia, *Current Epidemiology Reports*, 6 (2019) 310.
2. B. Bertani, N. Ruiz, *EcoSal Plus*, 8 (2018) 10.
3. A. Silipo, A. Molinaro, *Subcell. Biochem.*, 53 (2010) 69.
4. Y.E. Tsvetkov, A.S. Shashkov, Y.A. Knirel, U. Zähringer, *Carbohydr. Res.*, 331 (2001) 233.
5. Y.A. Knirel, H. Moll, U. Zähringer, *Carbohydr. Res.*, 293 (1996) 223.
6. O. Kooistra, E. Lüneberg, B. Lindner, Y.A. Knirel, M. Frosch, U. Zähringer, *Biochem.*, 40 (2001) 7630.
7. H. Moll, Y.A. Knirel, J.H. Helbig, U. Zähringer, *Carbohydr. Res.*, 304 (1997) 91.
8. B. Kowalczyk, E. Chmiel, M. Palusińska-Szys, *Int. J. Mol. Sci.*, 22 (2021) 1487.
9. U. Zähringer, Y.A. Knirel, B. Lindner, J.H. Helbig, A. Sonesson, R. Marre, E.T. Rietschel, *Prog. Clin. Biol. Res.*, 392 (1995) 113.
10. M. Palusińska-Szys, R. Russa, *Recent Pat Anti-infect. Drug Disc.*, 4 (2009) 96.
11. O. Kooistra, Y.A. Knirel, E. Lüneberg, M. Frosch, U. Zähringer, *Legionella* 1 (2001) 68.
12. O. Kooistra, E. Lüneberg, Y.A. Knirel, M. Frosch, U. Zähringer, *Eur. J. Biochem.*, 269 (2002) 560.
13. B.A. Wee, J. Alves, D.S. Lindsay, A.B. Klatt, F.A. Sargison, R.L. Cameron, A. Pickering, J. Gorzynski, J. Corander, P. Marttinen, B. Opitz, A.J. Smith, J.R. Fitzgerald, *Nat. Commun.*, 12 (2021) 7165.
14. M. Palusinska-Szys, R. Luchowski, W.I. Gruszecki, A. Choma, A. Szuster-Ciesielska, C. Lück, M. Petzold, A. Sroka-Bartnicka, B. Kowalczyk, *Front. Microbiol.*, 10 (2019) 2890.
15. B. Kowalczyk, M. Petzold, Z. Kaczyński, A. Szuster-Ciesielska, R. Luchowski, W.I. Gruszecki, B. Fuchs, C.E. Galuska, A. Choma, J. Tarasiuk, M. Palusińska-Szys, *Int. J. Mol. Sci.*, 24 (2023) 14602.

LEKOWRAŻLIWOŚĆ LASECZEK WYIZOLOWANYCH Z POWIERZCHNI DOTYKOWYCH W PRZESTRZENI PUBLICZNEJ LUBLINA

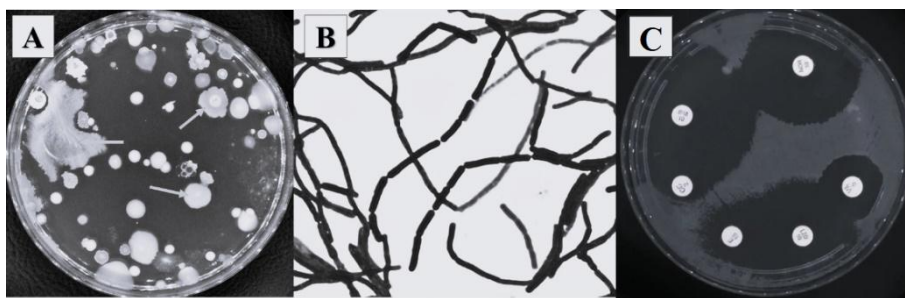
A. NIEWCZAS, K. SZWED, K. POGORZELEC, W. SŁOTWIŃSKA, K. POLAŃSKI,
SKN „mikroGRAM” przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział
Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin

Abstrakt: Przestrzenie środowiska takie jak automaty paczkowe stanowią urządzenia codziennego użytku publicznego. W związku z ich rosnącą popularnością oraz intensywnym użytkowaniem, miejsca te są zasiedlane przez różnego rodzaju drobnoustroje. Celem niniejszej pracy było zbadanie lekowrażliwości laseczek z rodzaju *Bacillus* wyizolowanych z powierzchni dotykowych w przestrzeni publicznej Lublina. Pozwoliło to, ustalić czy ekrany dotykowe i klawiatury automatów paczkowych stanowią rezerwuuar potencjalnie patogennych oraz antybiotykoopornych laseczek, a także dostarczyć cennych informacji o możliwym zagrożeniu związanym z ryzykiem transmisji drobnoustrojów na użytkowników.

Wprowadzenie: Ekrany dotykowe są obecnie stałym elementem wykorzystywanym do obsługi większości urządzeń w przestrzeni publicznej. Stanowią także element automatów paczkowych, które w ostatnich latach stały się popularnym narzędziem codziennego użytku. Jednak ich intensywne użytkowanie stwarza ryzyko zanieczyszczenia mikrobiologicznego ekranów dotykowych, co może wpływać na rozprzestrzenianie się patogenów wśród ludzi. Częsty kontakt skóry użytkowników z powierzchniami dotykowymi automatów paczkowych sprzyja przenoszeniu drobnoustrojów, w tym bakterii z rodzaju *Bacillus*. Ponadto ekrany dotykowe są zasiedlane przez bakterie odporne na różne grupy antybiotyków. W ten sposób powierzchnie automatów paczkowych mogą stać się rezerwuarem wielu opornych na antybiotyki drobnoustrojów, co czyni je istotnym obiektem badań mikrobiologicznych [1]. Bakterie z rodzaju *Bacillus* to Gram-dodatnie laseczki, wytwarzające przetrwalniki. Są to drobnoustroje powszechnie występujące w środowisku m.in. w glebie, wodzie powietrza oraz na powierzchniach przedmiotów codziennego użytku [2]. Ważną cechą wszystkich laseczek z rodzaju *Bacillus* jest zdolność wytwarzania w cyklu życiowym przetrwalników. Powoduje to, że są one wyjątkowo odporne na niekorzystne warunki środowiska, co wpływa na istotne cechy chorobotwórczości i zdolność rozprzestrzeniania się w otoczeniu. Wśród bakterii z rodzaju *Bacillus* wyróżnia się laseczki wchodzące w skład naturalnego mikrobiomu człowieka, gatunki saprofityczne oraz potencjalnie patogenne dla ludzi [3]. Większość gatunków *Bacillus* nie wykazuje lub ma bardzo słaby potencjał patogenny, dlatego odpowiedzialne są m.in. za infekcje oportunistyczne, wywołujące zakażenia u osób z obniżoną odpornością [4]. Warto podkreślić, że niektóre gatunki laseczek, np. *Bacillus subtilis*, stanowią mikrobiotę skóry człowieka a produkowane przez nie substancje przeciwdrobnoustrojowe odgrywają istotną rolę ochronną [5]. Gatunki potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka zalicza się do grupy „*Bacillus cereus*”. W jej skład wchodzi: *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. cytotoxicus*, oraz *B. toyonensis*, dla których w literaturze opisano wiele przypadków klinicznych zakażeń wywołanych u ludzi [3].

W niniejszej pracy zbadano lekowrażliwość laseczek z rodzaju *Bacillus* wyizolowanych z powierzchni dotykowych automatów paczkowych znajdujących się na terenie Lublina. Badanie to ma na celu ustalić potencjał chorobotwórczy i antybiotykooporność laseczek znajdujących się na ekranach dotykowych w przestrzeni publicznej oraz dostarczyć cennych informacji o możliwym zagrożeniu związanym z ich użytkowaniem. Pozwoliło to uzasadnić istotne znaczenie procedur dezynfekcji oraz promocji prawidłowej higieny rąk wśród użytkowników automatów paczkowych.

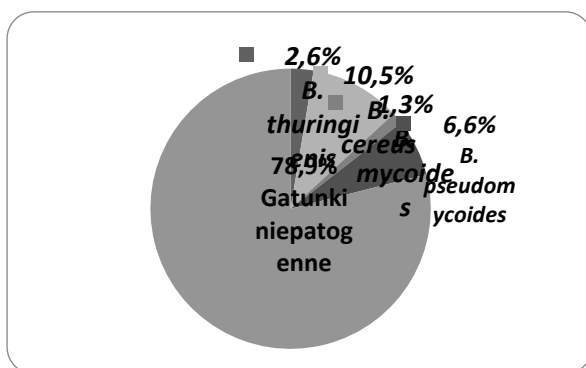
Część eksperymentalna: Materiał badawczy stanowiły próbki pobrane z powierzchni dotykowych 64 automatów paczkowych znajdujących się na terenie Lublina. Próbki poddano hodowli a wyhodowane kolonie o charakterystycznym obrazie mikroskopowym dla laseczek (cylindryczne Gram-dodatnie bakterie, często układające się w charakterystyczne łańcuchy) poddano dalszym badaniom (Rys. 1A i 1B). Identyfikację gatunkową przeprowadzono z wykorzystaniem spektrometrii mas MALDI-TOF-MS. Badanie wykonała dr Dorota Pietras-Ożga w Katedrze Epizootiologii i Klinice Chorób Zakaźnych, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Szczegółowe informacje dotyczące procedury zbierania próbek oraz metod identyfikacji dostępne są w poprzedniej pracy [1].



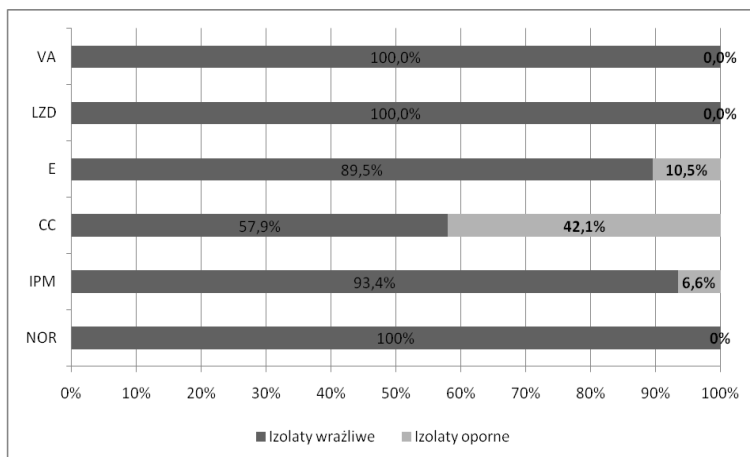
Rys. 1. Wzrost bakterii, w tym laseczek z rodzaju *Bacillus*, na agarze tryptozowo-sojowym (rys. 1A; zaznaczone strzałką); obraz mikroskopowy laseczek z rodzaju *Bacillus* po barwieniu metodą Grama (rys. 1B; powiększenie $\times 1000$); antybiogram dla laseczek z rodzaju *Bacillus* (rys. 1C).

W kolejnym etapie dla każdego zidentyfikowanego gatunkowo izolatu oznaczono lekowrażliwość metodą krążkowo-dyfuzyjną. Przygotowano zawiesinę bakterii w skali 0,5 McFarlanda, którą za pomocą jałowej wymazówki posiano na podłożu Mueller-Hinton w trzech kierunkach. Następnie na podłożu ułożono krążki z antybiotykami. Oceniono wrażliwość badanych laseczek na antybiotyki z grupy fluorochinolonów, karbapenemów, linkozamidów, makrolidów, oksazolidynonów oraz glikopeptydów. W tym celu wykorzystano krążki zawierające kolejno norfloksacynę (10 μg), imipenem (10 μg), klindamycynę (2 μg), erytromycynę (15 μg), linezolid (10 μg) oraz wankomycynę (5 μg). Podłoża poddano preinkubacji, a następnie inkubowano w warunkach tlenowych, w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ przez 18 godzin. Po inkubacji zmierzono średnicę strefy zahamowania wzrostu i oceniono lekowrażliwość na podstawie wytycznych interpretacji wyników oznaczenia lekowrażliwości dla rodzaju *Bacillus* zgodnie z zaleceniami EUCAST (wersja 14.0, 2024) (Rys. 1C).

Wyniki: Łącznie wyizolowano 76 izolatów należących do rodzaju *Bacillus*. Wykazano, iż wśród laseczek zasiedlających powierzchnie dotykowe automatów paczkowych dominują gatunki niepatogenne, które stanowią prawie 80% zidentyfikowanych laseczek. Pozostałe 20% to gatunki laseczek zaliczane do szczepów potencjalnie patogennych dla człowieka. W tej grupie zidentyfikowano *B. cereus* (10,5%); *B. pseudomycoides* (6,6%); *B. thuringiensis* (2,6%) oraz *B. mycoides* (1,3%) (Rys.3).



Rys. 3. Procentowy udział gatunków laseczek wyizolowanych z powierzchni dotykowych automatów paczkowych z podziałem na gatunki niepatogenne i potencjalnie chorobotwórcze (n = 76).



Rys. 4. Lekowrażliwość bakterii z rodzaju *Bacillus* wyizolowanych z powierzchni dotykowych automatów paczkowych na poszczególne antybiotyki (n = 76). (VA – wankomycyna; LZD – linezolid; E – erytromycyna; CC – klindamycyna; IPM – imipenem; NOR – norfloksacyna).

Oznaczenie lekowrażliwości laseczek wyizolowanych z ekranów dotykowych w przestrzeni publicznej dowiodło, że badane bakterie wykazują największą oporność na klindamycynę. Ponad 40% gatunków z rodzaju *Bacillus* było opornych na ten antybiotyk. W przypadku erytromycyny zaobserwowano oporność na poziomie 10,5%, z kolei oporność na imipenem wyniosła 6,6%. Natomiast w przypadku norfloksacyny, linezolidu oraz wankomycyny, wśród wyizolowanych gatunków laseczek nie zaobserwowano oporności

na żaden z tych antybiotyków (Rys. 4.). Nie stwierdzono występowania szczepów wielolekoopornych (opornych na co najmniej trzy grupy leków przeciwdrobnoustrojowych), natomiast wykazano równoczesną oporność na dwa testowane leki w przypadku 9,2% badanych szczepów. Wśród nich równoczesna oporność dotyczyła kombinacji erytromycyna-klindamycyna, która dotyczyła 71,4% laseczek spośród wszystkich izolatów wykazujących oporność na dwa antybiotyki. W porównaniu do grupy laseczek niepatogennych, izolaty potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka (*grupa B. cereus*) charakteryzowały się wyższą antybiotykopornością. Wśród laseczek niepatogennych 34,4% izolatów wykazywało oporność na co najmniej jeden z badanych antybiotyków. Natomiast lekooporność w grupie *B. cereus*, była prawie dwa razy większa, gdyż u 66,7% izolatów zaobserwowano oporność na co najmniej jeden z badanych antybiotyków.

Wnioski: Ponad 40% laseczek wyizolowanych z powierzchni dotykowych w przestrzeni publicznej wykazało oporność na klindamycynę, co sugeruje ograniczoną skuteczność tego antybiotyku wobec rodzaju *Bacillus*. Jednakże, nie stwierdzono oporności badanych laseczek na norfloksacynę, linezolid oraz wankomycynę, co sugeruje, że antybiotyki te mogą wykazywać największą skuteczność w terapii zakażeń wywołanych przez laseczki z rodzaju *Bacillus*. Dodatkowo, na ekranach dotykowych automatów paczkowych nie stwierdzono obecności szczepów wielolekoopornych, dlatego korzystanie z automatów paczkowych nie stanowi ryzyka rozprzestrzeniania się tych patogenów w populacji. Ponadto, wśród laseczek wyizolowanych z powierzchni dotykowych automatów paczkowych 20% stanowią gatunki potencjalnie patogenne dla człowieka, w tym odporne na antybiotyki, co podkreśla konieczność stosowania odpowiednich środków higieny wśród użytkowników automatów.

Literatura:

- 1.S. Kasela, D. Andrzejczuk, D. Pietras-Ożga, M. Ossowski, Appl. Sci., 14 (2024) 11267
- 2.P. Baindara, B. Aslam, Front. Microbiol., 14 (2023) 1307723
- 3.M. Ehling-Schulz, D. Lereclus, T. M. Koehler, Microbiol. Spectr., 7 (2019) 10.
- 4.T. Berić, M. Biočanin, S. Stanković, I. Dimkić, T. Janakiev, Đ. Fira, J. Lozo, Arch. Biol. Sci., 70 (2018) 581.
- 5.R. del Campo, L. Martínez-García, A.M. Sánchez-Díaz, F. Baquero, Microbiol. Spectr., 7 (2019) 10.1128

CHARAKTERYSTYKA I PROFIL LEKOWRAŻLIWOŚCI WYBRANYCH DROBNOUSTROJÓW WYIZOLOWANYCH Z ROPNIA OKOŁOWIERZCHOŁKOWEGO ZĘBA LECZONEGO ENDODONTYCZNIE

G. OMIOTEK, D. SAMBORSKA, A. TURSKA-SZEWCZUK, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Z ropnia okołowierzchołkowego zęba trzonowego 26 (system Violla), przeleczonego endodontycznie, w warunkach klasycznej hodowli w atmosferze beztlenowej wyizolowano, a następnie scharakteryzowano do rodzaju (na podstawie analizy sekwencji genu 16S rDNA) drobnoustroje z grupy ścisłych beztlenowców (*Porphyromonas* sp., *Prevotella* sp., *Peptoniphilus* sp., *Megasphaera* sp.) oraz względnych beztlenowców (*Citrobacter* sp.). Z wykorzystaniem metody krążkowo-dyfuzyjnej oraz gradientowo-dyfuzyjnej sprawdzano wrażliwość izolatów na wybrane antybiotyki i chemioterapeutyki. Wykazano, że różniły się one profilem lekooporności. Szeroki zakres wrażliwości na związki przeciwdrobnoustrojowe prezentowały ściśle beztlenowce zarówno ziarenkowce, jak i pałeczki. Względne beztlenowce z rodzaju *Citrobacter* sp. były odporne na klindamycynę oraz metronidazol. Różniły się także wrażliwością na beta-laktamy zarówno, jako związki zastosowane samodzielnie, jak i w połączeniu z inhibitorem enzymów. Dodatek inhibitora wywierał pozytywny efekt hamujący, obniżając wartości minimalnych stężeń hamujących MIC dla leków (amoksyliny i ampicyliny).

Wprowadzenie: Drobnoustroje jamy ustnej są zdolne do przeżycia w zróżnicowanych warunkach zarówno w atmosferze tlenowej, jak i beztlenowej. Warunki ściśle beztlenowe charakteryzują zwłaszcza kanały i wierzchołki korzeni zębów będąc źródłem swoistej dla tych miejsc mikrobioty [1], której hodowla *in vitro* jest szczególnie wymagająca ze względu na wysokie ryzyko ekspozycji na tlen. Mikroorganizmy oralne, o szerokim spektrum wymagań środowiskowych podlegają złożonym i wzajemnym interakcjom, prowadząc w sprzyjających warunkach do powstawania płytki nazębnej, której rozwój skutkuje chorobami dziąseł i przyzębia. Nagromadzenie względnych oraz ścisłych beztlenowców w szczelinach dziąsłowych powoduje stopniowe przejście od mikrobiomu symbiotycznego do dysbiozy, co sprzyja pogłębianiu destrukcji tkanek przyzębia [2]. Najczęściej identyfikowanymi oportunistycznymi patogenami są wówczas Gram-dodatnie ziarenkowce *Peptoniphilus*, Gram-ujemne pałeczki (*Porphyromonas*, *Prevotella*) i ziarniaki (*Megasphaera*) [3]. Narastający stan zapalny jamy ustnej w połączeniu z destrukcją tkanek przyzębia stwarza ryzyko namnażania się oraz transmisji patogenów do innych narządów, dlatego konieczne jest stosowanie środków przeciwwzapalnych i skutecznych leków przeciwdrobnoustrojowych. Dotychczasowe badania profilu lekowrażliwości mikrobioty oralnej wskazywały na występowanie oporności na antybiotyki z grupy: beta-laktamów, aminoglikozydów i makrolidów oraz na chemioterapeutyki (np. ciprofloksacynę) [4]. Celem prezentowanej pracy było wyizolowanie drobnoustrojów (przy zastosowaniu klasycznych metod hodowlanych) z ropnia okołowierzchołkowego zęba leczonego endodontycznie, a następnie ich charakterystyka oraz określenie wrażliwości na wybrane antybiotyki

i chemioterapeutyki. Obserwacja mikroskopowa czystych kultur, po wybarwieniu preparatów metodą Grama, pozwoliła na poznanie morfologii komórek drobnoustrojów. Przynależność izolatów do rodzaju potwierdzono na podstawie analizy bioinformatycznej amplikonu genu dla 16S rRNA w oparciu o sekwencje referencyjne dostępne w bazie GenBank.

Część eksperymentalna: Drobnoustroje będące przedmiotem badań zostały wyizolowane w warunkach hodowli beztlenowej, w postaci czystych kultur, ze zmienionej chorobowo tkanki okołowierzchołkowej zęba trzonowego 26 (wg systemu Viohla), prawidłowo przeleczzonego endodontycznie. Analiza mikroskopowa preparatów barwionych metodą Grama pozwoliła na określenie morfologii komórek drobnoustrojów. Hodowle mikroorganizmów do uzyskania postaci czystych kultur prowadzono na podłożu stałym Brucella z dodatkiem 5% krwi baraniej, wzbogaconym witaminą K i heminą w temp. 37°C, w atmosferze zawierającej 5% CO₂ przez okres 3-4 tygodni. Do badania profilu lekowrażliwości wszystkie izolaty przesiewano na wspomniane, wzbogacone podłoże Brucella agar oraz Columbia agar z dodatkiem 5% krwi baraniej. Dla trzech izolatów zidentyfikowanych jako względne beztlenowce, tolerujące atmosferę tlenową, wykonano dodatkowo badania lekowrażliwości na podłożu stałym Müller-Hinton. Metodą krążkowo-dyfuzyjną sprawdzano wrażliwość drobnoustrojów na antybiotyki beta-laktamowe, linkozamidy, tetracykliny, aminoglikozydy oraz chemioterapeutyki – metroniazol (nitroimidazol) i ciprofloksacynę (fluorochinolon). Z kolei, testy gradientowo-dyfuzyjne w zakresie stężeń 0,016-256 µg/ml umożliwiły ustalenie wartości minimalnych stężeń hamujących MIC dla wybranych leków. Do określenia przynależności taksonomicznej izolatów, na podstawie analizy sekwencji genu dla 16S rRNA, z masy komórkowej wyizolowano genomowe DNA, z wykorzystaniem zestawu Bead-Beat Micro AX Gravity (A&A Biotechnology) opartego na lizie mechanicznej komórek za pomocą kuleczek cyrkoniowych oraz przepływie grawitacyjnym przez kolumnę wiążącą. Po sprawdzeniu ilości i czystości DNA, fragment genu 16S rDNA amplifikowano przy użyciu klasycznych starterów [5], a uzyskany produkt reakcji sekwencjonowania (Genomed SA) analizowano w oparciu o sekwencje referencyjne zdeponowane w bazie GenBank.

Wyniki: Większość drobnoustrojów wyizolowanych w warunkach hodowli beztlenowej z ropnia okołowierzchołkowego zęba 26 była ścisłymi beztlenowcami. W puli szczepów zidentyfikowano także trzy izolaty będące względnymi beztlenowcami. Obserwacja mikroskopowa czystych kultur preparatów po barwieniu metodą Grama wykazała, że wśród nich dominują: Gram-dodatnie i Gram-ujemne ziarenkowce oraz Gram-ujemne pałeczki. Analiza bioinformatyczna amplikonów 16S rDNA w oparciu o sekwencje referencyjne dostępne w bazie GenBank potwierdziła przynależność izolatów do rodzajów: *Peptoniphilus* sp., *Porphyromonas* sp. oraz *Prevotella* sp. Obecni byli także przedstawiciele rodzaju *Megasphaera* sp. (Rząd: Veillonellales). Z kolei, trzy izolaty Anb13, Anb14 i Anb15 będące względnymi beztlenowcami, tolerującymi atmosferę tlenową zidentyfikowano, jako *Citrobacter* sp. Badanie profilu lekowrażliwości z wykorzystaniem metody krążkowo-dyfuzyjnej oraz testów gradientowo-dyfuzyjnych wykazały, że szczepy różniły się wrażliwością na leki (Tabela 1). Gram-dodatnie ziarenkowce (*Peptoniphilus* sp.), jak i Gram-ujemne pałeczki (*Porphyromonas* sp.), były wrażliwe na wszystkie badane antybiotyki, do których należały: ampicylina (10 i 30 µg), amoksycylina (25 µg), amoksycylina/kwas klawulanowy 3 µg (2/1), ampicylina/sulbaktam 20 µg (10/10), linkozamidy

(klindamycyna 10 µg), tetracyklina (30 µg) i aminoglikozydy (kanamycyna 30 µg). Izolaty *Peptoniphilus* sp. (Anb2 i Anb6) oraz *Porphyromonas* sp. (Anb1) były wrażliwe na ciprofloksacynę (5 µg) i metronidazol (50 µg). Z kolei, izolat Anb7 *Prevotella* sp. wykazywał zbliżony do *Peptoniphilus* sp. i *Porphyromonas* sp. profil lekowrażliwości, niemniej jednak był oporny na klindamycynę i średnio-wrażliwy na ciprofloksacynę. Odmienne profile lekooporności prezentowały względne beztlenowce z rodzaju *Citrobacter* sp. Profile lekowrażliwości izolatów wykonane w warunkach atmosfery beztlenowej oraz tlenowej były spójne pod względem otrzymanych wyników. Szczepy cechowała oporność na klindamycynę i metronidazol oraz wrażliwość na tetracyklinę, kanamycynę i ciprofloksacynę. Różnice dotyczyły beta-laktamów. Podczas gdy wszystkie były wrażliwe na ampicylinę, taki fenotyp dla amoksycyliny reprezentował jedynie izolat Anb15, pozostałe były średnio-wrażliwe. Po nałożeniu krążka AMC3 zawierającego amoksycylinę (2 µg) w połączeniu z inhibitorem beta-laktamaz (kwasem klawulanowym w dawce 1 µg), izolaty średnio-wrażliwe na sam antybiotyk, ale w wyższym stężeniu 25 µg (AX25), były odporne na ocenianą kombinację antybiotyku i inhibitora (3 µg w proporcji 2/1). Z kolei, izolat Anb15 wrażliwy na sam antybiotyk, w tym przypadku prezentował fenotyp średnio-wrażliwy. Powyższe wyniki wskazywały, że efekt wrażliwości może wystąpić przy zastosowaniu wyższego stężenia antybiotyku w połączeniu z inhibitorem enzymów, i taki fenotyp zaobserwowano dla trzech izolatów *Citrobacter* sp., po nałożeniu krążka AMC30 zawierającego amoksycylinę i kwas klawulanowy, w 10-krotnie wyższej dawce (łączne stężenie antybiotyku i inhibitora 30 µg w proporcji 20/10).

Tabela 1. Wrażliwość na antybiotyki i chemioterapeutyki w testach dyfuzyjno-krążkowych wybranych szczepów wyizolowanych z ropnia okolicy zębów 26 leczonego endodontycznie.

Nazwa rodzajowa ^a	Nazwa izolatu	DA10 ^b	CP5	MT50	TE30	K30	AM10/AM30	AX25	AMC3	AMC30
<i>Porphyromonas</i> sp.	Anb1	S ^c	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Peptoniphilus</i> sp.	Anb2	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Peptoniphilus</i> sp.	Anb6	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Prevotella</i> sp.	Anb7	R	I	S	S	S	S	S	S	S
<i>Citrobacter</i> sp.	Anb13	R	S	R	S	S	S	I	R	S
<i>Citrobacter</i> sp.	Anb14	R	S	R	S	S	S	I	R	S
<i>Citrobacter</i> sp.	Anb15	R	S	R	S	S	S	S	I	S

^a Rodzaj określony na podstawie analizy bioinformatycznej sekwencji 16S rDNA. ^b symbol i dawka leku na krążku w µg; ^c S, R, I – odpowiada fenotypom wrażliwy, oporny, średnio-wrażliwy na leki, na podstawie wielkości strefy zahamowania wzrostu w mm, w odniesieniu do normy EUCAST i/lub CLSI [Antibiotic Disc Interpretative Criteria and Quality Control Rev.19/30.09.2024.]; DA-klindamycyna, CP-ciprofloksacyna, MT-metronidazol, TE-tetracyklina, K-kanamycyna, AM-ampicylina, AX-amoksycyliną, AMC-amoksycyliną/kwas klawulanowy, AMC3-amoksycyliną/kwas klawulanowy 3 µg (2/1), AMC30-amoksycyliną/kwas klawulanowy 30 µg (20/10).

Badanie lekowrażliwości z zastosowaniem testów gradientowo-dyfuzyjnych (w zakresie stężeń 0,016-256 µg/ml) wykazały, że izolaty będące ścisłymi beztlenowcami tj.: Gram-dodatnie ziarenkowce i Gram-ujemne pałeczki były wrażliwe na ampicylinę i amoksycylinę, na podstawie wartości minimalnych stężeń hamujących MIC dla tych leków wyno-

szących $\leq 0,016 \mu\text{g/ml}$. Izolaty względnych beztlenowców z rodzaju *Citrobacter* sp. prezentowały różne fenotypy lekooporności jak i lekowrażliwości. Izolat Anb15 był wrażliwy na amoksycylinę a wartość MIC dla tego antybiotyku wynosiła $\leq 6 \mu\text{g/ml}$ i pozostawała na tym samym poziomie po zastosowaniu E-testu amoksycylina (0,016-256 $\mu\text{g/ml}$) z kwasem klawulanowym (2 $\mu\text{g/ml}$). Z kolei, Anb13 był oporny na amoksycylinę, a wartość MIC dla tego antybiotyku wynosiła $\geq 256 \mu\text{g/ml}$. Test gradientowy suplementowany inhibitorem bakteryjnych beta-laktamaz – kwasem klawulanowym wywoływał pozytywny efekt hamujący obniżając dawkę leku 16-krotnie (wartość MIC dla antybiotyku z inhibitorem wynosiła $\leq 16 \mu\text{g/ml}$). Najbardziej skuteczny efekt wspomagający inhibitora zaobserwowano w przypadku Anb14. Był on oporny na amoksycylinę - wartość MIC wynosiła $\geq 256 \mu\text{g/ml}$, natomiast po zastosowaniu leku z inhibitorem, MIC dla tego antybiotyku nie przekraczał stężenia $\leq 8 \mu\text{g/ml}$. W testach gradientowo-dyfuzyjnych względne beztlenowce z rodzaju *Citrobacter* sp. były wrażliwe na ampicylinę osiągając wartość MIC dla tego antybiotyku w zakresie stężeń 3-4 $\mu\text{g/ml}$. Po nałożeniu E-testu zawierającego antybiotyk (0,016-256 $\mu\text{g/ml}$) i inhibitor beta-laktamaz - sulbaktam w dawce 4 $\mu\text{g/ml}$, obserwowano przynajmniej 4-krotne obniżenie wartości MIC dla leku (0,75 $\mu\text{g/ml}$), wskazujące skuteczne działanie inhibitora w stosunku do wydzielanych przez izolaty *Citrobacter* sp. enzymów rozkładających antybiotyki beta-laktamowe.

Wnioski: Mikrobiotę hodowaną w warunkach atmosfery beztlenowej, pozyskaną ze zmiany okółowierzchołkowej zęba 26 stanowiły mikroorganizmy będące w większości ścisłymi beztlenowcami. Dominowały wśród nich: Gram-dodatnie i Gram-ujemne ziarenkowce (*Peptoniphilus* sp., *Megasphaera* sp.) oraz Gram-ujemne pałeczki (*Porphyromonas* sp. *Prevotella* sp.). W tych warunkach możliwe było także namnażanie izolatów będących względnymi beztlenowcami, tolerującymi atmosferę tlenową (rząd: Enterobacterales, rodzaj: *Citrobacter* sp.). Wykazano, że szczepy różniły się wrażliwością na leki przeciwdrobnoustrojowe (antybiotyki i chemioterapeutyki). Fenotyp charakteryzujący się szerokim zakresem lekowrażliwości prezentowały ścisłe beztlenowce zarówno ziarenkowce, jak i pałeczki. Z kolei, wszystkie względnie beztlenowe Gram-ujemne pałeczki z rodzaju *Citrobacter* sp. były odporne na klindamycynę oraz metronidazol, a różniły się wrażliwością na beta-laktamy: amoksycylinę oraz amoksycylinę z dodatkiem inhibitora bakteryjnych beta-laktamaz (kwasem klawulanowym), który wywoływał pozytywny efekt hamujący, obniżając skutecznie wartości MIC dla leku.

Literatura:

1. Jr.J.F. Siqueira, I.N. Rôças, J Oral Microbiol. 1 (2009) 1.
2. M. Kilian, I. Chapple, M. Hannig, et al., Br Dent J. 221 (2016) 657.
3. G. Hajishengallis, Trends Immunol. 35 (2014) 3.
4. A.C. Anderson, C. von Ohle, C. Frese, et al., Ann Clin Microbiol Antimicrob. 22 (2023) 37.
5. J.R. Marchesi, T. Sato, A.T. Weightman, et al., Appl Environ Microbiol. 64 (1998) 795.

OPTIMALIZACJA WARUNKÓW HODOWLI GRZYBNI *PENICILLIUM* SP. JAKO BIOKATALIZATORA DO PROCESU SYNTEZY BIODIESŁA

J. ZAWADA, M. KUTYŁA, M. TRYTEK, UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Abstrakt: Optymalizacja warunków hodowli mikroorganizmów ma kluczowe znaczenie dla zwiększenia efektywności produkcji enzymów w zastosowaniach przemysłowych. W ramach badań analizowano wpływ parametrów hodowli na wzrost biomasy *Penicillium* sp. P59 oraz jej aktywność lipolityczną w celu opracowania skutecznego biokatalizatora do syntezy biodiesla. Oceniono wpływ różnych źródeł węgla i rodzaju induktora lipaz na ogólną efektywność bioprodukcji. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że sproszkowana grzybnia *Penicillium* sp. P59 jest obiecującym biokatalizatorem syntezy biodiesla, a dla uzyskania dużej ilości biomasy o wysokiej aktywności biokatalitycznej konieczna jest optymalizacja i kontrola takich zmiennych jak: stężenie źródła węgla (skrobia), pH, temperatura i czas hodowli grzybni.

Wprowadzenie: Biokatalizatory, takie jak lipazy, odgrywają kluczową rolę w procesie syntezy biodiesla, umożliwiając łagodniejsze warunki reakcji i redukcję niepożądanych produktów ubocznych. Grzyby z rodzaju *Penicillium* sp. są znanymi producentami lipaz o wysokiej aktywności, co czyni je obiecującymi mikroorganizmami w biotechnologii przemysłowej [1]. Optymalizacja warunków hodowli grzybni *Penicillium* sp. jest kluczowa dla zwiększenia wydajności produkcji lipaz, które w rozpuszczalnikach bezwodnych, wykazują wysoką aktywność katalityczną w reakcjach estryfikacji i transestryfikacji [2]. Czynniki takie jak skład pożywki, pH, temperatura oraz obecność induktorów wpływają na poziom syntezy enzymów. Lipazy z *Penicillium roquefortii* mogą osiągnąć ponad 75% wydajność w reakcjach transestryfikacji, co podkreśla potencjał enzymów z tego rodzaju grzybów w syntezie biodiesla [3]. Ponadto, zastosowanie lipaz w biotechnologii obejmuje nie tylko produkcję biodiesla, ale także syntezę biopolimerów i enancjomerycznych farmaceutyków, co świadczy o ich wszechstronności i znaczeniu w różnych gałęziach przemysłu [4]. Celem niniejszej pracy jest zbadanie wpływu różnych składników podłoża i warunków hodowlanych grzybni *Penicillium* sp. na aktywność i efektywność wytworzonej biomasy jako biokatalizatora procesu syntezy biodiesla. Optymalizacja tych warunków może przyczynić się do zwiększenia wydajności i opłacalności produkcji biodiesla, stanowiąc istotny krok w kierunku zrównoważonej energetyki.

Część eksperymentalna: Badania optymalizacyjne warunków hodowli grzybni *Penicillium* sp. P59 do procesu syntezy biodiesla obejmowały trzy etapy. W etapie I wyselekcjonowano źródła węgla pod kątem promowania wzrostu biomasy i jej aktywności biokatalitycznej. W doświadczeniu sprawdzano 13 węglowodanów (4 monosacharydy, 3 disacharydy i 6 polisacharydów), dezintegraty mikroalg (*Microcystis aeruginosa* i *Parachlorella kessleri*) i glicerol (Tabela 2). Hodowle prowadzono

w kolbach Erlenmeyera (300 mL) z 100 mL podłoża BM o składzie: 0,1% ekstraktu drożdżowego, 0,5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1% K_2HPO_4 , 0,02% $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 1% oliwy z oliwek oraz 0,5% CaCO_3 i pH równym 6,0. Próby badane zawierały 1% dodatek badanego węglowodanu. Podłoże BM bez dodatkowego źródła węgla stanowiło próbę kontrolną. Wszystkie podłoża zaszczerpiono 4 mL inokulum *Penicillium* sp. P59 wykonanego z zawiesiny konidiów wyrosłych na płytkach agarowo-brzeczkowych. Hodowle wgłębne prowadzono początkowo przez 5 dni w temperaturze 20°C, przy 150 RPM. Etap II miał na celu dobór Tween-u indukującego aktywność lipolityczną. Badanymi induktorami były Tween'y: 20, 40, 60, 65, 80 i 85. Doświadczenie przeprowadzono analogicznie jak w etapie I, z tą różnicą, że podłoże BM uzupełniano skrobią (1%) jako wyselekcjonowanym źródłem węgla, zaś badaną zmienną był rodzaj użytego Tween-u w stężeniu 1%. Wyniki II etapu przedstawiono w Tabeli 3. W etapie III analizowano wpływ stężenia źródła węgla i azotu, induktorów lipaz (oliwy i Tween-u 65) oraz warunków hodowli (pH, temperatura i czas) na ilość biomasy i wydajność reakcji syntezy biodiesla. W tej części badania założono trzy poziomy wartości dla każdej zmiennej niezależnej (Tabela 1) i zbadano 60 wybranych układów o zróżnicowanych warunkach hodowli i składzie podłoża hodowlanego, według modelu Box-Benhen Design. Po upływie określonego czasu hodowli, biomasę grzybni odsączano na materiale filtracyjnym, a następnie zamrażano i liofilizowano. Suchą biomasę z każdej próby ważono i ucierano w moździerzu do postaci jednorodnego proszku. Następnie przeprowadzono reakcje syntezy biodiesla z użyciem otrzymanej grzybni. Do 4-mL fiolek dodano 2,05 mL octanu etylu – rozpuszczalnik, 155 µl oleju rzepakowego i 35 µl etanolu – substraty reakcji oraz 108 mg biokatalizatora. Reakcję transestryfikacji prowadzono w temperaturze 24°C w czasie 24 h. Następnie pobrano 100 µL mieszaniny reakcyjnej i rozcieńczono dziesięciokrotnie octanem etylu zawierającym tetradekan jako wzorzec wewnętrzny w stężeniu 1 g/L. Próbkę analizowano za pomocą GC-FID oraz GC-MS zgodnie z wcześniej opisaną metodyką [5]. Wydajność procentową reakcji biodiesla określono stopniem konwersji substratu w estry etylowe kwasów tłuszczowych (FAEE), względem początkowej ilości oleju rzepakowego wykorzystując obecność wzorca wewnętrznego. Kolejno wyliczono współczynnik efektywności – E, jako iloczyn wydajności reakcji biodiesla i biomasy wyhodowanej grzybni. Wyniki przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 1. Poziomy wartości zmiennych niezależnych badanych w procesie wytwarzania biokatalizatora stosowanego w syntezie biodiesla.

Zmienne niezależne	Jednostki	Poziom		
Oliwa z oliwek	% (m/v)	-1	0	+1
Tween 65	% (m/v)	0,5	1	1,5
Skrobia	%	0	0,5	1
Ekstrakt drożdżowy	%	0,1	0,5	0,9
Temp. hodowli	°C	10	17	24
Czas hodowli	doby	3	5	7
pH	-	4	6	8

Badania w etapie III przeprowadzono zgodnie metodyką etapu I oraz II, jednak z racji na dużą większą liczebność prób zmniejszono objętość hodowli do 50 mL w kolbach Erlenmeyera 100 mL. Próbkę przeanalizowano pod kątem ilości wytworzonej biomasy, procentowej wydajności reakcji biodiesla i wsp. efektywności E. W celu analizy istotności zmiennych wykreślono wykresy typu box plot (Rys. 1).

Wyniki: Badania nad wpływem rodzaju źródła węgla oraz Tweenu na proces syntezy biodiesla z wykorzystaniem grzybni *Penicillium* sp. P59 w roli biokatalizatora, wykazały istotne różnice w efektywności poszczególnych substancji. Jak przedstawiono w Tabeli 2, najwyższą produkcję biomasy osiągnięto przy zastosowaniu chitozanu (2,273 g) oraz frakcji polisacharydowej z *P. osteratus* (2,358 g). Z kolei najwyższy współczynnik efektywności E uzyskano dla chitozanu (88,1), skrobi (66,9) i ksylozy (50,1), co wskazuje na korzystny wpływ niektórych polisacharydów i hemiceluloz na wydajność procesu. Natomiast sacharoza, fruktoza, alginian oraz glukan wyizolowany z boczniaka powodowały znaczny spadek ogólnej efektywności bioproduktu.

Tabela 2. Wpływ rodzaju źródła węgla na ilość uzyskanej biomasy, wydajność reakcji transestryfikacji biodiesla oraz ogólną efektywność bioproduktu (wsp. E).

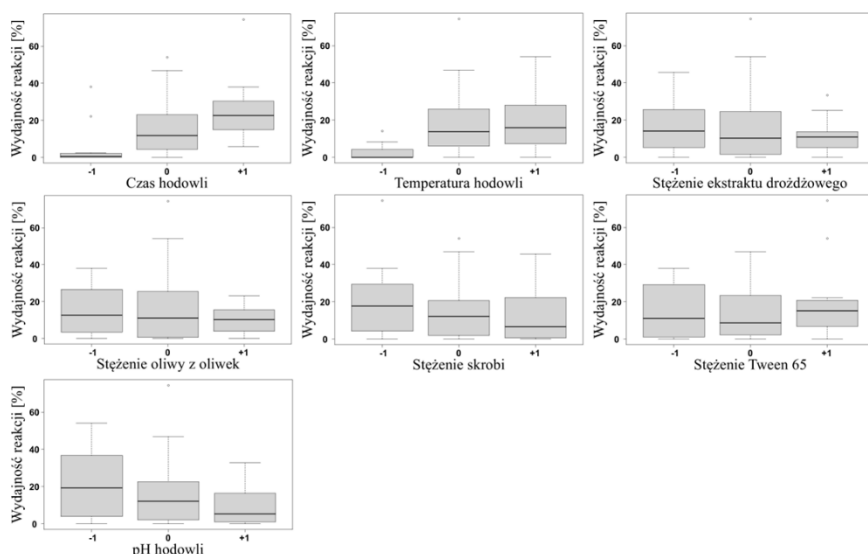
L.p.	Źródło węgla	Biomasa [g]	Wydajność reakcji [%]	Wsp. E
1.	Kontrola	0,994	47	46,4
2.	Sacharoza	1,119	24	26,6
3.	Laktoza	1,324	33	43,5
4.	Maltoza	1,263	26	33,3
5.	Glukoza	1,375	29	40,6
6.	Fruktoza	1,696	16	27,8
7.	Galaktoza	1,070	30	31,8
8.	Ksyloza	1,113	45	50,1
9.	Glicerol	1,551	21	35,2
10.	Skrobia	1,629	41	66,9
11.	Inulina	1,530	21	32,5
12.	Alginian	0,690	39	27,0
13.	Chitozan	2,273	39	88,1
14.	Glukan z <i>L. sulphureus</i>	2,056	21	43,2
15.	Polisacharyd z <i>P. osteratus</i>	2,358	11	25,8
16.	Dezintegrat <i>M. aeruginosa</i>	1,418	29	41,2
17.	Dezintegrat <i>P. kessleri</i>	1,373	32	42,8

Najwyższą wydajność transestryfikacji i produkcji biomasy (> 1,1 g) uzyskano dla Tweenów 65 (14,6%) i 40 (9,2%), co przełożyło się na najwyższą wartość wsp. E (16,52) (Tab. 3). Pozostałe Tween'y wykazywały znacznie niższą skuteczność. Tween 20 nie wykazał żadnej aktywności w procesie, co skutkowało zerową wartością współczynnika efektywności.

Tabela 3. Wpływ rodzaju Tween-u na ilość uzyskanej biomasy, wydajność reakcji biodiesla oraz współczynnik efektywności (Wsp. E).

L.p.	Rodzaj Tween-u	Biomasa [g]	Wydajność [%]	Wsp. E
1.	Tween 20	0,242	0	0
2.	Tween 40	1,108	9,2	10,15
3.	Tween 60	0,429	1,2	00,52
4.	Tween 65	1,128	14,6	16,52
5.	Tween 80	0,260	0,1	00,04
6.	Tween 85	0,606	0,6	00,34

Analiza wyników III etapu doświadczenia (Rys. 1.) wykazała, że zmiennymi niezależnymi, które mają największy wpływ na wydajność reakcji w procesie wytwarzania biodiesla są: pH, czas, temperatura hodowli i stężenie skrobi.



Rys. 1. Wpływ zmiennych niezależnych warunków hodowli grzybni *Penicillium* sp. na wydajność reakcji syntezy biodiesla – analiza box plot.

Najwyższą średnią wydajność reakcji odnotowano dla grzybni wyhodowanej przy pH 4 i w zakresie temp. 17-24°C. Wzrost wartości pH i obniżenie temp. hodowli do 10°C negatywnie wpływa na syntezę biodiesla. Dłuższy czas hodowli przy niskich stężeniach skrobi zwiększa średnią wydajność reakcji, jednak obserwowano wyższe wartości wydajności reakcji w górnym kwartale przy wyższych stężeniach skrobi w podłożu. Pozostałe parametry, tzn. stężenie ekstraktu drożdżowego, Tween-u 65 i oliwy z oliwek miały mniejsze znaczenie pod względem poprawy wydajności procesu syntezy biodiesla.

Wnioski: Badania wykazały istotny wpływ rodzaju źródła węgla na wzrost biomasy *Penicillium* sp. oraz wydajność reakcji syntezy biodiesla. Najwyższą efektywność procesu uzyskano przy zastosowaniu chitozanu i skrobi. Spośród badanych polisorbitatów, Tween 65 wykazał największy wpływ na aktywność biokatalityczną grzybni i wydajność reakcji.

Kluczowymi zmiennymi wpływającymi na efektywność syntezy biodiesla są pH, temp., stężenie skrobi i czas hodowli. Otrzymane wyniki będą pomocne przy dalszej optymalizacji i zwiększaniu skali tego bioprocesu.

Literatura:

1. M. Adamczak, Eur. J. Lipid Sci. Technol., 111 (2009), 808.
2. P. Bardhan, Annals of Microbiology, 69 (2019), 1135.
3. M. Pilarek, Biotechnologia 2 (2002), 146.
4. R. Bancerz, Postępy Biochemii, 4 (2017), 335.
5. M. Kutyla et al., Biochem. Eng. J. 204 (2024), 1.

MIKROEKSTRAKCJA B-LAKTAMÓW I TETRACYKLIN DO POJEDYNCZEJ KROPLI CIECZY GŁĘBOKO EUTEKTYCZNEJ Z PRÓBEK MLEKA

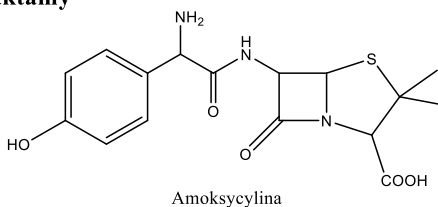
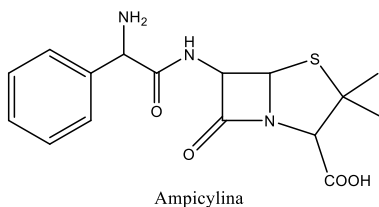
N. CHOCHOWSKA, I. KISZKIEL-TAUDUL, B. LEŚNIEWSKA, Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, Zakład Analiz Farmaceutycznych i Żywności, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

Abstrakt: Ze względu na powszechne stosowanie antybiotyków w leczeniu weterynaryjnym, konieczne jest monitorowanie ich zawartości w produktach spożywczych pochodzenia zwierzęcego, między innymi w mleku. W tym celu niezbędne jest opracowywanie metod analitycznych, które zapewnią czułe i precyzyjne oznaczenie substancji przeciwbakteryjnych na poziomie normowanych stężeń, określonych w Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 470/2009. Podczas przygotowywania próbek do analizy bardzo ważne jest efektywne wydzielenie analitów ze złożonej matrycy próbek żywności, dlatego coraz częściej wykorzystuje się nowoczesne ekstrahenty oraz zminiaturyzowane metody ekstrakcji. Uzyskane ekstrakty zawierające badane związki są analizowane metodą chromatografii cieczowej z odpowiednim rodzajem detekcji, m.in. z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS).

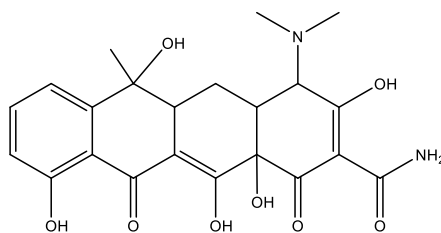
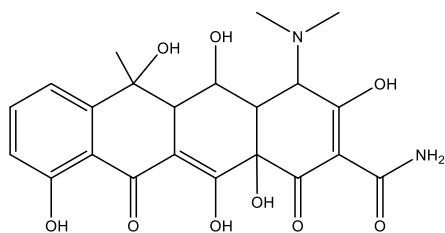
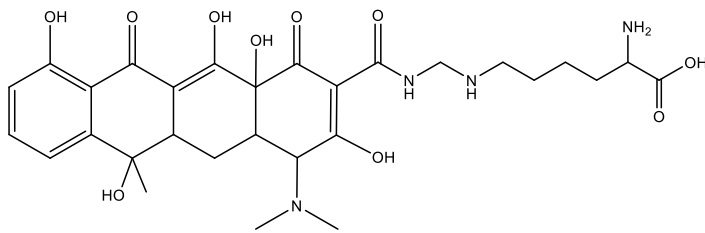
Wprowadzenie: Przygotowanie próbek mleka do analizy chromatograficznej, oprócz procesu odbiałczania, wymaga zastosowania metod ekstrakcyjnych, umożliwiających selektywne wydzielanie analitów ze złożonej matrycy. Najczęściej wykorzystywaną techniką izolacji badanych związków jest ekstrakcja ciecz-ciecz (LLE, ang. *liquid-liquid extraction*). Współczesne podejście analityków jest skoncentrowane na optymalizacji tego procesu, ze szczególnym uwzględnieniem redukcji objętości toksycznych rozpuszczalników organicznych, zgodnie z zasadami Zielonej Chemii Analitycznej. Ze względu na niskie stężenia analitów w próbkach korzystne jest stosowanie metod wydzielenia umożliwiających wzbogacanie badanych substancji. W tym celu wykorzystywane są nowoczesne ekstrahenty np. ciecze głęboko eutektyczne (DES, ang. *deep eutectic solvents*) oraz techniki mikroekstrakcyjne, m.in. mikroekstrakcja do pojedynczej kropli rozpuszczalnika (SDME, ang. *single drop microextraction*), które umożliwiają miniaturyzację opracowywanych procedur [1-2]. Nowe metody analityczne powinny charakteryzować się wysoką selektywnością, w celu zwiększenia możliwości wykrywania śladowych ilości analitów w produktach spożywczych. Takie rozwiązania są stosowane w oznaczaniu pozostałości substancji przeciwbakteryjnych w żywności, zwłaszcza β -laktamów i tetracyklin, które odgrywają kluczową rolę w leczeniu zarówno ludzi, jak i zwierząt. Do pierwszej grupy związków należą m.in. amoksycylina (AMS) i ampicylina (AMP), które charakteryzują się działaniem bakteriobójczym, natomiast tetracyklina (TC), oksytetracyklina (OTC) i lincetyklina (LIM) są antybiotykami tetracyklinowymi, które wykazują właściwości bakteriostatyczne [3-4]. Wzory strukturalne tych związków zamieszczono na Rys. 1. Zbyt wysoka zawartość omawianych substancji przeciwbakteryjnych w żywności może wywoływać reakcje alergiczne, zaburzać równowagę mikroflory jelitowej, a także przyczyniać się do narastania antybiotykooporności bakterii chorobotwórczych. Ponadto, te związki mogą wykazywać działanie mutagenne oraz kancerogenne. Dlatego ich zawartość w produktach

spożywczych podlega ścisłej kontroli, a maksymalne dopuszczalne poziomy pozostałości (MRL, ang. *maximum residue limit*) określa Rozporządzenie nr 470/2009. Wartości MRL amoksycyliny i ampicyliny w mleku wynoszą 4 µg/kg, a oksytetracykliny i tetracykliny 100 µg/kg.

β-laktamy



Tetracykliny



Rys. 1. Wzory strukturalne antybiotyków β-laktamowych i tetracyklinowych.

W celu monitorowania zawartości antybiotyków w produktach nabiałowych stosuje się zaawansowane metody analityczne, które powinny cechować się wysoką czułością i selektywnością, umożliwiającą wykrywanie tych substancji na poziomie wartości normowanych [5-7]. Pomimo rosnącego zainteresowania metodami mikroekstrakcyjnymi oraz rozwojem ekologicznych ekstrahentów, z przeglądu literaturowego wynika, że dotychczas nie wykorzystano metody SDME w połączeniu z DES do wydzielania wymienionych antybiotyków. Warto podkreślić, iż ciecze głęboko eutektyczne stanowią efektywne medium ekstrakcyjne, wykazujące szereg korzystnych właściwości, takich jak wysoka zdolność do rozpuszczania związków organicznych, możliwość regulowania polarności oraz dostosowania ich składu do specyfiki analitu. Ekstrahenty te charakteryzują się także biodegradowalnością, co czyni je ekologiczną alternatywą dla klasycznych rozpuszczalników. Ciecze

eutektyczne tworzą związki o charakterze donora oraz akceptora wiązania wodorowego, których wspólne oddziaływanie prowadzi do obniżenia temperatury topnienia w porównaniu do ich pojedynczych składników. W zależności od właściwości fizykochemicznych DES dzieli się na hydrofilowe i hydrofobowe. Przykładem pierwszej grupy jest mieszanina chlorku choliny z kwasem octowym, natomiast ciecz składająca się np. z tymolu i kumaryny wykazuje charakter niepolarny. Celem pracy eksperymentalnej było opracowanie procedury jednoczesnego wydzielania wybranych antybiotyków β -laktamowych i tetracyklinowych z próbek mleka z wykorzystaniem mikroekstrakcji do pojedynczej kropli cieczy głęboko eutektycznej i oznaczanie badanych związków w uzyskanych ekstraktach z zastosowaniem techniki LC-MS/MS.

Część eksperymentalna: W przeprowadzonych badaniach próbki mleka krowiego z dodatkiem badanych analitów z grupy β -laktamów (AMS, AMP) oraz tetracyklin (LIM, OTC, TC) poddawano procesowi odbiałczania z użyciem roztworu kwasu trichlorooctowego. Po zastosowaniu etapu wytrząsania i wirowania, próbki przesączało i poddawano mikroekstrakcji do pojedynczej kropli cieczy głęboko eutektycznej. Proces ten realizowano za pomocą mikrostrzykawki, której igłę zanurzano pod powierzchnią próbki, a następnie wytwarzano kroplę ekstrahenta. Po określonym czasie i przy zastosowaniu dobrej szybkości mieszania, kroplę ponownie wprowadzano do mikrostrzykawki i poddawano analizie chromatograficznej LC-MS/MS. W przeprowadzonych badaniach jako ekstrahent wykorzystano DES o charakterze niepolarnym, składającą się z tymolu i kumaryny, co umożliwiło skuteczną izolację badanych analitów przy zachowaniu wysokiej selektywności procesu ekstrakcji. Ekstrahent otrzymano poprzez połączenie odpowiednich składników o określonym stosunku masowym, a następnie ich jednoczesne mieszanie w podwyższonej temperaturze aż do uzyskania jednorodnej, klarownej cieczy. Analizę otrzymanych ekstraktów przeprowadzono metodą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas w trybie monitorowania wielokrotnych reakcji (MRM, ang. *multiple reaction monitoring*) z wykorzystaniem jonizacji przez elektrozroczpylanie (ESI, ang. *electrospray ionisation*). Rozdzielanie analitów prowadzono na kolumnie z wypełnieniem C-8 w trybie elucji gradientowej. Jako fazy ruchome zastosowano metanol i 0,1% roztwór kwasu mrówkowego. W trakcie pomiarów rejestrowano charakterystyczne produkty reakcji fragmentacji jonów macierzystych badanych analitów, monitorując ich stosunek masy do ładunku (m/z). Następnie odczytywano pola powierzchni pod pikami dla każdego analitu przy określonym czasie retencji i na tej podstawie sporządzano krzywe kalibracyjne, które posłużyły do oznaczenia poszczególnych substancji w próbce mleka.

Wyniki: Opracowana nowa metoda jednoczesnej izolacji amoksycyliny, ampicyliny, limecykliny, oksytetracykliny i tetracykliny z próbek mleka przy użyciu cieczy głęboko eutektycznej jako ekologicznego ekstrahenta umożliwiła selektywne wydzielenie analitów. W przeprowadzonych badaniach dokonano optymalizacji parametrów mikroekstrakcji SDME, takich jak stosunek masowy składników DES, objętość ekstrahenta, pH próbki, czas oraz szybkość mieszania. Sporządzono odpowiednie krzywe kalibracyjne oraz oszacowano parametry analityczne z uzyskaniem zadowalających wartości granic wykrywalności i oznaczalności analitów. Zastosowanie techniki zminiaturyzowanej pozwoliło na przeprowadzenie procesu wydzielania z udziałem ekstrahenta o objętości 4,5 μL , co przyczyniło się do wzbogacania analitów, a odpowiednio dobrane parametry chromatograficzne umożliwiły czułe oznaczenie antybiotyków. Otrzymane wyniki potwierdzają

przydatność opracowanej procedury DES-SDME-LC-MS/MS do oznaczania antybiotyków na niskich poziomach stężeń (rzędu $\mu\text{g/kg}$) zgodnych z obowiązującymi normami. Zastosowanie mikroekstrakcji SDME w połączeniu z chromatografią cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas stanowi także skuteczne rozwiązanie umożliwiające analizę pozostałości antybiotyków z zadowalającą precyzją.

Wnioski: Zastosowanie mikroekstrakcji SDME z wykorzystaniem cieczy głęboko eutektycznej jako nowoczesnego ekstrahenta pozwoliło na jednoczesne wydzielanie i wzbogacanie antybiotyków β -laktamowych: amoksycyliny, ampicyliny i tetracyklinowych: oksytetracykliny, tetracykliny i limecykliny z mleka. Znacząca redukcja objętości ekstrahenta, a także użycie ekologicznego rozpuszczalnika doskonale wpisuje się w zasady Zielonej Chemii Analitycznej. Opracowana metoda mikroekstrakcji wybranych substancji przeciwbakteryjnych w połączeniu z techniką LC-MS/MS umożliwia czułe i selektywne oznaczanie badanych analitów na poziomie wartości MRL w produktach nabiałowych. Jest to szczególnie istotne, ponieważ dopuszczalne zawartości antybiotyków w mleku są znacznie niższe w porównaniu do produktów mięsnych, które np. w podrobach zostały określone na poziomie $50 \mu\text{g/kg}$ dla ampicyliny i amoksycyliny oraz $600 \mu\text{g/kg}$ dla oksytetracykliny i tetracykliny. Opracowana metoda DES-SDME-LC-MS/MS, dzięki niskim wartościom granic wykrywalności i oznaczalności analitów, może być stosowana do analizy i monitorowania próbek mleka, co ma kluczowe znaczenie dla kontroli jakości i bezpieczeństwa produktów żywnościowych.

Literatura:

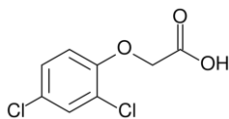
1. N. Samanidou, M. Nisyriou, J. Sep. Sci., 31 (2008) 2068.
2. H. Mohebi, M. Samadi, H. Tavakoli, P. Parastouei, J. Sep. Sci., 43 (2020) 1861.
3. C. Vercelli, M. Amadori, G. Gambino, G. Re, Int. Dairy J., 144 (2023) 105695.
4. M. Getahun, R. B. Abebe, A. K. Sendekie, A. E. Woldeyohanis, A. E. Kasahun, Int. J. Anal. Chem., 2023 (2023) 4380261.
5. P. Lagacé-Wiens, E. Rubinstein, *Expert Opin. Drug Saf.*, 11 (2012) 381.
6. A. J. Warner, J. D. Hathaway-Schrader, R. Lubker, C. Davies, C. M. Novince, *Bone*, 144 (2022) 115695.
7. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 470/2009, Dz.U. L 152/11 z 16.6.2009.

BADANIA AKTYWNOŚCI PRZECIWDROBNOUSTOJOWEJ KOMPLEKSÓW WAPNIA Z WYBRANYMI HERBICYDAMI

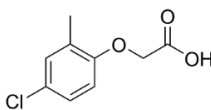
E. BUJNOWSKA, G. ŚWIDERSKI, M. MATEJCZYK, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, SKN Helisa, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok

Abstrakt: W pracy porównano strukturę elektronową kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D), kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego (MCPA) oraz kwasu 4-chlorofenoksyoctowego (4-CPA) oraz ich kompleksów z wapniem. Wykonano syntezy kompleksów i zarejestrowano widma w podczerwieni w matrycy KBr oraz techniką ATR. Wykonano badania przeciwdrobnoustrojowe otrzymanych związków oraz obliczenia teoretyczne struktury i reaktywności otrzymanych związków.

Wprowadzenie: Herbicydy to chemiczne środki stosowane do zwalczania chwastów, czyli roślin konkurujących z uprawami o składniki odżywcze, wodę i światło. Ich głównym celem jest poprawa wydajności produkcji rolniczej, ogrodniczej i leśnej oraz ułatwienie zarządzania różnymi terenami, w tym parkami, torowiskami i obszarami przemysłowymi. Termin „herbicydy” wywodzi się z łacińskich słów „herba” (roślina) i „caedere” (zabijać), co odzwierciedla ich podstawową funkcję – eliminację niepożądaną roślinności. Wśród najważniejszych przedstawicieli grupy chlorofenoksykwasów znajdują się kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) oraz kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA) [1,2,3]. 2,4-D (Rys.1) to jeden z najbardziej znanych herbicydów w tej grupie, wprowadzony do użytku w latach 40. XX wieku. Dzięki wysokiej skuteczności i stosunkowo niskim kosztom produkcji, stał się jednym z najczęściej stosowanych środków ochrony roślin. Wspomniana substancja może być aplikowana w bardzo niskich dawkach w porównaniu do wcześniej stosowanych herbicydów nieorganicznych [4]. MCPA (Rys. 2), będący pochodną 2,4-D, różni się od niego obecnością grupy metylowej. Dzięki tej różnicy ma nieco inne spektrum działania, co sprawia, że jest bardziej efektywny w zwalczaniu niektórych gatunków chwastów. Związek ten jest szeroko stosowany w uprawach zbóż, a jego potencjalne oddziaływanie na mikroorganizmy wzbudza duże zainteresowanie naukowców [5,6].



Rys. 1. Budowa chemiczna 2,4-D.

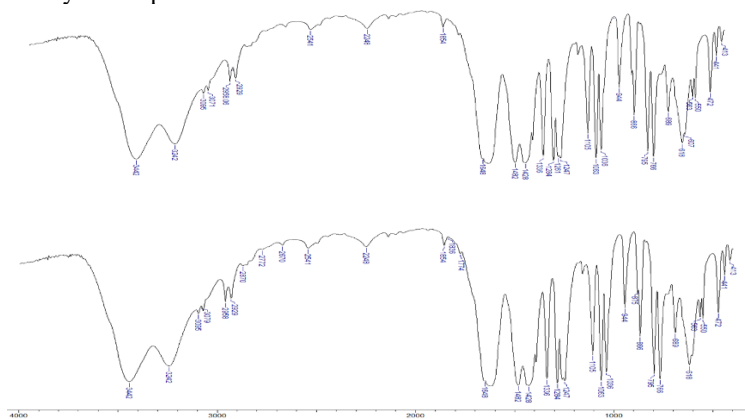


Rys. 2. Budowa chemiczna MCPA.

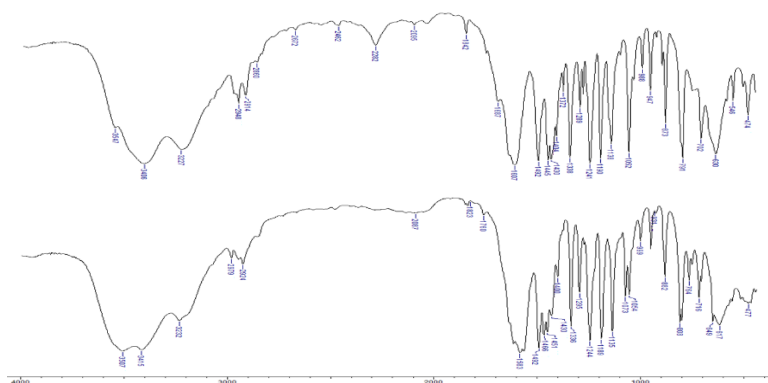
Część eksperymentalna: W środowisku glebowym herbicydy należące do pochodnych kwasów chlorofenoksyoctowych mogą ulegać kompleksowaniu z występującymi metalami np. z wapniem. W pracy wykonano syntezę kompleksów 2,4-D, MCPA i 4-CPA z wapniem, badania spektroskopowe metodą FTIR, obliczenia teoretyczne oraz badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Syntezę kompleksów prowadzono w środowisku

wodnym. Przygotowano sole sodowe herbicydów, które następnie poddano reakcji z wodnym roztworem chlorku wapnia, po czym pozostawiano na tydzień do odparowania rozpuszczalnika i strącenia kompleksów. Powstałe osady odsączało, przemywało wodą destylowaną i suszyło w 40°C. Struktura kompleksów została zbadana spektroskopią FTIR. Substancje w DMSO badano pod kątem aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej wobec *E. coli*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Candida* i *Kocuria*. Określono MIC na podłożu MHA, stosując rozcieńczenia 5 - 0,005 mg/L. Płytki z MHA i testowanymi związkami inkubowano w 37°C. Wartość MIC została określona jako najniższe stężenie substancji chemicznych, które całkowicie zahamowało wzrost bakterii i *C. albicans* po 24h i 48h inkubacji. Zoptymalizowano strukturę badanych kwasów i ich kompleksów z wapniem w programie Gaussian stosując metodę funkcjonału gęstości DFT (B3LYP/6-311++G(d,p)). Obliczono częstotliwości drgań dla zoptymalizowanych cząsteczek.

Wyniki: Widma FTIR przedstawiono na: Rys. 3 - Rys. 4. W Tab. 1. przedstawiono liczby falowe i intensywność pasm.



Rys. 3. Widmo w podczerwieni IR KBr 2,4-D (widmo umieszczone na górze strony) oraz kompleksu 2,4 - D z wapniem (widmo umieszczone na dole strony) zarejestrowane w zakresie 400-3600 cm⁻¹.



Rys. 4. Widmo w podczerwieni IR KBr MCPA (widmo umieszczone na górze strony) oraz kompleksu MCPA z wapniem (widmo umieszczone na dole strony) zarejestrowane w zakresie 400-3600 cm⁻¹.

Tabela 2. Liczby falowe i intensywność pasm widm eksperymentalnych IRKBr oraz IRATR 2,4-D, MCPA, 4-CPA i ich kompleksów z wapniem.

2,4-D		Kompleks z wapniem		Przypisanie
KBr	ATR	KBr	ATR	
-	1652 S	-	-	$\nu_{\text{C=O}}$
-	-	-	1574 VS	ν_{asCOO^-}
1429 VS	-	1429 VS	-	ν_{sCOO^-}
MCPA		Kompleks z wapniem		Przypisanie
KBr	ATR	KBr	ATR	
-	1602 VS	-	1602 VS	ν_{asCOO^-}
1492 M	1492 M	1492 M	1492 M	$\nu_{\text{C=O}}$
1445 VS	1445 VS	-	1445 VS	$\nu_{\text{s(COO}^-)}$

Intensywność pików: M – średnie, S – mocne, VS – bardzo mocne; rodzaje drgań: ν – rozciągające, ν_{as} – rozciągające asymetryczne, ν_{s} – rozciągające symetryczne, $\alpha(\text{CCC})$ – zginające pierścienia aromatycznego w płaszczyźnie.

Uzyskane wyniki potwierdzają poprawność syntez badanych kompleksów oraz skuteczną koordynację jonów wapnia z ligandami. Zarejestrowane widma wykazały charakterystyczne zmiany w pasmach odpowiadających drganiom grup funkcyjnych, co wskazuje na powstanie przewidywanych kompleksów. W widmach kwasów chlorofenoksyoctowych (2,4-D, MCPA) zaobserwowano intensywne pasma odpowiadające drganiom rozciągającym grupy karbonylowej (C=O). Po związaniu z wapniem charakterystyczne pasma grupy karbonylowej zanikały, a w ich miejscu pojawiły się nowe pasma: rozciągające asymetryczne ($\nu_{\text{as COO}^-}$). Przeprowadzono badania przeciwdrobnoustrojowe i uzyskane wyniki pomiarów wartości MIC badanych związków przedstawiono w Tab. 2.

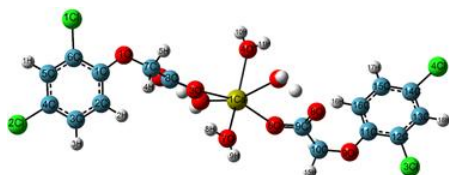
Tabela 3 Wartości MIC (mg/ml) badanych związków chemicznych dla użytych w teście mikroorganizmów po 24h i 48h.

Związki chemiczne (mg/ml)	<i>Escherichia coli</i> ATCC-25922 (Gram -)	<i>Bacillus cereus</i> ATCC-11778 (Gram+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC-27853 (Gram-)	<i>Candida albicans</i> ATCC-10231 (Gram+)	<i>Kocuria rhizophila</i> ATCC 9341 (Gram+)
2,4-D	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h	0,5, 24h/0,5, 48h
2,4-D + CaCl_2	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h	0,5, 24h/0,5, 48h
MCPA	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h	>5, 24h/>5, 48h	5, 24h/5, 48h	0,5, 24h/0,5, 48h
MCPA + CaCl_2	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h	>5, 24h/>5, 48h	5, 24h/5, 48h	5, 24h/5, 48h
Kwas nalidyk-sowy (NA) – kontrola pozytywna	0,005, 24h/0,005, 48h	0,005, 24h/0,005, 48h	0,5, 24h/0,5, 48h	0,5, 24h/0,5, 48h	0,05, 24h/0,05, 48h

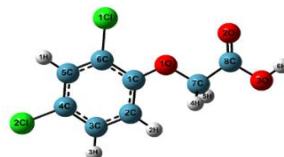
Wyniki pokazują, że bakterie Gram-ujemne (*E. coli*, *P. aeruginosa*) były bardziej odporne niż Gram-dodatnie (*B. cereus*, *K. rhizophila*). Największą wrażliwość wykazała *K. rhizophila* (MIC 0,5 mg/ml). Wskazuje to na wysoką wrażliwość tej bakterii Gram-dodatniej na działanie badanych związków. Drożdże *Candida albicans* wykazywały umiarkowaną

wrażliwość na badane związki chemiczne (MIC 5 mg/ml). Wyniki te sugerują, że mechanizmy ochronne w komórkach *C. albicans*, takie jak wieloopornościowe pompy błonowe, mogą zmniejszać skuteczność działania badanych substancji.

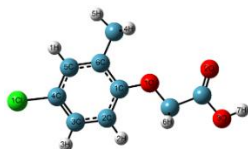
Obliczenia teoretyczne: Struktury badanych związków obliczone metodą B3LYP/6-311++G (d,p) przedstawiono na Rys. 5 – Rys. 8.



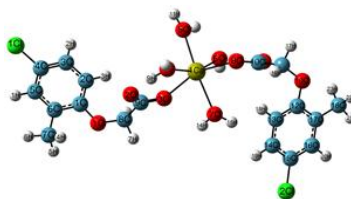
Rys. 5. Struktura 4-CPA



Rys. 6. Struktura kompleksu 4-CPA z wapniem



Rys. 7. Struktura MCPA



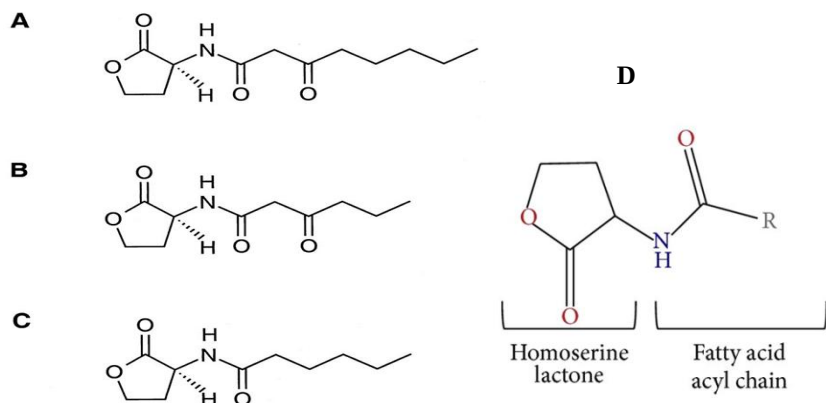
Rys. 8. Struktura kompleksu MCPA z wapniem

Wnioski: Na podstawie analizy widm w podczerwieni stwierdzono, że synteza kompleksów kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego i kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego z wapniem zaszła prawidłowo, a kompleksy herbicydów z badanym metalem tworzą się poprzez przyłączenie metalu do grup karboksylowych ligandów. Badania wykazały, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa badanych związków chemicznych, takich jak 2,4-D i MCPA zależy od rodzaju mikroorganizmów oraz ich struktury chemicznej. Bakterie Gram-dodatnie, szczególnie *Kocuria rhizophila*, były najbardziej wrażliwe na działanie tych substancji, podczas gdy bakterie Gram-ujemne i drożdże wykazywały większą odporność. Obecność jonów wapnia zwiększała oporność Gram-dodatnich bakterii.

Literatura:

1. C.A. Kwiatkowski, E. Harasim, O. Klikocka-Wisniewska, P. Maziarz, *Agronomy Science*, 77 (2002) 79.
2. E. Bujnowska, E. Ramatowska, G. Świderski, *Badania możliwości kompleksowania metalami wybranych herbicydów z grupy kwasów chlorofenoksyoctowych*. Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie, Lublin 2023.
3. P. Gehring, P. J., and J. E. Betso, *Ecological Bulletins* (1978), 122.
4. D.G. David, M.A. Philbert, *Critical reviews in toxicology*, 32 (2002) 233.
5. P. Morton, C. Fennell, R. Cassidy, D. Doody, O. Fenton, P.E. Mellander, P. Jordan, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, 7 (2020) e1402.
6. G.G. Bond, R. Rossbacher, *Occupational and Environmental Medicine*, 50 (1993) 340.

wysokie, aby związać się z LuxR i je ustabilizować. Kompleks OHHL/LuxR dimeryzuje, wiąże się z DNA i wspomaga transkrypcję operonu *lux* i indukcję transkrypcji strukturalnego genu lucyferazy czego efektem jest emisja światła przez komórki bakteryjne [1, 3]. AHL składają się z pierścienia laktonowego i alifatycznego łańcucha acylowego o różnej długości i modyfikacjach. Różnice w strukturze chemicznej AHL umożliwiają receptorowi typu LuxR rozróżnianie sygnałów: różnice w natywnej strukturze AHL obejmują długość łańcuchów kwasów tłuszczowych (od 4 do 20 atomów węgla), stopnia utlenienia, liczby wiązań nienasyconych (Rys. 2). Najczęściej występują cząsteczki AHL zawierające od 6 do 8 atomów węgla, AHL posiadające dłuższe łańcuchy kwasów tłuszczowych (od 14 do 18 atomów węgla) również wiązania podwójne (1 lub 2). Te autoinduktory są istotne w komunikacji wielu bakterii Gram-ujemnych, w tym *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Burkholderia* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter asburiae* i *E. cloacae* [1 - 3]. W przypadku wielu patogenów bakterii Gram-ujemnych, QS oparty na LuxI/LuxR reguluje fenotypy warunkujące ich wirulencję.



Rys. 2. A-C Przykłady cząsteczek AHL QS u bakterii Gram-ujemnych [4] D Struktura laktonu N-acylohomoseryny (AHL), gdzie R oznacza różne acylowe łańcuchy boczne [5].

Inną grupą cząsteczek sygnałnych są borowanowe tetrafurany nazywane autoinduktorami typu 2 (AI-2) jest ona szeroko rozpowszechniona w świecie bakterii, produkują ją zarówno bakterie Gram-ujemne jak i Gram-dodatnie, co ułatwia komunikację międzygatunkową. Wszystkie AI-2 pochodzą od wspólnego prekursora, 4,5-dihydroksy-2,3-pentanodionu (DPD). AI-2, często w połączeniu z autoinduktorami AHL lub oligopeptydami, kontrolują różnorodne cechy bakterii, począwszy od bioluminescencji u *Vibrio harveyi*, przez wzrost *Bacillus anthracis*, po zjadliwość *Vibrio cholerae* i wielu innych klinicznie istotnych patogenów. Ponadto wykazano funkcjonowanie QS u takich patogenów, jak *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter* spp. [6]. Systemy QS opisane dla *E. coli* obejmują homolog LuxR (regulator SdiA - supresor inhibitora podziału komórkowego), system LuxS (syntetaza)/autoinduktor-2 (AI-2) i system autoinduktor-3 (AI-3). Ponadto rozważany jest udział indolu jako cząsteczki sygnałnej w procesie komunikacji między komórkami. *E. coli* nie wytwarza AHL, ale jest w stanie wykryć te cząsteczki poprzez regulator SdiA, uczestnicząc w międzygatunkowej komunikacji sygnalizacyjnej [7].

Agrobacterium tumefaciens to Gram-ujemna bakteria infekująca rośliny powodując powstawanie guzowatych narośli. *A. tumefaciens* wykorzystuje system QS do kontroli przenoszenia do roślin plazmidu Ti (ang. *tumor inducing*) wywołującego nowotwór, w którym uczestniczą białka regulatorowe Tral i TraR (homologi LuxI i LuxR). Szczepy *A. tumefaciens* NT1 i NTL4 są powszechnie stosowane jako biosensory średnio- i długołańcuchowych cząsteczek AHL. *A. tumefaciens* noszący rekombinowany plazmid pZLR4, który zawiera fuzję traG::lacZ i traR i jest niezdolny do wytwarzania własnych AHL. W obecności AHL o długich łańcuchach acylowych następuje aktywacja białka TraR, włączenie transkrypcji fuzji traG::lacZ, a aktywność LacZ (β -galaktozydazy) może zostać wykorzystana jako reporter transkrypcji traG. Enzym β -galaktozydaza odpowiedzialny jest za hydrolizę laktozy, rozpoznaje i hydrolizuje analog tego cukru 5-bromo-4-chloro-3-indonylo β -D-galaktopiranozyd (X-Gal), w wyniku enzymatycznej hydrolizy X-Gal powstaje niebieski produkt chloro-3-indolilo- β -D-galaktopiranozydu (X-gal) [8]. Bakteryjne zakażenia dróg moczowych psów i kotów należą do najczęstszych schorzeń spotykanych w praktyce weterynaryjnej i są związane z koniecznością stosowania antybiotyków. Najczęstszymi bakteriami wywołującymi infekcje spośród Gram-ujemnych pałeczek są *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp. i *Pseudomonas aeruginosa*, a ponadto ziarniaki *Staphylococcus* spp. i *Enterococcus* spp. Jednym z głównych mechanizmów wykorzystywanych przez bakterie, pozwalających im przetrwać w nieprzyjnym środowisku, jest tworzenie biofilmu, który stanowi istotny czynnik zjadliwości większości uropatogenów, odgrywając ważną rolę w utrzymywaniu się i nawrotach infekcji. Kluczową rolę w tworzeniu biofilmu odgrywa system QS poprzez kontrolowanie produkcji zewnątrzkomórkowej macierzy polimerowej, regulację genów zjadliwości bakterii, zwiększenie wydzielania egzoenzymów, sideroforów, antybiotyków [9].

Część eksperymentalna: W badaniu użyto 36 szczepów bakterii Gram-ujemnych izolowanych z zakażeń układu moczowego od psów i kotów (*E. coli*, *Proteus* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp.), jako szczepy referencyjne wykorzystano *E. coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 14153, *Enterobacter cloacae* NCTC 13406, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Klebsiella oxytoca* oraz szczep biosensorowy *Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (pZLR4). *A. tumefaciens* NTL4 (pZLR4) hodowano w temperaturze 28°C w pożywce TSA (Tryptic Soy Agar, Biomaxima) zawierającej 50 μ g/ml gentamycyny, pozostałe szczepy na podłożu TSA w 37 °C. Wytwarzanie AHL przez badane izolaty badano stosując metodę dyfuzji studzienkowej w agarze. Na płytki z podłożem TSA (Tryptic Soy Agar) zawierające 5-bromo-4-chloro-3-indonylo β -D-galaktopiranozyd (X-Gal, 80 μ g/ml) naniesiono 3 ml 0,7% podłoża agarowego inokulowanego 300 μ l hodowli *A. tumefaciens* NTL4 o gęstości 0,5 w skali McFarlanda (10^8 jtk/ml). Po zastygnięciu podłoża wycięto studzienki średnicy 6 mm przy użyciu jałowego korkoboru. 48 h hodowle badanych szczepów na podłożu płynnym TSB (Tryptic Soy Broth, Biomaxima) wirowano przez 15 min przy obrotach 15tyś. Do studzienek nakraplano po 50 μ l uzyskanych supernatantów. Płytki inkubowano 72 godz. w 28 °C, obserwowano powstawanie niebieskiej strefy zabarwienia wokół dołków („halo”), co uznano za wynik pozytywny.

Wyniki: Wyniki testu biologicznego *A. tumefaciens* NTL4 (pZLR4) wykazały, że część badanych szczepów była zdolna do wytwarzania cząsteczek podobnych do AHL z długimi łańcuchami acylowymi. Jako wynik pozytywny uznano obecność niebieskiego halo wokół studzienki powstałego w wyniku hydrolizy substratu X-Gal. Spośród 36 analizowanych

izolatów 12 (30 %) oraz 4 szczepy referencyjne (*E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* i *K. pneumoniae*) syntetyzowało cząsteczki podobne do AHL z długimi łańcuchami acylowymi. Zarówno szczep referencyjny *Proteus mirabilis*, jak i wyizolowane z zakażeń dróg moczowych szczepy *Proteus* sp. nie produkowały cząsteczek autoinduktorów rozpoznawanych przez *A. tumefaciens* NTL4. Pozytywny wynik uzyskano dla 58 % izolatów *E. coli* (7/12 szczepów), 66 % *Klebsiella* sp. (2/3) i 30 % *Enterobacter* sp. (3/10).

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują, że niektóre szczepy bakterii Gram-ujemnych izolowane z zakażeń dróg moczowych u psów i kotów, miały zdolność wytwarzania cząsteczek sygnalizacyjnych identyfikowanych jako AHL z długimi łańcuchami acylowymi. Jednak w celu określenia struktury tych cząsteczek niezbędne są dalsze badania z zastosowaniem technik chromatograficznych.

Literatura:

1. M.J. Styles, S.A. Early, T. Tucholski, K.H.J. West, Y. Ge, H.E. Blackwell, ACS Infect Dis. 11;6 (2020) 3092.
2. B. Rémy, S. Mion, L. Plener, M. Elias, Chabrière E., D. Daudé, Front. Pharmacol. 9 (2018) 203.
3. P. Lipa, M. Kozieł, M. Janczarek, Postepy Biochem. 63 (2017) 242.
4. M. Frederix, A.J. Downie, Adv Microb Physiol. 58 (2011) 23.
5. K.G. Chan, H.J. Cheng, J.W. Chen, W.F. Yin, Y.F. Ngeow, Scientific World Journal 89 (2014) 891041.
6. B.L. Bassler, R. Losick, Bacterially Speaking. Cell (2006) 125: 237-246.
7. C. Mayer, A. Borges, S.C. Flament-Simon, M. Simões, FEMS Microbiol Rev. 5 (2023) 5;47(4):fuad031.
8. C. Miller, J. Gilmore, Antibiotics 9 (2020) 259.
9. A.S.A. Lila, A.A.H. Rajab, M.H. Abdallah, S.M.D. Rizvi, A. Moin, E.S. Khafagy, S. Tabrez, W.A.H. Hegazy, Life (Basel) 4 (2023) 148.

BAKTERYJNE SZLAKI BIOSYNTETYZU IZOPRENOIDÓW

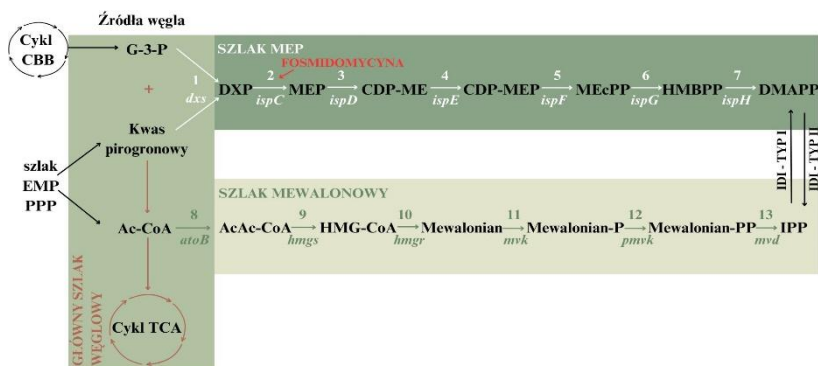
K. STYK¹, B. KOWALCZYK¹, J. TARASIUK¹, K. PASTUSZAK², M. JURAK²,
M. PALUSIŃSKA-SZYSZ¹ ¹UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk
Biologicznych, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin,
²UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Zjawisk Międzyfazo-
wych, pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Izoprenoidy i ich pochodne stanowią największą i najbardziej zróżnicowaną grupę związków organicznych w przyrodzie. Biosynteza izoprenoidów jest kluczowa dla podstawowych funkcji komórkowych bakterii. Izoprenoidami niezbędnymi do przeżycia mikroorganizmów są ubichinony i menachinony biorące udział w transporcie elektronów oraz baktoprenole, które pełnią funkcję nośników polisacharydów podczas biosyntezy peptydoglikanu. Izoprenoidy mogą być syntetyzowane na drodze jednego z dwóch niezależnych szlaków: klasycznego szlaku mewalonowego (MVA) lub alternatywnego szlaku 2C-metylo-D-erytrytolo-4-fosforanu (MEP). Enzymy zaangażowane w szlak MEP mogą stanowić cel działania leków przeciwdrobnoustrojowych.

Wprowadzenie: Izoprenoidy są jedną z największych grup związków organicznych występujących w trzech domenach życia (*Bacteria*, *Archaea*, *Eukarya*), obejmującą około 50 000 cząsteczek o unikalnej strukturze. Wszystkie związki należące do izoprenoidów, nazywane również terpenoidami, zbudowane są z 5-węglowych (C5) izoprenowych podjednostek, których struktura opiera się na pirofosforanie izopentyli (IPP) i jego izomerze, pirofosforanie dimetyloallilu (DMAPP). Procesy metaboliczne, takie jak cyklizacja, zwiększają różnorodność tej grupy związków. Izoprenoidy są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania komórek żywych, ponieważ wspierają ich podstawowe funkcje, takie jak oddychanie tlenowe (ubichinony) i zachowanie stabilności błony (cholesterol). Izoprenoidy stanowią również największą grupę metabolitów wtórnych, m.in. wysoce zróżnicowane klasy terpenoidów zaangażowanych w mechanizmy obronne roślin [1]. Przebieg syntezy izoprenoidów składa się z następujących etapów: główny szlak węglowy, szlak mewalonowy (MVA) i szlak 2C-metylo-D-erytrytolo-4-fosforanu (MEP) oraz dalszy szlak izoprenoidowy. Główny szlak węglowy dostarcza prekursorów (acetylo-CoA; aldehyd 3-fosfoglicerynowy – G-3-P; pirogronian) i kofaktorów (zredukowana forma dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego – NADPH; adenosyno-5'-trifosforan – ATP) pochodzących ze źródeł węgla (np. glukozy) do dalszego przebiegu szlaku MVA i MEP [1]. Szlak biosyntezy MVA opisano po raz pierwszy u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* [2]. Szlak mewalonowy występuje u ssaków, grzybów, roślin wyższych i niektórych archeonów oraz pasożytniczych pierwotniaków z rodzajów *Trypanosoma* i *Leishmania* [3]. Ponadto szlak MVA wykryto także u niektórych Gram-dodatnich bakterii, takich jak *Enterococcus faecalis* [4], *Streptococcus pneumoniae* [5], *Lactobacillus casei* [6] i *Staphylococcus aureus* [7].

Szlak mewalonowy rozpoczyna się od dwóch następujących po sobie reakcji kondensacji trzech cząsteczek acetylo-CoA katalizowanych kolejno przez tiolazę acetoacetylo-CoA, a następnie syntazę 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA (HMG-CoA), prowadzących do utworzenia HMG-CoA. Następnie 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA ulega redukcji do

mewalonianu (MVA) przez reduktazę HMG-CoA. Po dwóch kolejnych etapach fosforylacji, katalizowanych przez kinazę mewalonianu (MK) i kinazę fosfomewalonianu (PMK), MVA jest przekształcany do pirofosforanu mewalonianu, który następnie ulega dekarboksylacji za pośrednictwem dekarboksylazy difosfomewalonianu (PMD). Produktem tej reakcji jest pula związku IPP, której część ulega odwracalnej konwersji do DMAPP katalizowanej przez izomerazę IPP (IDI). Reakcja ta jest pierwszym etapem kontrolującym biosyntezę wszystkich terpenoidów [8, 9] (Rys. 1.).



Rys. 1. Szlaki biosyntezy izoprenoidów: szlak mewalonowy (MVA) i szlak 2C-metylo-D-erytrytolo-4-fosforanu (MEP). **1** - syntaza 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanu, **2** - reduktioizomeraza DXP, **3** - syntaza CDP-ME, **4** - kinaza CDP-ME, **5** - syntaza MEcPP, **6** - syntaza HMBPP, **7** - reduktaza HMBPP, **8** - acetylotransferaza acetylo-CoA + Ac-CoA, **9** - syntaza HMG-CoA, **10** - reduktaza MHG-CoA, **11** - kinaza mewalonianowa, **12** - kinaza fosfomewalonianowa, **13** - dekarboksylazy difosfomewalonianu, **G-3-P** - aldehyd 3-fosfoglicerynowy, **DXP** - 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforan, **CDP-ME** - 4-difosfocytydyl-2-C-metylo-D-erytrytol, **CDP-MEP** - 4-difosfocytydyl-2C-metylo-D-erytrytolo 2-fosforan, **MecPP** - 2,4-cyklopirofosforan-2C-metylo-D-erytrytolu, **HMBPP** - 1-hydroksy-2-metylo-2-(E)-but-2-enilo-4-fosforan, **IPP** - pirofosforan izopentyli, **DMAPP** - pirofosforan dimetyloallilu, **AcAc-CoA** - acetoacetylo-CoA, **HMG-CoA** - (S)-3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA, **Mewalonian** - fosforan mewalonianu, **Mewalonian-PP** - pirofosforan mewalonianu, **cykl CBB** - cykl Calvina, **szlak EMP** - glikoliza, **szlak PPP** - szlak pentozofosforanowy, **cykl TCA** - cykl kwasu cytrynowego.

Za utrzymanie stałej podaży DMAPP odpowiadają dwa rodzaje izomerazy IPP (typ-I: IDI-I i typ-II: IDI-II). Izomeraza IDI-I jest zależna od dwuwartościowych kationów (Mn^{2+} lub Mg^{2+}), natomiast IDI-II wymaga obecności jonu metalu, mononukleotydu flawinowego (FMN) oraz NADPH w warunkach tlenowych [3]. Rodzina izomeraz IDI-I występuje w bardzo różnych organizmach od bakterii do komórek ssaków, natomiast IDI-II występuje głównie u Gram-dodatnich bakterii (*Firmicutes* spp., *Actinobacteria* spp.), kilku przedstawicieli domeny *Archaea* oraz grupy *Proteobacteria* i *Cyanobacteria*, szczególnie u gatunków termofilnych i hipertermofilnych [10]. Drugi niemewalonowy szlak syntezy izoprenoidów MEP nazywany również szlakiem 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanu (DXP) występuje głównie u bakterii, a także w chloroplastach roślin, glonach, sinicach i pierwotniakach z grupy Apicomplexa [3]. Szlak MEP opiera się na ośmiu reakcjach enzymatycznych, które rozpoczynają się od kondensacji pirogronianu i aldehydu 3-fosfoglicerynowego w celu wytworzenia 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanu (DXP). Reakcja kondensacji katalizowana jest przez syntazę DXP przy wykorzystaniu pirofosforanu tiaminy jako kofaktora. Następnie DXP ulega przekształceniu w MEP poprzez działanie reduktioizomerazy DXP zależnej od NADPH oraz dwuwartościowego jonu metalu (Mn^{2+} lub Mg^{2+}). Wiązanie NADPH zmienia konformację miejsca aktywnego

w cząsteczce reduktioizomerazy DXP, co promuje wiązanie zarówno substratu, jak i inhibitorów o podobnej strukturze. Ze względu na podobieństwo strukturalne fosmidomycyny do DXP, związek ten działa jako inhibitor reduktioizomerazy DXP [11]. Antybiotyk fosmidomycyna wyizolowany ze *Streptomyces lavendulae* pierwotnie wykorzystywany był w leczeniu zakażeń dróg moczowych oraz w badaniach klinicznych do zwalczania infekcji wywołanych przez *Plasmodium falciparum* [12]. W kolejnym etapie szlaku niemewalonianowego MEP służy jako substrat dla cytydylylotransferazy 2C-metylo-D-erytrytolo-4-fosforanu i jest przekształcany w 4-difoscytydylo-2C-metylo-D-erytrytol (CDP-ME). Następnie CDP-ME ulega fosforylacji do 4-difoscytydylo-2C-metylo-D-erytrytolo-2-fosforanu (CDP-MEP) przez kinazę 4-difoscytydylo-2C-metylo-D-erytrytolu. Cyklizacja CDP-MEP do 2C-metylo-D-erytrytolo-2,4-cyklodifosforanu (MEcPP) katalizowana jest przez syntazę 2C-metylo-D-erytrytolo-2,4-cyklodifosforanu. W ostatnich dwóch etapach szlaku MEP, MEcPP jest przekształcany w 4-hydroksy-3-metylo-butenylo-1-difosforan (HMBPP) za pośrednictwem syntazy 1-hydroksy-2-metylo-2-(E)-butenylo-4-difosforanu. Ostatecznie HMBPP ulega przekształceniu przez enzym reduktazę 4-hydroksy-3-metylo-2-(E)-butenylo-4-difosforanu do IPP i DMAPP [13] (Rys. 1.). Pomimo syntezy takich samych produktów końcowych, szlaki MVA i MEP różnią się wykorzystaniem energii i kofaktorów. W szlaku mewalonowym, na każdą wyprodukowaną cząsteczkę IPP/DMAPP, zużywane jest 1,5 cząsteczki glukozy i wytwarzane są 4 cząsteczki NAD(P)H. Natomiast w szlaku MEP na każdą powstałą cząsteczkę IPP/DMAPP, zużywana jest 1 cząsteczka glukozy, 3 cząsteczki ATP i 2 cząsteczki NAD(P)H. Pomimo wyższej efektywności energetycznej syntezy prekursorów IPP/DMAPP, szlak MEP charakteryzuje się większym zapotrzebowaniem na kofaktory w porównaniu do szlaku MVA [1, 14]. Trzeci etap biosyntezy izoprenoidów dotyczy wykorzystania IPP i DMAPP do produkcji wspólnych difosforanowych związków pośrednich, takich jak pirofosforan geranylu (GPP), farnesylu (FPP), geranylgernarylu (GGPP) i gernarylfarnesylu (GFPP). Powstawanie tych związków jest katalizowane przez specyficzne enzymy, w tym syntazę terpenową i cytochrom P450. Bakterie zwykle nie posiadają genów kodujących enzymy niezbędne do specyficznej syntezy izoprenoidów. Produkcja izoprenoidów ze źródeł węgla wymaga skoordynowanego przepływu metabolitów między centralnym szlakiem węglowym, szlakiem MVA/MEP a dalszym szlakiem syntezy izoprenoidów [1]. Izoprenoidy pełnią kluczową rolę w funkcjonowaniu komórek bakteryjnych. W komórkach eubakterii istnieją co najmniej trzy niezbędne do przeżycia tych drobnoustrojów grupy związków izoprenoidowych (ubichinony, menachinony, dolichole). Ubichinony i menachinony są nośnikami elektronów i głównymi elementami odpowiednio tlenowego i beztlenowego łańcucha oddechowego [15]. Dolichole to związane z błoną komórkową długołańcuchowe izoprenole, które są niezbędne do syntezy peptydoglikanu ściany komórkowej [16]. Inhibitory biosyntezy izoprenoidów u bakterii indukują powstawanie sferoplastów i prowadzą do śmierci komórek [17]. Wykazano, że jeden z pośrednich związków powstających w szlaku MEP – HMBPP, aktywuje subpopulację limfocytów T V γ 9/V δ 2. Ekspansję tego podzbioru komórek T obserwuje się w wyniku infekcji szeroką gamą patogenów bakteryjnych [18]. Szlak MEP występuje u większości bakterii, w tym u patogenów z rodzajów *Listeria*, *Salmonella*, *Mycobacterium*, *Brucella* i *Francisella*. Istnieją doniesienia wskazujące na znaczenie szlaku MEP w procesie wewnątrzkomórkowego przeżycia patogenów bakteryjnych w komórce gospodarza [19]. Ponadto izoprenoidy lub ich pochodne umożliwiają adaptację patogenów bakteryj-

nych do środowiska komórki gospodarza poprzez zwiększoną odporność na stres oksydacyjny lub inne mechanizmy upośledzające zdolność do przetrwania w fagosomie [18]. Badania metagenomiczne wykazały, że geny kodujące białka szlaku MEP występują licznie w rodzimej mikroflorze dystalnego mikrobiomu jelitowego. Analizy sekwencji genomu ujawniły, że bakterie powszechnie zasiedlające jelita z rodzajów *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* i *Escherichia coli* posiadają geny szlaku MEP. Porównanie efektywności energetycznej szlaku MEP ze szlakiem mewalonowym wskazało na wyraźną różnicę w stosunku IPP:DMAPP. W szlaku MEP stosunek ten wynosi 5:1, natomiast w szlaku mewalonowym – 3:7, co wykazuje, że szlak niemewalonowy jest bardziej korzystny energetycznie. Bakterie, takie jak *Bifidobacterium* spp., do biosyntezy izoprenoidów wykorzystują szlak MEP, co może wskazywać na ich przystosowanie do zmniejszenia zużycia energii w beztlenowych warunkach panujących w jelitach [20]. Szlak MEP jest niezbędny do prawidłowego wzrostu drobnoustrojów. Żaden z enzymów tego szlaku nie jest obecny w komórkach ssaków, co czyni go dogodnym celem do projektowania leków przeciwdrobnoustrojowych. Bioinżynierska modyfikacja naturalnych szlaków biosyntezy izoprenoidów u bakterii umożliwia ich wykorzystanie do efektywnej produkcji złożonych związków chemicznych o szerokim zastosowaniu w różnych gałęziach przemysłu.

Literatura:

1. M. Li, F. Hou, T. Wu, et al. *Nat Prod Let*, 37 (2000) 80.
2. H. Katsuki, K. Bloch. *J Biol Chem*. 242 (1967) 222.
3. W.N. Hunter. *J Biol Chem*. 282 (2007) 21573.
4. E.I. Wilding, J.R. Brown, A.P. Bryant, et al. *J Bacteriol*. 182 (2000) 4319.
5. M.J. Romanowski, J.B. Bonanno, S.K. Burley. *Proteins*. 47 (2002) 568-571.
6. C. Alcántara, M. Zúñiga. *Microbiology (Reading)*. 158(Pt 5) (2012) 1206.
7. S. Reichert, P. Ebner, E-J. Bonetti., et al. *Front Microbiol*. 9 (2018) 1539.
8. J.L. Goldstein, M.S. Brown. *Nature*. 343 (1990) 425.
9. Y. Li, G. Wang. *J App Microbiol*. 121 (2016) 932.
10. K. Berthelot, Y. Estevez, A. Deffieux, et al. *Biochimie*. 8 (2012) 1621.
11. S. Takada, M.A. Abdullaziz, S. Höfmann, et al. *Molecules*. 1 (2025) 72.
12. G. Mombo-Ngoma, J. Remppis, M. Sievers, et al. *Clin Infect Dis*. 12 (2018) 1823.
13. M. Rohmer. *Lipids*. 43 (2008) 1095.
14. T. Ruohao, W. Qifeng, L. Meijie, et al. *J Agric Food Chem*. 69 (2021) 15468.
15. B. Soballe, R.K. Poole. *Microbiology*. 145(Pt 8) (1999) 1817.
16. R.G. Anderson, H. Hussey, J. Baddiley. *Biochem J*. 127 (1972) 11.
17. Y. Shigi Y. *J Antimicrob Chemother*. 24 (1989) 131.
18. S. Heuston, M. Begley, C.G.M. Gahan., et al. *Microbiology*, 158 (2012) 1389.
19. M. Begley, P.A. Bron, S. Heuston, et al. *Infect Immun*. 76 (2008) 5392.
20. S.R. Gill, M. Pop, R.T. Deboy, et al. *Science*. 312 (2006) 1355.

ZASTOSOWANIE FERMENTACJI NA PODŁOŻACH STAŁYCH (SOLID STATE FERMENTATION) DO POZYSKIWANIA SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH Z BIOMASY

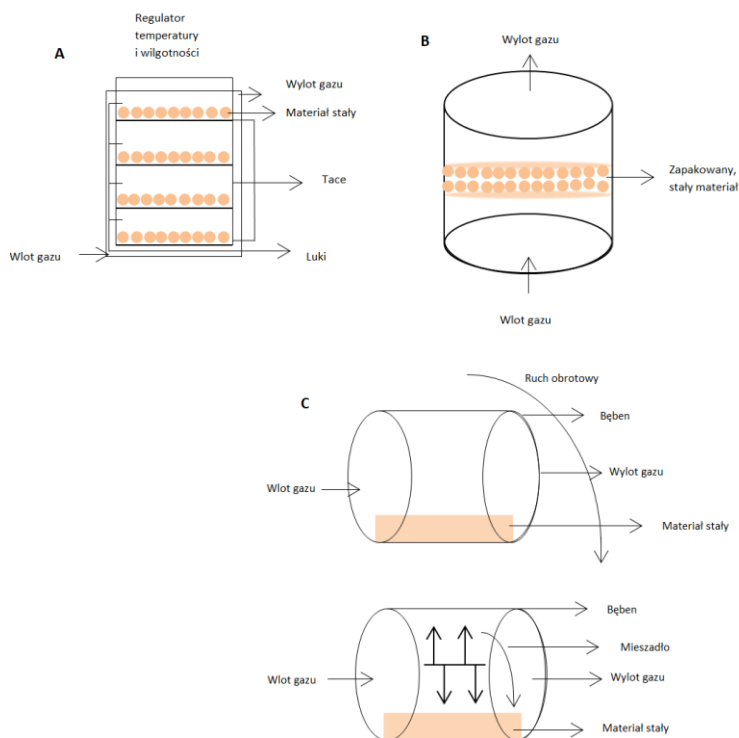
A. KOWALEWSKA¹, M. KALINOWSKA¹, R. CHOIŃSKA², ¹Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok, ²Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego-PIB, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

Abstrakt: Fermentacja na podłożach stałych (ang. Solid State Fermentation, SSF) to proces fermentacji, w którym wzrost mikroorganizmów odbywa się przy minimalnej ilości wody lub całkowitego jej braku. SSF jest wykorzystywana m.in. do produkcji substancji bioaktywnych. Optymalizując proces SSF należy wziąć pod uwagę: rodzaj mikroorganizmu i substratu, wilgotność, pH i temperaturę. Jako substrat do SSF wykorzystuje się często odpady z przemysłu rolno-spożywczego. W efekcie proces SSF dostarcza nie tylko produktu w postaci substancji bioaktywnych, ale również umożliwia utylizację odpadów przemysłowych. W pracy omówiono bioreaktory stosowane w procesie fermentacji na podłożach stałych, parametry procesu i podano przykłady wykorzystania SSF do pozyskiwania substancji bioaktywnych z biomasy.

Wprowadzenie: W procesie SSF wzrost mikroorganizmów odbywa się na stałych i nierozpuszczalnych podłożach zawierających małe ilości wody lub jej brak [1]. W takim przypadku wykorzystywane substraty muszą posiadać odpowiednią wilgotność, aby wspomóc wzrost i metabolizm mikroorganizmów. Na przebieg całego procesu wpływa wiele czynników, m.in.: dobór mikroorganizmów i substratu, pH, napowietrzanie, temperatura, wilgotność, właściwości materiału stałego, a także oczyszczanie produktu [2]. Do przeprowadzania fermentacji na podłożach stałych wykorzystuje się różne rodzaje bioreaktorów, w zależności od skali przeprowadzanego procesu, a także od potrzeby mieszania i napowietrzania. Zazwyczaj wykorzystuje się bioreaktory do badań przesiewowych z kontrolą temperatury [3]. SSF wciąż się rozwija dzięki modelowaniu i projektowaniu bioreaktorów wykorzystywanych w bioprocessach takich jak: bioremediacja, biodegradacja niebezpiecznych związków, biologiczna detoksykacja pozostałości rolno-przemysłowych, biotransformacja upraw i resztek poźniwnych w celu wzbogacenia odżywczego, biopulping [4]. Wykorzystanie odpadów z przemysłu rolno-spożywczego do hodowli mikroorganizmów w procesie SSF jest dodatkową zaletą tej metody, ponieważ rozwiązuje problem utylizacji odpadów obciążających środowisko naturalne [1].

Wyniki: Dobór bioreaktorów do przeprowadzania fermentacji na podłożach stałych zależy od skali przeprowadzanego procesu oraz ewentualnej potrzeby mieszania i napowietrzania [3]. Najprostszym bioreaktorem, jest bioreaktor tacowy (Rys. 1A), w którym stały substrat znajduje się na tacach umieszczonych w specjalnych komorach, gdzie znajduje się przestrzeń do swobodnego przepływu gazu, natomiast temperatura i wilgotność są stale kontrolowane [5]. W przypadkach, kiedy zachodzi potrzeba stosowania mieszania mate-

riału i wymuszonego napowietrzania, wykorzystuje się bioreaktory ze złożem upakowanym (Rys. 1B). Są to reaktory kolumnowe wypełnione w środku materiałem, a wymieniki ciepła odpowiadają za utrzymanie temperatury [6]. W procesach, gdzie wymagane jest ciągłe i powolne mieszanie wykorzystuje się bioreaktory bębnowe (Rys. 1C).



Rys. 1. Bioreaktory wykorzystywane w SSF; (A) - bioreaktor półkowy z mieszaniem okazjonalnym i wymuszonym napowietrzaniem, (B) - bioreaktor ze złożem stałym i powolnym mieszaniem, bez wymuszonego napowietrzania, (C) - bioreaktory bębnowe z mieszaniem (opracowanie własne na podstawie [2]).

Optymalizując proces SSF należy uwzględnić szereg czynników, aby osiągnąć jak najwyższą wydajność procesu pozyskiwania substancji bioaktywnych. Jednym z nich jest dobór mikroorganizmu. Najczęściej stosowanymi mikroorganizmami są: *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactocaseibacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Limosilactibacillus reuteri*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Bacillus subtilis*, *Rhizopus oryzae*. Kolejnymi parametrami decydującymi o wydajności procesu jest temperatura (zwykle w zakresie optymalnym do wzrostu mikroorganizmu, pomiędzy 30 – 42 °C), czas oraz wilgotność. W tabeli 1 zebrano wybrane dane literaturowe opisujące wykorzystanie SSF do zwiększenia wydajności procesu ekstrakcji substancji bioaktywnych z biomasy.

Tabela 1. Parametry procesu SSF stosowane do produkcji wybranych substancji bioaktywnych z różnego rodzaju biomasy.

Typ biomasy	Mikroorganizm	Optymalne warunki procesu	Substancja bioaktywna	Wydajność procesu	Lit.
Ryż brązowy (<i>Oryza sativa</i>)	<i>Lactiplanti-bacillus plantarum</i> , <i>Lactocaseibacillus casei</i> s	T 36 °C, 48 h, 10 ⁷ CFU/ml	GABA, antyoksydanty	Wzrost o 49,0% zawartości GABA oraz wzrost aktywności antyoksydacyjnej (w testach DPPH i ABTS) w porównaniu do niefermentowanych.	[7]
Wytłoki z mianiołu i trzciny cukrowej	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	T 37 °C, 120 h 10 ⁹ CFU/ml	Kwas mlekowy	Wydajność konwersji dostępnego cukru w kwas mlekowy wynosiła ponad 99,0%.	[8]
Mączka z bobiku (<i>Vicia faba</i> L.)	<i>Lactiplanti-bacillus plantarum</i> , <i>Saccharomyces fibuligera</i>	T 37 °C, 72 h 10 ⁸ CFU/ml	Flawonoidy, fenole	Wzrost całkowitej zawartości fenoli i flawonoidów w porównaniu z kontrolą.	[9]
Wytłoki z trzciny cukrowej	<i>Rhizopus oryzae</i>	T 35 °C, 96 h	Kwas mlekowy	Wydajność osiągnęła 77,0%. Wzrost produkcji kwasu mlekowego w zależności od zastosowanego stężenia glukozy.	[10]
Otręby pszenne, ciasto z pestek palmowych, proszek z nasion tamaryndowca, łupiny kawy	<i>Lactobacillus</i> sp. ASR-S1	T 36 °C, 48 h	Tanina acylowa hydrolaza (tanaza)	W warunkach optymalnych 3,5-krotny wzrost aktywności tanazy.	[11]
Słoma ryżowa	<i>Lactocasei-bacillus casei</i>	T 37°C 120 h	Kwas mlekowy	Wydajność procesu wzrosła po doborze optymalnych warunków.	[12]
Mączka sojowa o jakości paszowej, mąka kukurydziana i otręby pszenne (1:1:2)	<i>Limosilacti-bacillus reuteri</i> G8-5 <i>Bacillus subtilis</i> MA139	T 37 °C 48 h	Probiotyki	Osiągnięto wyższą wydajność procesu wytwarzania probiotyków w próbach mieszanych <i>L. reuteri</i> i <i>B. subtilis</i> niż każdego z osobna.	[13]

Fermentacja na podłożach stałych (SSF) jest często porównywana do fermentacji zanu-rzeniowej (SmF) jako różnych biotechnologicznych sposobów przetwarzania biomasy ce-llem produkcji substancji bioaktywnych. Dane literaturowe wielokrotnie potwierdziły przewagę SSF nad SmF ze względu na wydajniejszą hydrolizę biomasy oraz szybszą ki-netykę reakcji. Badania Senkar'a i wspóln. wykazały, że prowadzenie SSF za pomocą szczepu *Penicillium janthinellum* NCIM 1366 skutkowało znacznie wyższym wzrostem poziomu specyficznych enzymów: β -glukozydaz, litycznych monooksygenaz polisacha-rydowych i enzymów hemicelulolitycznych oraz wzrostem wydajności procesu hydrolizy lignocelulaz w porównaniu do SmF [14]. Wyniki badań opublikowane przez Lee i Ra

również wskazują na większą wydajność produkcji enzymów i β -glukanu z jęczmienia łuskanego w przypadku prowadzenia fermentacji na drodze SSF w porównaniu do SmF [15]. Prawdopodobnie prowadzenie fermentacji w warunkach SSF lub SmF inicjuje odmienne mechanizmy regulacyjne wpływające na sposób i tempo metabolizmu drobnoustroju. Porównywano również wydajność tradycyjnych metod ekstrakcji z SSF. Hao i współp. wykazali 5-krotnie wyższy wzrost wydajności ekstrakcji izolikwitygeniny z *Glycyrrhiza uralensis* w obecności *Aspergillus niger* w porównaniu z ekstrakcją ultradźwiękową. Wyczerpujący przegląd danych literaturowych dotyczących ekstrakcji wspomaganej fermentacją oraz klasycznych metod ekstrakcji został przedstawiony w pracy Lemes'a i współp., gdzie dyskutowano szereg przykładów wskazujących przewagę SSF nad klasycznymi metodami ekstrakcji substancji bioaktywnych [16].

Wnioski: Fermentacja na podłożach stałych (SSF) jest skuteczną i zrównoważoną metodą do pozyskiwania substancji bioaktywnych z biomasy. W zależności od zastosowanego drobnoustroju, a także typu biomasy uzyskuje się docelowe substancje bioaktywne, które mogą być wykorzystane w przemyśle spożywczym, rolnym, farmaceutycznym, kosmetycznym i innych. Proces optymalizacji procesu jest kluczowy do zwiększenia wydajności procesu.

Podziękowania: Praca została wykonana w ramach zadań realizowanych w projekcie finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki nr 2021/43/B/NZ9/03102.

Literatura:

1. D.A.Mitchell, L.F.Luz, N. Krieger, *Comprehensive Biotechnology*, 2 (2011) 347.
2. A.Mattedi, E.Sabbi, B. Farda, R. Djebaili, D. Mitra, C. Ercole, P. Cacchio, M. Del Gallo, M.Pellergrini, *Microorganisms*, 11 (2023) 1408.
3. C. Krishna, *Critical Reviews in Biotechnology*, 25 (2005) 1.
4. A.Pandey, C. Soccol, D.A. Mitchell, *Process Biochemistry*, 35 (2000) 1153.
5. D.A.Mitchell, M. Berović, N. Krieger, Springer, 1 (2006) 1.
6. L.P.Vandenerghie, A. Pandey, J.C. Carvalho, A. Woiciechowski, V.Thomaz-Soccol, W. Martinez-Burgos, L. Herrmann, A. Rodrigues, C.R. Soccol, *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 1 (2021) 142.
7. H. Kwon, J. Choi, S. Kim, E. Kim, J. Uhm, B. Kim, H. Hwang, *Fermentation*, 9 (2023) 22.
8. R.P. John, K.M. Nampoothiri, A. Pandey, *Process Biochemistry*, 41 (2006) 759.
9. R. Xu, J. Han, T. Tian, N. Zhu, Y. Chen, E. Wangkahart, Z. Zhang, J. Liu, D. Yu, J. Wei, H. Xu, *International Journal of Food Science and Technology*, 59 (2024) 288.
10. C.Soccol, B.Marin, M. Raimbault, J.M. Lebeault, *Applied Microbiology Biotechnology*, 41 (1994) 286.
11. A.Sabu, C. Augur, C. Swati, A. Pandey, *Process Biochemistry*, 41 (2006) 575.
12. B. Qi, R. Yao, *BioResources*, 2 (2007) 419.
13. Y. Zhang, H. Xiong, X. Guo, *Folia Microbiologica*, 59 (2014) 31.
14. M. Sankar, R.M. Mathew, A. Puthiyamadam, A. Sreeja-Raju, M. Christopher, D.V. Gokhale, R.K. Sukumaran, *Bioresource Technology*, 31 (2023) 128602.
15. S.Y. Lee, C.H. Ra, *Journal of Microbiological Biotechnology*, 32 (2022) 317.
16. A.C. Lemes, A.B. Egea, J.G. de Oliveira Filho, G.V. Gauterio, B.D. Ribeiro, M.A.Z. Coelho, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9 (2022) 80254.

ADIPOCYTOKINY JAKO CZYNNIKI RYZYKA ROZWOJU RAKA PIERSI

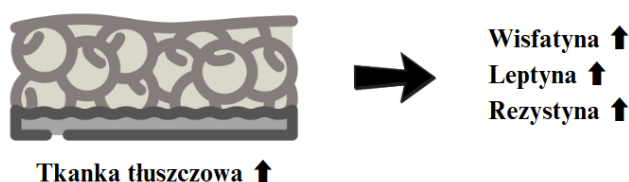
K. SZWED¹, A. NIEWCZAS¹, K. POGORZELEC¹, N. GRUSZKIEWICZ¹,
B. PŁASKA¹, M. KORPYSZ², ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceu-
tyczny, SKN przy Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Katedry Diagnostyki Laborato-
ryjnej, Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin, ²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział
Farmaceutyczny, Zakład Diagnostyki Biochemicznej, Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin

Abstrakt: Praca przedstawia przegląd literatury dotyczący roli wybranych adipocytokin w rozwoju raka piersi. Rak piersi jest jednym z najczęściej występujących nowotworów, który pomimo istotnych postępów w diagnostyce i leczeniu nadal stanowi poważne zagrożenie, dlatego tak aktualne jest poszukiwanie nowych biomarkerów dla tego typu nowotworów. Otyłość, uznawana za ważny czynnik ryzyka raka piersi oraz, wiąże się z nadekspresją adipocytokin. Przegląd literatury wskazuje, że adipocytokiny mają istotny wpływ na różne procesy patofizjologiczne, w tym na mechanizmy kancerogenezy.

Wprowadzenie: Rak piersi jest jednym z najpowszechniej występujących nowotworów i jednocześnie jedną z głównych przyczyn zgonów u kobiet, spowodowanych nowotworem [1,2]. Istnieje wiele dowodów potwierdzających, że otyłość stanowi czynnik ryzyka rozwoju raka piersi, szczególnie u kobiet po menopauzie. Otyłość charakteryzuje się nadmiernym gromadzeniem tkanki tłuszczowej, co prowadzi do zaburzenia funkcji metabolicznej i endokrynologicznej, w tym wydzielania cząsteczek sygnałowych zwanych adipocytokinami. Adipocytokiny to grupa heterogennych peptydów wytwarzana głównie przez adipocyty tkanki tłuszczowej [3,4]. Do najlepiej poznanych białek wydzielanych przez tkankę tłuszczową zalicza się leptynę, wisfatynę, rezystynę i adiponektynę [5]. W przygotowanym przeglądzie opisano udział wisfatyny, leptyny i rezystyny w rozwoju raka piersi.

Wyniki: Dokonano analizy baz danych PubMed oraz MEDLINE w celu oceny roli jaką odgrywają wisfatyna, leptyna i rezystyna w rozwoju raka piersi. Wybrane adipocytokiny w głównej mierze wydzielane są przez adipocyty tkanki tłuszczowej, dlatego też w wielu nowotworach związanych z otyłością stwierdza się ich zwiększone stężenie we krwi [2,4]. Zależność między ilością tkanki tłuszczowej a stężeniem wybranych adipocytokin przedstawiono na rysunku 1. Wisfatyna jest homodimerycznym białkiem o masie 52 kDa, które należy do dimerycznej klasy fosforybozylotransferaz typu II. Poznana jest również jako fosforybozylotransferaza nikotynamidowa (NAMPT) oraz czynnik wzrostu odpowiedzialny za wczesne dojrzewanie komórek B i hamowanie apoptozy neutrofili [5]. Liczne badania dowodzą, że wisfatyna odgrywa istotną rolę w procesach kancerogenezy [1,2,5]. Jest to białko prozapalne, które reguluje i stymuluje tempo proliferacji oraz syntezy DNA komórek raka piersi. Ponadto wisfatyna wykazuje działanie antyapoptotyczne, proangiogenne i wpływa na migrację komórek nowotworowych, co wyraźnie potwierdza związek otyłości z nowotworzeniem. Wyniki badań oraz metaanaliz wskazują, że średnie stężenie wisfatyny w surowicy krwi było wyższe u kobiet chorych na raka piersi w porównaniu

z grupą kontrolną [1,6-8]. W badaniach z udziałem 257 kobiet porównano stężenie wisfatyny z poziomem uznanych markerów nowotworowych, takich jak CEA i CA 15-3. W przypadku kobiet po menopauzie, u których zdiagnozowano raka piersi, marker CA 15-3 wykazywał istotną korelację z poziomem wisfatyny w surowicy krwi oraz CEA [1]. Wisfatyna przyczynia się również do wzrostu stopnia zaawansowania nowotworu złośliwego, powstawania przerzutów oraz reguluje ekspresję genów zaangażowanych w proces angiogenezy [4]. Inwazyjność nowotworu często wiąże się z syntezą metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP). W przypadku komórek raka piersi wisfatyna znacząco zwiększa ekspresję mRNA MMP2 i MMP9, jak również czynnik wzrostu śródbłonka nacyniowego (VEGF), co wskazuje na jej istotny udział w angiogenezie [9].



Rys. 1 Zależność między ilością tkanki tłuszczowej a stężeniem wybranych adipocytokin.

Kolejną istotną adipocytokiną w rozwoju raka piersi jest leptyna. Leptyna (LEP), produkt genu *Obese* (OB), to białkowy hormon o masie 16 kDa, wydzielany głównie przez adipocyty [10]. Leptyna pełni funkcję wskaźnika informującego ośrodkowy układ nerwowy o ilości zgromadzonej tkanki tłuszczowej. Wiążąc się z receptorem leptynowym w podwzgórzu (LEPR), odgrywa kluczową rolę w homeostazie energetycznej jako hormon sytości. U osób otyłych stężenie leptyny może być nawet 10 razy wyższe niż u osób z prawidłową masą ciała [11]. Badania *in vitro* wykazały, że leptyna zaburza funkcjonowanie genów zaangażowanych w regulację cyklu komórkowego. Jej działanie obejmuje m.in proliferację, stymulację migracji komórek nowotworowych, indukcję angiogenezy oraz stanów zapalnych [10]. Ponadto, leptyna zwiększa ekspresję genów hamujących proces apoptozy, takich jak *Bcl-xl* i *Bcl-2* [12], w związku z tym uszkodzone komórki nie są eliminowane z ustroju, a mutacje w ich materiale genetycznym zostają utrwalone, stwarzając podłoże dla rozwoju zmian nowotworowych. Zaobserwowano również, że leptyna wykazuje silne działanie proangiogenne na komórki śródbłonka, indukując ich aktywację, proliferację i migrację [13]. Badanie obejmujące 97 pacjentek po chirurgicznym usunięciu nowotworu piersi wykazało, że najwyższe stężenie leptyny w surowicy zaobserwowano u otyłych pacjentek po menopauzie [14]. Leptyna jest również istotna w ocenie rokowania i ryzyka wystąpienia przerzutów. Poziom leptyny w surowicy osób zdrowych był istotnie niższy niż u pacjentek z nowotworem w obrębie gruczołu piersiowego oraz chorych z przerzutami do węzłów chłonnych [15]. Rezystyna jest bogatym w cystynę peptydem o masie cząsteczkowej 10 kDa, kodowana przez gen *RETN*. Wydzielana głównie przez adipocyty, pełni rolę mediatora insulinooporności i indukuje produkcję cytokin prozapalnych, nasilając procesy zapalne w tkance tłuszczowej [4,5,16]. Podwyższone stężenie rezystyny w surowicy może w związku z tym sprzyjać rozwojowi nowotworu poprzez indukowanie przewlekłego stanu zapalnego [16]. Badania wskazują, że pacjentki chorujące na raka piersi charakteryzowały się wysoką ekspresją rezystyny w porównaniu do osób zdrowych [16,17]. Wysoki poziom rezystyny wpływa na powstawanie przerzutów oraz

indukuje inwazyjność komórek nowotworowych, m.in. poprzez szlak c-src, co wpływa na migrację komórek [5,17,18]. Dodatkowo zwiększone stężenie rezystyny u pacjentek z nowotworem jest dodatnio skorelowane ze stopniem zaawansowania guza, jego rozmiarem oraz obecnością przerzutów do węzłów chłonnych [2,19]. Ponadto rezystyna ma zdolność do indukowania ekspresji MMP oraz receptora czynnika wzrostu śródbłónka naczyniowego (VEGFR), co ma związek ze zwiększoną złośliwością nowotworu [4]. Podobnie jak leptyna, rezystyna zwiększa przeżycie komórek nowotworowych, hamując ich apoptozę poprzez zwiększoną ekspresję genów *Bcl-xl* oraz *Bcl-2* [2]. Rolę wytwarzanych przez tkankę tłuszczową adipocytokin w procesach nowotworowych przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Rola wybranych adipocytokin w procesach nowotworowych.

Adipocytokiny	Rola w procesach nowotworowych
Wisfatyna ↑ Leptyna ↑ Rezystyna ↑	- Indukowanie stanu zapalnego - Pobudzanie proliferacji - Zaburzony cykl komórkowy - Hamowanie apoptozy - Nasiloną angiogeneza - Migracja komórek

Wnioski: Adipocytokiny, takie jak wisfatyna, leptyna i rezystyna, wydzielane przez adipocyty tkanki tłuszczowej, odgrywają kluczową rolę w procesach kancerogenezy, szczególnie w kontekście otyłości, która stanowi istotny czynnik ryzyka zachorowania na raka piersi. Szczególnie narażoną grupą na rozwój tego nowotworu są kobiety w wieku pomenopauzalnym. Wyniki badań wskazują, że wysoki poziom adipocytokin w surowicy krwi ma związek z zaawansowaniem choroby, występowaniem przerzutów oraz zwiększoną złośliwością nowotworu. Przedstawiony przegląd literatury pozwala stwierdzić, że adipocytokiny, w szczególności wisfatyna, leptyna i rezystyna, mogą stać się obiecującymi biomarkerami w diagnostyce oraz ocenie rokowania pacjentek z rakiem piersi. Dalsze badania nad mechanizmami działania poszczególnych adipocytokin mogą przyczynić się do opracowania nowych możliwości leczenia i profilaktyki raka piersi.

Literatura:

1. M. Dalamaga, S. Archondakis, G. Sotiropoulos, K. Karmaniolas, N. Pelekanos, E. Papadavid, A. Lekka, *Maturnitas* 7 (2012) 301.
2. Y. Wang, A.C. Hung, S. Lo, S.S. Yuan, *Cancer Letters* 498 (2021) 229.
3. K.B. Goralski, A.E. Jackson, B.T. McKeown, C.J. Sinal, *International Journal of Molecular Sciences* 20 (2019) 4778.
4. J. Kim, J.W. Kim, Y.J. Lee, *Biomedicines* 12 (2024) 97.
5. G.I. Verras, L. Tchabashvili, D.D. Chlorogiannis, F. Mulita, M.I. Argentou, *Cancers* 15 (2023) 1572.
6. Gui, Y., Pan, Q., Chen, X., Xu, S., Luo, X., & Chen, L., *Oncotarget* (2017), vol. 8(43), 75389.
7. H. Ghaneialvar, S. Shiri, A. Kenarkoohi, Z. Fallah Vastani, A. Ahmadi, A. Khorshidi, R. Khooz, *Health science reports* 5 (2022) e895.
8. M. Mohammadi, F. Mianabadi, H. Mehrad-Majd, *Journal of Cellular Physiology* 234 (2019) 5011.
9. J.G. Kim, E.O. Kim, B.R. Jeong, Y.J. Min, J.W. Park, E.S. Kim, B. Lee, *Molecules and Cells* 30 (2010) 341.
10. K. Ayed, K. Nabi, et al. *Molecular Biology Reports* 50 (2023) 6177.
11. A. Nowak, C. Kobierzycki, P. Dzięgiel, *Postępy Biologii Komórki* 42 (2015) 2.
12. A. Ptak, A. Kolaczowska, E. Gregoraszczuk, *Endocrine* 43 (2013) 394.
13. E. Garonna, K.M. Botham, G.M. Birdsey, A.M. Randi, R.R. Gonzalez-Perez, *PLoS One* 6 (2011) e18823.
14. I. Koprivčić, K. Marjanović, et al., *Acta Clinica Croatica* 6 (2022) 79.
15. J. Niu, J. Jiang, L. Guo, W. Shao, L. Liu, Y. Wang, *PLoS One* 8 (2013) e67349.

16. S. Zoroddu, B. Di Lorenzo, P. Paliogiannis, A. Mangoni, C. Carru, A. Zinellu, *Clinica Chimica Acta* 119 (2024) 119838.
17. R.L. Cuachirria-Espinoza, A. García-Miranda, et al. *Biochimie* 229 (2025) 19.
18. J.O. Lee, N. Kim, et al. *Scientific reports* 6 (2016) 18923.
19. A.M. Assiri, H.F. Kamel, *Obesity Research & Clinical Practice* 10 (2016) 442.

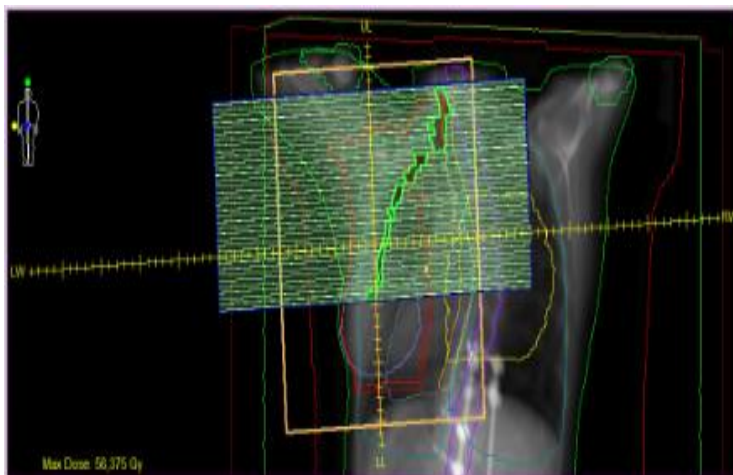
INDUKCJA NOWOTWORU WTÓRNEGO PO RADIOTERAPII OBSZARU KLATKI PIERSIOWEJ POPARTA ANALIZĄ PRZYPADKU

N. GRUSZKIEWICZ¹, B. PŁASKA¹, K. SZWED², A. NIEWCZAS², K. POGORZELEC², A. KOZŁOWSKA³, ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, SKN przy Zakładzie Radioterapii, ul. Radziwiłłowska 13, 20-080 Lublin, ²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Aleje Racławickie 1, 20-059 Lublin, ³Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Zakład Radioterapii, ul. Radziwiłłowska 13, 20-080 Lublin

Abstrakt: Radioterapia stanowi kluczowy element leczenia nowotworów. Jej planowanie wymaga rozważenia oraz analizy bilansu między efektami terapeutycznymi a ryzykiem powikłań, zwłaszcza u pacjentów w młodym wieku lub z historią wcześniejszych terapii onkologicznych. W niniejszym opracowaniu przedstawiono przypadek pacjentki, u której 21 lat po radioterapii w leczeniu chłoniaka Hodgkina wystąpił rak sutka. Obecność implantu dodatkowo komplikowała planowanie leczenia, wymagając zastosowania zaawansowanej techniki VMAT (Volumetric Modulated Arc Therapy). Dzięki dynamicznie modulowanemu łukowi, ruchowi gantry oraz precyzyjnej pracy kolimatora MLC, możliwe było osiągnięcie jednorodnego rozkładu dawki w obszarze ściany klatki piersiowej i regionalnych węzłów chłonnych, jednocześnie minimalizując ekspozycję zdrowych tkanek oraz samego implantu. Artykuł podkreśla znaczenie indywidualnego podejścia oraz interdyscyplinarnej współpracy zespołu medycznego w optymalizacji planów radioterapii, co jest kluczowe dla zwiększenia skuteczności leczenia przy redukcji ryzyka wtórnych nowotworów.

Wprowadzenie: Radioterapia stanowi kluczowy element w leczeniu wielu rodzajów nowotworów. Jej zastosowanie stanowi zawsze swojego rodzaju bilans korzyści i obciążeń dla pacjenta. Forma tego rodzaju terapii wykorzystuje promieniowanie jonizujące do niszczenia komórek nowotworowych poprzez uszkodzenie ich materiału genetycznego. Oddziaływanie promieniowania jonizującego na materiał genetyczny może być bezpośrednie, polegające na uszkodzeniu materiału genetycznego w wyniku absorpcji energii. Drugą drogą, w wyniku której może dojść do uszkodzenia, jest oddziaływanie pośrednie, gdy dochodzi do radiolizy wody oraz powstawania wolnych rodników, które uszkadzają DNA. Komórki są najbardziej wrażliwe na działanie promieniowania w fazie G2 oraz M, ponieważ w fazie G2 komórka przygotowuje się do podziału, a w fazie M odbywa się samo dzielenie komórkowe [1, 2]. W wyniku ekspozycji na promieniowanie, istnieje również ryzyko powstawania nowotworów wtórnych, w szczególności u pacjentów poddanych napromienianiu w młodym wieku. Dlatego kluczowe jest opracowywanie planów leczenia, które zapewniają maksymalizację efektu terapeutycznego przy jednoczesnym minimalizowaniu dawek otrzymywanych przez zdrowe tkanki. Istotnym parametrem wykorzystywanym w radioterapii jest dawka promieniowania, która jest wyrażana w jednostkach Gray (Gy). Planowanie całego procesu leczenia ma za zadanie osiągnąć jednorodny rozkład dawki w obszarze docelowym, z równoległym ograniczeniem dawki na wrażliwe struktury anatomiczne.

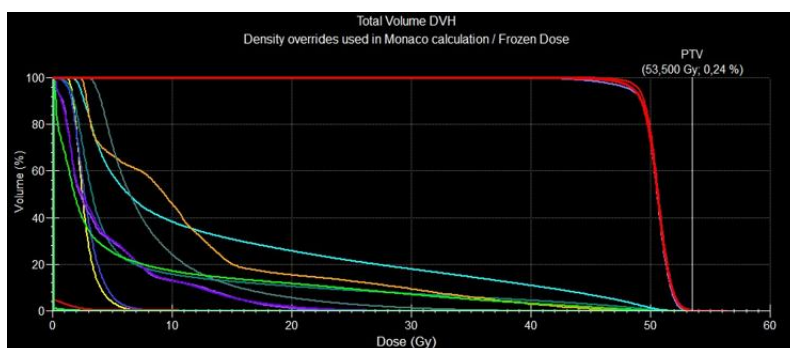
Wyniki: Opis przypadku: przykładem wtórnej indukcji nowotworu jest pacjentka z nowotworem piersi, która 21 lat temu, miała radioterapię chłoniaka Hodgkina na okolicę klatki piersiowej. Chłoniak Hodgkina jest to rzadki monoklonalny nowotwór limfoidalny, charakteryzujący się następującymi cechami: przeważnie występuje u młodych osób, najczęściej rozwija się w szczylnych węzłach chłonnych, składa się z rozproszonych monojądrowych komórek Hodgkina oraz wielojądrowych komórek Reed-Sternberga na tle nie-nowotworowych komórek zapalnych [3]. Po upływie 21 lat pacjentka trafiła z kolejnym nowotworem, tym razem rakiem piersi. Po pogłębionej diagnostyce oraz badaniach histopatologicznych, decyzją konsylium chora została zakwalifikowana do mastektomii podskórnej z jednoczasowym wszczepieniem implantu. W pooperacyjnym raporcie histopatologicznym stwierdzono nieradykalność zabiegu, co stało się przesłanką do zastosowania pooperacyjnej radioterapii radykalnej. Leczenie zaplanowano z wykorzystaniem techniki VMAT na obszar ściany klatki piersiowej po stronie lewej oraz regionalnych węzłów chłonnych. Przy planowaniu napromieniania kluczowe było uwzględnienie obecności implantu, który może wpływać na rozpraszanie dawki. Rys. 1. oraz Rys. 2. przedstawiają obraz z planowania radioterapii techniką VMAT (Volumetric Modulated Arc Therapy), czyli u pacjentki z implantem piersi. Jest to nowatorska technika radioterapii, umożliwiająca osiągnąć wysoce konforemny rozkład dawki z lepszym objęciem obszaru docelowego oraz oszczędzeniem zdrowych tkanek w porównaniu z tradycyjnymi technikami radioterapii [4]. Technika ta umożliwia jednoczesny ruch gantry, kolimatora wielolistkowego MLC oraz zmiany dawki przy zastosowaniu dynamicznie modulowanego łuku, który jest widoczny na Rys. 2. [5]. VMAT zyskał szczególne znaczenie w ochronie narządów krytycznych, takich jak serce czy płuca [6]. Odsunięcie serca od pola napromieniania ma na celu minimalizowanie ryzyka uszkodzenia tego narządu. Uzyskuje się to poprzez zastosowanie techniki DIBH (Deep Inspiration Breath Hold technique) [7]. W planowaniu tego leczenia zastosowano dodatkowo skręt stołu, co umożliwia precyzyjne ustawienie pacjentki. Dzięki zastosowaniu techniki VMAT możliwe było zoptymalizowanie rozkładu dawki, co jest istotne zwłaszcza w przypadkach, gdy obecny jest implant piersi, wpływający na rozkład dawki. zapewniając ochronę okolicznych struktur krytycznych, jak i unikanie maksymalnych dawek w samym implancie. Na zdjęciach możemy zaobserwować wizualizację rozkładu dawki w obszarze ściany klatki piersiowej, regionalnych węzłach chłonnych, jak i w samym implancie, co przedstawia Rys. 3.



Rys. 1. Rozkład dawek na przekroju czołowym użytych do leczenia techniką V-MAT raka sutka z wszczepionym implantem.



Rys. 2. Rozkład dawek na przekroju poprzecznym użytych do leczenia techniką V-MAT raka sutka z wszczepionym implantem.



Rys. 3. Histogram typu dawka-objętość użytych do leczenia techniką V-MAT raka sutka z wszczepionym implantem.

Wnioski: Artykuł podkreśla znaczenie zaawansowanych technik radioterapeutycznych oraz interdyscyplinarnej współpracy. Poprzednie leczenie onkologiczne znacznie komplikuje planowanie radioterapii z powodu zmian w tkankach i zwiększonego ryzyka indukcji kolejnych nowotworów. Wyzwania w ustaleniu schematu leczenia obejmowały przygotowanie planu tak, aby maksymalne dawki nie znajdowały się w okolicy implantu piersi, ponieważ może to spowodować jego uszkodzenie. Maksymalna dawka wynosiła 56 Gy, a cały obszar ściany klatki piersiowej oraz regionalne węzły chłonne były napromieniane jednorodną dawką, co jest kluczowe dla skuteczności leczenia i redukcji ryzyka nawrotu. Zastosowanie nowoczesnych technik, takich jak VMAT umożliwia lepsze dopasowanie rozkładu dawki do sytuacji klinicznej. Dzięki zastosowaniu tej techniki możliwe było optymalizowanie rozkładu dawki. Kluczowe w takich przypadkach jest indywidualne podejście oraz interdyscyplinarna współpraca zespołu medycznego w minimalizacji ryzyka powikłań oraz poprawie wyników leczenia.

Literatura:

1. E. J. Hall, A. J. Giaccia, Radiobiology for the Radiologist, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2011
2. J. Ward, DNA Damage Produced by Ionizing Radiation in Mammalian Cells: Identities, Mechanisms of Formation, and Reparability, 35 (1988) 95.
3. H. Kaseb, H. M. Babiker, Hodgkin Lymphoma, StatPearls, (2023).
4. M. Teoh, C. H. Clark, K. Wood, S. Whitaker, A. Nisbet, British Journal of Radiology, 84 (2011) 967.
5. S. O. Hunte, C. H. Clark, N. Zyuzikov, A. Nisbet, British Journal of Radiology, 18 (2022) 95.
6. L. Kuo, A. M. Ballangrud, A. Y. Ho, J. G. Mechalakos, G. Li, L. Hong, A VMAT Planning Technique for Locally Advanced Breast Cancer Patients with Expander or Implant Reconstructions Requiring Comprehensive Postmastectomy Radiation Therapy, Medical Dosimetry, 44 (2018) 150.
7. C Bergom, A Currey, N Desai, A Tai, J. B. Strauss, Deep Inspiration Breath Hold: Techniques and Advantages for Cardiac Sparing During Breast Cancer Irradiation. Front Oncol. 8 (2018) 87.

GUZ CHROMOCHŁONNY – WYZWANIA I TRUDNOŚCI DIAGNOSTYCZNE – OPIS PRZYPADKU

F. KOZŁOWSKI¹, O. POPIOLEK¹, A. KOZŁOWSKA², ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Radioterapii, ul. Radziwiłłowska 13, 20-081 Lublin, ²Uniwersytet medyczny w Lublinie, Klinika Radioterapii, ul. Radziwiłłowska 13, 20-081 Lublin

Abstrakt: Guz chromochłonny (pheochromocytoma - PCC) jest to rzadki neuroendokrynnny nowotwór powstający z komórek chromochłonnych w rdzeniu nadnerczy i związany jest ze zwiększonym wydzielaniem katecholamin w organizmie. Ze względu na niecharakterystyczny obraz kliniczny zmiany te bywają wykrywane przypadkowo podczas diagnostyki innych schorzeń pacjenta. Zazwyczaj zmiany te mają charakter łagodny, ale mogą one nawracać miejscowo czy prowadzić do przerzutów odległych, m.in. do kości czy węzłów chłonnych. Dlatego też niezwykle ważne jest, by pacjenci pozostawali pod nadzorem lekarskim. Aktualnie w diagnostyce wykorzystuje się badania biochemiczne czy badania obrazowe np. przekrojową tomografię komputerową oraz rezonans magnetyczny. Częstość występowania guza chromochłonnego waha się od 3-8 przypadków na milion populacji rocznie.

Wprowadzenie: Guzy chromochłonne są to rzadkie guzy neuroendokrynnne, które powstają w rdzeniu nadnerczy i zwojach nerwów autonomicznych [1]. Wydzielają one katecholaminy takie jak: adrenalina, noradrenalina czy dopamina. Substancje te wpływają przede wszystkim na układ sercowo-naczyniowy poprzez podwyższenie ciśnienia krwi, zwężenie obwodowych naczyń czy przyspieszony rytm serca poprzez oddziaływanie na receptory adrenergiczne. Rozpoznanie guza chromochłonnego wiąże się również z przeprowadzeniem dokładnego wywiadu lekarskiego oraz badania klinicznego. Klasyczną triadą objawów przy tym guzie jest: kołatanie serca, pocenie się i ból głowy [2]. Zazwyczaj guzy te mają charakter łagodny, jednak mogą one prowadzić do wznów miejscowych oraz powstawania przerzutów odległych, przede wszystkim do kości oraz do węzłów chłonnych [3]. Średni czas przeżycia u pacjentów z przerzutowym guzem chromochłonnym wynosi 7 lat [4]. 80-85% guzów lokalizuje się w rdzeniu nadnerczy, natomiast 10-15% pochodzi z tkanki poza nadnerczami. Guzy, które powstają z tkanki chromochłonnej poza nadnerczami nazywamy paragangliomami. Częstość występowania zmian w populacji wynosi od 3 do 8 przypadków na każdy milion populacji. U pacjentów z nadciśnieniem tętniczym częstość występowania guza chromochłonnego waha się od 0,1% do 0,6%. Guzy chromochłonne mogą wystąpić w każdym wieku, jednak najczęstszy średni wiek rozpoznania wynosi 40-50 lat [2]. Co trzeci przypadek związany jest z wystąpieniem zaburzeń genetycznych (zespoły rodzinne) np. w zespole mnogiej neoplazji wewnątrzwydzielniczej (MEN 2A, MEN 2B), chorobie von Hippel-Lindau czy nerwiakowłókniakowatości typu I. W tych chorobach genetycznych diagnoza jest stawiana we wcześniejszym wieku. Guz chromochłonny jest uważany za nowotwór dziedziczny [5]. W diagnostyce guza chromochłonnego pierwszym badaniem przesiewowym jest badanie biochemiczne, czyli pomiar stężenia metanefryny w osoczu lub w moczu podczas jego dobowej zbiórki. Jest to badanie wysoce czułe i swoiste [2]. Wynik pozytywny tego badania musi zostać

uzupełniony przez badania obrazowe w celu dokładnej lokalizacji guza. Badaniem z wyboru jest tomografia komputerowa jamy brzusznej wraz z dożylnym podaniem środka kontrastowego i jest ona lepszym wyborem od rezonansu magnetycznego, ponieważ z wysoką czułością lokalizuje guza chromochłonnego [6]. W przypadku guzów nadnerczy czułość tomografii komputerowej wynosi 90%. Jeśli chodzi o rezonans magnetyczny (MRI) jest on wskazany dla kobiet w ciąży, dzieci, u pacjentów z mutacją linii zarodkowej czy z przerzutami dalekimi. Badaniem potwierdzającym rozpoznanie jest scyntygrafia ^{123}I -MIBG, która wykrywa aktywność guza [2]. Współcześnie guzy chromochłonne są wykrywane często przypadkowo w testach genetycznych lub w obrazowaniu przekrojowym [5]. Leczenie chirurgiczne jest terapią z wyboru u wszystkich pacjentów z rozpoznaniem guzem chromochłonnym. Niezwykle ważne jest przygotowanie pacjenta do planowanego zabiegu, zwłaszcza farmakologiczna kontrola nadciśnienia [7]. Po usunięciu operacyjnym guza chromochłonnego nadal istnieje 5% ryzyko na powstania nowego guza, nawrót miejscowy czy odległy przerzut w ciągu kolejnych 5 lat [2]. Dlatego też istotne jest dla pacjenta skrupulatne i regularne wykonywanie badań kontrolnych.

Miejscowy nawrót łagodnego guza chromochłonnego po adrenalektomii jest rzadki (około 4%) [10]. U pacjentów z miejscowym nawrotem lub odległymi przerzutami guza chromochłonnego należy w pierwszej kolejności rozważyć leczenie chirurgiczne. Jednak w wielu sytuacjach całkowite usunięcie chirurgiczne nie jest możliwe. Wielu pacjentów nie pozostaje w obserwacji po resekcji guza pierwotnego, co opóźnia wykrycie wtórnych zmian patologicznych. W przypadku nieoperacyjnej wznowy miejscowej głównymi celami terapeutycznymi są kontrolowanie objawów spowodowanych nadmiarem katecholamin oraz redukcja rozmiarów guza. Istnieje kilka opcji leczenia paliatywnego, do których należą; chemioterapia, radioterapia czy krioblacja [11]. Około 10% guzów chromochłonnych ma charakter złośliwy, a lokalizację obustronną stwierdza się również w 10%. Kryteriami złośliwości tych guzów jest: nacieki sąsiednich narządów, duża wielkość guza czy zajęcie węzłów chłonnych wykrywane w badaniach obrazowych. Złośliwość nowotworu ocenia się w momencie pierwszego rozpoznania lub wznowy. Głównymi czynnikami prognostycznymi w przypadku złośliwego guza chromochłonnego są: obecność przerzutów trzewnych, duża objętość guza oraz obecność mutacji w genie dehydrogenazy bursztynianowej B (SDHB). [8] Guz chromochłonny jest uznawany za chorobę oporną na napromienianie. Uważa się, że dawka całkowita powyżej 40 Gy wiąże się z lepszą lokalną kontrolą choroby. Korzystanie z radioterapii w leczeniu guzów chromochłonnych jest ograniczone także z uwagi na możliwość wystąpienia gwałtownego wyrzutu katecholamin po śmierci komórek nowotworowych, co może prowadzić do przełomu nadciśnieniowego. Guzy chromochłonne charakteryzują się powolną odpowiedzią na radioterapię, a badania obrazowe mogą wykazać zmiany resztkowe również w przypadku skutecznie leczonych zmian. [9]

Wyniki: Opis przypadku: 46-letni mężczyzna leczony od roku z powodu objawów refluksu żołądkowo-przełykowego zgłosił się do lekarza rodzinnego w sierpniu 2023 roku z powodu nasilenia objawów dyspeptycznych, wymiotów po obfitym posiłku oraz napadowych skoków ciśnienia tętniczego z towarzyszącymi bólami głowy. Ponadto jednorazowo wystąpił u chorego epizod krwistych, fusowatych wymiotów, któremu towarzyszył silny ból w okolicy nadbrzusza oraz zlewne poty. Dolegliwości te ustąpiły po przyjęciu leków przeciwwymiotnych. Z uwagi na niepokojący obraz kliniczny przeprowadzono dia-

agnostykę. W badaniach morfologii krwi większość parametrów zawierała się w wartościach referencyjnych. Parametry równowagi kwasowo-zasadowej z krwi żyłnej nie wykazały wartości odbiegających od normy. Stwierdzono podwyższony poziom D-dimerów, natomiast inne wskaźniki koagulologiczne były prawidłowe. Ponadto wykryto dyskretnie obniżony poziom kalcytoniny oraz podwyższony poziom parathormonu. Poszerzono diagnostykę obrazową o tomografię komputerową głowy, klatki piersiowej, jamy brzusznej i miednicy. W badaniu zauważono dużą przepuklinę okołoprzełykową wraz z przemieszczeniem żołądka do przestrzeni klatki piersiowej. Do przodu od żyły głównej dolnej oraz aorty brzusznej na poziomie trzonu L3 widoczna była dobrze ograniczona, owalna i niejednorodna struktura wielkości 26x24 mm, opisywana jako prawdopodobnie powiększony węzeł chłonny. Śledziona była niepowiększona, natomiast wykazano dodatkową śledzionę o wielkości 18 mm. W nerce prawej widoczne były dwie zmiany hypodensyjne o zatartych zarysach o wielkości 8 i 10 mm. Podejrzewano, że są to torbiele powikłane. W obu nerkach występowały także torbiele zatokowe. Jeśli chodzi o układ kostny, zauważono zmiany zwyrodnieniowo-wytwórcze kręgosłupa. Ze względu na niejednoznaczny obraz zmian w nerce prawej oraz zmiany w okolicy dużych naczyń zlecono rezonans magnetyczny jamy brzusznej i miednicy, który wykonano w październiku 2023 roku. W MRI miednicy nie zauważono żadnych niepokojących zmian. Natomiast w rezonansie magnetycznym jamy brzusznej zaobserwowano nieco powiększoną wątrobę, przepuklinę okołoprzełykową, zmiany w nerce prawej oraz prawdopodobnie powiększony węzeł chłonny na poziomie L3. W październiku pacjent miał wykonaną gastroscopię wraz z pobraniem odcinków. Na podstawie tego badania nie stwierdzono metaplasji jelitowej, zaniku błony śluzowej żołądka oraz wykluczono infekcję *Helicobacter pylori*. Potwierdzono jedynie obecność dużej przepukliny rozworu przełykowego typu mieszanego. Również w październiku wykonano u pacjenta kolonoskopię. Zarówno w kątnicy, wstępnicy, poprzecznicy, zstępnicy, esicy oraz odbytnicy nie zauważono żadnych zmian. W listopadzie 2023 roku pacjent wykonał badania immunochemiczne, które ujawniły prawidłowy poziom gastryny, natomiast podwyższony poziom chromograniny A. Wynosiła ona 118,86 ug/l, przy wartościach referencyjnych poniżej 100,00. Następnie pacjent został poddany badaniu pozytonowej tomografii emisyjnej PET/CT z podaniem fluorodeoksyglukozy (FDG) w celu ustalenia charakteru zmian patologicznych w nerce prawej oraz zaotrzewnowej zmiany węzłowej. Zaobserwowano nierównomiernie podwyższone gromadzenie FDG w obrębie zmiany zlokalizowanej do przodu od ŻGD i aorty na poziomie L3. W wyniku tego, że nerki fizjologicznie wydzielają FDG ocena zmiany w prawej nerce była niemożliwa. Pacjent w grudniu 2023 roku trafił w trybie planowym na Oddział Chirurgii Ogólnej w Lublinie z rozpoznaniem przepukliny okołoprzełykowej oraz guzem przestrzeni pozaotrzewnowej. Wykonano repozycję żołądka z klatki piersiowej do jamy brzusznej, wycięto worek przepuklinowy, przeprowadzono plastykę rozworu przełykowego przepony oraz laparoskopowo usunięto podejrzaną zmianę zaotrzewnową. Podczas preparowania guza obserwowano u pacjenta epizody tachykardii i niekontrolowane wzrosty wartości ciśnienia tętniczego. Wczesny okres pooperacyjny przebiegł bez powikłań. W szóstej dobie po zabiegu pacjent w stanie ogólnym dobrym został wypisany do domu. W okresie rekonwalescencji obserwowano epizody wzrostu RR i osłabienia, którym towarzyszyła nadmierna potliwość. Wycięty guz został dostarczony do Pracowni Patomorfologii, gdzie stwierdzono, że ma on wymiary 3x2,2x2,5 cm, gładką powierzchnię, na przekroju jest lity, barwy pomarańczowej. Na podstawie obrazu mikroskopowego oraz odczynów immunohistochemicznych (Chromogranina A+, Synaptofizyna+/-, CD56+,

EMA(-), p53(-), indeks proliferacyjny Ki67 ok. 1%) postawiono rozpoznanie guza chromochłonnego. Pacjent w lutym 2024 roku przeszedł kontrolne badanie scyntygraficzne w Pracowni Badań Izotopowych, w którym nie stwierdzono zwiększonej ekspresji receptorów somatostatynowych typowej dla guzów neuroendokrynnych. W lutym 2025 roku pacjentowi wykonano rezonans magnetyczny, w którym nie wykazano żadnych nowych zmian o charakterze miejscowej wznowy. Pacjent aktualnie czuje się dobrze i regularnie wykonuje zlecane badania.

Wnioski: Przedstawiona sytuacja kliniczna przypadkowego wykrycia guza chromochłonnego u pacjenta z przepukliną rozworu przełykowego potwierdza częste trudności związane z rozpoznaniem tego schorzenia. Wnikliwa diagnostyka obrazowa pozwala na stwierdzenie obecności zmian patologicznych i wdrożenie optymalnego leczenia u pacjentów, których obraz chorobowy pozostaje niejednoznaczny. Zmiany o niejasnym charakterze wykryte w badaniach obrazowych powinny zostać usunięte chirurgicznie celem ustalenia diagnozy. Ze względu na niecharakterystyczne objawy oraz możliwość wystąpienia wznowy miejscowej, jak również rozsiewu choroby, konieczne jest pozostawienie pacjenta w bacznej obserwacji lekarskiej.

Literatura:

1. E. Sbardella, A. B. Grossman, Pheochromocytoma: An approach to diagnosis, 2020, sciencedirect.com
2. P. Anyfanti, K. Mastrogianis, A. Lazaridis, K. Tasios, D. Vasilakou, A. Kyriazidou, Clinical presentation and diagnostic evaluation of pheochromocytoma: case series and literature review, 2022, tandfonline.com
3. S. Nölting, N. Bechmann, D. Taieb, F. Beuschlein, M. Fassnacht, M. Kroiss, G. Eisenhofer, A. Grossman, K. Pacak, Personalized Management of Pheochromocytoma and Paraganglioma, 2021, academic.oup.com
4. A. Rahman Al Subhi, V. Boyle, M. S. Elston, Systematic Review: Incidence of Pheochromocytoma and Paraganglioma Over 70 Years, 2022, academic.oup.com
5. L. M. Gruber, R. P. Hartman, G. B. Thompson, T. J. McKenzie, M. L. Lyden, W. F. Young, Jr, I. Bancos, Pheochromocytoma Characteristics and Behavior Differ Depending on Method of Discovery, 2018, academic.oup.com
6. A. Kiriakopoulos, P. Giannakis, E. Menenakos, Pheochromocytoma: a changing perspective and current concepts, 2023, journals.sagepub.com
7. F. Fang, L. Ding, Q. He, M. Liu, Preoperative Management of Pheochromocytoma and Paraganglioma, 2022, frontiersin.org
8. I. Jandou, A. Moataz, M. Dakir, A. Debbagh, R. Aboutaieb, Malignant pheochromocytoma: A diagnostic and therapeutic dilemma, 2021, sciencedirect.com
9. M. L. Bonu, S. M. Magrini, Role of Radiotherapy in Adrenocortical Carcinoma and Pheochromocytoma, 2024, library.oapen.org
10. B. Tramunt, A. Buffet, S. Grunenwald, D. Vezzosi, A. Bennet, Local recurrence of pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2A: a diagnostic and therapeutic challenge, 2016, pmc.ncbi.nlm.nih.gov
11. M. Ohta, A. Fujio, S. Miyagi, K. Tokodai, W. Nakanishi, Surgical resection for liver metastasis and local recurrence of pheochromocytoma 16 years after primary surgery: A case report, 2021, pmc.ncbi.nlm.nih.gov

DIETA I STYL ŻYCIA - CZYNNIKI RYZYKA ORAZ STRATEGIE ZAPOBIEGANIA NOWOTWOROM KOBIECYM

K. POGORZELEC^{1,2}, A. NIEWCZAS², K. SZWED², D. NATORSKA-CHOMICKA³¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, SKN przy Katedrze i Zakładzie Toksykologii, Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin, ²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, SKN przy Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej, Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin, ³Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Toksykologii, Aleje Raławickie 1, 20-059 Lublin

Abstrakt: Choroby dotyczące żeńskiego układu rozrodczego to ważny problem wpływający na jakość życia kobiet. Schorzenia tego układu dzielimy na infekcje oraz łagodne i złośliwe nowotwory. Choroby ginekologiczne zaliczane do łagodnych nowotworów to między innymi endometrioza, która negatywnie wpływa na funkcjonowanie w życiu codziennym i coraz powszechniej występuje u kobiet. Złośliwe nowotwory, do których zaliczamy rak jajnika, rak szyjki macicy, rak trzonu macicy, stanowią najczęstsze przyczyny zgonów w ostatnich latach. Sposób odżywiania i styl życia mają fundamentalne znaczenie w utrzymywaniu zdrowia kobiet, a także chronią przed rozwinięciem się wyniszczających chorób. Długotrwały pozytywny wpływ na choroby ginekologiczne mogą mieć diety bogate w owoce i warzywa, naturalne związki pochodzenia roślinnego, zieloną herbatę, witaminę D i diety śródziemnomorskie. Do rozwoju chorób może przyczyniać się czerwone mięso, tłuszcze, alkohol i kawa. Potencjalne czynniki zakłócające to: zanieczyszczenia żywności, zmniejszona aktywność fizyczna, pochodzenie etniczne i czynniki środowiskowe. Celem niniejszej pracy przeglądowej jest przedstawienie aktualnej wiedzy potwierdzającej wpływ diety, stylu życia i czynników ryzyka na rozwój endometriozy i nowotworów kobiecych, takich jak rak jajnika, rak szyjki macicy, rak trzonu macicy.

Wprowadzenie: Endometrioza jest przewlekłą chorobą zapalną, cechującą się występowaniem ektopowych komórek gruczołowych i podścieliska przypominających endometrium. Główne objawy obejmują przewlekły ból miednicy mniejszej, bolesne miesiączkowanie, niepłodność i głęboką dyspareunię [1]. Rak jajnika jest główną przyczyną zgonów wśród kobiet z diagnozą raka rozrodczego [2, 3]. Pozostaje często niezdiagnozowany, dopóki nie rozprzestrzeni się na jamę brzuszną i miednicę [4]. Rak szyjki macicy jest czwartym najczęstszym występującym nowotworem dotykającym kobiety na całym świecie [5]. Po menopauzie występuje głównie rak trzonu macicy [6]. Jednym z najsilniejszych czynników ryzyka raka endometrium jest nadmierna masa ciała. [7]. Zdrowy styl życia, odpowiednia dieta oraz ograniczenie narażenia na znane czynniki ryzyka mogą mieć znaczący wpływ na podatność na choroby ginekologiczne [6].

Wyniki: Nowotwory złośliwe układu rozrodczego należą do najczęstszych chorób onkologicznych diagnozowanych u kobiet. Kluczowym elementem profilaktyki jest wprowadzanie strategii zapobiegawczych, które poprzez modyfikację nawyków żywieniowych mogą ograniczyć występowanie wielu schorzeń ginekologicznych. Istotnym czynnikiem

ryzyka jest otyłość. Jej wpływ na organizm obejmuje przewlekły stan zapalny, który zaburza równowagę adipokin i sprzyja procesom nowotworowym, zarówno w przypadku zmian łagodnych, jak i złośliwych [8]. Badania wykazały [6], że ryzyko rozwoju endometriozy jest niższe u kobiet spożywających większe ilości warzyw i owoców. Suplementacja witaminami C i E przyczyniła się do obniżenia poziomu markerów stresu oksydacyjnego u kobiet z endometriozą. Inne badanie wykazało [6], że kobiety już cierpiące na endometriozę spożywały mniej witamin A, C i E, cynku oraz miedzi, co wiązało się z podwyższonymi markerami stresu oksydacyjnego w porównaniu do kobiet przyjmujących większe ilości tych składników. Pacjentki suplementujące witaminy C i E zgłaszały mniejsze dolegliwości bólowe, w tym bolesne miesiączki i dyspareunię, w porównaniu do grupy placebo. Aktywna forma witaminy D może wpływać na ogniska endometriozy, zmniejszając produkcję prostaglandyn i cytokin zapalnych [6]. Suplementacja tą witaminą może przyczynić się także do zmniejszenia bólu miednicy u pacjentek [8]. Analiza spożycia tłuszczu wykazała, że zwiększone spożycie długłańcuchowych kwasów tłuszczowych n-3 obniżało ryzyko endometriozy, podczas gdy tłuszcze trans działały odwrotnie. Produkty bogate w kwasy omega-6, w tym czerwone mięso, mogą sprzyjać stanom zapalnym oraz rozwojowi choroby, natomiast suplementacja kwasami omega-3 może ograniczać wzrost zmian endometrialnych i produkcję czynników zapalnych, zwłaszcza u kobiet z zaawansowaną postacią choroby (stadium III i IV) [6]. N-acetylocysteina może skutecznie redukować stan zapalny i łagodzić objawy endometriozy. Produkty zawierające ten związek, takie jak cebula, czosnek, zarodki pszenicy, brokuły i brukselka, wykazują zdolność kontrolowania proliferacji komórek endometrialnych oraz zmniejszania stresu oksydacyjnego [6]. Resweratrol, obecny m.in. w winogronach, czerwonym winie, borówkach, jagodach, kakao i orzechach, to polifenol o silnym działaniu przeciwzapalnym i antyoksydacyjnym [6,8]. Naturalne związki, takie jak sulforafan, występujący w warzywach krzyżowych (np. kalafior, kapusta, brokuły), wykazują działanie antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe oraz przeciwzapalne [6]. Galusan epigallokatechiny-3 (EGCG), obecny w zielonej herbacie, także wykazuje korzystny wpływ na endometriozę. Z kolei kurkumina, charakteryzuje się silnym działaniem przeciwzapalnym i antyproliferacyjnym [6]. Analiza badań dotyczących wpływu diety na ryzyko zachorowania na raka jajnika wykazała, że zwiększona konsumpcja tłuszczu pochodzenia zwierzęcego, solonych warzyw, produktów mlecznych, azotynów, a w nieco mniejszym stopniu witaminy C, wiąże się z podwyższonym ryzykiem wystąpienia tego nowotworu [8,6]. Natomiast spożywanie izoflawonów, herbaty oraz regularna konsumpcja warzyw i owoców może przyczyniać się do jego zmniejszenia. Badania wskazują, że zwiększona podaż wapnia w diecie może działać ochronnie i zmniejszać ryzyko zachorowania na raka jajnika [6]. Kobiety posiadające mutacje w genach BRCA1 i BRCA2 mają znacznie wyższe ryzyko zachorowania na raka jajnika [4]. Nieprawidłowo zbilansowana dieta, obfitująca w produkty o działaniu prozapalnym, takie jak rafinowane węglowodany, czerwone i przetworzone mięso oraz smażone potrawy, może wpływać na zmiany hormonalne (np. zwiększony poziom krążących gonadotropin), zaburzenia gospodarki glukozy oraz nasilenie procesów zapalnych, co może przyczyniać się do rozwoju raka jajnika [2]. Niektóre czynniki mogą ograniczać ryzyko jego wystąpienia, na przykład karmienie piersią lub stosowanie złożonych doustnych środków antykoncepcyjnych [6].

W przypadku [6] raka szyjki macicy istnieje wiele czynników środowiskowych i związanych ze stylem życia, które mogą mieć wpływ na rozwój choroby. Należą do nich m.in. nieprawidłowa dieta, palenie tytoniu, zakażenia chorobami przenoszonymi drogą płciową,

stosowanie złożonych hormonalnych środków antykoncepcyjnych, duża liczba ciąż, niski status społeczno-ekonomiczny, rozpoczęcie współżycia w młodym wieku oraz posiadanie wielu partnerów seksualnych. Spożycie przeciwutleniaczy, takich jak karotenoidy, kwas askorbinowy i witamina D, może pełnić funkcję ochronną, neutralizując szkodliwe wolne rodniki. Badania wykazały [6], że reaktywne formy tlenu (ROS), same lub w połączeniu z wirusem HPV, mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju raka szyjki macicy. Tomita i współpracownicy zauważyli [6], że niskie spożycie owoców i warzyw w połączeniu z paleniem tytoniu może zwiększać ryzyko wystąpienia zmian przednowotworowych szyjki macicy o wysokim stopniu zaawansowania. Badania sugerują, że dieta bogata w świeże warzywa oraz regularne picie zielonej herbaty może zmniejszać ryzyko raka szyjki macicy. Ponadto wyższe spożycie karotenoidów, retinolu, luteiny, ksantyn oraz witaminy C może hamować rozwój infekcji HPV u zakażonych kobiet. Witaminy C i E mogą działać jako skuteczne przeciwutleniacze, które ograniczają procesy oksydacyjne w organizmie. Badania wykazują [9], że osoby, które przeżyły raka szyjki macicy, częściej niż inni pacjenci onkologiczni oraz kobiety z populacji ogólnej palą papierosy. Celem jednego z badań było [10] ustalenie związku między zakażeniem HPV a innymi patogenami infekującymi drogi rodne w kontekście rozwoju raka szyjki macicy. Wyniki wskazują, że współistnienie zakażenia *Escherichia coli* i HPV16 może przyczyniać się do rozwoju tej choroby. Dane te sugerują, że *E. coli* może mieć znaczenie w progresji raka szyjki macicy, a wdrożenie programów przesiewowych wykrywających zarówno HPV, jak i *E. coli* mogłoby być skuteczną strategią zmniejszania częstości zachorowań na ten nowotwór oraz stanów przedrakowych [10]. Chociaż zakażenie wirusem HPV jest niezbędne do rozwoju raka szyjki macicy i przedrakowych zmian śródnaślennych, samo w sobie nie wystarcza – konieczne są dodatkowe czynniki współistniejące. Do takich czynników zalicza się między innymi wielu partnerów seksualnych, palenie tytoniu, długotrwałe stosowanie hormonalnych środków antykoncepcyjnych, mnogie ciążę, predyspozycje genetyczne, zmiany epigenetyczne, osłabienie odporności, pochodzenie etniczne oraz zaburzenia mikrobioty pochwy. Większość badań wskazuje, że infekcja HPV może prowadzić do wzrostu różnorodności bakterii w pochwie w porównaniu do kobiet zdrowych, u których mikrobiom charakteryzuje się mniejszą różnorodnością. Może to zwiększać ryzyko zachorowania na raka szyjki macicy [11]. Dieta może również istotnie wpływać na ryzyko wystąpienia raka endometrium. Spożywanie warzyw, przestrzeganie zasad diety śródziemnomorskiej oraz niski wskaźnik zapalny w diecie będą działać ochronnie przed tym nowotworem. Natomiast produkty odzwierzęce mogą zwiększać poziom markerów prozapalnych, takich jak białko C-reaktywne (CRP), których podwyższony poziom zwiększa ryzyko zachorowania na raka endometrium [8]. Badania sugerują, że wyższe spożycie zielonej herbaty może wiązać się z mniejszym prawdopodobieństwem rozwoju tego nowotworu [6]. Do negatywnych czynników ryzyka raka endometrium zalicza się starszy wiek, brak ciąż w wywiadzie, cukrzycę, stosowanie terapii hormonalnej opartej wyłącznie na estrogenach oraz otyłość [6]. Wykazano, że przyrost masy ciała o około 20 kg może podwoić ryzyko zachorowania [8]. Ponadto częstość występowania stanów przedrakowych jest wyższa u osób z nadwagą i otyłością. Co ciekawe, większe spożycie „energii” pochodzącej z tłuszczu wiąże się ze wzrostem ryzyka raka endometrium, natomiast „energia” dostarczana z węglowodanów i białek nie wykazuje takiego wpływu. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe, obecne między innymi w owocach morza, wykazują działanie przeciwzapalne i mogą odgrywać korzystną rolę w prewencji raka endometrium [6].

Wnioski: Brakuje dobrze zaprojektowanych badań potwierdzających wpływ diety i stylu życia na endometriozę, jednak dieta bogata w kwasy omega-3, N-acetylocysteinę i polifenole może zmniejszać jej ryzyko. W przypadku raka piersi dieta bogata w warzywa, owoce, wapń i kwasy omega-3 oraz ograniczenie tłuszczów zwierzęcych i produktów mlecznych może działać ochronnie. Spożycie witamin A, C, D i E może hamować rozwój raka szyjki macicy, natomiast dieta bogata w tłuszcze nasycone i czerwone mięso może zwiększać ryzyko raka endometrium, podczas gdy warzywa, produkty roślinne i kwasy omega-3 mogą działać ochronnie. Istnieją dowody na pozytywny wpływ diety na choroby ginekologiczne, jednak potrzebne są dalsze badania eksperymentalne uwzględniające czynniki zakłócające.

Literatura:

1. N. Habib, G. Buzzaccarini, G. Centini, GN. Moawad, PF. Ceccaldi, G. Gitas, I. Alkatout, G. Gullo, S. Terzic, Z. Sleiman, *Prz Menopauzalny*, 21 (2022) 124.
2. A. Cao, DA. Esserman, B. Cartmel, ML. Irwin, LM. Ferrucci, *J Natl Cancer Inst*, 116 (2024) 1095.
3. A. El-Sherif, S. El-Sherif, AH. Taylor, T. Ayakannu, *Nutr Cancer*, 73 (2021) 1092.
4. K. Tanha, A. Mottaghi, M. Nojomi, M. Moradi, R. Rajabzadeh, S. Lotfi, L. Janani, *J Ovarian Res*, 14 (2021) 153.
5. S. Pimple, G. Mishra, *Cytojournal*, 19 (2022) 21
6. M. Ciebiera, S. Esfandyari, H. Siblini, L. Prince, H. Elkafas, C. Wojtyła, A. Al-Hendy, M. Ali, *Nutrients*, 13 (2021) 1178.
7. T. Wang, T.E. Rohan, M.J. Gunter, X. Xue, J. Wactawski-Wende, S.N. Rajpathak, M. Cushman, H.D. Strickler, R.C. Kaplan, S. Wassertheil-Smoller, P.E. Scherer, G.Y. Ho, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 20 (2011) 971.
8. S. Afrin, A. AlAshqar, M. El Sabeh, M. Miyashita-Ishiwata, L. Reschke, JT. Brennan, A. Fader, MA. Borahay, *Nutrients*, 13 (2021) 1747.
9. T.N. Borger, GE. Puleo, JN. Rivera Rivera, D. Montgomery, WR. Bowling, JL. Burris, *Psychol Addict Behav*, 36 (2022) 109.
10. Q. Zou, Y. Wu, S. Zhang, S. Li, S. Li, Y. Su, L. Zhang, Q. Li, H. Zou, X. Zhang, T. Wang, S. Liang, J. Yang, C. Li, *Virulence*, 15 (2024) 2319962.
11. K. Sharifian, Z. Shoja, S. Jalilvand, *Virol J*, 20 (2023) 73.

ZASTOSOWANIE NANOCZĄSTEK MAGNETYCZNYCH JAKO MODYFIKATORÓW POWIERZCHNI CZUJNIKÓW WOLTAMPEROMETRYCZNYCH W ANALIZIE ŚLADOWEJ JONÓW Cd(II) I Pb(II)

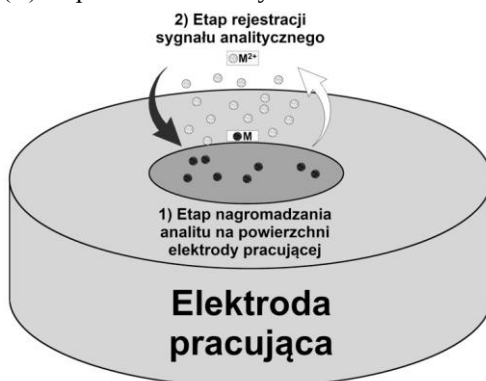
D. GORYLEWSKI, K. TYSZCZUK-ROTKO, K. STANIEC, A. KELLER, A. LIWAK, UMCS, Instytut Nauk Chemicznych Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Jony metali ciężkich stają się co raz większym problemem środowiskowym we współczesnym świecie. Postępująca industrializacja sprawia, że rośnie ryzyko narażenia na obecność tych jonów w żywności oraz wodach pitnych. Ekspozycja na Cd(II) i Pb(II) może przyczyniać się do rozwoju wielu chorób przewlekłych, w tym również nowotworów. W związku z tym konieczny jest stały monitoring zawartości kadmu i ołowiu w próbkach żywnościowych oraz wody, przy pomocy czułych narzędzi takich jak woltamperometria strippingowa. Technika ta w połączeniu z odpowiednio zaprojektowanym czujnikiem na bazie nanocząstek magnetycznych pozwala uzyskać bardzo niskie granice wykrywalności i wysokie czułości przy oznaczaniu Cd(II) i Pb(II) w próbkach środowiskowych i żywności. Pomimo wielu zalet, nanocząstki magnetyczne mają tendencję do agregacji oraz utleniania się, w wyniku czasu zmniejszeniu ulega ich aktywność. Problemy te można zniwelować na dwa sposoby: poprzez pokrycie nanocząstek specjalnym polimerem lub poprzez zastosowanie materiału węglowego jako szkieletu. Przedstawione w literaturze czujniki korzystające z tych koncepcji, pozwalają na uzyskanie bardzo dobrych parametrów analitycznych pod kątem oznaczania jonów Cd(II) i Pb(II) oraz z powodzeniem zostały wykorzystane do oznaczania ich zawartości w próbkach środowiskowych. Ponadto przeprowadzone badania własne wykazały możliwość jeszcze lepszej poprawy parametrów analitycznych czujników na bazie nanocząstek magnetycznych Fe₃O₄ oraz skrócenia czasu analizy, za sprawą m.in. połączenia obu wymienionych wyżej metod modyfikacji nanocząstek.

Wprowadzenie: Zanieczyszczenie środowiska naturalnego przez jony metali ciężkich (ang. *Heavy Metal Ions*; HMI) stanowi co raz większe zagrożenie dla organizmów żywych. Rozwój przemysłu przyczynia się do znacznego zwiększenia ich rozprzestrzeniania się w środowisku naturalnym. Jony metali takich jak kadm i ołów mają zdolność przenikania do gleb i wód gruntowych, przyczyniając się do ich skażenia [1,2]. Ze względu na wysoką toksyczność i potencjał do bioakumulacji, opracowano regulacje określające maksymalne, dopuszczalne poziomy stężeń Cd(II) i Pb(II) w żywności i wodzie pitnej. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) określiła maksymalną zawartość kadmu i ołowiu w wodach pitnych na odpowiednio 3 µg L⁻¹ i 10 µg L⁻¹ [3]. W związku z tym konieczne wydaje się być opracowanie odpowiednio czułych metod, które pozwolą na proste i szybkie określenie zawartości tych pierwiastków w produktach przeznaczonych do spożycia, na odpowiednio niskim poziomie stężeń.

Woltamperometria strippingowa (ang. *Stripping Voltammetry*; SV) jest techniką analityczną charakteryzującą się wysoką czułością, dzięki możliwości nagromadzania analitu na powierzchni elektrody pracującej przed etapem rejestracji sygnału analitycznego (Rys.

1). Dzięki temu możliwe jest uzyskanie bardzo niskich granic wykrywalności (ang. *Limit of Detection*; *LOD*) i oznaczalności (ang. *Limit of Quantification*; *LOQ*) oraz wysokiej czułości w stosunkowo krótkim czasie jednego pomiaru. Najważniejszym elementem w woltamperometrii jest elektroda pracująca, której powierzchnia odgrywa kluczową rolę w oznaczaniu danego związku lub jonu. W związku z tym poszukuje się nowych materiałów elektrodowych, które pozwolą na jednoczesną i czułą analizę jonów metali ciężkich takich jak Cd(II) i Pb(II) na poziomie śladowym.



Rys. 1. Uproszczony schemat uzyskiwania sygnału analitycznego przy pomocy metody SV.

Nanocząstki magnetyczne (ang. *magnetic nanoparticles*; *MNPs*) zyskują co raz większą popularność w związku z wieloma zaletami, które posiadają. Zwłaszcza nanocząstki magnetyczne tlenku żelaza (II, III) (Fe_3O_4 NPs) zyskały światowe uznanie, dzięki niskiej toksyczności, biokompatybilności, łatwości przygotowania a także doskonałym właściwościom adsorpcyjnym i katalitycznym, pod kątem oznaczania jonów metali ciężkich. W związku z tym, są one doskonałym materiałem elektrodowym do oznaczania Cd(II) i Pb(II). Największymi wadami MNPs są: podatność na utlenianie oraz tendencja do agregacji, przez co ich aktywność katalityczna ulega pogorszeniu [1,2,4,5]. Przedstawione wady nanocząstek magnetycznych mogą być zniwelowane na dwa sposoby. Poprzez wykorzystanie odpowiedniego, dobrze przewodzącego materiału węglowego, który dostarcza dodatkową liczbę miejsc aktywnych i zapewnia bardziej homogeniczne rozłożenie MNPs na ich powierzchni oraz poprzez powlekanie nanocząstek przy pomocy organicznego materiału powłokotwórczego. Ten drugi sposób zapobiega utlenianiu się nanocząstek, zwiększa ich homogeniczność oraz pozwala na wprowadzenie dodatkowych grup funkcyjnych, dobrze oddziałujących z badanym analitem [1,4,5].

Część eksperymentalna: Pomiaru przy pomocy woltamperometrii strippingowej wykonano stosując układ trójelektrodowy w klasycznym naczynku elektrochemicznym o pojemności 10 ml. Do przygotowania czujnika wykorzystano komercyjnie dostępne odczynniki chemiczne. Eksperymenty przeprowadzono z wykorzystaniem analizatora elektrochemicznego $\mu\text{Autolab}$ pod kontrolą oprogramowania GPES 4.9.

Wyniki: W tabeli 1 zestawiono wybrane procedury jednoczesnego oznaczania Cd(II) i Pb(II) przy pomocy woltamperometrii strippingowej, wykorzystujące czujniki oparte na

nanocząstkach magnetycznych. Wszystkie wymienione procedury [1, 2, 4, 6-9] charakteryzują się szerokimi zakresami liniowości krzywej kalibracyjnej, niskimi granicami wykrywalności rzędu $10^{-9} - 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ oraz wysokimi wartościami czułości zarówno przy oznaczaniu jonów Cd(II) jak i Pb(II). Najniższą granicę wykrywalności w przypadku oznaczania jonów Cd(II) osiągnięto dla czujnika wykorzystującego elektrodę z węgla szklanego modyfikowaną tlenkiem grafenu, nanocząstkami Fe_3O_4 oraz dendrymerem poliamidoaminowym (GCE/GO- Fe_3O_4 -PAMAM), a dla jonów Pb(II) stosując elektrodę z węgla szklanego zmodyfikowaną nanocząstkami małych rozmiarów typu core-schell chitozanu i ferrytu kobaltowego (GCE/Co Fe_2O_4 @CTS). Warto podkreślić, że większość wymienionych w tabeli 1 procedur wykorzystuje bardzo długi etap nagromadzenia analitu na powierzchni elektrody pracującej przed pomiarem równy nawet 300 s, co znacząco wydłuża czas analizy. Przeprowadzone przez nas badania wstępne wskazują, że możliwe jest znaczące skrócenie tego czasu nawet o 50 % oraz zwiększenie czułości, poprzez zastosowanie kompozytu na bazie materiału węglowego, funkcjonalizowanych nanocząstek magnetycznych Fe_3O_4 , polimeru o właściwościach kationowymiennych oraz błonki metalicznej. Obecnie prowadzone są prace nad optymalizacją tej procedury.

Tabela 1. Porównanie parametrów wybranych procedur jednoczesnego oznaczania Cd(II) i Pb(II).

(Technika) Czujnik	Parametry Analityczne	Oznaczone jony		Zastosowanie	Lit.
		Cd(II)	Pb(II)		
(SWASV) GCE/ $\text{C}_3\text{N}_4/\text{Bi}_2\text{O}_3/\text{Fe}_3\text{O}_4$	LOD [nmol L^{-1}]* Czułość [$\mu\text{A} / \mu\text{mol L}^{-1}$]*	3,0 51,1	1,0 82,5	woda z rzeki	[6]
(SWASV) mCPE/ Fe_3O_4 @G2-PAD	LOD [nmol L^{-1}]* Czułość [$\mu\text{A} / \mu\text{mol L}^{-1}$]*	1,9 31,2	0,8 73,6	próbki rzek, ścieków i wody z jeziora	[7]
(SWASV) mGCE/GSH@ Fe_3O_4	LOD [nmol L^{-1}]* Czułość [$\mu\text{A} / \mu\text{mol L}^{-1}$]*	1,5 8,7	0,9 28,2	środowiskowe próbki wodne	[1]
(SWASV) GCE/CD/LSG/MWCNTs/ $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{BiF}$	LOD [nmol L^{-1}]* Czułość [$\mu\text{A} / \mu\text{mol L}^{-1}$]*	0,9 10,9	0,3 43,5	woda kranowa	[4]
(SWASV) GCE/GO- Fe_3O_4 -PAMAM	LOD [nmol L^{-1}]* Czułość [$\mu\text{A} / \mu\text{mol L}^{-1}$]*	0,6 21,2	0,6 32,1	próbki z jezior i rzek	[8]
(DPAdSV) GCE/Co Fe_2O_4 @CTS	LOD [nmol L^{-1}]* Czułość [$\mu\text{A} / \mu\text{mol L}^{-1}$]*	2,8 3,3	0,2 43,3	środowiskowe próbki wodne	[2]
(SWASV) GCE/BiNPs@Co Fe_2O_4	LOD [nmol L^{-1}]* Czułość [$\mu\text{A} / \mu\text{mol L}^{-1}$]*	8,2 42,7	7,3 50,0	woda wodociągowa	[9]

Objaśnienie użytych akronimów:

SWASV - anodowa woltamperometria stripingowa fali prostokątnej; DPASV – impulsowo-różnicowa anodowa woltamperometria stripingowa; DPAdSV – impulsowo-różnicowa adsorpcyjna woltamperometria stripingowa; GCE/ $\text{C}_3\text{N}_4/\text{Bi}_2\text{O}_3/\text{Fe}_3\text{O}_4$ – elektroda z węgla szklanego modyfikowana kompozytem na bazie azotku węgla, tlenku bizmutu oraz nanocząstek magnetycznych Fe_3O_4 ; mCPE/ Fe_3O_4 @G2-PAD – magnetyczna węglowa elektroda pastowa modyfikowana poliaminoamidowym dendrymerem funkcjonalizowanym nanocząstkami Fe_3O_4 ; mGCE/GSH@ Fe_3O_4 – magnetyczna elektroda z węgla szklanego modyfikowana glutationem i nanocząstkami magnetycznymi Fe_3O_4 ; GCE/CD/LSG/MWCNTs/ $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{BiF}$ – elektroda z węgla szklanego modyfikowana grafenem znakowanym laserem, powlekana chitozanem, dotowana nanocząstkami Fe_3O_4 oraz pokryta błoną bizmutu; GCE/GO- Fe_3O_4 -PAMAM – elektroda z węgla szklanego modyfikowana tlenkiem grafenu, nanocząstkami Fe_3O_4 oraz dendrymerem poliamidoaminowym; GCE/Co Fe_2O_4 @CTS – elektroda z węgla szklanego zmodyfikowana nanocząstkami małych rozmiarów typu core-schell chitozanu (CTS) i ferrytu kobaltowego (Co Fe_2O_4 @CTS); GCE/BiNPs@Co Fe_2O_4 – elektroda z węgla szklanego modyfikowana kompozytem na bazie ferrytu kobaltowego i nanocząstek bizmutu.

*Jednostki parametrów analitycznych przedstawionych w publikacji zostały przeliczone na nmol L^{-1} oraz $\mu\text{A / } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Wnioski: Wybrane woltamperometryczne procedury jednoczesnego oznaczania Cd(II) i Pb(II) przedstawione w literaturze [1, 2, 4, 6-9] pozwalają na oznaczanie tych jonów na śladowym poziomie stężeń w próbkach środowiskowych. Nanocząstki magnetyczne pozwalają na opracowanie czujników o bardzo dobrych parametrach analitycznych, a ich modyfikacja przy pomocy organicznych powłok oraz zastosowanie węglowego szkieletu pozwala na znaczące poprawienie parametrów analitycznych przy oznaczaniu zawartości kadmu i ołowiu w próbkach rzeczywistych. Procedury pozwalające obecnie osiągnąć najniższe wartości LOD i LOQ wykorzystują właśnie wyżej wymienione sposoby modyfikacji nanocząstek. Przeprowadzone badania wstępne wykazały, że poprzez zastosowanie kompozytu na bazie materiału węglowego, funkcjonalizowanych nanocząstek magnetycznych Fe_3O_4 , polimeru o właściwościach kationowymiennych oraz błonki metalicznej prawdopodobnie po optymalizacji będzie możliwe uzyskanie jeszcze lepszych parametrów analitycznych oraz skrócenie czasu analizy nawet o połowę.

Literatura:

1. M. Baghayeri, A. Amiri, B. Maleki, Z. Alizadeh, O. Reiser, Sens. Actuators B Chem. 273 (2018) 1442.
2. A.G.D.S. Neto, J.H. Costa, F.D.M. Morawski, G. Valentini, F.L. Fanta, A.L. Parize, C.L. Jost, ACS Appl. Nano Mater. 7 (2024) 18499.
3. J.A. Cotruvo, 2017 WHO Guidelines for Drinking Water Quality: First Addendum to the Fourth Edition, J. AWWA 109 (2017) 44.
4. Z. Xu, X. Fan, Q. Ma, B. Tang, Z. Lu, J. Zhang, G. Mo, J. Ye, J. Ye, Mater. Chem. Phys. 238 (2019) 121877.
5. W. Wu, M. Jia, Z. Zhang, X. Chen, Q. Zhang, W. Zhang, P. Li, L. Chen, Ecotoxicol. Environ. Saf. 175 (2019) 243.
6. Y. Pu, Y. Wu, Z. Yu, L. Lu, X. Wang, Talanta Open 3 (2021) 100024.
7. B. Maleki, M. Baghayeri, M. Ghanei-Motlagh, F. Mohammadi Zonoz, A. Amiri, F. Hajizadeh, A. Hosseiniifar, E. Esmailnezhad, Measurement 140 (2019) 81.
8. M. Baghayeri, H. Alinezhad, M. Fayazi, M. Tarahomi, R. Ghanei-Motlagh, B. Maleki, Electrochimica Acta 312 (2019) 80.
9. Y. He, Z. Wang, L. Ma, L. Zhou, Y. Jiang, J. Gao, RSC Adv. 10 (2020) 27697.

ZASTOSOWANIE METOD CHEMOMETRYCZNYCH DO ANALIZY WIDM SPEKTROSKOPOWYCH

Z. PUDZIANOWSKA, A. ZAGOZDON, K. JAŚKOWSKI, A. KRYSKA, M. SAWIC, B. GIEROBA, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Samodzielna Pracownia Spektroskopii i Obrazowania Chemicznego, Chodźki 4a, 20-093 Lublin

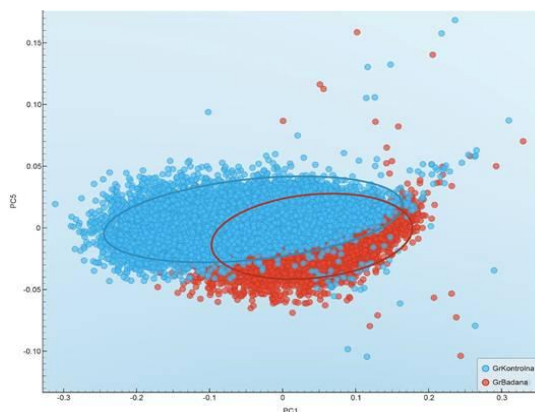
Abstrakt: W pracy przedstawiono porównanie metod chemometrycznych w analizie widm spektroskopowych na przykładzie analizy danych uzyskanych z obrazowania spektroskopowego próbek nerek szczurów z wyindukowaną cukrzycą typu drugiego. Badania oparto na spektroskopii ramanowskiej, wykorzystując następujące techniki chemometryczne: analizę głównych składowych (Principal Component Analysis, PCA), regresję logistyczną oraz drzewo decyzyjne (Decision tree, DT). Analizę PCA zastosowano w celu wizualizacji różnic między grupami, podczas gdy regresja logistyczna i DT posłużyły do klasyfikacji próbek oraz identyfikacji zmiennych o największym znaczeniu. Analiza PCA wykazała częściowe rozdzielenie grup, sugerując homogenizację zmian w próbkach patologicznych. Regresja logistyczna potwierdziła wysoką skuteczność klasyfikacyjną, podczas gdy DT zidentyfikowało kluczowe liczby falowe (np. 2936 cm^{-1}) jako potencjalne biomarkery różnicujące profile metaboliczne. Wyniki wskazują, że połączenie metod chemometrycznych ze spektroskopią ramanowską umożliwia precyzyjną identyfikację wzorców związanych z zaburzeniami biochemicznymi.

Wprowadzenie: Spektroskopia oscylacyjna to zaawansowana technika analityczna umożliwiająca ocenę chemiczną próbek, od pojedynczych związków chemicznych po całe tkanki, nie wymagając przy tym ich specjalnego przygotowania. Metoda ta opiera się na interakcji materii z promieniowaniem elektromagnetycznym poprzez absorpcję, emisję lub rozpraszanie fotonów, co wywołuje charakterystyczne zmiany w energii drgań molekularnych cząsteczek. Zmiany te są przedstawione w postaci widm, których pasma są charakterystyczne dla danych grup funkcyjnych, co pozwala na identyfikację składu atomowego cząsteczek [1]. Na przykład maksimum pasma amidowego I w okolicach 1626 cm^{-1} jest typowe dla białek o konformacji β -karkty [2]. Zjawiska te wykorzystywane są m.in. w spektroskopii ramanowskiej, która dzięki analizie widm stanowi niezwykle precyzyjne narzędzie do badania składu molekularnego próbek [3]. Jedną z metod chemometrycznych stosowanych w analizie danych spektroskopowych jest analiza głównych składowych (Principal Component Analysis - PCA). Identyfikuje ona nowe osie znane jako główne składowe podkreślając znaczące różnice. PCA ułatwia analizę i interpretację informacji poprzednio dzieląc zestaw informacji. Pierwszym krokiem analizy jest uzyskanie macierzy danych, w której każdy wiersz reprezentuje obserwację, a każda kolumna cechę. Układ współrzędnych obraca się tak aby jedna oś była zgodna z kierunkiem, w którym dane różnią się najbardziej, a kolejna oś przejmuje inną najwyższą wariancję. Następnie poprzez uzyskanie macierzy kowariancji możliwe jest wykrycie subtelnych różnic pomiędzy grupami próbek [4]. Kolejną ważną metodą chemometryczną jest regresja logistyczna. Umożliwia ona mierzenie powiązań, przewidywanie wyników oraz kontrolowanie efektów zmiennych zakłócających. Model ten szacuje prawdopodobieństwo przynależności

danej próbki do określonej klasy, wykorzystując funkcję logistyczną do odwzorowania zależności między zmiennymi predyktorowymi a zmienną zależną. Wykorzystując elementy regresji liniowej odzwierciedlone w skali logitowej, regresja logistyczna iteracyjnie identyfikuje najsilniejszą liniową kombinację zmiennych z największym prawdopodobieństwem wykrycia obserwowanego wyniku [5]. Równie ważną techniką chemometryczną jest drzewo decyzyjne (Decision Tree - DT). Choć chemometria tradycyjnie opiera się na metodach wielowymiarowej analizy statystycznej, takich jak wspomniana analiza PCA, drzewo decyzyjne można uznać za narzędzie komplementarne, umożliwiające eksplorację struktury danych i identyfikację zmiennych o największym znaczeniu w klasyfikacji próbek [6,7]. Ważną składową analizy DT jest Indeks Giniego (GI), który służy jako wskaźnik oceny nieczystości zbioru danych oraz do pomiaru znaczenia cech w selekcji cech [8]. Dzięki hierarchicznej strukturze podejmowania decyzji DT pozwala na intuicyjne interpretowanie wyników oraz identyfikację istotnych biomarkerów różnicujących grupy badawcze w analizach metabolomicznych i spektroskopowych [6,7].

Część eksperymentalna: Analizę chemometryczną przeprowadzono na próbkach pozyskanych od szczurów Wistar. Zdrowe szczury stanowiły próbę kontrolną, natomiast grupę badawczą stanowiły szczury z wyindukowaną cukrzycą typu drugiego. Po dekapitacji szczurów, zostały pobrane nerki, które zostały zamrożone w ciekłym azocie i pocięte za pomocą kriostatu (Leica CM 1950, Leica Biosystems, Wetzlar, Germany) na skrawki o grubości 4 μm , naniesione na szkiełka mikroskopowe powleczone warstwą aluminium [9]. Tkanki zobrazowano za pomocą spektrometru WITec alpha300 R Raman Imaging Microscope (WITec GmbH, Ulm, Germany) z wykorzystaniem lasera o długości fali 532 nm i mocy równej 10 mW. Czas integracji wynosił 0,5 s, a obrazy rejestrowano na mapie o rozmiarze $60 \times 60 \mu\text{m}$ z krokiem 0,5 μm przy powiększeniu $\times 100$. Do analizy widma zostały przycięte do zakresu $400\text{--}3500 \text{ cm}^{-1}$ oraz przeprowadzono korekcję linii bazowej i normalizację wektorową za pomocą programu WITec Project SIX (WITec GmbH, Ulm, Germany), używając algorytmu Shape mask o wartości 170.

Wyniki: Wyniki analizy widm metodą PCA uzyskanych z kory nerki szczura zwizualizowano na wykresie współrzędnych głównych (Rys. 1.). Wykres przedstawia rozmieszczenie próbek w przestrzeni głównych składowych PCA. Grupa kontrolna (GrKontrolna) oznaczona jest kolorem niebieskim, natomiast grupa badana (GrBadana), zaznaczona jest kolorem czerwonym. Widoczne częściowe rozdzielenie grup wskazuje na różnice w widmach spektroskopowych, choć pewien stopień nakładania się sugeruje wspólne cechy. Dwie elipsy przedstawione na wykresie reprezentują obszary, w których z 95% prawdopodobieństwem znajdują się dane danej grupy [10]. Wykazują one, że grupa badana jest bardziej zwarta, co może sugerować homogenizację zmian spektralnych związanych z cukrzycą.



Rys. 1. Wykres współrzędnych głównych przedstawiający wyniki analizy PCA widm uzyskanych z obrazowania próbek kontrolnej i próbek z wyindukowaną cukrzycą typu II.

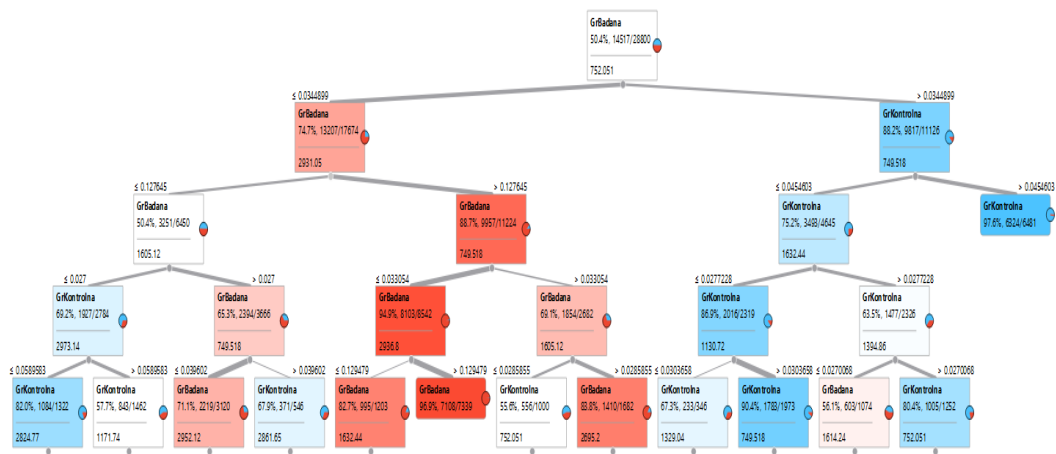
Tabela 1. przedstawia wyniki oceny modelu regresji logistycznej wykorzystanego do klasyfikacji danych. Wskaźnik AUC (Area Under the ROC Curve) oznacza pole pod krzywą ROC (Receiver Operating Characteristic), która obrazuje zależność między czułością, a specyficznością przy różnych progach decyzyjnych. Wartość AUC wynosząca 0,987 potwierdza wysoką zdolność modelu do rozróżniania grupy kontrolnej od badanej [11]. Dokładność klasyfikacji (CA) kształtuje się na poziomie 94,5%, natomiast wskaźnik F1, stanowiący średnią harmoniczną precyzji i czułości, wynosi 0,945, co wskazuje na bardzo dobrą jakość klasyfikacji [12].

Tab.1. Metryki oceny skuteczności modelu regresji logistycznej w klasyfikacji danych spektroskopowych próbki kontrolnej oraz próbki z wyindukowaną cukrzycą typu II.

Model	AUC	CA	F1
Regresja logistyczna	0,987	0,945	0,945

Opracowany model Drzewa decyzyjnego (DT) (Rys. 2.) skutecznie klasyfikuje i rozróżnia profile metaboliczne nerek szczurów z grupy eksperymentalnej (GrBadana, kolor czerwony) oraz grupy kontrolnej (GrKontrolna, kolor niebieski). Główny węzeł drzewa identyfikuje metabolit o największej mocy dyskryminacyjnej, który stanowi kluczowy biomarker rozróżniający próbki. Kolejne rozgałęzienia ukazują hierarchię zmian metabolicznych, które prowadzą do separacji grup, wskazując na biochemiczne mechanizmy leżące u podstaw patologicznych zmian w nerkach. Każdy węzeł decyzyjny określa próg stężenia metabolitu, powyżej którego próbka jest klasyfikowana do jednej z grup. Zmniejszenie GI sygnalizuje wzrastającą pewność modelu, co jest przedstawione za pomocą kolorystyki. Intensywniejszy kolor wskazuje na wyraźniejszą różnicę metaboliczną. Struktura drzewa sugeruje istotne zmiany biochemiczne w grupie eksperymentalnej, które mogą być związane z zaburzeniami w metabolizmie lipidów, białek oraz stresem oksydacyjnym. Dana

metoda analityczna pozwoliła wyłonić liczbę falową 2936 cm^{-1} , która wykazuje 94,5% specyficzność dla grupy badanej w stosunku do grupy kontrolnej.



Rys. 2. Drzewo decyzyjne ilustrujące hierarchiczną klasyfikację próbki kontrolnej oraz próbki z wyindukowaną cukrzycą typu II.

Wnioski: Zastosowanie metod chemometrycznych w analizie widm spektroskopowych umożliwia efektywną klasyfikację oraz wyodrębnienie istotnych zmian. Metody takie jak PCA, regresja logistyczna, czy DT umożliwiają uchwycenie zarówno prostych, jak i złożonych zależności w danych, co czyni je cennym narzędziem w badaniach nad strukturą i składem próbek. Zdolność do wskazania najistotniejszych zmiennych przekłada się natomiast na bardziej precyzyjną interpretację wyników.

Literatura:

1. S.K. Pirutin, S. Jia, A. Yusipovich, M.A. Shank, E.Y. Parshina, A.B. Rubin, *Vibrational Spectroscopy as a Tool for Bioanalytical and Biomonitoring Studies*, 1 (2023) 24086947.
2. K. Małek, *Spektroskopia oscylacyjna. Od teorii do praktyki* (praca zbiorowa), PWN, 2016.
3. J.J. Ojeda, M. Dittich, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Molecular Analysis of Microbial Cells*, 6 (2012) 187.
4. F. L. Gewers et al., *Principal Component Analysis*, *ACM Comput Surv*, 54 (2022) 1.
5. J.C. Stoltzfus, *Academic Emergency Medicine*, 18 (2011) 1099.
6. C.H. Flayer, C. Perner, C.L. Sokol, *A decision tree model for neuroimmune guidance of allergic immunity*, 2021, John Wiley and Sons Inc.
7. R. Vallée et al., *Front Oncol*, 13 (2023) 1089998.
8. Y. Zhang et al., *PeerJ Comput Sci*, 9 (2023) e1711.
9. A. Kryska et al., *Nanomedicine*, 64 (2025) 102804.
10. F. Husson, V. Bocquet, J. Pagès, *Sens Stud*, 19 (2004) 510.
11. AUC and ROC: The Dynamic Duo of Model Performance Assessment | by Soumya Prusty | Medium'. Accessed: Mar. 06, 2025.
12. Logistic Regression Metrics Demystified: Accuracy, Precision, Recall, F1, Specificity, and AUC — All You Need to Know by Soumya Prusty, Accessed: Mar. 06, 2025.

ANALIZA ROŚLINNYCH ZWIĄZKÓW FLAWONOIDOWYCH TECHNIKĄ UPLC-ESI-MS

A. SAGAN, D. KIDAJ, K. ZAMLYŃSKA, A. SWATEK, I. KOMANIECKA, UMCS,
Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, ul. Akademicka 19,
20-033 Lublin

Abstrakt: Flawonoidy to roślinne związki polifenolowe, pełniące funkcje ochronne i regulacyjne w roślinach oraz wykazujące działanie prozdrowotne u ludzi. Spektrometria mas (MS) w połączeniu z chromatografią cieczową (LC-MS) jest kluczową techniką analityczną umożliwiającą identyfikację i analizę ilościową tych związków. W eksperymencie przeprowadzonym na gryce zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum*) analizowano flawonoidy w różnych organach rośliny (t.j.: pęd, liść, kwiat, orzeszki), stosując technikę UPLC-ESI-MS. We wszystkich badanych organach stwierdzono obecność rutyny, która była dominującym flawonoidem w liściach i kwiatach. W liściach zaobserwowano również znaczne ilości orientyny i kwercetyny, natomiast w kwiatach –kwercetynę i izoorientynę.

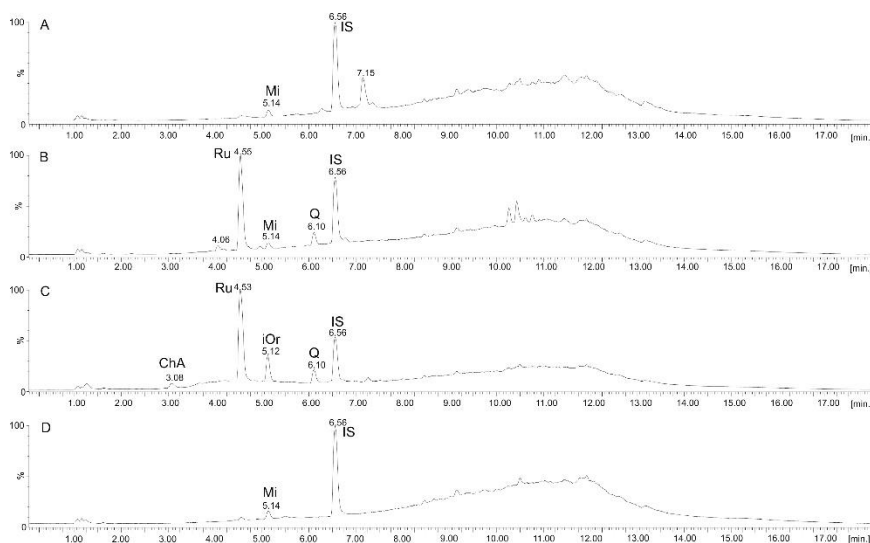
Wprowadzenie: Flawonoidy to szeroka grupa wtórnych metabolitów roślinnych, które odgrywają kluczową rolę w biologii roślin i wykazują liczne korzyści zdrowotne dla ludzi. Są to związki polifenolowe, charakteryzujące się obecnością dwóch pierścieni benzenowych połączonych trójwęglowym łańcuchem (C6-C3-C6). W zależności od stopnia oksydacji i wzoru podstawników, flawonoidy dzieli się na różne klasy. Pierwszą z nich są flawonole, które charakteryzują się silnymi właściwościami utleniającymi, antybakteryjnymi. Wykazano także ich wpływ na zmniejszenie ryzyka raka żołądka u palaczy oraz kobiet. Występują one powszechnie w warzywach i owocach. Drugą grupą są flawony działające przeciwzapalnie i przeciwnowotworowo, występujące głównie w ziołach, selerze, pietruszce i czerwonej papryce. Flawanony charakteryzują się działaniem antyoksydacyjnym i wpływają pozytywnie na układ immunologiczny. Można je znaleźć przede wszystkim w owocach cytrusowych. Z kolei izoflawony wykazują działanie fitoestrogenne, ze względu na podobieństwo strukturalne do żeńskiego hormonu 17- β -estradiolu, dzięki czemu mogą przyłączać się do receptorów estrogenowych. Obecne są w roślinach strączkowych, głównie soi. Przedostatnią grupą są flawanole będące antyoksydantami obecnymi w herbacie, kakao oraz owocach jagodowych. Antocyjany natomiast są odpowiedzialne za czerwone, fioletowe oraz niebieskie zabarwienie owoców i kwiatów. Występują one w winogronach, śliwkach czy burakach i mają właściwości przeciwutleniające oraz korzystnie wpływają na układ sercowo-naczyniowy [1,2,3]. W roślinach flawonoidy pełnią istotne funkcje ochronne, regulacyjne i są zaangażowane w obronę przed stresem oksydacyjnym, promieniowaniem UV oraz patogenami [4]. Uczestniczą także w procesach sygnalizacyjnych, wpływając na wzrost i rozwój roślin [5]. Dzięki swoim właściwościom barwnikowym odpowiadają za intensywne zabarwienie kwiatów i owoców, co sprzyja zapylaniu i rozsiewaniu nasion. Flawonoidy mają istotne znaczenie dla zdrowia ludzi, ze względu na dowiedzione silne właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne

i przeciwnowotworowe [6]. Badania wykazały, że regularne spożycie związków z tej grupy może przyczynić się do redukcji ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych oraz niektórych nowotworów. Ponadto flawonoidy wpływają na regulację ciśnienia krwi, poprawiają funkcjonowanie układu odpornościowego i mogą wspomagać procesy regeneracyjne organizmu [3,6]. Właściwości te sprawiają, że flawonoidy stanowią istotny składnik nutraceutyków oraz suplementów diety. Spektrometria mas (MS) jest jedną z najważniejszych technik analitycznych stosowanych w badaniach flawonoidów w roślinach, ponieważ pozwala na ich dokładną identyfikację i charakterystykę poprzez precyzyjny pomiar stosunku masy do ładunku jonów (m/z). Jedną z najczęściej stosowanych technik badawczych jest chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (LC-MS). Łączy ona zdolność rozdzielczą chromatografii cieczowej z wysoką czułością spektrometrii mas, co pozwala na skuteczne rozdzielenie i identyfikację flawonoidów w złożonych matrycach roślinnych [7]. Kluczową techniką jonizacji stosowanych w spektrometrii mas jest jonizacja elektrosprejem (ESI), która pozwala na łagodną jonizację termolabilnych cząsteczek, jakimi są flawonoidy. W połączeniu z LC-MS technika ta umożliwia również analizę związków o dużej masie cząsteczkowej, poprzez wytwarzanie wielokrotnie naładowanych jonów. Nowoczesnym podejściem jest zastosowanie w analizie flawonoidów wysokorozdzielczej spektrometrii mas z niezależną od danych akwizycją (DIA). W tej technice możliwe jest jednoczesne zbieranie danych dla wszystkich jonów prekursorowych i ich fragmentów, co pozwala na kompleksowe profilowanie flawonoidów [8]. Właściwości fizykochemiczne związków flawonoidowych znacznie wpływają na ich analizę, szczególnie w technikach opartych na spektrometrii mas. Są to związki słabo rozpuszczalne w wodzie, natomiast dobrze rozpuszczają się w rozpuszczalnikach organicznych, takich jak metanol, etanol czy aceton. Dzięki temu możliwa jest ich ekstrakcja z materiału roślinnego. Flawonoidy wykazują wrażliwość na zmiany pH, wysoką temperaturę oraz światło UV. Potrafią tworzyć kompleksy z metalami oraz mogą ulegać utlenieniu, co jest istotne podczas przygotowywania próbek. W kontekście chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS) istotną cechą jest to, że absorbują światło w zakresie UV (200-400 nm), przez co są łatwo wykrywalne. Dobrze się jonizują także w trybie ESI w warunkach dodatnich jak i ujemnych a charakterystyczne fragmenty jonów pozwalają na identyfikację klas flawonoidów w tandemowej spektrometrii masowej (MS/MS) [9].

Część eksperymentalna: Grykę zwyczajną (*Fagopyrum esculentum*) uprawiano w warunkach szklarniowych w doniczkach wypełnionych mieszaniną uniwersalnej ziemi ogrodowej oraz piasku. Rośliny zebrano w stadium pełnej dojrzałości (w 75 dniu uprawy, na etapie BBCH75). Z roślin wydzielono organy nadziemne (pędy, liście, kwiaty i orzeszki), które zliofilizowano, a następnie utarto na proszek w młynku. Flawonoidy ekstrahowano na zimno stosując 80 % metanol. Pozostałości tkanek roślinnych odwirowano, a ekstrakt metanolowy poddano frakcjonowaniu techniką SPE, na kolumnie ze złożem C18. Otrzymane preparaty poddano analizie techniką UPLC-ESI-MS. Do próbek dodano naringeninę jako wzorzec wewnętrzny. Rozdział chromatograficzny wykonano przy użyciu chromatografu AQUITY Ultra Performance LC system (Waters), na kolumnie analitycznej BEH C18, o wymiarach 2,1 x 100 mm, średnica ziaren: 1,7 μm , w temperaturze 40°C.

Kolumnę przemywano liniowym gradientem rozpuszczalników: od 85% A i 15% B do 1% A i 99% B, trwającym 18 min., przy przepływie fazy ruchomej 0,2 ml/min. Układ A - woda z 0,1% kwasu mrówkowego, układ B - acetonitryl/metanol 1:1 (v/v) z 0,1% kwasu mrówkowego. Analizę wycieku z kolumny wykonano przy użyciu spektrometru SYNAPT G2-Si HDMS (Waters) w trybie jonizacji ujemnej, jak zostało opisane w pracy Kidaj i wsp. [10]. Analizę ilościową przeprowadzono na podstawie wyników pomiarów z trzech niezależnych powtórzeń.

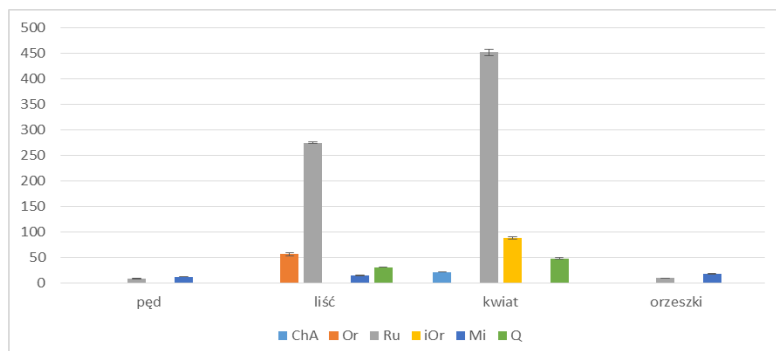
Wyniki: Badania prowadzono na modelu gryki zwyczajnej (*F. esculentum*), w uprawie szklarniowej. Z poszczególnych organów rośliny (pęd, liść, kwiat, orzeszki), po liofilizacji, izolowano flawonoidy. Ekstrakty analizowano techniką UPLC-ESI-MS (Rys. 1.). Wyniki analizy ilościowej zestawiono w Tabeli 1. i na Rys. 2.



Rys. 1. Chromatogramy UPLC-ESI-MS preparatów flawonoidów otrzymanych z pędów (A), liści (B) i kwiatów (C) i orzeszków (D) gryki zwyczajnej (*F. esculentum*). Oznaczenia: kwas chlorogenowy (ChA) 3,08 min, orientyna (Or) 4,19 min, rutyna (Ru) 4,55 min, izoorientyna (iOr) 5,12 min, kwercetyna (Q) 6,10 min, naringenina – wzorzec wewnętrzny (IS) 6,56 min.

Tabela 1. Zawartość flawonoidów w preparatach z pędu, liści, kwiatów i orzeszków gryki zwyczajnej (*F. esculentum*) zebranej na trzecim etapie dojrzewania (BBCH75). Podano wartości średnie $\pm$ SD z trzech powtórzeń.

t _R [min]	Zidentyfikowany związek	Ilości flawonoidów w organach gryki [μg/g suchej masy]			
		pęd	liść	kwiat	orzeszki
3,08	Kwas chlorogenowy (ChA)	-	-	21,5 ± 0,3	-
4,19	Orientyna (Or)	-	56,5 ± 3,3	-	-
4,55	Rutyna (Ru)	8,1 ± 0,5	274,7 ± 1,8	452,1 ± 6,2	10,0 ± 0,1
5,12	Izoorientyna (iOr)	-	-	88,7 ± 2,1	-
5,14	Mirycetyna (Mi)	12,1 ± 0,2	15,1 ± 0,5	-	18,4 ± 0,5
6,10	Kwercetyna (Q)	-	30,8 ± 0,2	47,9 ± 1,7	-



Rys. 2. Zestawienie zawartości zidentyfikowanych flawonoidów w poszczególnych organach gryki (pęd, liść, kwiat, orzeszki) na podstawie danych zawartych w Tabeli 1. Oznaczenia: ChA – kwas chlorogenowy; Or – orientyna; Ru – rutyna; iOr – izoorientyna; Mi – Mirycetyna; Q – kwercetyna.

W poszczególnych organach gryki zwyczajnej zidentyfikowano flawonoidy należące do głównych klas. Wykazano, że w każdym z badanych organów (pęd, liść, kwiat i orzeszki) jest obecna rutyna, której najwięcej występuje w kwiatach oraz w liściach. Liście gryki zwyczajnej zawierają ponadto znaczne ilości orientyny i kwercetyny. W kwiatach natomiast oprócz kwercetyny jest obecna również izoorientyna. Natomiast w orzeszkach dominowała mirycetyna, której z kolei nie odnotowano w kwiatach. W pracach Kidaj i wsp. [10] oraz Kalinova i wsp. [11] szczególnie duże ilości rutyny były obserwowane w liściach gryki zwyczajnej, a maksimum zawartości osiągane było pod koniec okresu wegetacyjnego. Kwercetyna, obecna zarówno w liściach jak i w kwiatach gryki, jest prekursorem w biosyntezie rutyny, która powstaje w drodze glikozylacji kwercetyny [12].

Wnioski: Technika wysokorozdzielczej spektrometrii mas połączona z rozdziałem chromatograficznym oraz jonizacją elektrosprejem (UPLC-ESI-MS) jest doskonałą metodą umożliwiającą jednoczesną identyfikację i analizę ilościową roślinnych związków flawonoidowych. Jej zastosowanie pozwoliło na jednoczesną identyfikację poszczególnych rodzajów flawonoidów, określenie ich zawartości w konkretnych organach gryki zwyczajnej oraz wykonanie analizy porównawczej.

Literatura:

1. S. Chen, X. Wang, Y. Cheng, H. Gao, X. Chen, *Molecules*, 28 (2023) 4982.
2. W.B. Zhuang, Y.H. Li, X.C. Shu, Y.T. Pu., X.J. Wang, T. Wang, Z. Wang, *Molecules*, 28 (2023) 3599.
3. A.N. Panche, A.D. Diwan, S.R. Chandra, *J Nutr Sci.*, 5 (2016) e47.
4. U. Mathesius, *Plants (Basel)*, 7(2), (2018) 30.
5. L. Wang, M. Chen, P.Y. Lam, F. Dini-Andreote, L. Dai, W. Zhong, *Microbiome*, 10 (2022) 233.
6. D. M. Kopustinskiene, V. Jakstas, A. Savickas, J. Bernatoniene, *Nutrients*, 12(2) (2020) 457.
7. N. Kleinenkuhn, F. Büchel, S.C. Gerlich, S. Kopriva, S. Metzger, *Front. Plant Sci.*, 10 (2019).
8. M.F. Alves, et al. *RSC Adv.*, 14 (2024) 10481.
9. C. Jiang, P.J. Gates, *Molecules*, 29 (2024) 5246.
10. D. Kidaj, K. Zamłyńska, A. Swatek., I. Komaniecka, *Molecules*, 29 (2024) 4546.
11. J. Kalinova, J. Triska, N. Vrchotova, J. Agric, *Food Chem.* 54 (2006) 5330-5335.
12. T. Suzuki, Y. Honda, W. Funatsuki, K. Nakatsuka, *Plant Sci.* 163 (2002) 417.

WYSOKOPIGMENTOWE OWOCE – WYMAGAJĄCA MATRYCA VS. KONKURENCYJNE PARAMETRY ANALITYCZNEJ METODY LC-MS/MS OZNACZANIA MYKOTOKSYN

A. JASTRZĘBSKI¹, A. KRZYSZCZAK-TURCZYN¹, M. GROCHOWICZ², I. SĄDOK¹, ¹Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii Biomedycznej i Analitycznej, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, ²Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin

Abstrakt: Wysokopigmentowe owoce charakteryzują się dużą zawartością związków z grupy polifenoli – antocyjanów. W swoim składzie posiadają również szeroką gamę innych substancji chemicznych. Są bogate w związki prozdrowotne, pomagające utrzymać organizm człowieka w dobrym stanie ogólnym. Z drugiej strony owoce są podatne na zakażenia grzybicze i związaną z tym produkcję mykotoksyn. Są to związki toksyczne dla organizmów żywych, dlatego ich monitorowanie w żywności jest uważane za wysoce priorytetowe. Technika LC-MS/MS jest częstym wyborem przy oznaczaniu tego typu związków toksycznych, lecz jest ona jednocześnie podatna na występowanie efektu matrycowego, który objawia się obniżeniem (rzadziej wzmocnieniem) wydajności jonizacji analitów w obecności innych składników matrycy próbki. Dlatego etap przygotowania próbki jest kluczowy, a poszukiwanie nowych sposobów na oczyszczenie ekstraktu przed analizą LC-MS/MS jest wyzwaniem dla wielu badaczy. Celem badań wstępnych była ocena efektywności kopolimerów otrzymanych na bazie 4-winylopirydyny w kontekście oczyszczania ekstraktu otrzymanego z porzeczek czarnej przed ilościowym oznaczaniem wybranych mykotoksyn metodą LC-ESI-MS/MS. Wyniki są obiecujące i świadczą o dużym potencjale badanych materiałów polimerowych w kierunku upraszczania składu ekstraktów owoców wysokopigmentowych przed oznaczeniami mykotoksyn metodą LC-MS/MS.

Wprowadzenie: Wysokopigmentowe owoce (np. truskawki, wiśnie, czereśnie, porzeczki czarne, porzeczki czerwone, maliny, borówki) są doskonałym źródłem przeciwutleniaczy, witamin, błonnika, minerałów oraz związków z grupy polifenoli, takich jak kwasy fenolowe, stilbeny, taniny, antocyjany, flawonoidy [1]. Dlatego pełnią istotną rolę w dobrze zbilansowanej diecie. Niestety w wyniku mechanicznych uszkodzeń, czy też złych warunków zbioru, transportu, przechowywania i obróbki, owoce są narażone na psucie i związane z tym rozwój grzybów oraz pleśni, co z kolei prowadzi do zanieczyszczenia żywności mykotoksynami. Pod względem analitycznym, w szczególności w kontekście oznaczeń z wykorzystaniem metod LC-ESI-MS/MS (chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas z jonizacją poprzez elektrorozpylanie), stanowią trudną, skomplikowaną i wymagającą matrycę. Mykotoksyny to metabolity wtórne produkowane przez grzyby strzępkowe (Tab. 1). Omawiane związki występują naturalnie w środowisku. Skutkami spożycia żywności zanieczyszczonej mykotoksynami mogą być zarówno ostre, jak i przewlekłe schorzenia i choroby, takie jak: nowotwory, uszkodzenia wątroby, spadek odporności [2], dlatego spożycie żywności zanieczyszczonej tą grupą związków niesie ze

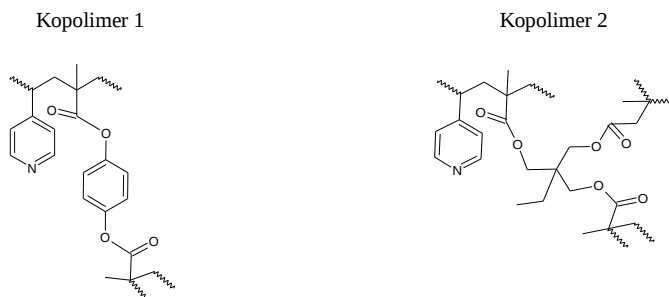
sobą duże ryzyko dla zdrowia człowieka i zwierząt. Ponadto, zakażenie zbóż mykotoksynami powoduje również duże straty ekonomiczne [2].

Tabela 1. Wybrane mykotoksyny i organizmy je produkujące [3].

Mykotoksyna	Aflatoksyny	Ochratoksyny	Patulina	Zearalenon
Rodzaj/gatunek grzyba odpowiedzialnego za produkcję mykotoksyn	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i> <i>A. nomius</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>A. ochraceus</i> <i>P. nordicum</i> <i>P. verrucosum</i>	<i>Aspergillus terreus</i> <i>A. clavatus</i> <i>Penicillium</i> <i>Penicillium carneum</i> <i>P. clavigerum</i> <i>P. griseofulvum</i>	<i>Fusarium</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i>

Aktualnym wyzwaniem analitycznym jest oznaczanie mykotoksyn na coraz niższym poziomie stężeń oraz opracowywanie narzędzi analitycznych dostarczających rzetelnych wyników, dlatego poprawa parametrów analitycznych istniejących metod jest wysoce pożądana. Szczególnie restrykcyjne wymagania dotyczą żywności dla dzieci i niemowląt, których podstawą diety są produkty otrzymane z owoców. Z drugiej strony, LC-ESI-MS/MS jest obecnie złotym standardem biorąc pod uwagę oznaczanie zarówno prozdrowotnych, jak również toksycznych związków. Etap przygotowania próbki jest niezwykle istotny i obligatoryjny, szczególnie przed oznaczeniami analitów w bogatych i skomplikowanych matrycach. Jego głównym celem jest wyizolowanie oznaczanego związku i uproszczenie składu próbki, aby pozbyć się związków, które mogą zaburzać pomiar analityczny. Jednakże często stosując różne techniki ekstrakcji, oprócz analitu ekstrahują się również związki interferujące, które mogą powodować problemy analityczne podczas oznaczeń LC-ESI-MS/MS, takie jak zanieczyszczenie elementów aparatu, pogorszenie czułości metody oraz efekt matrycowy (ang. matrix effect, ME) [4,5], który objawia się wzmocnieniem lub osłabieniem efektywności jonizacji analitów (głównie w źródłach jonów typu electrospray ESI) w próbkach rzeczywistych w porównaniu do roztworów wzorcowych. Źródłem ME mogą być składniki matrycy próbki, protokół przygotowania próbki, jakość rozdziału chromatograficznego, dodatki do faz ruchomych, jak również typ jonizacji. Jonizacja przez elektrorozpylanie jest bardziej podatna na wpływ ME w porównaniu do źródeł jonizacji charakteryzujących się gorszą czułością, np. jonizacji chemicznej pod ciśnieniem atmosferycznym (ang. atmospheric pressure chemical ionisation, APCI), czy fotojonizacji pod ciśnieniem atmosferycznym [6,7]. Ponadto, ME może być zmienny i trudny do prognozowania [5,6]. Optymalizacja etapu przygotowania próbki często jest obligatoryjna, aby zmniejszyć ME i otrzymać dobre wartości odzysków, dokładności, precyzji i czułości metody. Dlatego celowym jest poszukiwanie nowych sposobów na uproszczenie matrycy próbki na tym etapie do analizy LC-ESI-MS/MS.

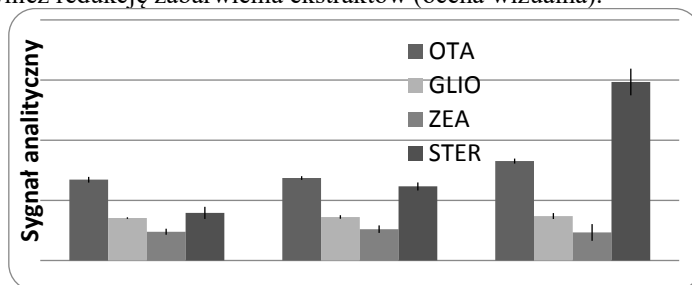
Część eksperymentalna: Celem badań była ocena efektywności mikrosfer 4-winylopirydyny usieciowanych 1,4-dimetakrylanem hydrochinonu (kopolimer 1) oraz trimetakrylanem trimetylolopropanu (kopolimer 2) (Rys. 1) w kontekście oczyszczania ekstraktu otrzymanego z porzeczki czarnej przed ilościowym oznaczaniem wybranych mykotoksyn (ochratoksyny A (OTA), gliotoksyny (GLIO), zearalenonu (ZEA), sterygmatozystyny (STER)).



Rys. 1. Wzory strukturalne kopolimeru 1 oraz 2.

Kopolimery otrzymano zgodnie z opublikowanym protokołem i scharakteryzowano fizykochemicznie [8,9]. Zastosowanie monomerów (1,4-dimetakrylan hydrochinonu oraz trimetakrylan trimetyloolopropanu) pozwoliło na uzyskanie wysokiego stopnia usieciowania i stabilnej porowatej struktury, jak również na wzbogacenie funkcjonalizacji materiału sorpcyjnego [9]. Zhomogenizowaną pulpę owocową (10 g) wytrząsano z acetonitrylem (10 mL, przez 2 min), a następnie z solą QuEChERS (Agilent Technologies, p.n. 5982-6650) (1 min). Po odwirowaniu, 1 mL otrzymanego ekstraktu oczyszczano za pomocą badanych sorbentów (kopolimer 1 i kopolimer 2) (wytrząsanie 2 min). Po odwirowaniu, ekstrakt odparowano i rozpuszczono w roztworze $\text{H}_2\text{O}:0,2\text{M NH}_4\text{HCO}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (30:5:65, v/v/v). Przygotowane próbki analizowano metodą LC-ESI-MS/MS w trybie polaryzacji dodatniej oraz wykorzystując metodę dMRM (z ang. dynamic multiple reaction monitoring). Rozdział przeprowadzono z wykorzystaniem kolumny chromatograficznej Zorbax Eclipse Plus C18 ($2,1 \times 100$ mm, $1,8 \mu\text{m}$) i fazy ruchomej składającej się z $\text{H}_2\text{O}:0,2\text{M NH}_4\text{HCO}_3$ (95:5, v/v) (rozpuszczalnik A) i $\text{CH}_3\text{OH}:0,2\text{M NH}_4\text{HCO}_3$ (95:5, v/v) (rozpuszczalnik B). Kontrola oznacza wynik otrzymany dla ekstraktu pozbawionego etapu dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (ang. dispersive solid phase extraction, dSPE), czyli etapu wytrząsania z badanymi kopolimerami.

Wyniki: Powierzchnia sygnałów analitycznych pochodzących od OTA, GLIO i ZEA w ekstraktach oczyszczanych badanymi polimerami nieznacznie wzrosła lub pozostała niezmieniona w porównaniu do kontroli (ekstrakt bez etapu dSPE) (Rys. 2). Podczas gdy sygnał analityczny pochodzący od STER wzrósł znacznie w ekstraktach wytrząsanych z kopolimerem 1 lub kopolimerem 2 (Rys. 2). Zastosowanie badanych materiałów spowodowało również redukcję zabarwienia ekstraktów (ocena wizualna).



Rys. 2. Zmiany sygnałów analitycznych wybranych mykotoksyn w ekstraktach przed i po traktowaniu kopolimerami 1 oraz 2.

Wnioski: Kopolimer 1 oraz kopolimer 2 zostały wytypowane do badań ze względu na potwierdzoną wysoką efektywność w adsorpcji związków w grupy polifenoli, w szczególności flawonoidów i antocyjanów [9]. Dodatkowo, wykazano, że kopolimery wykazują większą efektywność adsorpcji flawonoidów w porównaniu do standardowo stosowanych materiałów sorpcyjnych, takich jak: PSA (ang. primary secondary amine) czy GCB (ang. graphitized carbon black) [9]. W niniejszym komunikacie zademonstrowano, że badane materiały polimerowe wykazują potencjał jako adsorbenty do doczyszczania próbek owoców przed oznaczeniami mykotoksyn metodą LC-ESI-MS/MS. Uzyskane wyniki badań wstępnych sugerują ograniczoną adsorpcję wybranych mykotoksyn na badanych sorbentach, przy jednoczesnej redukcji zabarwienia ekstraktu. Dalsze prace będą koncentrować się na ocenie parametrów analitycznych metody (w tym efektu matrycowego) wykorzystującej badane kopolimery. Badane materiały mogą znaleźć zastosowanie na etapie dSPE przygotowania ekstraktów owoców wysokopigmentowych do oznaczeń wielu mykotoksyn metodą LC-ESI-MS/MS.

Podziękowanie: Praca powstała dzięki wsparciu Narodowego Centrum Nauki, Polska w ramach projektu Miniatura-8 nr 2024/08/X/ST4/00739.

Literatura:

1. Y. Yang, G. Li, D. Wu, J. Liu, X. Li, P. Luo, N. Hu, H. Wang, Y. Wu, Trends Food Sci. Technol. 96 (2020) 233.
2. H.S. Hussein, J.M. Brasel, Toxicology. 167 (2001) 101.
3. R. A. El-Sayed, A. B. Jebur, W. Kang, F. M. El-Demerdash, Journal of Future Foods 2, 2 (2022), 91.
4. Y. Yang, G. Li, D. Wu, J. Liu, X. Li, P. Luo, N. Hu, H. Wang, Y. Wu, Trends Food Sci. Technol. 96 (2020) 233.
5. E. Chambers, D. M. Wagrowski-Diehl, Z. Lu, J. R. Mazzeo, J. Chromatogr. B. 852 (2007) 22.
6. D. Patel, IJPBS. 2, 1 (2011) 559.
7. W. Zhou, S. Yang, P.G. Wang, Bioanalysis. 9 (2017) 1839.
8. M. Grochowicz, Ł. Szajnecki, B. Gawdzik, Adsorpt. Sci. Technol. 33 (2015) 609.
9. A. Krzyszcak-Turczyn, M. Grochowicz, I. Jonik, I Sadok, Food Chem. 463 (2025) 141312.

WYKORZYSTANIE CZUJNIKÓW WOLTAMPEROMETRYCZNYCH MODYFIKOWANYCH BIZMUTEM DO JEDNOCZESNYCH OZNACZEŃ JONÓW KADMU I OŁOWIU

A. KELLER, K. TYSZCZUK-ROTKO, K. STANIEC, D. GORYLEWSKI, UMCS,
Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031
Lublin

Abstrakt: Niniejsza praca miała na celu przedstawienie ogólnego problemu zanieczyszczenia środowiska jonami metali ciężkich, a w szczególności złym wpływie kadmu i ołowiu. Kontrola śladów jonów kadmu i ołowiu może być prowadzona różnymi metodami, w tym metodami woltamperometrycznymi. Dużym zainteresowaniem cieszą się obecnie elektrody pracujące na bazie bizmutu. W celu porównania zalet i wad zastosowania elektrod bizmutowych różnego typu dokonano przeglądu literaturowego oraz przeprowadzono dyskusję zwracając w szczególności uwagę na wykorzystane odczynniki, granice wykrywalności (LOD), rodzaj i parametry techniki woltamperometrycznej oraz czas analizy w jednoczesnych oznaczeniach jonów Cd(II) i Pb(II).

Wprowadzenie: Zanieczyszczenie środowiska jonami metali ciężkich (HMs, z ang. Heavy Metals) jest poważnym problemem na skalę światową. Metale ciężkie to takie, które odznaczają się względnie dużą masą molową, dużą gęstością oraz toksycznością wobec organizmów żywych. Do HMs możemy zaliczyć między innymi jony kadmu, ołowiu, rtęci, miedzi, niklu czy żelaza. Trafiają one do środowiska różnymi drogami poprzez np. spalanie paliw kopalnych, spalanie odpadów stałych bądź ciekłych czy dostanie się odpadów do rezerwuarów wodnych. Do atmosfery mogą również trafiać w sposób naturalny, czyli poprzez działalność wulkanów, źródeł termalnych czy erozji. Metale ciężkie mogą gromadzić się w organizmach żywych poprzez tak zwaną bioakumulację, a ilość zdeponowanego metalu zależy od drogi jaką metal wniknął do organizmu oraz czasu ekspozycji na dany jon. W niniejszej pracy skupiono się głównie na szkodliwym wpływie jonów kadmu oraz ołowiu [1]. Kadm dociera do organizmu ludzkiego poprzez wdychanie zanieczyszczonego powietrza lub połknięcie wody zanieczyszczonej jonami kadmu. Nagromadza się on głównie w nerkach i kościach, ale może on się również nagromadzić w płucach jeśli dana osoba jest palaczem (bądź też biernym palaczem). Jony Cd(II) znajdujące się w środowisku wodnym nie ulegają żadnym reakcjom, w których mogłyby się rozłożyć do mniej toksycznych/nietoksycznych związków, co przyczynia się do jego bioakumulacji w organizmie ludzkim oraz w innych organizmach żyjących głównie w wodzie. Literatura wskazuje również na znikomy udział jonów kadmu w procesach metabolicznych u ludzi, co sugeruje iż jest on zbędny i nie powinien w ogóle trafiać do organizmu ludzkiego. Ponadto jony te mogą powodować zaburzenie gospodarki mineralnej w organizmie człowieka zaniżając stężenie jonów cynku, magnezu czy miedzi [2,3]. Nagromadzony ołów w organizmie ludzkim może powodować chorobę zwaną ołowicą (saturnizmem), która objawia się ogólnym osłabieniem, brakiem łaknienia czy bezsensownością. Jony Pb(II) wykazujące powinowactwo do enzymów różnego typu mogą w konsekwencji prowadzić do

zniszczenia krwinek czerwonych, co może powodować anemię i problemy z układem nerwowym. Ponadto ołów w wyniku powtarzającego się narażenia może powodować raka płuc lub żołądka. W celu oszacowania ilości danych HMś nie powodującej szkodliwych skutków Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) wyznaczyła tzw. parametr PTWI (z ang. Provisional Tolerable Weekly Intake, wskaźnik narażenia konsumenta na zanieczyszczenia). Indeks ten mówi o tygodniowej dawce danego metalu ciężkiego nie powodującej szkodliwych skutków i dla jonów Cd(II) oraz Pb(II) jest on następujący: 7 µg/kg; 25 µg/kg (masy ciała) [2, 4]. Zanieczyszczenie środowiska jonami HMś, a w szczególności kadmem i ołowiem może powodować poważne skutki dla organizmów żywych, dlatego tak ważne jest aby monitorować ich stężenie nawet na poziomie śladowym. Ponadto jony kadmu i ołowiu znajdujące się w próbkach rzeczywistych zazwyczaj występują wspólnie, co zostało wykazane w tabeli 1. Wiele metod analitycznych jednoczesnego oznaczenia stężenia jonów Cd(II) i Pb(II) zostało opisanych w literaturze, lecz w zdecydowanej mierze przeważają metody elektrochemiczne, a dokładnie woltamperometryczne. Dużym zainteresowaniem cieszą się elektrody na bazie bizmutu, które w dużej mierze wyparły elektrody rtęciowe np. wiszącą kroplową elektrodę rtęciową HMDE (z ang. Hanging Mercury Drop Electrode) czy błonkowe elektrody rtęciowe MFE (z ang. Mercury Film Electrode), ze względu na ich dużą toksyczność i lotność stosowanej rtęci. Zaletami elektrod modyfikowanych związkami bizmutu są duża powierzchnia aktywna, mały opór przenoszenia ładunku, mały prąd tła oraz trwałość tak przygotowanych czujników [5].

Wyniki: W celu przedstawienia wad i zalet danej metody woltamperometrycznej dokonano przeglądu literaturowego i sporządzono tabelkę, w której porównano takie parametry jak: wykorzystany czujnik na bazie bizmutu wraz z użytą techniką stripingową, elektrolit podstawowy (stężenie oraz pH), zakres liniowości krzywych kalibracyjnych, potencjał i czas nagromadzania oraz zastosowanie (tabela 1).

Tabela 1. Porównanie procedur woltamperometrycznych jednoczesnego oznaczania jonów kadmu i ołowiu z wykorzystaniem elektrod modyfikowanych bizmutem.

Elektroda [przypis]	Technika	Zakres krzywej kalibracyjnej; granica wykrywalności [µg/L]		Potencjał nagromadzania, czas nagromadzania, elektrolit podstawowy	Analizowane próbki
		Cd(II)	Pb(II)		
GSPE/Bi ₂ O ₃ [6]	SWASV	2,00 – 20,0; 1,7	2,0 – 20,0; 0,5	E _{ak} = -1,2 V, t _{ak} = 300 s, t _{eq} = 20 s, bufor octanowy + KCl o pH = 4,5	Wody gruntowe
GSPE/CS@Bi ₂ O ₃ [6]	SWASV	2,00 – 20,0; 1,5	2,0 – 20,0; 0,2	E _{ak} = -1,2 V, t _{ak} = 300 s, t _{eq} = 20 s, bufor octanowy + KCl o pH = 4,5	Wody gruntowe
SPGE/Nafion/BiF (in situ) [7]	SWASV	50,0 – 300,0; 4,0	20,0 – 300,0; 3,0	E _{ak} = -1,5 V, t _{ak} = 300 s, bufor octanowy o pH = 5,0	Woda z rzeki

GCE/Au-GN-Se-Cys/BiF (in situ) [8]	SWASV	0,5 – 100,0; 0,08	0,5 – 100,0; 0,05	$E_{ak} = -1,0 \text{ V}$, $t_{ak} = 840 \text{ s}$, bufor octanowy o pH = 4,8	Wody grun- towe, próbki gleby i roślin
GCE/BiF (in situ) [9]	DPASV	0,0 – 15,0; 0,09	0,0 – 30,0; 0,16	$E_{ak} = -1,4 \text{ V}$, $t_{ak} = 60 \text{ s}$, bufor octanowy o pH = 4,5	Certyfikowane materiały od- niesienia
GCE/Bi ₂ O ₃ @NPBi [10]	SWASV	0,5 – 200,0; 0,03	0,5 – 200,0; 0,02	$E_{ak} = -1,2 \text{ V}$, $t_{ak} = 180 \text{ s}$, bufor octanowy o pH = 4,0	Woda z kranu
Czujniki: GSPE/Bi₂O₃ – grafitowa elektroda sitodrukowana modyfikowana tlenkiem bizmutu; GSPE/CS@Bi₂O₃ – grafitowa elektroda sitodrukowana modyfikowana kompozytem chitozanu i tlenku bizmutu; GCE/Au-GN-SeCys/BiF – elektroda z węgla szklistego modyfikowana kompozytem (nanocząstki złotka + grafen + selenocysteina) oraz błonką bizmutu; GCE/BiF – elektroda z węgla szklistego modyfikowana błonką bizmutu; GCE/Bi₂O₃@NPBi – elektroda z węgla szklistego modyfikowana tlenkiem bizmutu i nanoporowatym bizmitem Techniki: SWASV – anodowa woltamperometria strippingowa fali prostokątnej; DPASV – impulsowo-różnicowa anodowa woltamperometria strippingowa					

Wnioski: W tabeli 1 zestawiono wykorzystane czujniki na bazie bizmutu do jednoczesnego oznaczania jonów kadmu i ołowiu. Jednymi z najczęściej stosowanych typów podłoży dla modyfikacji bizmitem były elektrody o powierzchniach węglowych takie jak węgiel szklisty lub grafit [6, 8-10]. Biorąc pod uwagę technikę strippingową używana jest w większości przypadków anodowa woltamperometria strippingowa (ASV), w której dane depolaryzatory są nagromadzane na powierzchni elektrody w postaci metalicznej, a następnie utleniane w wyniku polaryzacji elektrody pracującej w kierunku anodowym [6-10]. Warty uwagi jest fakt, że w większości stosowana jest woltamperometria fali prostokątnej (SWV), co sugeruje iż proces oznaczania Cd(II) i Pb(II) jest szybki i odwracalny. Ponadto stosując technikę SW nie ma potrzeby odtleniania roztworów podczas analizy elektrochemicznej [6-8, 10]. Stosowanym elektrolitem podstawowym jest zazwyczaj bufor octanowy (z ewentualnymi dodatkami stabilizującymi moc jonową) o pH oscylującym wokół wartości równej 4,0. Spowodowane jest to tym, że w środowisku alkalicznym błonki bizmutu oraz tlenki bizmutu ulegają reakcji roztwarzania, a zatem powierzchnia czujnika jest niszczone. W wielu przypadkach zanim czujnik był gotowy do pracy, węglową powierzchnię elektrody poddawano procesowi aktywacji elektrochemicznej, w celu zmniejszenia hydrofobowości. Dane literaturowe wskazują, że modyfikatory na bazie bizmutu wpływają znacząco na poprawę czułości oznaczania jonów kadmu, zaś zwiększenie polarności powierzchni węglowej wpływa na poprawę czułości oznaczania jonów ołowiu. Jest to spowodowane tym, że bardziej faworyzowanymi oddziaływaniami są Cd(II)-bizmut oraz Pb(II)-powierzchnia elektrody, co widać w przypadku oznaczania śladów tych jonów bez stosowania modyfikatorów (brak sygnału od Cd(II) i niewielki sygnał Pb(II) na niemodyfikowanych elektrodach węglowych) [6]. Preferowanym sposobem nakładania błonki bizmutowej (BiF) jest metoda in situ, ponieważ może być ona odnowiona przed każdym pomiarem [7-9]. Potencjały nagromadzania (osadzanie BiF oraz nagromadzanie Cd(II) i Pb(II)) wahają się między -1,4 V a -1,0 V. Otrzymywane zakresy krzywych kalibracyjnych są szerokie, a granice wykrywalności są porównywalne lub niższe niż te otrzymane przy stosowaniu elektrod rtęciowych. Czujniki woltamperometryczne na bazie bizmutu znalazły zastosowanie w analizie środowiskowej i nadają się do jednoczesnego

oznaczania jonów Cd(II) i Pb(II) zarówno w próbkach stałych jak i ciekłych – najczęściej wód [6-10].

Literatura:

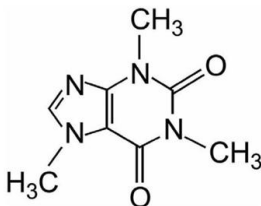
1. S. Mitra, A. J. Chakraborty, A. M. Tareq, T. B. Emran, F. Nainu, A. Khusro, A. M. Idris, M. U. Khandaker, H. Osman, F. A. Alhumaydhi, J. Simal-Gandara, J. of King Saud Uni. - Sci., 34 (2022) 101865.
2. M. Manju, Int. J. Res. Granthaalayah 530.516 (2015) 1.
3. H. Zhang, M. Reynolds, Sci. of The Total Envir. 678 (2019) 761.
4. H. Galal-Gorchev, Food. Add.&Cont. 10(1) (1993) 115.
5. J. Wang, J. Lu, S. B. Hocevar, P. A. M. F. and B. Ogorevc Anal. Chem. 72 (2000) 3218.
6. A. De Benedetto, A. D. Torre, M. R. Guascito, R. Di Corato, L. Chirivì, R. Rinaldi, A. Aloisi, J. of Electroanal. Chem., 964 (2024) 118341.
7. I. Albalawi, A. Hogan, H. Alatawi, E. Moore, Sens. and Bio-Sens. Res., 34 (2021) 100454.
8. A. F. Al-Hossainy, A.A.I. Abd-Elmageed, A. Th.A. Ibrahim, Arab. J. of Chem., 12, (2019) 2853.
9. C. Rojas-Romo, M. E. Aliaga, V. Arancibia, M. Gomez, Microchem. J., 159 (2020) 105373.
10. Y. Wang, X. Wu, J. Sun, C. Wang, G. Zhu, L. Bai, Z. Jiang, W. Zhang, Electrochem. Comm., 136, (2022) 107233

KOFEINA – WŁAŚCIWOŚCI, ZASTOSOWANIE I WOLTAMPEROMETRYCZNE OZNACZENIA

A. LIWAK, K. TYSZCZUK-ROTKO, D. GORYLEWSKI, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin.

Abstrakt: Kofeina jest związkiem organicznym występującym naturalnie w wielu roślinach. Jest powszechnie stosowana w medycynie oraz przemyśle spożywczym, jako dodatek do różnych popularnych napojów, co przyczynia się do jej częstego spożywania przez człowieka. Biologiczna aktywność tego związku objawia się przede wszystkim oddziaływaniem na centralny układ nerwowy. W zależności od przyjętej dawki kofeina może mieć pozytywny lub negatywny wpływ na organizm. Kofeina jest także międzynarodowym wskaźnikiem zanieczyszczenia wód przez odpady antropogeniczne. Ze względu na jej powszechność oraz biologiczną aktywność konieczny jest rozwój metod pozwalających na oznaczenie tej substancji w próbkach środowiskowych, biologicznych, farmaceutycznych i innych. Celem niniejszej pracy było sprawdzenie skuteczności zastosowania modyfikacji powierzchni elektrody diamentowej domieszkowanej borem za pomocą Nafionu, drobin bizmutu oraz nanocząstek magnetycznych (Fe_3O_4) w dimetyloformamidzie w woltamperometrycznych oznaczeniach kofeiny.

Wprowadzenie: Kofeina (nazwa systematyczna: 1,3,7-trimetylo-1H-puryno-2,6-dion) jest naturalnie występującym związkiem organicznym o wzorze sumarycznym $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$ i masie molowej wynoszącej 194,19 g/mol. Wzór strukturalny kofeiny został przedstawiony na rysunku 1 [1].



Rys. 1. Wzór strukturalny kofeiny [1].

Pod względem chemicznym kofeina jest zaliczana do grupy alkaloidów purynowych i N-metylowych pochodnych ksantyny. Kofeina występuje naturalnie w ziarnach kawy, liściach herbaty, orzeszkach cola, ziarnach kakaowca, owocach guarany oraz w innych roślinach. W zależności od pochodzenia jest znana również jako: teina, mateina oraz guaranina. Rośliny wykorzystują kofeinę jako naturalny środek paraliżujący i zabijający owady [1, 2, 3]. Kofeina znalazła zastosowanie w przemyśle spożywczym, przede wszystkim jako dodatek do wielu napojów (np. napoje typu cola, napoje energetyczne) [2]. W medycynie jest natomiast często stosowana jako dodatek do leków w celu zwiększenia ich skuteczności. Leki zawierające w swoim składzie aspirynę, paracetamol oraz kofeinę są wykorzystywane głównie w leczeniu bólu o różnym pochodzeniu, między innymi: bólu

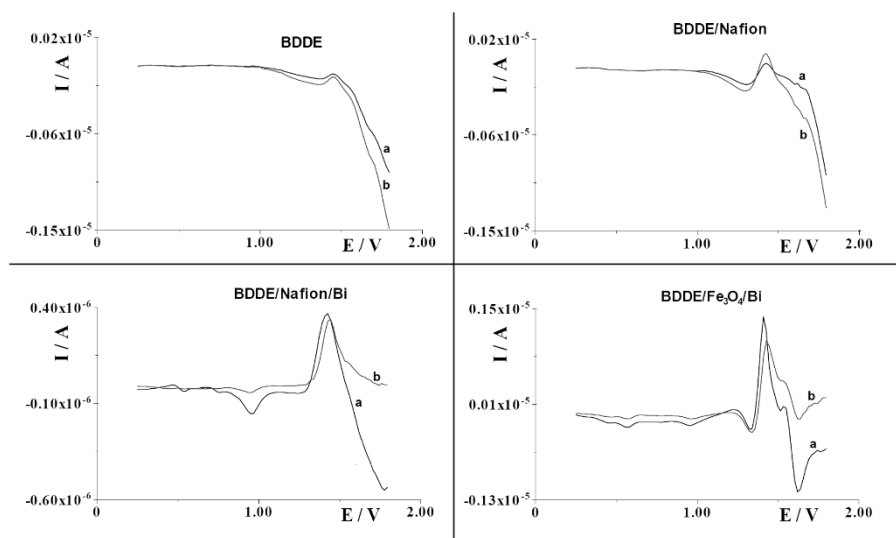
głowy (w tym migreny), mięśni, zębów. Leki z dodatkiem kofeiny stosowane są także w leczeniu zapalenia stawów, przeziębień i infekcji zatok. Znajduje się ona również w suplementach wspomagających utratę wagi [1, 4]. Nadmiar kofeiny oraz produkty jej metabolizmu są wydalane z organizmu wraz z moczem. Ścieki są jedną z głównych przyczyn zanieczyszczenia wód. Tylko nieliczne oczyszczalnie ścieków wyłapują odpady antropogeniczne. W wyniku tego odpady te trafiają bezpośrednio do środowiska. Przykładem takiego odpadu jest kofeina. Szacuje się, że jej światowe spożycie odpowiada średnio jednej filiżance kawy wypijanej dziennie przez każdego człowieka na świecie. Ze względu na tak powszechne występowanie, kofeina została uznana za międzynarodowy wskaźnik zanieczyszczenia wód wywołanego przez odpady antropogeniczne [1]. Ze względu na obecność w wielu napojach (kawa, herbata, napoje energetyczne) oraz lekach, kofeina jest najczęściej spożywaną przez człowieka substancją psychoaktywną. Nie posiada wartości odżywczych i oddziałuje najsilniej na centralny układ nerwowy. W umiarkowanych dawkach wpływa korzystnie na umiejętność koncentracji, zmniejsza uczucie zmęczenia i senności. Przyczynia się do zwiększenia spostrzegawczości, pamięci, a także pomaga przywrócić świadomość w stanach omdlenia. Spożycie kofeiny może również powodować poprawę nastroju. Kofeina wpływa też na układ krążenia. Działa jako związek zwężający naczynia krwionośne oraz podnosi ciśnienie krwi. Działanie kofeiny na organizm ludzki objawia się także zmniejszeniem reakcji zapalnych w organizmie, zwiększeniem wydzielania kwasu żołądkowego oraz poprawą metabolizmu glukozy. W większych dawkach związek ten może jednak wywoływać wiele niepożądanych dolegliwości, takich jak: nadpobudliwość, bezsenność, drgawki, nudności i wymioty, choroby serca, ataki depresji, a nawet mutacje. Przedawkowanie kofeiny może prowadzić do śmierci. Dawka śmiertelna wynosi około 170 mg na kilogram masy ciała [1, 3]. Z uwagi na powszechność występowania oraz biologiczną aktywność kofeiny i powiązane z tym skutki uboczne, jak również fakt, że została ona przyjęta jako międzynarodowy wskaźnik antropogenicznego zanieczyszczenia środowiska, bardzo ważny jest rozwój procedur pozwalających na szybkie oraz tanie oznaczenie omawianego związku w próbkach różnego typu [1, 3].

Część eksperymentalna: Pomiary przeprowadzono z wykorzystaniem statywu elektrodowego CGMDE Model 165 wyprodukowanego w Krakowie (Polska) oraz potencjostatu μ Autolab typu 3 (Holandia), podłączonego do komputera z oprogramowaniem GPES. Podczas badań stosowano układ pomiarowy złożony z trzech elektrod. Elektrode odniesienia stanowiła elektroda chlorosrebrowa, natomiast elektrodą pomocniczą był drut platynowy. Jako elektrody pracujące wykorzystano niemodyfikowaną oraz modyfikowaną elektrodę diamentową domieszkowaną borem (BDDE) o średnicy 3 mm. Powierzchnia BDDE była modyfikowana za pomocą Nafionu, błonki bizmutu oraz nanocząstek magnetycznych (Fe_3O_4). Przed każdą serią pomiarową BDDE polerowano do postaci lustrzanej wykorzystując pastę z tlenku glinu o średnicy ziaren wynoszącej 0,3 μm firmy Buehler (USA). Elektrode umieszczano dodatkowo w łaźni ultradźwiękowej InterSonic (Polska) na 30 s. W celu modyfikacji na powierzchnię elektrody (wypolerowanej i wysuszonej) наносzono 0,5 μL 3% roztworu Nafionu w etanolu lub 0,5 μL roztworu Fe_3O_4 w dimetyloformamidzie (DMF). Błonek bizmutu osadzano natomiast z roztworu elektrolitu podstawowego poprzez przyłożenie odpowiedniego potencjału.

Oznaczenia były prowadzone w standardowym naczynku woltamperometrycznym o pojemności 10 mL. Roztwory mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego. Jako elektrolit podstawowy stosowano 0,1 mol L^{-1} roztwór H_2SO_4 . Podczas prowadzenia oznaczeń

z wykorzystaniem BDDE modyfikowanej błoną bizmutu, w roztworze obecny był także $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ o stężeniu $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Pomiary przeprowadzono z zastosowaniem impulsowo – różnicowej woltamperometrii strippingowej (DPV). Sygnał rejestrowano w zakresie potencjałów od 0,25 V do 1,8 V. Drobinę bizmutu osadzano poprzez przyłożenie potencjału -0,95 V przez 45 s. Amplituda była równa 75 mV, szybkość skanowania 175 mV, a krok potencjału 0,3 V. Parametry te ustalono na podstawie publikacji [5]. Do roztworu elektrolitu podstawowego dodawano dwukrotnie roztwór wzorcowy kofeiny o stężeniu $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ w takiej ilości, aby stężenie kofeiny w naczynku wynosiło 5×10^{-8} oraz $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ odpowiednio po pierwszym i drugim dodatku. Od zarejestrowanych woltamperogramów odejmowano tło.

Wyniki: Na rysunku 2 przedstawiono woltamperogramy otrzymane dla dwóch stężeń kofeiny podczas oznaczenia z wykorzystaniem następujących elektrod: BDDE, BDDE/Nafion, BDDE/Nafion/Bi oraz BDDE/ Fe_3O_4 /Bi.



Rys. 2. Woltamperogramy DPV zarejestrowane na elektrodach: BDDE, BDDE/Nafion, BDDE/Nafion/Bi oraz BDDE/ Fe_3O_4 /Bi w $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ i $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1} \text{ Bi}(\text{NO}_3)_3$ (obecny w roztworze tylko podczas oznaczeń z wykorzystaniem BDDE/Nafion/Bi oraz BDDE/ Fe_3O_4 /Bi dla wzrastającego stężenia kofeiny (a = $5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, b = $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$).

Wnioski: Na każdej z badanych elektrod uzyskano sygnał analityczny dla dwóch stężeń kofeiny w naczynku. Pokrycie powierzchni elektrody Nafionem (BDDE/Nafion) doprowadziło do zwiększenia czułości oznaczenia względem niemodyfikowanej BDDE. Najwyższy sygnał analityczny uzyskano przy oznaczeniu prowadzonym z wykorzystaniem BDDE/ Fe_3O_4 /Bi, gdzie zawieszina nanocząstek magnetycznych w DMF nanoszona była przed pomiarami na powierzchnię elektrody. Na tej podstawie można stwierdzić, że zastosowanie materiału na bazie nanocząstek magnetycznych (Fe_3O_4) w DMF do modyfikacji powierzchni elektrody przyczynia się do zwiększenia uzyskiwanego sygnału analitycz-

nego kofeiny. Na elektrodzie tej odnotowano także spadek wysokości sygnału analitycznego kofeiny przy wyższym stężeniu analitu w naczynku. Możliwą przyczyną takiego zmniejszenia sygnału jest przekroczenie zakresu liniowego krzywej kalibracyjnej kofeiny.

Literatura:

1. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, Agnieszka Szwagierek, J. of The Electrochem. Soc. 164 (2017) B342
2. Molla Tefera , Alemnew Geto, Merid Tessema, Shimelis Admassie, Food Chem. 210 (2016) 156
3. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, Karolina Pietrzak, Agnieszka Sasal, Adsorption 25 (2019) 913
4. Bankim J. Sanghavi, Ashwini K. Srivastava, Electrochim. Acta 55 (2010) 8638
5. Ilona Sadok, Katarzyna Tyszczyk-Rotko, Agnieszka Nosal-Wiercińska, Sens. Actuators B Chem. 235 (2016) 263

ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII FTIR ORAZ DYFRAKCJI RENTGENOWSKIEJ XRD DO ILOŚCIOWEJ ANALIZY KAMIENI NERKOWYCH

P. MALINOWSKA¹, D. KOŁODYŃSKA¹, M. KAMIŃSKA², W. SOFIŃSKA-CHMIEL³, ¹UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin, ²Politechnika Lubelska, Wydział Elektrotechniki i Informatyki, ul. Nadbystrzycka 38A, 20-618 Lublin. ³UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Laboratorium Analityczne, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

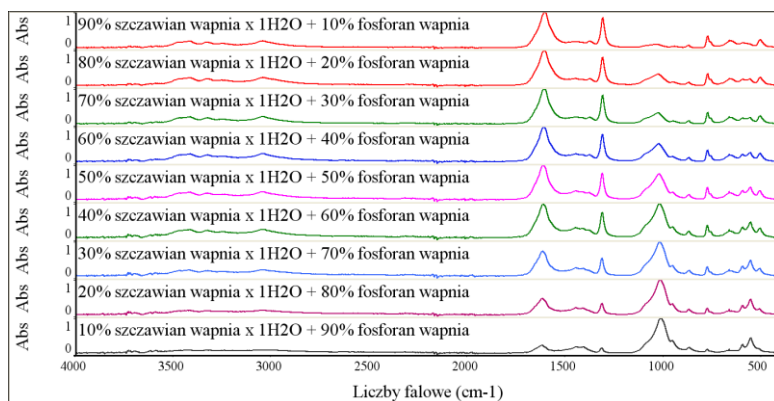
Abstrakt: Celem prowadzonych badań była ilościowa analiza zawartości jednowodnego szczawianu wapnia w próbkach kamieni nerkowych z wykorzystaniem spektroskopii FTIR. W prezentowanej pracy dokonano analizy pola powierzchni pików charakterystycznych dla jednowodnego szczawianu wapnia. Na tej podstawie oszacowano zawartość tego składnika w próbkach kamieni nerkowych. Ponadto metodą XRD zidentyfikowano krystaliczne składniki badanych próbek kamieni nerkowych i oznaczono ich zawartość z wykorzystaniem metody Ritvela.

Wprowadzenie: Kamica nerkowa jest znaczącym problemem zdrowotnym, który dotyka ludzkość od wieków [1]. Opisuje ona zespół charakteryzujący się rozwojem stałych mas krystalicznych w przestrzeni moczowej nerki. Do czynników mogących powodować powstanie kamieni nerkowych możemy zaliczyć czynniki genetyczne, metaboliczne i środowiskowe. Kamica nerkowa jest markerem chorób ogólnoustrojowych i predyktorem powikłań metabolicznych oraz sercowo-naczyniowych [2]. Czynnikiem ryzyka powstawania kamieni nerkowych jest otyłość, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze i zespół metaboliczny, które mogą prowadzić do przewlekłej choroby nerek i schyłkowej ich niewydolności. Leczenie objawowej kamicy nerkowej ewoluowało na przestrzeni lat. Aktualnie wykonywane zabiegi są minimalnie inwazyjne, co skutkuje poprawą jakości życia pacjentów dotkniętych kamcią nerkową. Zapobieganie nawrotom kamicy nerkowej wymaga zmian behawioralnych i żywieniowych, a także leczenia farmakologicznego, dobrane do rodzaju występujących kamieni [3]. Kamienie nerkowe zawierające 50% lub więcej fosforanu wapnia stanowią do 10% wszystkich rodzajów kamieni. Złogi fosforanu wapnia są drugimi pod względem częstotliwości występowania, zaraz po kamieniach nerkowych zbudowanych ze szczawianu wapnia. Przyczyna ich powstawania jest często niejasna, lecz najczęściej związana z wysokim pH moczu [4].

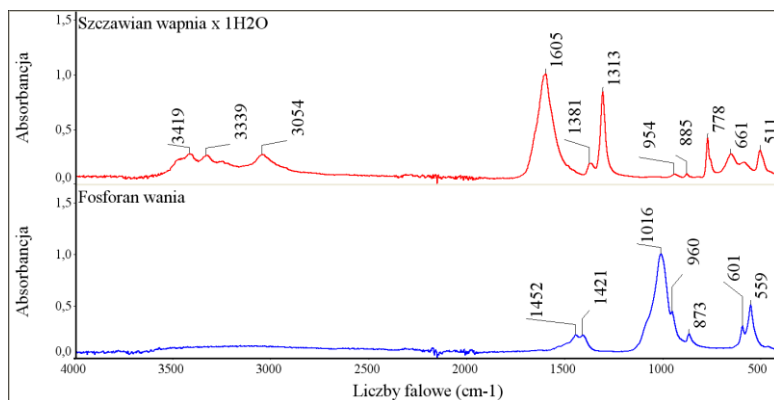
Część eksperymentalna: Celem prowadzonych badań było opracowanie metody ilościowego oznaczania jednowodnego szczawianu w próbkach kamieni nerkowych z wykorzystaniem spektroskopii FTIR. Komercyjnie dostępny jednowodny szczawian wapnia oraz fosforan wapnia przygotowano w stosunkach 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 za pomocą wagi analitycznej w formie naważki równej 0,2g. Składniki wymieszano mechanicznie w moździerzu agatowym. Następnie wykonano widma FTIR zarówno czystej substancji jak i otrzymanych mieszanek wykorzystując technikę ATR. Widma FTIR rejestro-

wano przy użyciu techniki ATR przystawką z kryształem diamentowym. Badania przeprowadzono za pomocą spektrometru FTIR Nicolet 8700A, analizując próbki bezpośrednio z ich powierzchni w zakresie liczb falowych od 4000 do 400 cm^{-1} z rozdzielczością spektralną 4 cm^{-1} . Użyto detektora DTGS. Uzyskane widma zostały poddane korekcji ATR, korekcji linii bazowej oraz normalizacji przy użyciu oprogramowania Omnic SpectraTM. Badania dyfrakcyjne XRD przeprowadzono za pomocą dyfraktometru rentgenowskiego Empyrean firmy PANalytical. Przed analizą próbka została utarta w moździerzu agatowym, a następnie umieszczona w kuwecie, gdzie wyrównano jej powierzchnię przy pomocy lekkiego nacisku. Próba została umieszczona w uchwycie goniometru i wykonano pomiar. Otrzymany dyfraktogram porównano z danymi zawartymi w bazie ICDD PDF4+2024.

Wyniki: Widma FTIR-ATR przygotowanych próbek przedstawiono na rysunku 1. Na rysunku 2 przedstawiono widma czystych substancji – jednowodnego szczawianu wapnia oraz fosforanu wapnia.



Rys.1. Widma FTIR-ATR mieszanek szczawianu wapnia oraz fosforanu wapnia przygotowane w stosunkach 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9.

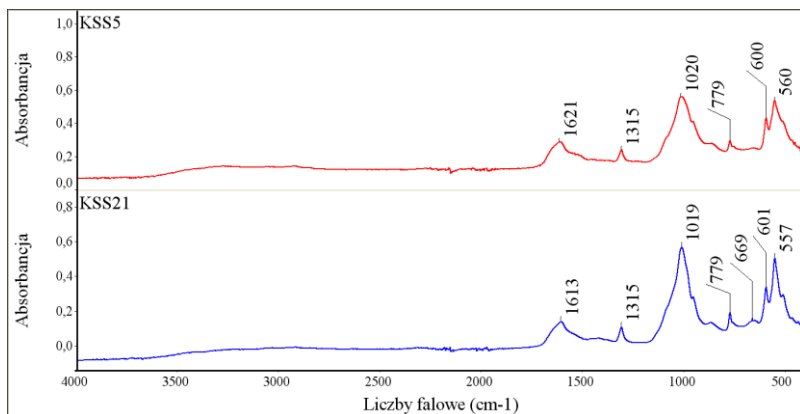


Rys. 2. Widma FTIR-ATR czystych substancji – jednowodnego szczawianu wapnia oraz fosforanu wapnia z zaznaczonym położeniem pasm spektralnych.

Wykonano również widma FTIR-ATR próbek kamieni nerkowych KSS5 oraz KSS21 zawierających jednowodny szczawian wapnia w celu określenia pola powierzchni pików położeniu 1315 cm^{-1} . Wyniki badań przedstawiono na rys. 3.

Tabela 1. Wartości pola powierzchni pików w położeniu 1313 cm^{-1} w zależności od zawartości poszczególnych składników.

Zawartość poszczególnych składników	Powierzchnia pików w położeniu 1313 cm^{-1}
10% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 90% fosforan wapnia	2,531
20% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 80% fosforan wapnia	6,310
30% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 70% fosforan wapnia	10,171
40% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 60% fosforan wapnia	14,938
50% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 50% fosforan wapnia	15,656
60% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 40% fosforan wapnia	17,244
70% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 30% fosforan wapnia	18,172
80% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 20% fosforan wapnia	18,920
90% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$ + 10% fosforan wapnia	19,746
100% szczawian wapnia x $1\text{H}_2\text{O}$	21,674



Rys. 3. Widma FTIR-ATR próbek KSS5 oraz KSS21 z zaznaczonym położeniem pasm spektralnych.

Dla próbek KSS5 oraz KSS21 pole powierzchni pików w położeniu 1315 cm^{-1} wyniosło odpowiednio: 5,416 oraz 5,051. Na podstawie krzywej kalibracyjnej oszacowano zawartość szczawianów z dokładnością do 1% w badanych próbkach. Oszacowana zawartość procentowa szczawianów w próbkach KSS5 oraz KSS21 wyniosła odpowiednio 17,75% oraz 16,75%. Wykonano również badanie z wykorzystaniem dyfraktometru proszkowego XRD Empyrean firmy PANalytical. Otrzymane dyfraktogramy porównano z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2024. Metodą Ritvelda oszacowano zawartość procentową poszczególnych krystalicznych składników badanych próbek kamieni nerkowych. Wyniki analiz przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Porównanie otrzymanych dyfraktogramów próbek KSS5 oraz KSS21 z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2024.

Nazwa próbki	Kod referencyjny	Nazwa	Wzór chemiczny	Zawartość %
KSS5	04-021-1904	Wodorofosforan wapnia	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	69.2(4)
	04-025-1456	Szczawian wapnia jednowodny	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$	28.0(3)2

	04-023-1681	Fosforan wapnia i magnezu	$\text{Ca}_{2.7}\text{Mg}_{0.3}(\text{PO}_4)_2$	2.8(2)
KSS21	04-021-1904	Wodorofosforan wapnia	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	65.7(4)
	04-025-1456	Szczawian wapnia jednowodny	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$	22.0(3)
	04-023-1681	Fosforan wapnia i magnezu	$\text{Ca}_{2.7}\text{Mg}_{0.3}(\text{PO}_4)_2$	8.6(3)
	04-010-2894	Fosforan amonowo-magnezowy sześciowodny	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})_6$	3.7(2)

Wnioski: Kamica nerkowa występuje u około 5–20% populacji. Ze względu na częstość występowania, można ją zaliczyć do chorób cywilizacyjnych. Wiedza na temat składu chemicznego kamieni nerkowych determinuje stosowane leczenie i decyduje o wprowadzeniu odpowiedniej diety, aby zapobiec nawrotom choroby [5]. Przeprowadzone badania miały na celu opracowanie metody ilościowego oznaczania składników kamieni nerkowych. W tym celu przeprowadzono badania z wykorzystaniem spektroskopii FTIR oraz dyfrakcji rentgenowskiej XRD. Badania spektroskopowe pozwoliły na oszacowanie zawartości jednowodnego szczawianu wapnia w dwóch badanych próbkach kamieni nerkowych KSS5 oraz KSS2. Określenia procentowej zawartości jednowodnego szczawianu wapnia wykonano na podstawie pomiarów pola powierzchni piku w położeniu 1315 cm^{-1} . Procentowa zawartość szczawianów w próbkach KSS5 oraz KSS21 wyniosła odpowiednio 17,75% oraz 16,75%. Badania wykonane metodą dyfrakcji rentgenowskiej XRD pozwoliły na określenie zawartości wszystkich krystalicznych składników kamieni nerkowych. Badania wykazały, że poza $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ w próbce KSS5 występuje również $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$ oraz $\text{Ca}_{2.7}\text{Mg}_{0.3}(\text{PO}_4)_2$. W próbce KSS21 poza $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ występuje również $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ca}_{2.7}\text{Mg}_{0.3}(\text{PO}_4)_2$ oraz $(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})_6$. Różnica w zawartości jednowodnego szczawianu wapnia wyznaczona metodą FTIR oraz XRD wynika z obecności w badanych próbkach amorficznych składników, które nie są oznaczane metodą XRD. Przeprowadzane badania wykazały, że zastosowanie 2 metod do ilościowego oznaczania składników kamieni nerkowych daje pełny obraz badanego materiału.

Literatura:

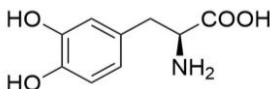
1. B. Xie, T.J. Halter, B.M. Borah, G.H. Nancollas, *Crystal Growth & Design* 15 (2015) 204.
2. S. Shastri, J. Patel, K.K. Sambandam, E.D. Lederer, *American Journal of Kidney Diseases*, 82 (2022) 617.
3. S.R. Khan, M.S. Pearle, W.G. Robertson, W. et al. *Kidney stones*. *Nat Rev Dis Primers* 2 (2016) 16008.
4. D.S. Goldfarb, *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 7 (2012) 1172.
5. J. Duława, *Forum Nefrologiczne*, 2 (2009) 184.

ELEKTROWYDZIELANIE Zn(II) NA RTĘCI W OBECNOŚCI L-3,4-DIHYDROKSYFENYLOALANINY

P. MATEJCZUK, J. NIESZPOREK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Odwracalność elektrodredukcji jonów Zn(II) na rtęci zmienia się w zależności od pH. W buforze octanowym o pH=3.3 reakcja elektrodowa jest nieodwracalna natomiast w roztworze o pH=6.0 jest quasiodwracalna. Wykazano, że w roztworze o wyższym pH obecność L-3,4-dihydroksyfenyloalaniny powoduje przyspieszanie analizowanego procesu i że zachodzi on w dwóch etapach. Z kolei w środowisku o niższej wartości pH L-3,4-dihydroksyfenyloalanina ma właściwości inhibitujące.

Wprowadzenie: Pojęcie potencjału redoks w aspekcie wpływu związków organicznych na utrzymanie homeostazy redoks zyskuje na znaczeniu. W sferze zainteresowań wielu ośrodków naukowych jest zagadnienie stresu oksydacyjnego w kontekście powstawania stanów patologicznych i chorób cywilizacyjnych. Dużą popularnością cieszą się również badania związków biologicznie aktywnych (potencjalnych leków), których mechanizm działania opiera się na reakcjach redoks [1]. Coraz częściej wykorzystywane są w nich metody elektrochemiczne takie jak woltamperometria CV i SWV, polarografia DC oraz spektroskopia impedancyjna EIS. Wyniki pomiarów otrzymane tymi metodami pozwalają na określenie kinetyki i mechanizmu różnych procesów elektrodowych, które można traktować jako modelowe w procesach biologicznych. Poniżej przedstawione wyniki dotyczą wpływu pH na kinetykę elektrodredukcji jonów Zn(II) na elektrodzie rtęciowej w buforze octanowym w obecności L-3,4-dihydroksyfenyloalaniny (L-DOPY) (Rys.1) – leku stosowanego w leczeniu choroby Parkinsona [2, 3].



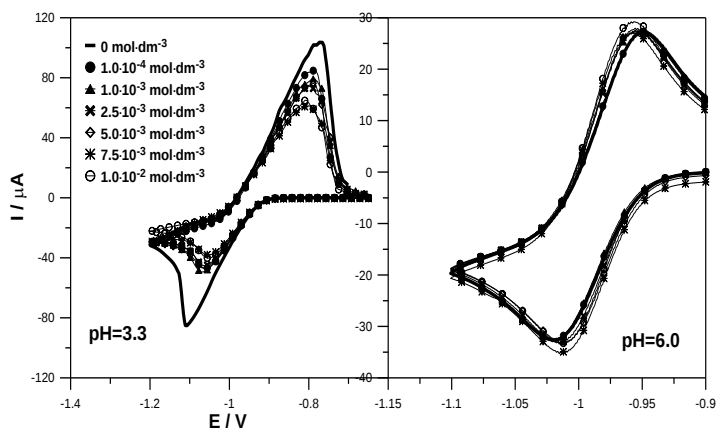
Rys. 1. Wzór strukturalny L-3,4-dihydroksyfenyloalaniny (L-DOPY).

Z kolei cynk pełni znaczącą rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. Jego zadaniem jest utrzymanie stabilnych struktur komórkowych, jak również zachowanie równowagi pomiędzy procesami utleniania i redukcji w tkankach. Ponadto odgrywa podstawową rolę w wielu procesach metabolicznych, bierze udział w syntezie białek i hormonów, zapewnia odpowiednie działanie układu oddechowego, rozrodczego i immunologicznego [4, 5].

Część eksperymentalna: Jako roztwór podstawowy użyto roztworu jonów Zn(II) o stężeniu $5.0 \cdot 10^{-3} \text{M}$ w buforze octanowym o pH=3.3 i pH=6.0. Substancją powierzchniowo aktywną była L-3,4-dihydroksyfenyloalanina o stężeniach w zakresie $1.0 \cdot 10^{-4}$ do $1.0 \cdot 10^{-2}$. Funkcję elektrolitu podstawowego pełnił bufor octanowy. Wszystkie roztwory przygotowywano bezpośrednio przed pomiarem, a następnie poddano procesowi odtleniania, wykorzystując w tym celu azot jako gaz obojętny. Czas odtleniania wynosił nie mniej niż 10 minut. W części eksperymentalnej wykorzystano woltamperometrię fali prostokątnej

(SWV), polarografię stałoprądową (DC), woltamperometrię cykliczną (CV), a także elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną (EIS). Pomiary przeprowadzono w termostatowanym naczynku w temperaturze 25°C, przy użyciu analizatora elektrochemicznego μ Autolab/Fra2 Eco Chemia (Holandia). Zastosowano układ trójelektrodowy: kroplowa elektroda rtęciowa o kontrolowanym wzroście kropli CGMDE firmy MTM-Anko jako elektroda pracująca, nasycona elektroda chlorosrebrowa jako elektroda porównawcza oraz platynowa elektroda pomocnicza.

Wyniki: Współczynniki dyfuzji jonów Zn(II) w badanych roztworach wyznaczono z polarogramów DC w oparciu o równanie Ilkovic [6]. Ich wartości zamieszczono w Tabeli 1. Na ich podstawie oraz w oparciu o parametry krzywych woltamperometrii CV (Rys. 2) obliczono wartości potencjałów formalnych elektroredukcji jonów cynku we wszystkich analizowanych układach [6], które pokazano również w Tabeli 1.



Rys. 2. Woltamperogramy CV elektroredukcji jonów Zn(II) w buforze octanowym o pH=3.3 i pH=6.0 w obecności L-DOPY o wzrastających stężeniach.

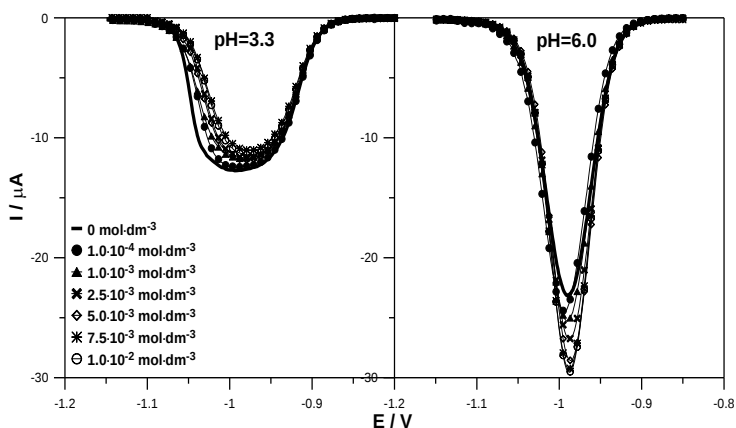
Zarówno w roztworze o pH=3.3 jak i pH=6.0 obecność L-DOPY nie powoduje znaczących zmian wartości potencjałów formalnych. Jednak analizując Rys. 2 można zauważyć, że zmiana pH powoduje wyraźne zmiany wartości różnicy pomiędzy potencjałami pików anodowego i katodowego ($\Delta E = E_a - E_k$) już w roztworze depolaryzatora w nieobecności leku. Wynosi ona odpowiednio 366 mV dla elektroredukcji jonów Zn(II) w buforze o pH=3.3 oraz 71 mV o pH=6.0. Świadczy to nieodwracalnym charakterze procesu elektrodowego przy niższym pH i quasi-odwracalnym przy pH=6.0. Prowadzone metodą woltamperometrii SWV badania miały na celu jakościową ocenę wpływu L-DOPY na szybkość elektrowydzielania cynku na rtęci (Rys. 3).

Tabela 1. Wartości: współczynników dyfuzji jonów Zn(II) oraz potencjałów formalnych elektroredukcji jonów Zn(II) w buforze octanowym o pH=3.3 i pH=6.0 w obecności L-DOPY o wzrastających stężeniach.

$c_{\text{L-DOPY}} / \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	pH=3.3		pH=6.0	
	$D_{\text{ox}} / \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	E_f^0 / V	$D_{\text{ox}} / \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	E_f^0 / V
0	$25.00 \cdot 10^{-6}$	-0,949	$5.23 \cdot 10^{-6}$	-0.992
$1.0 \cdot 10^{-4}$	$12.31 \cdot 10^{-6}$	-0,935	$5.33 \cdot 10^{-6}$	-0.992

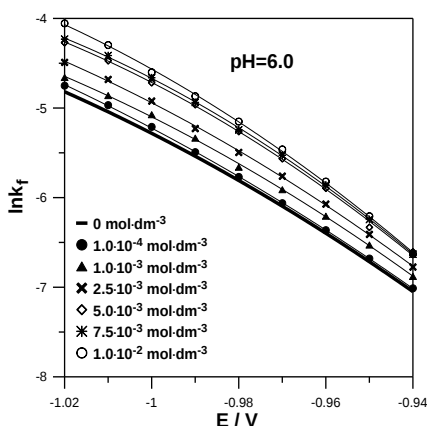
$1.0 \cdot 10^{-3}$	$10.14 \cdot 10^{-6}$	-0,938	$5.21 \cdot 10^{-6}$	-0.994
$2.5 \cdot 10^{-3}$	$8.89 \cdot 10^{-6}$	-0,935	$4.96 \cdot 10^{-6}$	-0.992
$5.0 \cdot 10^{-3}$	$9.42 \cdot 10^{-6}$	-0,939	$4.92 \cdot 10^{-6}$	-0.992
$7.5 \cdot 10^{-3}$	$9.53 \cdot 10^{-6}$	-0,943	$4.79 \cdot 10^{-6}$	-0.994
$1.0 \cdot 10^{-2}$	$9.57 \cdot 10^{-6}$	-0,939	$5.35 \cdot 10^{-6}$	-0.992

Wprowadzenie L-DOPY do buforu o pH=3.3 powoduje spadek wysokości pików SWV w stosunku do wysokości pików odpowiadającego elektoredukcji jonów Zn(II) w nieobecności leku. Sugeruje to inhibitujący wpływ aminokwasu na ten proces.

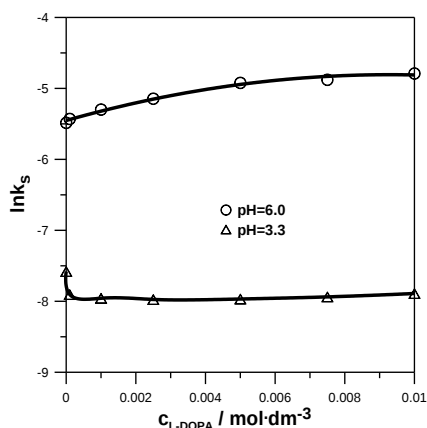


Rys. 3. Woltamperogramy SWV elektoredukcji jonów Zn(II) w buforze octanowym o pH=3.3 i pH=6.0 w obecności L-DOPY o wzrastających stężeniach.

Obecność coraz większych ilości L-3,4-dihydroksyfenyloalaniny w buforze o pH=6.0 skutkuje stopniowym wzrostem pików SWV, świadczącym o katalitycznym działaniu leku na analizowany proces elektrodowy. Dokładne określenie wpływu L-DOPY na kinetykę elektrowydzielania cynku na rtęci uzyskano w oparciu o wyznaczone stałe szybkości. Ze względu na różnice w odwracalności badanej reakcji Zn(II)/Zn(0) w obu roztworach buforowych metodyka wyznaczania standardowych stałych szybkości była odmienna. [7] Nieliniowe zależności Tafela (Rys. 4) obliczone dla roztworów o pH=6.0 świadczą o etapowym charakterze reakcji elektrodowej zarówno w nieobecności jak i obecności L-DOPY, a wyznaczone w oparciu o nie, przy potencjałach formalnych wartości standardowych stałych szybkości k_s świadczą o przyspieszającym wpływie leku. Katalityczne działanie L-DOPY w buforze o pH=6.0 rośnie ze wzrostem jej stężenia (Rys. 5). W roztworach o pH=3.3 wartości k_s wyznaczono na podstawie woltamperogramów CV. W obecności leku uzyskane wartości są zawsze mniejsze w porównaniu do tych dla roztworu podstawowego i nie zmieniają się w sposób znaczący ze wzrostem jego stężenia. Zachowanie takie dowodzi inhibitującego wpływu L-DOPY na proces elektoredukcji Zn(II) w buforze o pH=3.3.



Rys. 4. Logarytmiczna zależność stałej szybkości $\ln k_f=f(E)$ elektroredukcji $Zn(II)$ w buforze octanowym o $pH=6.0$ w nieobecności i obecności L-DOPY, które stężenia podano w legendzie.



Rys. 5. Wartości standardowych stałych szybkości k_s elektroredukcji jonów $Zn(II)$ w buforze octanowym o $pH=6$ w nieobecności i obecności L-DOPY o wzrastających stężeniach.

Wnioski: Odmienny wpływ L-DOPY w buforze o $pH=3.3$ i $pH=6.0$ na kinetykę elektroredukcji jonów $Zn(II)$ na rtęci wynika zapewne z jej właściwości adsorpcyjnych na elektrodzie i zdolności adsorpcyjnych składników buforu. Można przypuszczać, że w roztworach o wyższym pH , L-DOPA adsorbując się na powierzchni rtęci tworzy na niej kompleks aktywny z jonami $Zn(II)$ ułatwiając wymianę ładunku podczas elektroredukcji. Tym samym rozważany proces jest katalizowany. W środowisku o niższym pH dominujące w roztworze cząsteczki kwasu octowego adsorbując się na powierzchni rtęci utrudniają dostęp do niej zarówno jonom L-DOPY jak i jonom depolaryzatora i w konsekwencji spowalniają proces elektrodowy.

Literatura:

1. W. Chrzanowski, K. Suliborska, *Analityka*, 3 (2017) 38.
2. O. Hornykiewicz, *Journal of Neurology*, 257 (2010) 249.
3. G. Pezzoli, M. Zini, *Expert Opin. Pharmacother.* 11 (2010) 627.
4. H. Tapiero, K. D. Tew, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 57 (2003) 399.
5. A. Solé Pascual, M. Tyszka-Czochara, J. Gdula-Argasińska, T. Librowski, A. Grzywacz, W. Opoka, *Medicina Internacia Revuo*, 25 (2012) 55.
6. J. Nieszporek, *Monatsh. Chem.*, 141 (2010) 521.
7. Z. Galus, *Elektroanalityczne metody wyznaczania stałych fizykochemicznych*, PWN, Warszawa 1979.

ANALIZA I KONTROLA JAKOŚCI PRODUKTÓW KOSMETYCZNYCH (PAST DO ZĘBÓW) Z WYKORZYSTANIEM RENTGENOWSKIEJ DYFRAKCJI PROSZKOWEJ

M. MAZIARZ, M. ZIENKIEWICZ-STRZAŁKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Pl. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Pasta do zębów pełni kluczową rolę w codziennej higienie jamy ustnej. Główne zadania takich produktów kosmetycznych to eliminacja bakterii, zapobieganie próchnicy i chorobom dziąseł, a także wzmacnianie szkliwa i ochrona zębów przed demineralizacją. Tym samym skład pasty do zębów jest istotnym czynnikiem wpływającym na jej skuteczność i zdrowie naszych zębów. Współczesne pasty do zębów są zaawansowanymi produktami kosmetycznymi, których skład i właściwości fizykochemiczne wymagają dokładnej analizy. Celem niniejszej pracy była mikrostrukturalna ocena wybranych past do zębów przy użyciu rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej (XRD). Ocenie poddane zostały cztery wybrane produkty pochodzące od różnych producentów oraz różnych deklarowanych właściwościach. W wyniku badań potwierdzono lub wyeliminowano obecność składników krystalicznych, oceniono stopień amorficzności struktury a także określono wielkość cząstek krystalicznych w przypadku materiałów o takiej naturze.

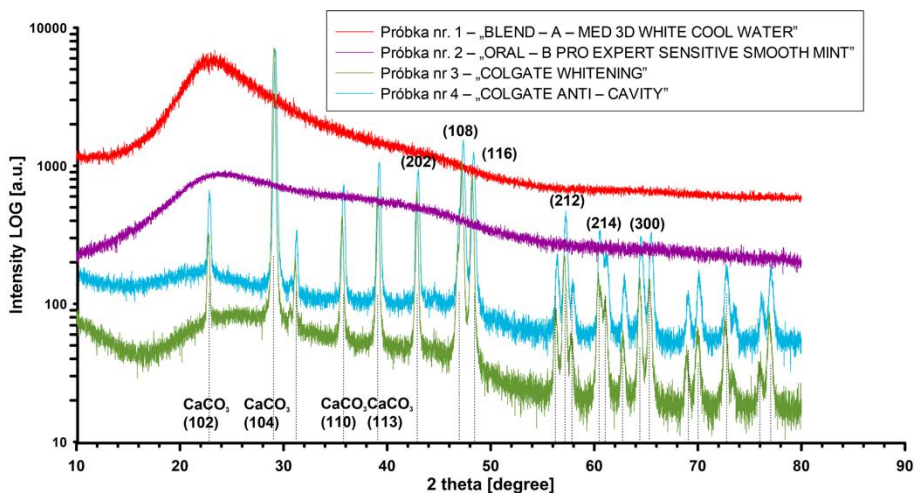
Wprowadzenie: Pasta do zębów jest wieloskładnikowym produktem profilaktyczno-kosmetycznym. Na polskim rynku znajduje się duża ilość past o różnych właściwościach służących zarówno do codziennego zachowania higieny jamy ustnej jak i produktów służących do specjalnych zastosowań. Ze względu na funkcję składniki pasty do zębów można podzielić na środki ściernie, środki polerujące, czynniki pieniące, dodatki smakowe i zagęszczające, środki konserwujące i bakteriostatyczne oraz substancje biologicznie aktywne. Pasty do zębów zawierają także różne składniki krystaliczne, które pełnią funkcję ściierające, remineralizujące i ochronne. Do najważniejszych należą środki ściernie i polerujące takie jak dwutlenek krzemu (SiO_2) oraz węglan wapnia (CaCO_3), składniki remineralizujące szkliwo jak fluorek sodu (NaF) i hydroksyapatyty ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) oraz substancje przeciwp próchnicze i antybakteryjne np. chlorek cynku (ZnCl_2) czy siarczan cynku (ZnSO_4), które hamują rozwój bakterii i ograniczają tworzenie kamienia nazębnego. Najpopularniejszym składnikiem profilaktycznym stosowanym w pastach do zębów jest fluor i jego sole. Fluorki są adsorbowane przez kryształy hydroksyapatytu co stabilizuje jego strukturę mineralną, a tworzący się fluoroapatyt wykazuje niższą rozpuszczalność w kwasach [1][2]. Duża liczba składników może prowadzić do ryzyka wzajemnego hamowania ich aktywności. Istotna aktywność jonów fluoru może być ograniczana w obecności innych składników pasty w tym np. CaCO_3 . W tym przypadku może dochodzić do dezaktywacji soli fluoru przez popularny środek ścierny, jakim jest węglan wapnia [3]. Dlatego ważne jest, aby skład pasty został dobrany w sposób, który zapobiega negatywnemu wpływowi poszczególnych elementów na ich funkcjonalność. Ze względu na powszechność stosowania past do zębów należy zadbać o ich kontrolę jakościową. Metoda XRD Pozwala na precyzyjną identyfikację składników mineralnych, pomaga kontrolować jakość produktu i sprawdzać zgodność z deklarowanym składem, a także badać wpływ procesów

technologicznych na składniki pasty [4]. W obliczu dynamicznego rozwoju technologii oraz rosnących oczekiwań konsumentów, rola past do zębów wykracza daleko poza ich podstawową funkcję higieniczną. Współczesne preparaty są wynikiem interdyscyplinarnych badań, łączących wiedzę z zakresu chemii, technologii materiałowej i stomatologii. Ewolucja formuł – od tradycyjnych mieszanek, po zaawansowane produkty o złożonych strukturach mineralnych – świadczy o postępie naukowym oraz o wzrastającej świadomości dotyczącej zdrowia jamy ustnej. Ważnym aspektem jest optymalny dobór składników, który umożliwia synergiczne działanie poszczególnych komponentów. Aby substancje remineralizujące, takie jak fluorek sodu czy hydroksyapatyt, mogły efektywnie wspierać odbudowę szkliwa, muszą być odpowiednio zbilansowane z komponentami ściernymi, takimi jak węgiel wapnia. Niewłaściwe proporcje mogą bowiem prowadzić do dezaktywacji fluoru, osłabiając profilaktyczne działanie pasty. Dlatego też producenci przykładają ogromną wagę do precyzyjnego ustalania składu, co pozwala na zachowanie pełnej funkcjonalności każdego ze składników. Proces technologiczny, obejmujący etapy mieszania, homogenizacji i granulacji, ma kluczowe znaczenie dla finalnych właściwości produktu. Nawet drobne zmiany w tych etapach mogą wpłynąć na dyspersję składników oraz ich mikrostrukturę, co przekłada się na efektywność mechanicznego usuwania osadów i na interakcje między komponentami. W odpowiedzi na te wyzwania, producenci stosują zaawansowane metody kontroli jakości, wśród których szczególnie wyróżnia się rentgenowska dyfrakcja proszkowa (XRD). Technika ta umożliwia nie tylko dokładną identyfikację składników mineralnych, ale także ocenę stopnia krystaliczności oraz wykrywanie drobnych zmian strukturalnych, które mogą mieć wpływ na działanie preparatu. Dodatkowo, badania nad stabilnością past w różnych warunkach środowiskowych, takich jak zmienne temperatury czy warunki przechowywania, pozwalają na opracowywanie formuł, które zachowują swoje właściwości przez długi czas. W dobie rosnącej konkurencji na rynku kosmetyków, ciągle poszukiwanie innowacyjnych rozwiązań oraz interdyscyplinarne podejście do badań stanowią fundament rozwoju tej gałęzi przemysłu. Takie podejście umożliwia tworzenie preparatów, które nie tylko spełniają rygorystyczne normy jakości, ale przede wszystkim odpowiadają na potrzeby współczesnych konsumentów, dbając o zdrowie jamy ustnej i zapobiegając chorobom zębów oraz dziąseł.

Część eksperymentalna: Materiał badawczy stanowiły cztery wybrane pasty do zębów: Próbkę nr. 1: „BLEND – A – MED 3D WHITE COOL WATER, Próbkę nr. 2: „ORAL – B PRO EXPERT SENSITIVE SMOOTH MINT” Próbkę nr 3: „COLGATE WHITE-NING” oraz Próbkę nr 4: „COLGATE ANTI – CAVITY”. Próbkę wybranych past do zębów przebadano za pomocą aparatu EMPYREAN (Panalytical). Pomiary wykonano z użyciem lampy miedziowej z ceramiczną anodą ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) o mocy 1,5 kW i filtrem promieniowania K β Ni [5]. Pomiary wykonano z krokiem 0.05° w zakresie kątowym od 10° do 80° oraz detektorem 3D Pixcel w geometrii odbiciowej. Próbkę past umieszczono w nośniku próbek stałych, bez dodatkowego przygotowania.

Wyniki: Badania XRD (Rentgenowska Dyfrakcja Proszkowa) past do zębów pozwalają na analizę ich składu krystalograficznego, co jest kluczowe dla określenia obecności i struktury nieorganicznych składników. Na Rysunku 1 przedstawiono wyniki XRD czterech wybranych past do zębów. Próbkę 1 i Próbkę 2 wykazywały charakter amorficzny,

o czym świadczy szeroki, rozmyty sygnał dyfrakcyjny bez wyraźnych maksimów dyfrakcyjnych. Poszerzony sygnał pojawia się w zakresie $2\theta \approx 15\text{--}30^\circ$, co odpowiada krótkodystansowemu uporządkowaniu w strukturze amorficznej [6].



Rys. 1. Eksperymentalne krzywe XRD badanych past do zębów.

W przypadku obu próbek charakter amorficzny związany jest z obecnością krzemionki uwodnionej wskazanej w składzie jako krzemionka uwodniona. Próbkami 3 i 4 były próbkami krystalicznymi. W obu przypadkach ujawniono obecność węglanu wapnia w odmianie polimorficznej kalcytu. Kalcyt jest najbardziej stabilną polimorficzną odmianą węglanu wapnia (CaCO₃) identyfikowalną w badaniach rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej (XRD). Wzorcowe wartości dla kalcytu (ICDD PDF 05-0586) obejmujące dominujące refleksy w pozycjach 2θ (i wskaźnikach hkl): 29.4° – (104) najsilniejszy pik, 39.5° – (113), 43.2° – (202), 47.5° – (018) oraz 48.6° – (116) zgodne są z refleksami XRD widocznymi na Rysunku 1. Potwierdzono tym samym obecność w próbkach 3 i 4 krystalicznej formy węglanu wapnia, krystalizującej w układzie trygonalnym (grupa przestrzenna R-3c). W przypadku próbek krystalicznych określono wielkości krystalitów tworzących strukturę. W tym celu zastosowano równanie Scherrera: $D = k\lambda/B\cos\theta$ gdzie: D – wielkość krystalitu, k – stała zależna od kształtu krystalitów ($k = 0.9$), B – szerokość połówkowa (FWHP) pików w radianach, θ – położenie katowe pików dyfrakcyjnego [7]. Równanie to stosowane jest w celu oszacowania rozmiaru krystalitów na podstawie szerokości pików dyfrakcyjnych i sprawdza się w zakresie wielkości form krystalicznych nie przekraczających 100 nm. W przypadku próbki 3 średnia wielkość krystalitów obliczona dla trzech pików dyfrakcyjnych określających płaszczyzny krystalograficzne (104), (110) oraz (113) wynosiła 30.0 nm. W przypadku próbki 4 średnia wielkość krystalitów dla tych samych sygnałów była nieco większa i wynosiła 33.1 nm. Świadczy to o nieco większych rozmiarach krystalitów CaCO₃ w przypadku próbki COLGATE ANTI – CAVITY i może wskazywać na większą skuteczność w usuwaniu osadów zębowych.

Tabela 1. Wielkości krystalitów CaCO_3 dla próbki 4.

XRD Peaks	Wielkość krystalitów COLGATE ANTI – CAVITY			
	HWHM	2 theta	β	D (nm)
CaCO_3 (104)	0.258	29.21	0.00415	34.54
CaCO_3 (110)	0.273	35.81	0.00443	32.89
CaCO_3 (113)	0.284	39.237	0.00464	31.75
			Średnia	33.1

Wnioski: Wybrane pasty do zębów wykazują różną formę strukturalną. Dwie pierwsze próbki są typowo amorficzne i zawierają niewiele bądź są całkowicie pozbawione krystalicznych składników ścierających. Dwie z próbek są próbkami krystalicznymi, w których składzie dominuje składnik traktowany jako czynnik ścierający. W przypadku wszystkich produktów skład deklarowany na opakowaniu jest zgodny z wynikami eksperymentalnymi. Wybór odpowiedniej pasty do zębów to kluczowy element dbałości o zdrowie zębów i dziąseł, dlatego warto odpowiednio dobrać produkt do codziennej higieny jamy ustnej.

Literatura:

1. U. Kaczmarek, Mechanizmy kariostatyczne fluoru. Czas. Stomat., LVIII (2005) 404
2. J.M. Ten Cate, British Dental Journal, 196 (2004) 251.
3. G.R. Johnson, et al. Journal of Oral Hygiene, 23 (2011) 201.
4. L. Pawlowski, A. Nowak, J. Wiśniewski, Journal of Dentistry, 40 (2012) 743.
5. A. Koenig, L. Schmohl, J. Scheffler, F. Fuchs, M. Schulz-Siegmund, M. Doerfler, S. Jankuhn, S. Hahnel, Polymers, 13 (2021) 1271.
6. D. Popescu, F. Baci, D. Vlăsceanu, C.M. Cotruț, R. Marinescu, Mechanics of Materials, 148 (2020) 103423.
7. A.A. Bunaciu, E.G. Udriștioiu, H.Y. Aboul-Enein, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 45 (2015) 289.

CZY RODZAJ WARSTWY POŚREDNIEJ WPŁYWA NA ODPORNOŚĆ TEMPERATUROWĄ ELEKTROD JONOSELEKTYWNYCH? NOWE SPOJRZENIE NA ELEKTRODY ZE STAŁYM KONTAKTEM

K. MORAWSKA, C. WARDAK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

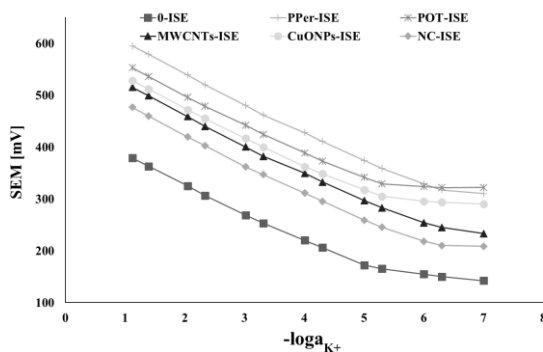
Abstrakt: W pracy przedstawiono badania porównawcze dotyczące wpływu temperatury na parametry elektrod jonoselektywnych ze stałym kontaktem, uwzględnieniem rodzaju materiału wykorzystywanego jako warstwa pośrednia. Przygotowano pięć wersji elektrod, wyposażonych w polimerową membranę czułą na jony potasu. Każda z elektrod różniła się zastosowaną warstwą mediacyjną, w roli której zastosowano między innymi polimery przewodzące (polioktylotiofen i polimer perinonowy), oraz nanomateriały tj. wielościennie nanorurki węglowe, nanocząstki tlenku miedzi(II) oraz nanokompozyt składający się z nanorurek węglowych i nanocząstek tlenku miedzi(II). Badania miały na celu określenie wpływu zmiany temperatury (10°C, 23°C, 36°C) na takie właściwości elektrod jak czułość, zakres pomiarowy, granicę wykrywalności, selektywność, a także stabilność i odwracalność potencjału. Najlepszą odporność na zmiany temperatury wykazywały elektrody modyfikowane nanokompozytem (NC-ISM) oraz polimerem perinonowym (PPer-ISM). Dla tych elektrod uzyskano odpowiedź zbliżoną do odpowiedzi Nernsta, a także stabilny zakres pomiarowy i najniższe granice wykrywalności przy każdej z temperatur. Zastosowanie warstw mediacyjnych znacząco poprawiło stabilność oraz odwracalność potencjału w porównaniu do elektrod niemodyfikowanych.

Wprowadzenie: Potencjometria stanowi jeden z najbardziej rozwiniętych obszarów elektroanalizy chemicznej, w którym kluczowym urządzeniem są elektrody jonoselektywne (ISEs – *ang.* *Ion-Selective Electrodes*), wykorzystywane jako elektrody wskaźnikowe. Czujniki te można podzielić na dwa główne typy: z ciekłym oraz stałym kontaktem, które stanowią najczęściej stosowane modele ISEs[1]. Od połowy XX wieku, nastąpił zwrot ku elektrodom ze stałym kontaktem, które eliminują potrzebę stosowania roztworu wewnętrznego. Taka zmiana umożliwiła miniaturyzację, uproszczenie obsługi, a także poprawiła trwałość i ułatwiła przechowywanie urządzeń. Pierwsze konstrukcje elektrod typu stały kontakt (SC – *ang.* *Solid Contact*) wykazywały problem z niestabilnością potencjału, wynikający z ograniczonego przewodnictwa na granicy faz membrana-elektroda podłożowa[2]. W odpowiedzi na ten problem wprowadzono warstwę mediacyjną, której zadaniem jest usprawnienie procesu przenoszenia ładunku i transdukcji sygnałów. Optymalne właściwości do tego zastosowania wykazują materiały charakteryzujące się hydrofobowością, dobrą przewodnością jonowo-elektronową, stabilnością chemiczną i obojętnością. Warunki te spełniają materiały takie jak, polimery przewodzące, nanomateriały węglowe, nanocząstki metali i ich tlenków, materiały hybrydowe, ciecze jonowe oraz kompozyty[3]. Warto jednak zauważyć, że pomiarom elektrochemicznym mogą także towarzyszyć czynniki zewnętrzne, takie jak skład roztworu, właściwości elektrody odniesienia, ciśnienie czy temperatura. Zgodnie z równaniem Nernsta, temperatura ma bezpośredni wpływ na potencjał elektrody, a jej zmiany mogą prowadzić do modyfikacji czułości elektrody, co

w konsekwencji może prowadzić do błędów pomiarowych lub uszkodzeń samego urządzenia. Zmiana temperatury ma największy wpływ na nachylenie charakterystyki elektrody. Wzrost temperatury o 10°C powoduje wzrost wartości nachylenia o około 2 mV/dekadę[4,5]. Celem nowoczesnych modyfikacji elektrod jest uzyskanie czujnika charakteryzującego się jak najbardziej stabilnym i odwracalnym potencjałem, niezależnie od warunków pomiarowych, takich jak temperatura, światło czy pH środowiska. W pracy przeprowadzono szczegółową analizę pięciu różnych typów elektrod, które zostały opracowane przy użyciu różnorodnych materiałów stałego kontaktu. Wykorzystane materiały obejmują polimery przewodzące, takie jak polioktylotiofen (POT) oraz polimer perinonowy (PPer), nanomateriały węglowe (w tym wielkościenne nanorurki węglowe – MWCNTs), nanocząstki (w szczególności nanocząstki tlenku miedzi(II) – CuONPs) oraz innowacyjny nanokompozyt złożony z MWCNTs i CuONPs. Elektrody te zostały poddane testom w różnych warunkach temperaturowych (10°C , 23°C , 36°C), mającym na celu ocenę wpływu temperatury na kluczowe parametry analityczne, takie jak granica wykrywalności, zakres pomiarowy, nachylenie charakterystyki, stabilność, odwracalność potencjału oraz selektywność. Celem pracy było nie tylko określenie wpływu temperatury na wydajność tych elektrod, ale także dostarczenie nowych informacji na temat ich potencjalnych zastosowań w analizach elektrochemicznych.

Część eksperymentalna: Pierwszym krokiem preparatyki elektrod było przygotowanie elektrod wyprowadzających z węgla szklistego (GCE – *ang.* *Glassy Carbon Electrode*) polegające na wypolerowaniu powierzchni za pomocą zwilżonego wodą, drobnoziarnistego Al_2O_3 , a następnie oczyszczeniu w ultradźwiękowej łaźni. Powierzchnia elektrod została odtłuszczona z zastosowaniem tetrahydrofuranu (THF). Po wstępnej obróbce każda para elektrod (z wyjątkiem kontrolnych bez warstwy stałego kontaktu, na które nałożono jedynie membranę jonoczułą) została zmodyfikowana poprzez naniesienie warstwy mediacyjnej na oczyszczoną GCE. Powstało w ten sposób pięć typów elektrod jonoczułych: 1) PPer-ISE – elektroda z polimerem perinonowym, naniesionym poprzez polimeryzację potencjodynamiczną (szczegóły opisano w pracy [6]); 2) POT-ISE – elektroda z POT, naniesionym przez nakropienie 0,025 M roztworu polimeru w chloroformie; 3) MWCNTs-ISE – elektroda z wielościnnymi nanorurkami węglowymi, naniesionymi przez nakropienie zawiesiny MWCNTs w THF (5 mg/ml); 4) CuONPs-ISM – elektroda z nanocząstkami tlenku miedzi(II), naniesionymi przez nakropienie zawiesiny CuONPs w THF (3 mg/ml); 5) NC-ISM – elektroda z nanokompozytem MWCNTs i CuONPs (sposób przygotowania opisano w pracy [7]). Na tak przygotowane elektrody z warstwami mediacyjnymi (oraz na GCE stanowiącą elektrodę kontrolną) nakropiono w trzech seriach po 50 μl , membranę potasową o składzie: adypinian dioktylu DOS (64%), polichlorek winylu PVC (32%), walinomycyna (3%) i tetrakis 4-chlorofenyloboran potasu KTPClB (1%). Po 24h elektrody kondycjonowano przez kilka dni w 1×10^{-3} M KNO_3 .

Wyniki: Wstępnym krokiem było wyznaczenie charakterystyki elektrod w temperaturze 10°C , 23°C , 36°C w zakresie stężeń 1×10^{-7} – 1×10^{-1} M poprzez odpowiedni dodatek wzorca (1 , 1×10^{-1} , 1×10^{-2} M KNO_3). Odpowiedzi wszystkich elektrod w temperaturze 23°C umieszczono na rysunku 1. Na podstawie krzywych wyznaczono nachylenie charakterystyki, zakres liniowości oraz granicę wykrywalności (Tabela 1).



Rys. 1. Zestawienie krzywych kalibracyjnych elektrod wyznaczonych w temperaturze 23°C.

Tabela 1. Wybrane parametry ISEs, wyznaczone dla pomiarów wykonanych w 10°C, 23°C oraz 36°C.

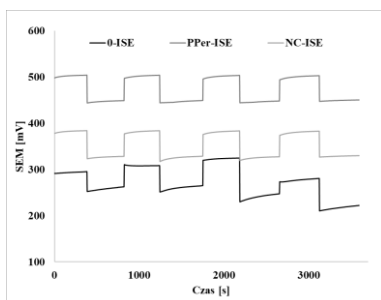
Parametr		0-ISE	PPer-ISE	MWCNTs-ISE	POT-ISE	CuONPs-ISE	NC-ISE
Nachylenie [mV/dekadę]	10°C	54,95	56,98	54,71	54,98	54,32	56,74
	23°C	55,74	58,94	56,47	57,41	56,33	58,71
	36°C	57,11	60,94	57,45	59,17	58,09	60,15
Granica wykrywalności [M]	10°C	$1,87 \times 10^{-5}$	$3,99 \times 10^{-7}$	$1,41 \times 10^{-6}$	$8,91 \times 10^{-7}$	$1,07 \times 10^{-6}$	$4,09 \times 10^{-7}$
	23°C	$7,47 \times 10^{-6}$	$3,87 \times 10^{-7}$	$4,81 \times 10^{-6}$	$8,17 \times 10^{-7}$	$2,14 \times 10^{-6}$	$4,21 \times 10^{-7}$
	36°C	$8,41 \times 10^{-6}$	$3,65 \times 10^{-7}$	$4,71 \times 10^{-6}$	$7,72 \times 10^{-7}$	$3,98 \times 10^{-6}$	$4,34 \times 10^{-7}$
Zakres liniowości [M]	10°C	1×10^{-4} - 1×10^{-2}	5×10^{-7} - 1×10^{-1}	1×10^{-6} - 1×10^{-1}	1×10^{-6} - 1×10^{-1}	1×10^{-6} - 1×10^{-1}	5×10^{-7} - 1×10^{-1}
	23°C	1×10^{-5} - 5×10^{-2}	5×10^{-7} - 1×10^{-1}	5×10^{-6} - 1×10^{-1}	1×10^{-6} - 1×10^{-1}	5×10^{-6} - 1×10^{-1}	5×10^{-7} - 1×10^{-1}
	36°C	1×10^{-5} - 5×10^{-2}	5×10^{-7} - 1×10^{-1}	5×10^{-6} - 1×10^{-1}	1×10^{-6} - 1×10^{-1}	5×10^{-6} - 1×10^{-1}	5×10^{-7} - 1×10^{-1}

Istotnymi parametrami w odniesieniu do SCISEs jest stabilność oraz odwracalność potencjału. Stabilność krótkoterminową badano poprzez pomiar SEM przez 3h w 1×10^{-3} M roztworze KNO_3 dla każdej z trzech badanych temperatur 10°C, 23°C, 36°C. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono dryft potencjału, czyli iloraz różnicy potencjału oraz czasu (Tabela 2).

Tabela 2. Wybrane parametry ISEs, wyznaczone dla pomiarów wykonanych w 10°C, 23°C oraz 36°C.

Dryft potencjału [uV/s]	0-ISE	PPer-ISE	MWCNTs-ISE	POT-ISE	CuONPs-ISE	NC-ISE
10°C	8,34	0,09	0,92	0,37	0,71	0,11
23°C	3,94	0,07	0,81	0,58	0,78	0,09
36°C	9,48	0,06	0,69	0,51	0,94	0,08

Odwracalność potencjału badano z kolei poprzez naprzemienny pomiar potencjału w roztworach KNO_3 o stężeniach odpowiednio 1×10^{-3} M oraz 1×10^{-4} M, o różnych temperaturach (10°C, 23°C, 36°C). Na podstawie uzyskanych wyników sporządzono graficzne zestawienia odwracalności (Rys. 2). Obliczono również odchylenie od średniej wartości potencjału dla danego stężenia z 5 pomiarów (Tabela 3).



Rys. 2. Odwracalność potencjału dla 0-ISE, PPer-ISE, NC-ISE uzyskane w temperaturze 10°C.

Tabela 3. Wartości odchylenia standardowego od średniej wartości potencjału elektrody dla danego stężenia (n=5) dla pomiarów wykonanych w 10°C, 23°C oraz 36°C.

Temperatura	roztwór [M]	0-ISE	PPer-ISE	MWCNT s-ISE	POT-ISE	CuONPs-ISE	NC-ISE
10°C	1x10 ⁻³	19,77	1,12	1,78	1,84	2,74	1,11
	1x10 ⁻⁴	19,98	1,31	2,61	2,11	2,85	1,49
23°C	1x10 ⁻³	8,74	0,84	1,21	1,87	1,41	1,05
	1x10 ⁻⁴	10,41	1,03	1,52	1,92	1,65	1,21
36°C	1x10 ⁻³	15,47	0,87	2,21	1,24	1,87	1,08
	1x10 ⁻⁴	17,84	0,92	2,34	1,28	2,14	1,11

Wnioski: W pracy przedstawiono wpływ temperatury na parametry analityczne elektrod jonoselektywnych modyfikowanych różnymi materiałami stałego kontaktu. Badania wykazały, że obecność warstwy mediacyjnej znacząco poprawiła stabilność i odwracalność potencjału elektrod, co przyczyniło się do zwiększenia ich wydajności w różnych temperaturach (10°C, 23°C, 36°C). W porównaniu do nich, elektrody niemodyfikowane charakteryzowały się dużą niestabilnością oraz słabą odwracalnością potencjału w każdej z temperatur. Najlepsze wyniki uzyskano dla elektrod PPer-ISM i NC-ISM, które charakteryzowały się najlepszą czułością, najszerzym stabilnym zakresem liniowości oraz najniższymi wartościami granicy wykrywalności, co czyni je dobrymi narzędziami analitycznymi, które mogą zostać wykorzystane w różnych warunkach temperaturowych bez pogorszenia precyzji i dokładności wyników pomiarów.

Literatura:

1. L. Gao, Y. Tian, W. gao, G. Xu, Sensors, 24 (2024) 4289.
2. E. Zdrachek, E. Bakker, Anal. Chem., 91 (2019) 2.
3. C. Wardak, K. Pietrzak, K. Morawska, M. Grabarczyk, Sensors, 23 (2023) 5839.
4. K. Reid, R. Marrannes, A. Wauquier, J. Neurosci. Methods, 25 (1988) 49.
5. M. T. S. D. Vasconcelos, A. A. S. C. Machado, Analyst, 115 (1990), 195.
6. K. Morawska, et al., Sens. Actuat. B-Chem, 422 (2025) 136662.
7. K. Morawska, S. Malinowski, J. Krawczyk, C. Wardak, J. Electrochem. Soc., 171 (2024) 087511.

JEDNOCZESNE OZNACZANIE JONÓW Cd(II) I Pb(II) METODĄ ANODOWEJ WOLTAMPEROMETRII STRIPINGOWEJ Z WYKORZYSTANIEM NOWEGO TYPU STAŁEJ ZESPOŁONEJ MIKROELEKTRODY BIZMUTOWEJ

P. MRÓZEK, I. GĘÇA, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Metale ciężkie to pierwiastki o dużej masie atomowej i gęstości, pochodzenia naturalnego (np. erupcje wulkanów, wietrzenie skał) oraz pochodzenia antropogenicznego (rozwój cywilizacyjny, wzrost uprzemysłowienia). Metale te mogą być niezbędne do życia w śladowych ilościach, natomiast w większych stężeniach mogą być toksyczne. Niektóre są toksyczne nawet w małych ilościach, dlatego ich identyfikacja i wykrywanie są niezbędne już od niskich wartości stężeń. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań uzyskanych podczas opracowywania procedury jednoczesnego oznaczania jonów Cd(II) i Pb(II) metodą anodowej woltamperometrii strippingowej z wykorzystaniem nowego typu stałej zespolonej mikroelektrody bizmutowej. W optymalnych warunkach pomiarowych przy czasie nagromadzenia 60s krzywe kalibracyjne wykazywały liniowy przebieg w zakresach stężeń od 1×10^{-9} do 2×10^{-7} mol L⁻¹ dla jonów ołowiu oraz od 5×10^{-9} do 2×10^{-7} mol L⁻¹ dla jonów kadmu. Opracowaną procedurę analityczną wykorzystano do jednoczesnego oznaczenia tych jonów w wodnych próbkach środowiskowych uzyskując zadowalające wartości odzysków oraz w certyfikowanych materiałach odniesienia uzyskując wyniki zbliżone z wartościami certyfikowanymi.

Wprowadzenie: Ołów i kadm są metalami ciężkimi, które mają szkodliwy wpływ na środowisko oraz negatywnie wpływają na ludzkie zdrowie. W wyniku zatrucia tymi metalami drogami pokarmową i oddechową mogą przyczyniać się do powstawania wielu chorób, a nawet do zagrożenia życia. Ołów i jego związki mogą powodować uszkodzenia układów krwiotwórczego i nerwowego, wpływać negatywnie na nerki, a w wyniku hamowania syntezy hemoglobiny mogą przyczyniać się do niedokrwistości. Dodatkowo szkodliwie wpływają na rozwój płodu i rozrodczość. Ołów oraz jego związki akumulują się w kościach [1]. Natomiast kadm to jeden z najbardziej szkodliwych pierwiastków, gdyż jego nadmiar w organizmie człowieka przyczynia się do zaburzenia pracy nerek, choroby sercowo-naczyniowej oraz nadciśnieniowej. Jest to metal rakotwórczy. Pierwiastek ten akumuluje się w nerkach i wątrobie. Kolejnymi z negatywnych skutków ekspozycji na kadm i jego związki jest obniżenie odporności immunologicznej u dzieci, przyczynianie się do upośledzenia układu rozrodczego, a także negatywny wpływ na układ kostny, czego wynikiem może być np. choroba Itai-Itai, która charakteryzuje się specyficznym kaczym chodem, wynikającym z ubytków związków mineralnych w kościach [2,3]. Rosnące stężenia jonów tych metali w przyrodzie, wynikające z zanieczyszczenia gleby, powietrza i wód, wymagają monitorowania. W tym celu stosuje się wiele metod analitycznych, a jedną z nich jest anodowa woltamperometria strippingowa. Metoda ta umożliwia osiąganie bardzo niskich granic wykrywalności dzięki tzw. etapowi zatężania wprowadzonemu do po-

miaru woltamperometrycznego. Bieżące trendy badawcze związane z metodą woltamperometrii stripingowej to m.in. poszukiwanie nowych elektrod pracujących, alternatywnych dla powszechnie stosowanych toksycznych elektrod rtęciowych, które posiadałyby jak najwięcej korzystnych cech tych elektrod takich jak niskie wartości prądu tła oraz powtarzalną powierzchnię. W literaturze znaleźć można wiele rozwiązań takich jak: elektrody węglowe (np. z węgla szklanego, impregnowanego grafitu, diamentowe domieszkowane borem), elektrody węglowe modyfikowane cząstkami biologicznymi (np. enzymami), metalami (np. błonkowe elektrody bizmutowe, ołowiowe, antymonowe), materiałami polimerowymi (np. Nafion), stałe elektrody metaliczne (np. bizmutowe i ołowiowe) oraz elektrody sitodrukowane [4]. Ważną alternatywę dla elektrod pracujących o konwencjonalnych rozmiarach stanowią mikroelektrody, których zastosowanie skutkuje uzyskiwaniem korzystnego stosunku sygnału do szumu, możliwością przeprowadzania pomiarów z roztworów o małych objętościach i z roztworów rozpuszczalników organicznych. Obecnie za mikroelektrodę przyjmuje się elektrodę o wymiarach równych bądź mniejszych niż 25 μm . Bardzo niewielkie rozmiary mikroelektrod powodują, że rejestrowane prądy są wrażliwe na zakłócenia. Rozwiązaniem tego problemu jest konstruowanie mikroelektrod zespolonych składających się z kilkunastu, kilkudziesięciu lub nawet kilkuset pojedynczych mikroelektrod [5,6]. Takie konstrukcje powodują wzmocnienie rejestrowanych prądów w porównaniu do tych, rejestrowanych z wykorzystaniem pojedynczych mikroelektrod. W niniejszej pracy zaprezentowano wykorzystanie nowego typu stałej zespolonej mikroelektrody bizmutowej do opracowania procedury jednoczesnego oznaczania jonów kadmu i ołowiu metodą anodowej woltamperometrii stripingowej. Dzięki zastosowaniu proponowanej stałej mikroelektrody bizmutowej nie ma konieczności wprowadzania jonów bizmutu do elektrolitu podstawowego w celu przygotowania błonkowej elektrody bizmutowej, co stanowi dodatkową, ekologiczną zaletę opracowanej procedury analitycznej.

Część eksperymentalna: Pomiary wykonano w klasycznej celi pomiarowej o pojemności 10 ml, w układzie trzelektrodowym przy użyciu analizatora elektrochemicznego $\mu\text{Auto-lab}$ holenderskiej firmy EcoChemie. Jako elektrodę odniesienia zastosowano elektrodę chlorosrebrową, natomiast przeciwelektrodą był drut platynowy. Elektrodą pracującą była nowego typu stała zespolona mikroelektroda bizmutowa. Przed rozpoczęciem pomiarów elektroda pracująca była odpowiednio przygotowywana poprzez mechaniczne polerowanie na papierze ściernym o różnej ziarnistości, a następnie czyszczona w łaźni ultradźwiękowej. Standardowa procedura pomiarowa składała się z następujących etapów: etap aktywacji mikroelektrody (elektrochemicznego czyszczenia powierzchni) odbywał się przy potencjale -2,5 V w czasie 1s. Następnie przy potencjale -0,9 V w czasie 60s jony kadmu i ołowiu były nagromadzane na powierzchni mikroelektrody pracującej w wyniku ich redukcji do stanu metalicznego. Następnie rejestrowano woltamperogram, przy zmianie wartości potencjału w zakresie od -1,0 V do -0,3 V. Częstotliwość, amplituda i krok potencjału wynosiły odpowiednio: 200 Hz, 20 mV, 6 mV.

Wyniki: W celu optymalizacji procedury analitycznej zbadano wpływ składu elektrolitu podstawowego oraz potencjału i czasu aktywacji i nagromadzania. Za optymalne stężenie buforu octanowego (pH 4,6) uznano 0,05 mol L^{-1} . Optymalne warunki potencjału i czasu aktywacji wynosiły -2,5 V w czasie 1s, natomiast warunki nagromadzania -0,9 V w czasie 60s. Stwierdzono, że liniowy zakres krzywych kalibracyjnych mieścił się w zakresach

stężeń od 1×10^{-9} do 2×10^{-7} mol L⁻¹ dla jonów ołowiu oraz od 5×10^{-9} do 2×10^{-7} mol L⁻¹ dla jonów kadmu. Oszacowane wartości granic wykrywalności wynosiły $4,9 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹ oraz $2,2 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ odpowiednio dla jonów Pb(II) i Cd(II). Ponadto zbadano wpływ jonów obcych na sygnały analityczne jonów kadmu i ołowiu. Stwierdzono, że 100-krotny nadmiar jonów Ni(II), V(V), Co(II), Fe(III), Mn(II) i Zn(II) nie przeszkadzał w oznaczaniu jonów Pb(II) i Cd(II). Natomiast 50-krotny nadmiar jonów Cu(II) oraz 20-krotny nadmiar jonów Mo(VI) znacząco tłumił sygnały oznaczanych pierwiastków. Opracowaną procedurę analityczną zastosowano do oznaczania zawartości jonów kadmu i ołowiu w próbkach wody z rzeki Bystrzyca oraz próbkach wody z morza Bałtyk uzyskując zadowalające wartości odzysków mieszczące się w zakresie od 96 do 103%. Dodatkowo poprawność opracowywanej procedury analitycznej potwierdzono oznaczając jony Pb(II) i Cd(II) w certyfikowanym materiale odniesienia TM 26,5 uzyskując wyniki zgodne z wartościami certyfikowanymi.

Wnioski: Opracowana procedura analityczna może być wykorzystana do jednoczesnego oznaczania jonów Cd(II) i Pb(II) metodą anodowej woltamperometrii strippingowej, co potwierdzono na podstawie wyników analiz próbek wód środowiskowych oraz certyfikowanego materiału odniesienia. Proponowana stała zespolona mikroelektroda bizmutowa może stanowić alternatywę dla błonkowych elektrod bizmutowych oraz stałych elektrod bizmutowych o konwencjonalnych rozmiarach.

Literatura

1. J. Surgiewicz, PIMOŚP, 89 (2016) 147.
2. H. Maciołek, A. Zielińska, T. Domarecki, J. Ecol. Health, 17 (2013) 63.
3. A. Kaczyńska, M. Zajączkowski, M. Grzybiak, Ann. Acad. Med. Gedan., 45 (2015) 65.
4. A. J. Borrill, N.E. Reily, J. V. Macpherson, Analyst, 144 (2019) 6834
5. X. Xie, D. Stueben, Z. Berner, Anal. Lett., 38 (2005) 2281.
6. K. Štulík, C. Amore, K. Holub, V. Mareček, W. Kutner, Pure Appl. Chem., 72 (2000) 1483.

DOBÓR ZŁOŻA SPE DO OZNACZEŃ METABOLITÓW TRYPTOFANU W POSTACI POCHODNYCH ESTROWYCH W SUROWICY KRWI METODĄ LC-MS

K. OŹGA¹, I SADOK², ¹KUL, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biomedycyny i Badań Środowiskowych, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, ²KUL, Wydział Medyczny, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii Biomedycznej i Analitycznej, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

Abstrakt: W wyniku degradacji tryptofanu szlakiem kinureninowym powstają kinureniny – metabolity o właściwościach immunomodulujących, powiązane z chorobami neurologicznymi, autoimmunologicznymi i nowotworowymi. Badania nad tym szlakiem mogą pomóc w opracowaniu nowych terapii i biomarkerów. LC-MS to czuła technika analityczna, umożliwiająca ocenę diagnostycznego potencjału kinurenin. Surowica krwi, będąca materiałem badawczym pobranym w mało inwazyjny sposób, wymaga jednak odpowiedniego przygotowania do oznaczeń metabolitów. W niniejszym komunikacie porównano odzyski wybranych kinurenin po zastosowaniu dziesięciu różnych komercyjnie dostępnych kolumnienek SPE, co pozwoliło na wybór wstępnych warunków do dalszej optymalizacji etapu przygotowania surowicy krwi do analizy LC-ESI-MS. Do badań wytypowano kinureninę (KYN) oraz 3 inne metabolity tryptofanu – 3-hydroksykinureninę (3HKYN), kwas nikotynowy (NA) i kwas chinolinowy (QA), które są trudne do detekcji w próbkach biologicznych z wykorzystaniem źródła jonów typu elektrosprej (ESI). Przed oznaczeniem metabolity przeprowadzano do pochodnych estrowych, wykorzystując reakcję z *n*-butanolem w obecności chlorku acetylu.

Wprowadzenie: Zaburzenie metabolizmu tryptofanu (TRP) szlakiem kinureninowym zostały powiązane z szeregiem chorób (tj. zespół jelita drażliwego, depresja, schizofrenia, choroba Alzheimera i Parkinsona) oraz różnymi nowotworami (rakiem jelita grubego, wątroby, trzustki, płuc, endometrium, jajnika, piersi, glejakiem). Metabolity powstające w wyniku degradacji TRP szlakiem kinureninowym (tzw. kinureniny) i jego kluczowe enzymy wpływają na różne funkcje komórkowe, w tym odpowiedź immunologiczną, proliferację i migrację komórek układu odpornościowego. KYN działa jako ligand dla receptora arylowego hydroksylazy (AhR), przez co może modulować odpowiedź immunologiczną. Wpływa również na proliferację limfocytów T (Th1 i Th2), co jest istotne w kontekście regulacji działań zapalnych i autoimmunologicznych. 3HKYN wykazuje działanie prozapalne. Przy wyższych stężeniach może indukować apoptozę komórek układu odpornościowego. QA jest znany ze swoich właściwości prozapalnych i neurotoksycznych. NA jest końcowym produktem szlaku kinureninowego i odgrywa istotną rolę w biosyntezie NAD⁺, co jest kluczowe dla procesów metabolicznych i energetycznych zachodzących w komórkach [1]. Według ostatnich badań zaburzenia endogennych poziomów metabolitów TRP jest silnie skorelowany z wieloma cechami klinicznymi w niektórych chorobach nowotworowych, jak i nienowotworowych [1]-[4]. W celu kompleksowego poznania roli metabolitów szlaku kinureninowego i określenia ich zastosowań klinicznych niezbędna jest metoda do jednoczesnego ich oznaczenia w matrycy, której pobranie jest mało inwa-

zyjne, dlatego też interesującym materiałem badawczym jest surowica krwi. Chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas z jonizacją próbki przez elektrozrospasanie (LC-ESI-MS) jest skutecznym narzędziem analitycznym do analizy śladowej związków o małej masie cząsteczkowej (tj. metabolity TRP) obecnych w złożonych próbkach biologicznych, w tym surowicy krwi. Kinureniny to zróżnicowana grupa związków, które wykazują znaczne różnicowe właściwościach fizykochemicznych, tj. polarność, co sprawia, że technika LC-ESI-MS w połączeniu z typowym protokołem przygotowania próbki nie zawsze umożliwia jednoczesne oznaczanie pełnego panelu tych substancji [5]. Szczególnie problematyczna jest detekcja 3HKYN, QA, NA – metabolitów, których niedobory lub podwyższone poziomy powiązane z wieloma zaburzeniami i chorobami człowieka. Ponadto, jednoczesne monitorowanie stężeń tych metabolitów obok innych pochodnych TRP pozwala na ocenę, w którym kierunku modulowany jest metabolizm tego aminokwasu w stanach patologicznych. Etap przygotowania próbki jest krytycznym czynnikiem determinującym zarówno dokładność analizy, jak i możliwość wykrycia i oznaczenia analitów w badanej próbce. Odpowiednio przeprowadzony etap przygotowania próbki, a w szczególności procedura jej oczyszczania z substancji, które mogą zaburzać jonizację analitów w źródle ESI, umożliwia uzyskanie wiarygodnych i powtarzalnych wyników. Zastosowanie ekstrakcji do fazy stałej (ang. Solid-Phase Extraction, SPE) pozwala na skuteczne oczyszczenie i zagęszczenie analitów, co zwiększa czułość i selektywność analizy [6]. Przy oznaczaniu metabolitów TRP w surowicy krwi metodą LC-ESI-MS, wybór odpowiedniego złoża SPE jest kluczowy dla usunięcia niepożądanych składników próbki przy minimalnej stracie oznaczanych metabolitów [3]. W celu poprawy parametrów chromatograficznych kinurenin zastosowaliśmy reakcję derywatyzacji opartą na estryfikacji z *n*-butanolem w obecności chlorku acetylu [7], celem zwiększenia masy cząsteczkowej analitów i wydłużenia ich czasów retencji na kolumnie analitycznej ze złożem C18. W niniejszym komunikacie zaprezentowano wyniki badań uzyskane podczas porównania wartości odzysków wybranych kinurenin (w postaci pochodnych estrowych) na dziesięciu różnych kolumnkach stosowanych do doczyszczania próbek techniką SPE.

Część eksperymentalna: Wszystkie odczynniki i substancje chemiczne były wysokiej klasy czystości z przeznaczeniem do analiz LC-MS. Do badania wykorzystano komercyjnie dostępną surowicę ludzką (Sigma-Aldrich). Do surowicy (90 µL) dodawano 10 µL mieszaniny standardów kinurenin (3HKYN, KYN, NA, QA), następnie 50 µL 15% (v/v) wodnego roztworu kwasu trichlorooctowego (TCA) (Sigma-Aldrich), w celu wytrącenia białek z próbek. Przed przeprowadzeniem derywatyzacji, próbki odparowano z wykorzystaniem Genevac EZ-2 Series. Następnie do próbek dodano 70 µL mieszaniny 9:1 (v/v) *n*-butanolu z chlorkiem acetylu (Sigma-Aldrich). Probki inkubowano w 57°C przez 1h w termobloku, ponownie odparowano, a potem rozpuszczono w 500 µL ultra-czystej wody przed doczyszczaniem techniką SPE z wykorzystaniem 10 różnych kolumnenek (Tabela 1) oraz automatycznego systemu ekstrakcji próbek Gilson GX-271 ASPEC. Zastosowane warunki SPE: kondycjonowanie 1 mL metanolu, dozowanie próbki: 500 µL, przepłukanie: 1 mL wody, elucja: 1 mL mieszaniny metanol:acetonitryl (50:50, v/v). Analogicznie przygotowano próbki surowicy bez dodatku analitów, celem oceny endogennych poziomów metabolitów i korekty wyników. Następnie próbki odparowano do sucha, a osad rozpuszczono w 150 µL 0,1% (v/v) kwasu octowego w wodzie. Analizy przeprowadzono z wykorzystaniem wysokosprawnego chromatografu cieczowego serii 1200

sprężonego ze spektrometrem mas typu pojedynczy kwadrupol (model 6120, firmy Agilent Technologies). Jonizację próbki uzyskano w polaryzacji dodatniej. Jony pseudomolekularne ($[M+H]^+$) monitorowano w trybie SIM (z ang. Single Ion Monitoring): m/z 265 dla KYN, m/z 281 dla 3HKYN, m/z 224 dla QA i m/z 180 dla NA. Warunki rozdzału chromatograficznego i pracy spektrometru mas zamieszczono w Tabeli 2.

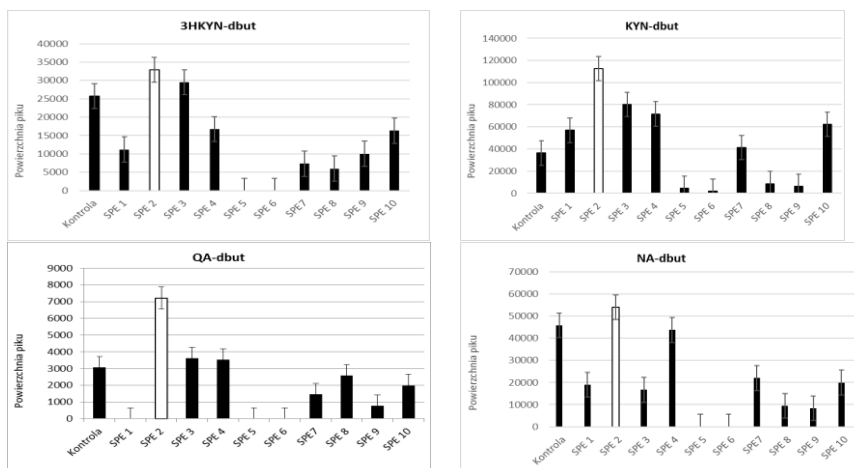
Tabela 1. Charakterystyka kolumniek SPE wykorzystanych w badaniach.

Skrót	Typ kolumniki SPE	Rodzaj wypełnienia	Masa sorbentu (mg)	Średnia średnica porów (Å)
SPE 1	Strata-X	Złoże polimerowe do pracy w odwróconym układzie faza	30	81-91
SPE 2	Chromabond HR-X	Polistyren-diwinylbenzen	30	50-70
SPE 3	Attract SPE HLB	Hydrofilowy modyfikowany polimer na bazie styrenu	30	60-90
SPE 4	Bekolut HLB Xtra	Kopolimer PS-DVB	30	100
SPE 5	Chromabond C18	Żel krzemionkowy modyfikowany oktadecylem (C18)	100	55-75
SPE 6	Bond Elut Plexa	Polipropylen	30	81-91
SPE 7	Discovery® DPA-6S SPE Tube	Żywica poliamidowa	50	50-70
SPE 8	HybridSPE®-Phospholipid	Polipropylen twardy	30	-
SPE 9	InterSep Phospholipid Remover	krzemionka modyfikowanej grupami funkcyjnymi etylenodiaminy-N-propylu	50	60
SPE 10	Discovery DSC-CN SPE	Związany monomerycznie, cyjanopropyl (7 %C)	100	70
SPE11	Discovery® DSC-8	Związany monomerycznie, oktyl (9 %C)	50	70

Tabela 2. Warunki metody LC-ESI-MS.

Warunki pracy systemu LC	
Kolumna analityczna	Luna 3u C18(2) 100Å, 150 × 4,6 mm (Phenomenex)
Skład fazy ruchomej	Składnik A: 0,1 % kwasu octowego w wodzie, składnik B: metanol
Gradient i prędkość przepływu fazy ruchomej	0-24 min: 28% składnik B; 24-30 min: od 28 do 40% składnika B, 30-48 min: od 40 do 46% składnika B, 48-65 min: od 46 do 60% składnika B, 65-75 min: 60% składnika B (kondycjonowanie kolumny przed kolejną analizą: 5 min)
Temperatura kolumny	40°C
Objętość dozowana	10 µL
Warunki pracy spektrometru mas	
Napięcie kapilary: 3500V; ciśnienie nebulizera: 50 psi; temperatura: 350°C; przepływ gazu: 11 L/min	

Wyniki: Na rysunku 1 porównano pola powierzchni pików pochodnych estrowych kinu-renin (KYN-dbut, 3HKYN-dbut, QA-dbut i NA-dbut) w surowicy krwi po oczyszczaniu techniką SPE na kolumnkach wymienionych w Tabeli 1. Kolumnka SPE 2 ze złożem polistyren-diwinylbenzen (Chromabond HR-X) pozwoliła na uzyskanie najlepszego odzysku dla większości metabolitów TRP. Najgorszy odzysk uzyskano dla kolumniek SPE 5 (Chromabond C18) i SPE 6 (Bond Elut Plexa).



Rys. 1. Porównanie pól powierzchni derywatów kinurenin po oczyszczaniu surowicy krwi techniką SPE z wykorzystaniem kolumnienek z różnym złożem.

Wnioski: Badania nad szlakiem kinureninowym mogą zmienić podejście do leczenia wielu chorób, otwierając nowe perspektywy terapeutyczne. Odpowiednio zoptymalizowany etap przygotowania próbki materiału biologicznego do analizy LC-MS wpływa na dokładność i precyzję uzyskanych wyników. Poprzez odpowiednie przygotowanie próbki do analizy (np. techniką SPE) możemy zmniejszyć wpływ matrycy próbki na wydajność jonizacji analitów w źródle mas (tzw. efekt matrycowy) i obniżyć granicę oznaczalności metody. Kolumnienki SPE 2 ze złożem polistyren-diwinylbenzen (Chromabond HR-X) zostały wybrane do dalszej optymalizacji protokołu dedykowanego do jednoczesnej analizy ilościowej pełnego panelu metabolitów TRP metodą LC-ESI-MS w surowicy krwi.

Podziękowania: Badania zostały finansowane przez NCNw ramach grantu Preludium-21 (nr 2022/45/N/NZ5/01753, kierownik projektu: Kinga Ożga).

Literatura:

1. A. A.-B. Badawy, Exp. Gerontol., 129 (2020) 110770.
2. K. Gęca et al., Int. J. Tryptophan Res. 15 (2022) 1.
3. I. Sadok, K. Jędruchiewicz, K. Rawicz-Pruszyński, M. Staniszevska, Int. J. Mol. Sci., 22 (2021) 6972.
4. C. Xue et al., Cell Metab., 35 (2023) 1304.
5. A. S. M. M. R. Chawdhury, S. A. Shamsi, A. Miller, A. Liu, J. Chromatogr. A, 1651 (2021) 462294.
6. M. Młynarczyk, M. Belka, W. Hewelt-Belka, TrAC Trends Anal. Chem., 180 (2024) 117941.
7. F. Tömösi et al., J. Pharm. Biomed. Anal., 185 (2020) 113246.

ELEKTROREDUKCJA JONÓW Bi(III) W MIESZANYCH WODNO-ORGANICZNYCH ROZTWORACH ELEKTROLITÓW PODSTAWOWYCH ZAWIERAJĄCYCH ACETONITRYL

A.N. PAWLAK, A. NOSAL-WIERCIŃSKA, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

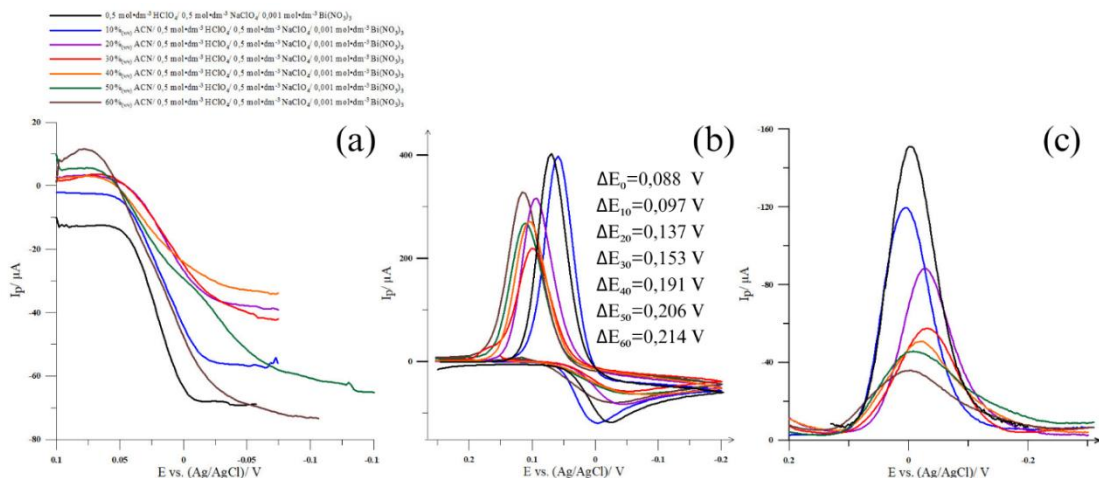
Abstrakt: Praca stanowi fragment badań nad kinetyką i mechanizmem inhibitowania procesu elektrowodroredukcji jonów Bi(III) przez cząsteczki acetonitrylu obecne w składzie mieszanym, wodno-organicznych roztworów elektrolitów podstawowych. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do rozwoju technologii elektrochemicznych.

Wprowadzenie: Elektrowodroredukcja jonów metali ciężkich stanowi kluczowe zagadnienie w badaniach elektrochemicznych, ze względu na ich znaczenie zarówno w procesach przemysłowych, jak i w ochronie środowiska. Jony bizmutu (III) w porównaniu do innych jonów metali ciężkich wykazują stosunkowo niską toksyczność, co stanowi bardzo pożądany aspekt badań. Proces elektrowodroredukcji jonów Bi(III) jest wieloetapowy, co sugeruje, że może być skomplikowany i zawierać etapy pośrednie prowadzące do uzyskania produktu końcowego (zwykle amalgamatu bizmutu, w przypadku wykorzystania elektrod opartych na rtęci). Należy również zwrócić uwagę na wpływ warunków eksperymentalnych, takich jak skład elektrolitu podstawowego, obecność specyficznych jonów oraz struktura powierzchni elektrody roboczej [1] na wspomniany proces elektrowodroredukcji jonów Bi(III). W literaturze wciąż istnieją istotne luki dotyczące kinetyki elektrowodroredukcji Bi(III) w mieszanym rozpuszczalnikach wodno-organicznych. Układy takie, zwłaszcza te zawierające acetonitryl, mogą wykazywać unikalne właściwości fizykochemiczne, które znacząco wpływają na mechanizm oraz szybkość procesów elektrodowych. Zmiany w składzie rozpuszczalnika, mogą prowadzić do nieliniowych zależności pomiędzy potencjałem elektrodowym a szybkością elektrowodroredukcji. Zjawisko to może wynikać m.in. ze zmian w solwatacji jonów obecnych w roztworze oraz wpływu rozpuszczalnika organicznego na barierę aktywacji procesu elektrodowego [2]. Wykorzystanie acetonitrylu w mieszanym roztworach wodno-organicznych stanowi interesujący przypadek. Zmiany stosunku stężeń chloranu(VII)/acetonitryl w badanych układach mogą wpływać na współczynnik dyfuzji jonów Bi(III) oraz modyfikować mechanizm elektrowodroredukcji, w tym przejście pomiędzy kontrolą dyfuzyjną a innymi możliwymi ograniczeniami procesu elektrodowego. Ponadto, zjawisko specyficznej solwatacji jonów może prowadzić do modyfikacji ścieżki wymiany elektronowej, co w efekcie wpływa na wartość stałych szybkości reakcji elektrochemicznych. Celem niniejszej pracy jest analiza kinetyki oraz mechanizmu procesu elektrowodroredukcji jonów Bi(III) w mieszanym rozpuszczalnikach wodno-organicznych, zawierających acetonitryl. Uzyskane wyniki stanowią będą kluczowe znaczenie dla dalszego rozwoju technologii elektrochemicznych oraz badania właściwości nowoczesnych czujników w tym np. bizmutowych.

Część eksperymentalna: Dokonano analizy elektrowodroredukcji jonów Bi(III) ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich)) w mieszanym roztworach elektrolitów podstawowych

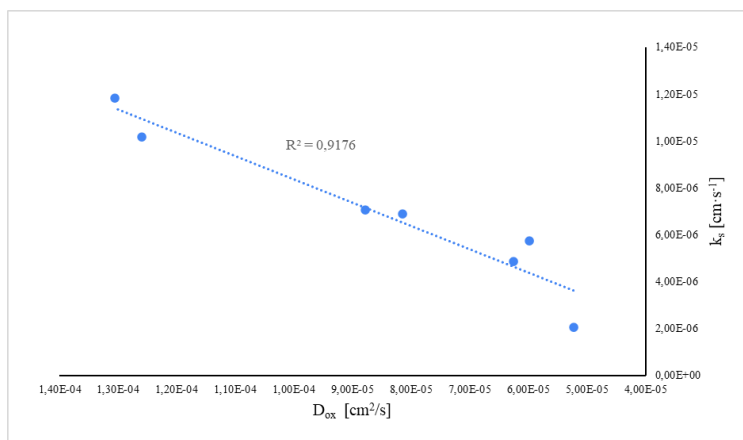
zawierających $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$ (Fluka) i $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ HClO}_4$ (Sigma), w połączeniu z wodą i acetonitrylem. Stężenie acetonitrylu w roztworach zmieniano co 10%, w zakresie od 0% do 60%. Pomiarów dokonano z wykorzystaniem potencjostatu $\mu\text{Autolab FRA 2/GPES}$ (Eco Chemie) wraz z programowalnym statywem elektrodowym M165D (mtm-anko). Układ elektrod składał się z: elektrody odniesienia $\text{Ag}/\text{AgCl}/3\text{M KCl}$, elektrody pomocniczej z drutu platynowego oraz elektrody roboczej, będącej czujnikiem z cyklicznie odnawialnym filmem ciekłego amalgamatu srebra (R-AgLAFe), który stanowi efektywną i bezpieczniejszą alternatywę dla tradycyjnych elektrod rtęciowych. Każdy z roztworów przed wykonaniem pomiarów poddano odtlenianiu poprzez przepuszczenie gazu obojętnego (azotu) w czasie co najmniej 10 minut. Temperaturę eksperymentu utrzymywano na poziomie 25°C , dla każdego układu wykonując co najmniej 5 powtarzalnych pomiarów. Analizy procesu elektrodowego dokonano korzystając z trzech komplementarnych technik elektrochemicznych: woltamperometrii cyklicznej (CV), woltamperometrii fali prostokątnej (SWV) oraz polarografii stałoprądowej (DC).

Wyniki:



Rys. 2. (a) Fale polarograficzne DC elektroredukcji $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ jonów Bi(III) w wodnym i wodno-organicznych roztworach elektrolitów podstawowych zawierających acetonitryl. (b) Krzywe woltamperometryczne CV elektroredukcji $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ jonów Bi(III) w wodnym i wodno-organicznych roztworach elektrolitów podstawowych zawierających acetonitryl. (c) Piki SWV elektroredukcji $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ jonów Bi(III) w wodnym i wodno-organicznych roztworach elektrolitów podstawowych zawierających acetonitryl.

Wzrost ilości acetonitrylu (ACN) w roztworze elektrolitu podstawowego powoduje spadek odwracalności procesu elektroredukcji jonów Bi(III) . Świadczą o tym: zmiana nachylenia fali polarograficznej DC elektroredukcji jonów Bi(III) (spadek nachylenia) (Rys. 1a), zwiększenie odległości między pikiem anodowym a katodowym (ΔE) na krzywych woltamperometrii cyklicznej (Rys. 1b) oraz obniżenie wartości prądów pików SWV elektroredukcji jonów Bi(III) (Rys. 1c).



Rys. 2. Zależność pomiędzy standardową stałą szybkości (k_s) elektroredukcji $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ jonów Bi(III) a współczynnikiem dyfuzji jonów Bi(III) (D_{ox}).

Silna korelacja liniowa ($R^2 = 0,91763$) pomiędzy współczynnikiem dyfuzji jonów Bi(III) (D_{ox}) a standardową stałą szybkości (k_s) wskazuje, że spadek wartości D_{ox} bezpośrednio wpływa na zmniejszenie k_s , co może wynikać zarówno z ograniczonego dostępu jonów depolaryzatora do elektrody, jak i wzrostu bariery energetycznej aktywacji procesu elektrodowego, spowodowanego reorganizacją otoczenia solwatacyjnego [3]. Prawdopodobny mechanizm procesu elektrodowego należy wiązać ze wzrostem lepkości środowiska elektrolitu podstawowego [4], co utrudnia transport jonów depolaryzatora do granicy faz elektroda R-AgLAFe/ roztwór.

Tabela 1. Wartości potencjałów formalnych (E_f^0), odwracalnych potencjałów półfali ($E_{1/2}^r$), współczynników przejścia katodowego (α), oraz standardowych stałych szybkości (k_s) elektroredukcji $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ jonów Bi(III) w wodno-organicznych roztworach elektrolitów podstawowych zawierających acetonitryl.

$C_{pACN} \text{ (v/v)}$ [%]	E_{f0}	$E_{1/2r}$	α	D_{ox} [$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$]	k_s [$\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$]
0	0,16	0,14	0,33	$1,18 \cdot 10^{-5}$	$1,31 \cdot 10^{-4}$
10	0,27	0,26	0,45	$1,02 \cdot 10^{-5}$	$1,26 \cdot 10^{-4}$
20	0,31	0,29	0,40	$7,08 \cdot 10^{-6}$	$8,78 \cdot 10^{-5}$
30	0,35	0,36	0,36	$6,91 \cdot 10^{-6}$	$8,15 \cdot 10^{-5}$
40	0,43	0,38	0,25	$4,85 \cdot 10^{-6}$	$6,25 \cdot 10^{-5}$
50	0,49	0,46	0,24	$5,74 \cdot 10^{-6}$	$5,98 \cdot 10^{-5}$
60	0,56	0,54	0,22	$2,06 \cdot 10^{-6}$	$5,23 \cdot 10^{-5}$

Zestawione w Tabeli 1 parametry kinetyczne ilościowo potwierdzają efekt inhibitujący acetonitrylu na proces elektroredukcji jonów Bi(III). Obserwowane zmiany potencjału formalnego (E_f^0) oraz odwracalnego potencjału półfali ($E_{1/2}^r$) wraz ze wzrostem stężenia ACN w roztworze elektrolitu podstawowego wskazują na modyfikację środowiska solwatacyjnego jonów Bi(III). Początkowy wzrost, a następnie spadek współczynnika przejścia katodowego (α) sugeruje zmianę mechanizmu elektrodowego w układach mieszanych względem układu wodnego. Przy niskim stężeniu acetonitrylu możliwe jest przechodzenie

elektroredukcji przez etap jedno- lub dwuelektronowy, natomiast przy wyższych stężeniach ACN może następować hamowanie bezpośredniego przejścia $\text{Bi(III)} \rightarrow \text{Bi(0)}$ na skutek stabilizacji form pośrednich Bi(II) lub Bi(I) , co prowadzi do obniżenia wartości standardowej stałej szybkości reakcji (k_s). Dodatkowo, nie wyklucza się adsorpcji acetonitrylu na granicy faz elektroda R-AgLAFe/ roztwór, która może wpływać na dostępność centrów aktywnych i intensyfikować inhibicję procesu elektrodowego.

Wnioski: Wykazano, że acetonitryl istotnie wpływa na elektroredukcję jonów Bi(III) , zmieniając mechanizm procesu i spowalniając go, czego dowodem jest systematyczny spadek wartości k_s wraz ze wzrostem stężenia rozpuszczalnika organicznego w mieszaninach, wodno-organicznych roztworach elektrolitów podstawowych. Modyfikacja środowiska solwacyjnego jonów Bi(III) może odgrywać kluczową rolę w efektywnej elektrodopozycji bizmutu, co ma istotne znaczenie w zastosowaniach przemysłowych.

Literatura:

1. A. Nosal-Wiercińska, M. Martyna, M. Wiśniewska, *Appl. Nanosci.*, 13 (2023) 4737.
2. Z. Galus, *Advances in Electrochemical Science and Engineering*, Wiley-VCH, Weinheim, 2008, 217.
3. M. Cetnarska, K. Maksymiuk, J. Stroka, *Electrochim. Acta*, 33 (1988) 11.
4. A. Niciejewska, Wykorzystanie rozpuszczalników eutektycznych do elektroosadzania powłok stopowych Ni-Mo jako materiałów aktywnych elektrokatalitycznie w procesie wydzielania wodoru z roztworów alkalicznych, Rozprawa doktorska, Politechnika Wrocławska, Wrocław, 2021.

BADANIE SPECJACJI Cu I Zn W EKSTRAKTACH ENZYMATYCZNYCH ŚWIEŻYCH I LIOFILIZOWANYCH ZIOŁ METODAMI ŁĄCZONYMI SEC-ICP-MS I LC-MS/MS

S. SAJKOWSKA^{1,2}, B. LEŚNIEWSKA², M. HRYNIEWICKA², ¹UwB, Szkoła Doktorska Uniwersytetu w Białymstoku, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, ²UwB, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, ul. K. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

Abstrakt: Metody łączone SEC-ICP-MS oraz LC-MS/MS zastosowano do badania potencjalnie bioprzyswajalnych form specjacyjnych miedzi i cynku w dializatach ziół. Dializaty świeżej i liofilizowanej bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum* L.), mięty pieprzowej (*Mentha piperita* L.) i rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis* L.) otrzymano w procesie trawienia enzymatycznego metodą *in vitro* z uwzględnieniem warunków panujących w układzie pokarmowym człowieka. Bioprzyswajalność Cu i Zn wyznaczono w oparciu o zawartość pierwiastków w dializatach i całkowitą zawartość w roślinach.

Wprowadzenie: Zioła są nieodłącznym składnikiem wielu posiłków człowieka i są spożywane w różnej postaci świeżej, suszonej, suplementów diety oraz coraz częściej w postaci liofilizowanej. Pomimo stosowania ich niewielkich ilości, mogą być źródłem wielu składników odżywczych kluczowych do prawidłowego funkcjonowania naszego organizmu, w tym miedzi i cynku [1]. Miedź jest ważnym składnikiem enzymów oddziałujących na procesy metabolizmu tlenowego, uczestniczy w dezaktywacji wolnych rodników oraz jest niezbędna w gospodarce żelaza. Cynk warunkuje aktywność wielu enzymów, bierze udział w przemianie białek, tłuszczów i węglowodanów oraz ma wpływ na układ odpornościowy [2]. Ważne jest określenie bioprzyswajalności tych pierwiastków w ziołach, gdyż nawet wysoka ich zawartość nie wpływa bezpośrednio na ich pobranie przez organizm człowieka. [2]. Bioprzyswajalność jest definiowana jako ilość rozpuszczalnego w płynach trawiennych składnika, który został uwolniony z matrycy produktu żywnościowego, jest obecny w przewodzie pokarmowym człowieka oraz może przenikać przez ścianę jelita cienkiego [3,4]. Badania nad bioprzyswajalnością dostarczają informacji o zawartości i formie pierwiastków dostępnych i potencjalnie wchłanianych w układzie pokarmowym człowieka oraz pomagają wykazać, czy składnik pożywienia jest efektywnie trawiony i przyswajany. Bioprzyswajalność ocenia się najczęściej metodami *in vitro* (wykorzystującymi sztuczne układy żołądkowo-jelitowe) oraz *in vivo* (badania na zwierzętach lub ludziach) [3]. W przypadku metody *in vitro* kluczowe jest dobre odwzorowanie warunków panujących w układzie pokarmowym człowieka, czyli uwzględnienie aktywności enzymatycznej, pH, temperatury i dynamiki mieszania żywności z sokami trawiennymi. Jest to metoda prostsza w wykonaniu, tańsza i etycznie neutralna w stosunku do metody *in vivo* [3,5]. Znajomość form specjacyjnych metali zawartych w żywności pozwala nam określić, które związki metali mogą być lepiej bioprzyswajalne przez organizm człowieka. W roślinach pierwiastki mogą występować w postaci kompleksów z różnymi bioligandami, np. związkami fenolowymi, polisacharydami, białkami i aminokwasami [2,4]. Związki fenolowe są znane ze swoich przeciwutleniających właściwości, które

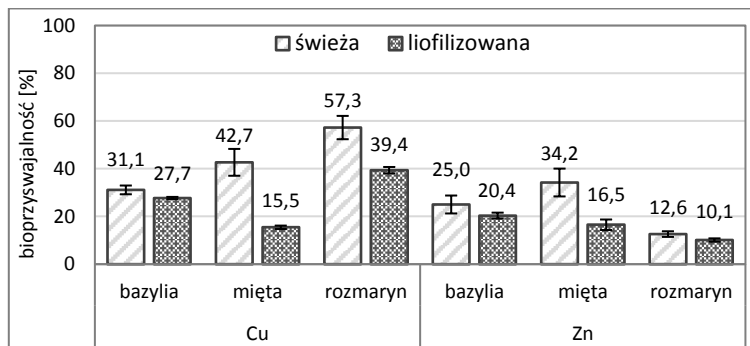
pozytywnie wpływają na nasz organizm. Jednak coraz częściej mówi się także o ich negatywnym działaniu antyodżywczym w odniesieniu do pierwiastków istotnych fizjologicznie. Substancje te mogą wiązać minerały w roślinach, co potencjalnie ogranicza ich uwalnianie podczas trawienia żołądkowo-jelitowego oraz bioprzyswajalność [2,4]. W analizie specjacyjnej pierwiastków w żywności stosuje się techniki łączone, które wykorzystują odpowiednio dobrane techniki rozdzielania i oznaczania analitów [6]. Do takich technik możemy zaliczyć chromatografię wykluczania połączoną ze spektrometrią mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (SEC-ICP-MS) oraz chromatografię cieczową połączoną z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Technika SEC-ICP-MS pozwala na oznaczanie w czasie jednej analizy form specjacyjnych pierwiastków w próbce oraz określenie pierwiastków współwystępujących. Przy zastosowaniu odpowiednich wzorców umożliwia również oszacowanie mas cząsteczkowych form specjacyjnych badanych pierwiastków. Natomiast technika LC-MS/MS jest wykorzystywana do analiz jakościowych oraz ilościowych bioligandów potencjalnie wiążących pierwiastki w żywności [6]. Celem pracy było badanie form specjacyjnych Cu i Zn w dializatach świeżych i liofilizowanych roślin bazylii, mięty i rozmarynu z wykorzystaniem technik łączonych SEC-ICP-MS i LC-MS/MS. Dializaty, które zawierają bioprzyswajalne formy metali, otrzymano po trawieniu enzymatycznym ziół w warunkach *in vitro*.

Część eksperymentalna: Świeże i liofilizowane liście bazylii, mięty pieprzowej i rozmarynu poddano procesowi trawienia enzymatycznego metodą *in vitro*. Do próbek odważono po 100 mg świeżej lub 50 mg liofilizowanej rośliny, dodano 3 mL 4% roztworu pepsyny w 0,1 mol/L roztworze HCl (pH 2,0) i wytrząsano przez 2 h w temp. 37 °C. Po tym czasie pH próbek doprowadzono 1 mol/L roztworem NaHCO₃ do wartości 7,2-7,4. Dodano 1 mL mieszaniny 0,4% roztworu pankreatyny i 2,5% roztworu soli żółciowych w 0,1 mol/L roztworze NaHCO₃ i wytrząsano przez 2 h w temp. 37 °C. Próbkę po trawieniu enzymatycznym poddano ultrafiltracji (MWCO 3 kDa, 4000 obr/min, 30 min). W ten sposób uzyskano dwie frakcje potrawienne: homogenat (frakcja pozostałości po trawieniu) oraz dializat (frakcja zawierająca składniki bioprzyswajalne). Całkowitą zawartość Cu i Zn w roślinach i dializatach oznaczono metodą ICP-MS (8800 ICP-QQQ, Agilent Technologies). Rośliny zmineralizowano w stężonym HNO₃ z dodatkiem 30% roztworu H₂O₂ w układzie wspomagany promieniowaniem mikrofalowym. Dializaty roztworzono w stężonym HNO₃. Rozdzielanie form specjacyjnych Cu i Zn w dializatach ziół przeprowadzono metodą chromatografii wykluczania (SEC) (1260 Infinity HPLC system, Agilent Technologies) w połączeniu z metodą ICP-MS. Do badań wykorzystywano kolumnę chromatograficzną Agilent Bio SEC-3 (100 Å, 7,8 x 300 mm, 3 µm) termostatowaną w temperaturze 20 °C. Jako fazę ruchomą zastosowano 0,025 mol/L bufor Tris o pH 7,0 z prędkością przepływu 0,8 mL/min. Objętość dozowanej próbki wynosiła 50 µL, a czas analizy 30 minut. W celu określenia potencjalnych bioligandów z grupy związków fenolowych wiążących Cu i Zn w dializatach zastosowano metodę LC-MS/MS (LC-30AD Nexera X2; LCMS-8040, Shimadzu). Do badań wykorzystano kolumnę chromatograficzną Kinetex XB-C18 (100 Å, 100 x 2,1 mm, 2,6 µm). Fazę ruchomą stanowiła mieszanina 0,1% roztworu kwasu mrówkowego w wodzie (faza A) oraz metanolu (faza B). Prędkość przepływu eluentów w trybie elucji gradientowej wynosiła 0,3 mL/min przy 10-minutowym czasie analizy. Dozowana objętość próbki wynosiła 5 µL. Jonizację próbek uzyskano na drodze elektrorozpylania (ESI), a detekcję jonów prowadzono w trybie MRM (monitorowania reakcji wielokrotnych) w polaryzacji ujemnej.

Wyniki: Bioprzyswajalność miedzi i cynku z bazylii, mięty i rozmarynu została wyznaczona po symulacji procesu trawienia ziół w warunkach *in vitro* w oparciu o zawartości analitów w dializatach i całkowitej zawartości w ziołach. Wartości liczbowe (B, %) zostały wyliczone na podstawie poniższego równania i przedstawione na Rysunku 1.

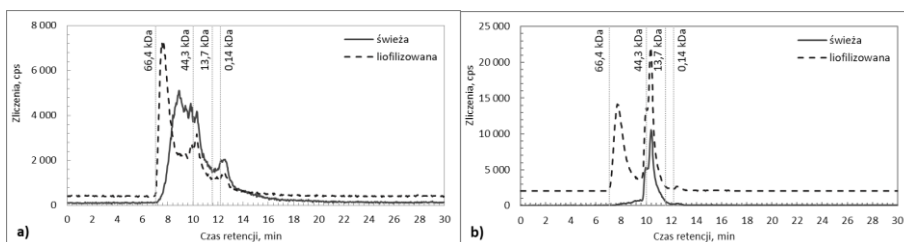
$$B = \frac{D}{C} \times 100\%$$

gdzie: B – bioprzyswajalność pierwiastka [%], D – zawartość pierwiastka w dializacie [μg/g], C – całkowita zawartość pierwiastka w roślinie [μg/g].



Rys. 1. Bioprzyswajalność Cu i Zn (%) w świeżych i liofilizowanych ziołach.

Zauważono, że Cu charakteryzuje się największą bioprzyswajalnością ze świeżego i liofilizowanego rozmarynu (57,3 i 39,4%) oraz świeżej mięty (42,7%), natomiast Zn ze świeżej mięty (34,2%) i bazylii (25,0%). Niższą bioprzyswajalność analitów obserwowano z liofilizowanych ziół. Uzyskane wartości bioprzyswajalności Cu i Zn z ziół są zbliżone do wyników uzyskanych dla jeżyny, maliny, borówki i truskawki (38-43% Cu, 9-37% Zn) [7] oraz jagody goji (23% Cu i 31% Zn) [6]. Na Rysunku 2 przedstawiono chromatogramy Cu i Zn uzyskane podczas rozdzielania dializatów świeżej i liofilizowanej mięty metodą SEC-ICP-MS. W obu postaciach rośliny możemy zaobserwować występowanie większej liczby sygnałów Cu niż Zn. Dość szerokie sygnały Cu w dializacie mięty świeżej (t_r 7,8-12,4 min) i lepiej rozdzielone frakcje Cu w dializacie mięty liofilizowanej (t_r 7,6 min, 10,3 min i 12,4 min) wskazują na występowanie tego pierwiastka w postaci wielu związków o różnych masach cząsteczkowych (od 66,4 do 0,14 kDa). Sygnały Zn (t_r = 10,4 min) w dializatach mięty świeżej i liofilizowanej wskazują na występowanie jego związków o masach cząsteczkowych od 44,3 do 13,7 kDa. W dializacie mięty liofilizowanej zaobserwowano również sygnał Zn przy t_r = 7,8 min, co wskazuje na występowanie tego pierwiastka w postaci związków o większych masach cząsteczkowych (66,4-44,3 kDa). Podobne sygnały analitów uzyskano w dializatach świeżej i liofilizowanej bazylii i rozmarynu. Frakcje związków Cu i Zn o wysokich masach cząsteczkowych (158-17 kDa) zaobserwowano także w ekstraktach jagód goji po trawieniu żołądkowo-jelitowym [6].



Rys. 2. Chromatogramy miedzi (a) i cynku (b) w dializacie mięty świeżej i liofilizowanej otrzymane metodą SEC-ICP-MS.

Analiza dializatów świeżej i liofilizowanej bazylii, mięty i rozmarynu metodą LC-MS/MS wykazała występowanie w nich związków fenolowych takich jak: kwas p-kumarowy, kwercetyna, katechina i epikatechina.

Wnioski: Uwzględniając wyniki uzyskane metodami SEC-ICP-MS i LC-MS/MS oraz możliwość wiązania metali w roślinach, można wnioskować, że Cu i Zn mogą występować w dializatach w postaci niskocząsteczkowych kompleksów ze związkami fenolowymi oraz wysokocząsteczkowych kompleksów fenolowo-białkowo-polisacharydowych. Jest to zgodne z doniesieniami literaturowymi, według których Cu i Zn mogą występować w roślinach w postaci kompleksów m.in. z kwasem cynamonowym, p-kumarowym, ferulowym, naringeniną i kwercetyną [8]. Zastosowanie metody trawienia enzymatycznego *in vitro* pozwoliło wykazać, że wielkocząsteczkowe składniki roślin mogą być rozkładane do form przenikających przez błonę jelita cienkiego. W wyniku badań stwierdzono umiarkowaną bioprzyswajalność Cu i Zn (B 20-57%) z badanych ziół, co wiąże się z tworzeniem kompleksów tych metali ze związkami fenolowymi, które mogą ograniczać uwalnianie minerałów z roślin. Podsumowując, zioła są bogatym źródłem zarówno substancji przeciwutleniających jak i pierwiastków istotnych fizjologicznie.

Podziękowania: Praca naukowa została dofinansowana ze środków budżetu państwa w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą „Nauka dla Społeczeństwa” nr projektu NdS/548575/2022/2022.

Literatura:

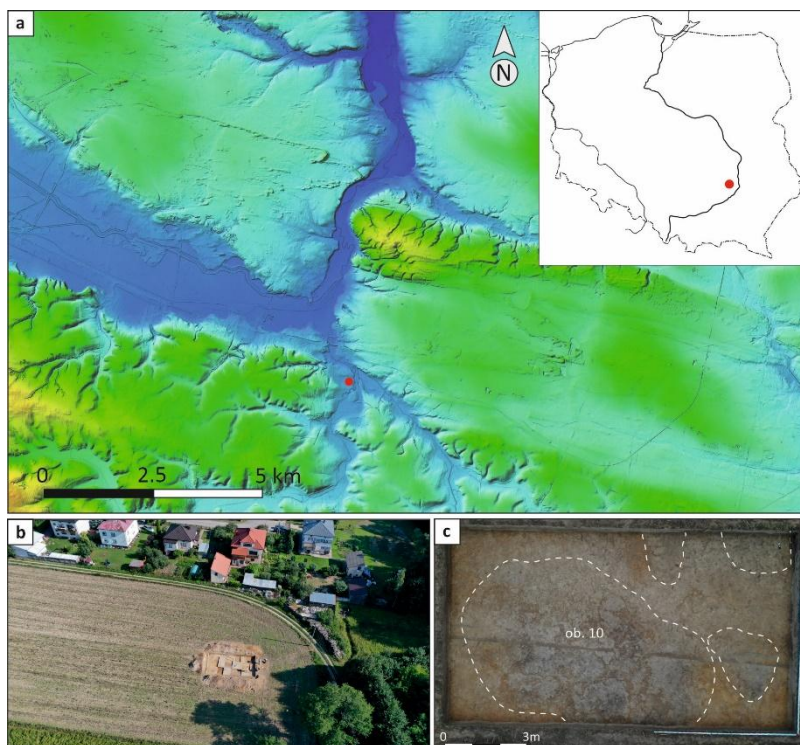
1. A.G. Potorti, et al., Food Chemistry 313 (2020) 126094.
2. S.M.T. Gharibzadeh, S.M. Jafari, Trends in Food Science & Technology 62 (2017) 119.
3. C. Dima, et al., Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 19 (2020) 2862.
4. S. Rousseau, et al., Critical Reviews in Food Science and Nutrition 60 (2019) 826.
5. J. Moskwa, et al., Foods 12 (2023) 4453.
6. J. Wojcieszek, et al., J. Chromatogr. A 1492 (2017) 70.
7. C.C. Pereira, et al., J. Food Compos. Anal. 68 (2018) 73.
8. V.S. Fedenko, et al., Int. J. Mol. Sci. 23 (2022) 11370.

ZASTOSOWANIE METOD ANALITYCZNYCH DO BADANIA OBIEKTÓW ARCHEOLOGICZNYCH

**K. SAWKO¹, D. KOŁODYŃSKA¹, M. SZELIGA², W. SOFINSKA-CHMIEL³,
M. DREWNIAK³, R. KELLER³,** ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 2, 20-031 Lublin, ²UMCS, Wydział Historii i Archeologii, Instytut Archeologii, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 4A, 20-031 Lublin, ³UMCS, Wydział Chemii, Laboratorium Analityczne, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin,

Abstrakt: W prezentowanej pracy przedstawiono badania chemiczne zabytków archeologicznych ze stanowiska 46 w Jastkowie, w województwie świętokrzyskim. Celem badań była identyfikacja materiału, z którego zbudowane są fragmenty dwóch pierwotnie znacznie większych płyt szlifierskich przeznaczonych do formowania innych narzędzi. Badania przeprowadzono metodą spektroskopii FTIR z wykorzystaniem techniki ATR. Otrzymane widma porównano z bazą danych spektralnych. Obecność faz krystalicznych zidentyfikowano metodą dyfrakcji rentgenowskiej XRD. Otrzymane dyfraktogramy porównano z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2024. Wyniki badań pozwoliły na identyfikację minerałów stanowiących materiał badanych płyt szlifierskich. Zarówno analizy spektroskopowe jak i dyfrakcyjne wykazały, że głównym składnikiem badanych obiektów jest SiO₂.

Wprowadzenie: Zastosowanie metod analitycznych do badania artefaktów archeologicznych jest znakomitym uzupełnieniem wiedzy dotyczącej ich pochodzenia. Szczegółne znaczenie odgrywają metody spektroskopowe oraz dyfrakcyjne pozwalające na potwierdzenie struktury chemicznej badanych obiektów. Spektroskopia w podczerwieni FTIR jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych technik analitycznych pozwalających m.in. na identyfikację związków chemicznych [1]. Szczegółne znaczenie odgrywa szybka i nieszkodząca technika ATR. Metodą analityczną pozwalającą na identyfikację krystalicznych składników materii jest dyfrakcja rentgenowska XRD. Technika ta pozwala na jakościową oraz ilościową identyfikację minerałów [2]. Analizowane próby odkryte zostały w 2022 r., w trakcie badań wykopaliskowych na stan. 46 w Jastkowie, gm. Ćmielów (woj. świętokrzyskie), położonym na północnej krawędzi Wyżyny Sandomierskiej (rys. 1: a-b). Wszystkie zalegały w obrębie wypełniska rozległej jamy (obiekt nr 10), związanej z budową i funkcjonowaniem w tej części stanowiska naziemnej konstrukcji mieszkalnej w typie tzw. długiego domu (rys. 1: c). Analiza materiałów ceramicznych odkrytych w jamie pozwala na powiązanie relikwów domostwa z wczesnorolniczymi społecznościami tzw. kultury ceramiki wstęgowej rytej, zasiedlającymi tereny dorzecza górnej Wisły w najstarszej fazie neolitu, tj. pomiędzy schyłkiem VI, a początkami V tys. BC. Obecność na powierzchniach analizowanych próbek charakterystycznych, załadowanych (oszlifowanych) powierzchni pozwala na ich interpretację jako fragmentów (destruktów) pierwotnie znacznie większych płyt szlifierskich, wykorzystywanych przede wszystkim do formowania powierzchni oraz części pracujących różnych narzędzi kamiennych (m.in. siekier).



Rys. 1. Jastków, stan. 46, gm. Ćmielów, woj. świętokrzyskie. Lokalizacja stanowiska (a), wykopu (b) i obiektu nr 10 (c).

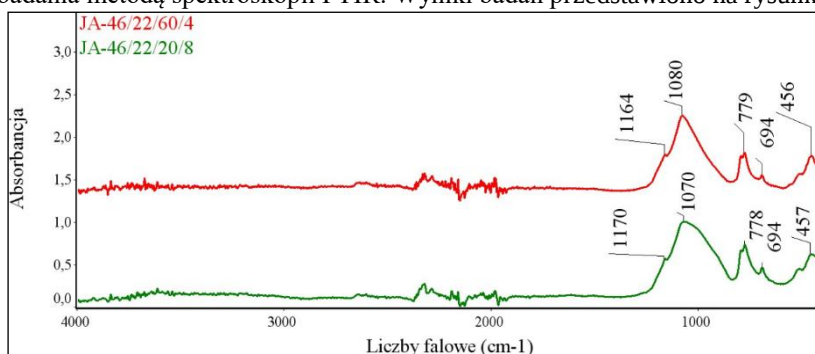
Część eksperymentalna: Celem prowadzonych badań była charakterystyka chemiczna obiektów archeologicznych pochodzących ze stan. 46 w Jastkowie, gm. Ćmielów (woj. świętokrzyskie). Zdjęcia badanych obiektów oraz zdjęcia mikroskopowe SEM ich powierzchni przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka badanych próbek.

Nazwa próbki	Zdjęcie	Obraz SEM x3000	Obraz SEM x5000
JA-46/22/60/4			
JA-46/22/20/8			

Dla otrzymanych próbek obiektów archeologicznych wykonano badania z wykorzystaniem spektroskopii FTIR oraz dyfrakcji rentgenowskiej. Badania te miały na celu identyfikację chemiczną badanych próbek. Analizę składu chemicznego przeprowadzono z wykorzystaniem spektroskopii FTIR. Badania wykonano z wykorzystaniem spektrometru Nicolet 8700A. Widma rejestrowano bezpośrednio z powierzchni badanych obiektów w temperaturze pokojowej techniką ATR. Rejestracji widm dokonano z rozdzielczością 4 cm^{-1} w zakresie $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Kolejną z zastosowanych metod badawczych była dyfrakcja rentgenowska XRD. Badania wykonano przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego Empyrean, PANalytical. próbki utarto w moździerz agatowy na proszek i przeniesiono do kuwety. Przy pomocy niewielkiego nacisku wyrównano ich powierzchnię. Następnie badane próbki umieszczono w uchwycie goniometru i wykonano pomiar. Otrzymane dyfraktogramy porównano z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF +2024. Badania przeprowadzono w następujących warunkach: lampa – Cu 40 kV, 25 mA; detektor PIXcel-3D; goniometr Theta/Theta, minimum step size 2Theta; filtr – Large beta-filter Nickel.

Wyniki: W celu identyfikacji chemicznej badanych obiektów archeologicznych wykonano badania metodą spektroskopii FTIR. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 2.

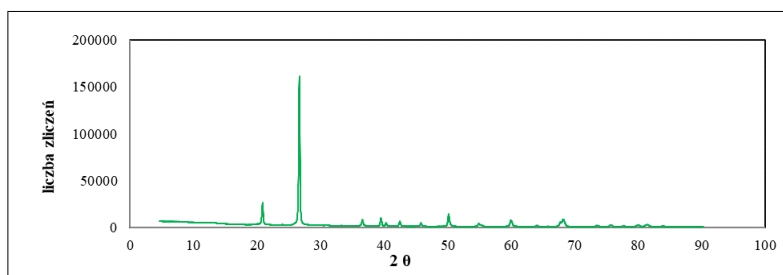


Rys.2. Widma FTIR-ATR badanych obiektów archeologicznych.

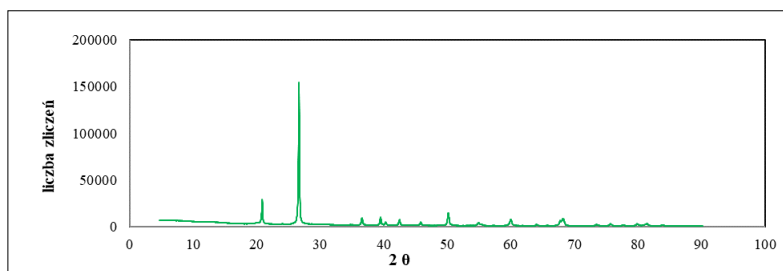
Otrzymane widma próbki JA-46/22/60/4 oraz JA-46/22/20/8 porównano z bazą danych spektralnych HR Inorganics. Największe dopasowanie uzyskano do kwarcu. Współczynnik dopasowania HQI dla próbki JA-46/22/60/4 wyniósł 86,32, natomiast dla próbki JA-46/22/20/8 wyniósł 76,63. W celu identyfikacji faz krystalicznych badanych obiektów archeologicznych przeprowadzono badania dyfrakcyjne metodą XRD. W tym celu wykonano dyfraktogramy badanych próbek. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 2 i 3 oraz w tabeli 2.

Tabela 2. Porównanie otrzymanych dyfraktogramów próbki JA-46/22/60/4 z bazą danych dyfrakcyjnych ICDD PDF4+2024.

Nazwa próbki	Kod referencyjny	Nazwa	Wzór chemiczny	Zawartość %
JA-46/22/60/4	01-070-3755	Tlenek krzemu(IV)	SiO ₂	100
JA-46/22/20/8	01-070-3755	Tlenek krzemu(IV)	SiO ₂	100



Rys. 2. Dyfraktogram XRD próbki JA-46/22/60/4.



Rys. 3. Dyfraktogram XRD próbki JA-46/22/20/8.

Wnioski: Przeprowadzone badania pozwoliły na identyfikację materiału, z którego wykonano narzędzia powiązane z wczesnorolniczymi społecznościami zasiedlającymi tereny dorzecza górnej Wisły w najstarszej fazie neolitu, tj. pomiędzy schyłkiem VI, a początkami V tys. BC. Zarówno badania spektroskopowe FTIR, jak i dyfrakcyjne wykazały, że głównym składnikiem, z którego wytworzono narzędzia jest SiO_2 . Ponadto analiza morfologii powierzchni, jak i cechy fizyczne wskazują, że badane fragmenty płyt szlifierskich wykonane zostały z piaskowca. Drobnokrystaliczne piaskowce były jednymi z najlepszych surowców wykorzystywanych jako płyty szlifierskie w najstarszej fazie neolitu, a fragmenty tego typu narzędzi stanowią dość powszechną kategorię znalezisk w obrębie tak datowanych stanowisk w dorzeczu górnej Wisły.

Literatura:

1. Z. Bacsik, J. Mink, G. Keresztury, *Applied Spectroscopy Reviews*, 39 (2004) 295.
2. V. S. Shrivastava, *Journal of Applied Chemical Research*, 9 (2009) 41.

AKTUALNE TRENDY W ANALIZIE BIOPOLIMERÓW Z ZASTOSOWANIEM SZTUCZNEJ INTELIGENCJI

**Y. ZINCHENKO, J. KORNELUK, M. CZEMIERSKA, A. JAROSZ-
WILKOŁAZKA**, UMCS, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Wprowadzenie: Podstawowym składnikiem biofilmów bakteryjnych są egzopolisacharydy (EPS), polimery o dużej masie cząsteczkowej. Zapewniają one komórkom ochronę przed ekstremalnymi temperaturami, zmianami ciśnienia, zasoleniem bądź niedoborem wody. Ilość oraz skład wytworzonego przez mikroorganizmy EPS można ocenić doświadczalnie przy zastosowaniu głównie metod mikroskopowych oraz chromatograficznych, które umożliwiają przeprowadzenie analizy czystości, określenie struktury oraz masy cząsteczkowej EPS. Przełom w technologii informacyjnej, w tym rozwój sztucznej inteligencji (obejmującej uczenie maszynowe, w tym uczenie głębokie), sprawił, że wymienione techniki analityczne stają się bardziej efektywne, wygodniejsze w użyciu, mniej podatne na błędy oraz łatwiejsze w interpretacji. Już dziś istnieje wiele aplikacji wspomagających analizę biopolimerów, na przykład przez przewidywanie czasów retencji w chromatografii lub poprawę jakości obrazu w mikroskopii. Z uwagi na istotę tego zagadnienia w wielu dziedzinach współczesnej nauki, zostanie ono omówione w poniższym artykule.

Część eksperymentalna: Do analizy EPS są stosowane metody mikroskopowe, spektroskopowe i chromatograficzne. Poszczególne składniki macierzy tworzącej biofilmy pozostają niewidoczne, a jedynymi metodami ich obserwacji są barwienia fluorochromami czy cząsteczkami z nimi sprzężonymi (np. barwnik DAPI, oranż akrydyny, zieleń SYBR, czerwień Congo). Współcześnie w wizualizacji i ocenie biofilmów największe znaczenie mają metody mikroskopowe. Jedną z nich jest mikroskopia świetlna w połączeniu z barwieniem komórek np. fioletem krystalicznym, co powoduje pojawienie się jasnych otoczek wokół komórek, świadczących o wytwarzaniu polisacharydów, wchodzących w skład biofilmu drobnoustrojów. Wytwarzany EPS można również identyfikować przy wykorzystaniu skaningowej mikroskopii elektronowej, w której utrwalone komórki są barwione czterotlenkiem rutenu co pozwala na obserwację EPS wokół wytwarzających je komórek [1]. Spektroskopia FT-IR jest stosowana do analizy grup funkcyjnych obecnych w liofilizowanym preparacie EPS. Pojawianie się określonych pasm przy danej liczbie falowej pozwala na ustalenie grup funkcyjnych oraz rodzaju wiązań, jakie obecne są w analizowanym polimerze. Spektroskopia XRD stosowana jest do oceny krystalicznych właściwości EPS przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego co umożliwia poznanie jego fizycznych właściwości. Kolejna metoda - spektroskopia NMR, pozwala na określenie struktury molekularnej i składu chemicznego próbki, w tym charakterystykę wiązań glikozydowych obecnych w EPS. Trójwymiarowy obraz powierzchni EPS powstaje dzięki zastosowaniu mikroskopii sił atomowych (AFM), która pozwala na wizualizację wzorców topograficznych oczyszczonych egzopolisacharydów w wysokiej rozdzielczości [1]. Obecnie coraz bardziej powszechne stają się stosowanie fluorescencyjnych lektyn w wielu technikach mikroskopowych, w celu wybarwienia glikokoniuatów tworzących EPS bakteryjny. Lektyny są białkami szeroko rozpowszechnionymi w przyrodzie. Ich źródłem są nasiona, korzenie roślin, komórki bakteryjne, zwierzęce oraz grzybowe. Tworzą

one grupę związków o wysokiej specyficzności znakowania określonych substancji, np. cukrów wchodzących w skład biomolekuł. Analiza EPS pochodzącego z biofilmu bakteryjnego przy zastosowaniu komercyjnie dostępnych lektyn pozwala na przeprowadzenie dokładnej oceny jego morfologii. Zastosowanie *fluorescence lectin bar-coding* (FLBC) pozwala na selekcję lektyn przydatnych w dalszej analizie wiązania fluorescencyjnych lektyn (FLBA). Komercyjnie dostępne lektyny są zazwyczaj sprzężone z izotiocyjanianem fluoresceiny (FITC) lub izotiocyjanianem tetrametylorodaminy (TRITC). Próbkę biofilmu pokrytą fluorescencyjnie znakowanymi lektynami analizuje się m.in. przy pomocy mikroskopu konfokalnego [2]. Chromatografia jest stosowana przede wszystkim do określania masy cząsteczkowej EPS. Do badania można użyć chromatografii żelowej (GPC/SEC) czy wysokosprawną chromatografię żelową (HPSEC), w której stosowane są detektory refraktryczne (RID) oraz detektory wielokątowego rozpraszania światła laserowego (MALLS). Metody chromatograficzne stosowane są także do określenia składu chemicznego EPS. Zhydrolizowane próbki polimeru można analizować za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC lub HPTLC), wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem RID, czy też chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) [3]. Rewolucja technologiczna, związana z rozwojem komputerów, umożliwiła uproszczenie wielu procesów bioanalitycznych – od przeniesienia baz danych do formy cyfrowej do ułatwienia różnych metod analitycznych, dzięki stworzeniu pomocniczych algorytmów. Naukowcy korzystają z nich od wielu lat a przykładem mogą być różne aplikacje do obróbki danych po analizie chromatograficznej, które pozwalają na generowanie wykresów chromatograficznych na podstawie ustawionych parametrów. Obecnie, w dobie cyfryzacji 4.0, zastosowanie AI dodatkowo przyczynia się do jeszcze większego uproszczenia wielu analiz jakościowych i ilościowych w naukach biologicznych. Przykładem może być projekt AlphaFold, który służy do przewidywania trójwymiarowej struktury białek na podstawie ciągle uczącej się AI. Kolejnym zastosowaniem jest przewidywanie czasu retencji dla ulepszenia molekularnej identyfikacji biomolekuł oraz optymalizacja eksperymentów, na przykład poprzez minimalizację możliwych błędów i dostosowanie parametrów na podstawie istniejących baz danych. Przykładem gotowej technologii jest zastosowanie sieci neuronowych do przewidywania czasów retencji dla 315 różnych metabolitów obecnych w próbkach moczu zebranych z baz danych DnsID [4]. Te same zasady można najprawdopodobniej zastosować, aby nauczyć sieć neuronową przewidywania czasu retencji elementów strukturalnych naturalnych EPS, co umożliwi bardziej precyzyjną analizę ich poszczególnych składników. Inną ważną możliwością, jaką daje AI jest przeprowadzanie badań modelowych w sytuacjach, gdy badana substancja jest rzadka a metoda kosztowna. Taki eksperyment pozwala, na podstawie baz danych, dostosować warunki oraz zmodelować analizę od początku do końca w celu ominięcia możliwych błędów.

Wyniki: Zastosowanie AI w nowoczesnych analizach chromatograficznych, przyczyni się między innymi do szybkiego i wydajnego opracowywania, a także optymalizacji nowych technik, między innymi poprzez:

1. przewidywanie najbardziej efektywnych parametrów separacji,
2. automatyzację procesu optymalizacji, umożliwiającą szybkie testowanie i udoskonalanie wielu zmiennych jednocześnie,
3. identyfikację charakterystycznych wyników w danych chromatograficznych, takich jak czasy retencji pików i szerokości pików, które można zastosować do optymalizacji warunków separacji i skrócenia czasu analizy,

4. symulację eksperymentów chromatograficznych, umożliwiając testowanie i porównywanie różnych metod bez konieczności przeprowadzania rzeczywistych eksperymentów,
5. transfer wiedzy wyniesionej z powiązanych technik separacji lub zbiorów danych w celu optymalizacji nowych metod,
6. monitorowanie i optymalizację procesu w czasie rzeczywistym, zapewniając, że warunki separacji są optymalne w czasie całej analizy [4].

Podczas gdy zaawansowane mikroskopy, takie jak kriomikroskop elektronowy, zapewniają szczegółową analizę na poziomie nanometrów, wyzwaniami nadal jest dokładna i wydajna analiza danych mikroskopowych. Integracja AI z systemami mikroskopii znacznie zwiększa zarówno dokładność, jak i wydajność, optymalizując zarówno fazę wykonywania zdjęć, ich gromadzenia, jak i analizy obrazu, zwłaszcza w nowoczesnych badaniach obejmujących eksperymenty na dużą skalę. Rozwój mikroskopii wspomaganej AI jest często ograniczony przez dostęp do dużych zbiorów danych biologicznych, a także przez trudności w testowaniu i porównywaniu podejść na niejednorodnych próbkach. Jednym z najistotniejszych zastosowań sieci neuronowych w analizie zdjęć mikroskopowych, między innymi EPS, jest poprawa jakości zdjęć. Działa to w oparciu o porównywanie zdjęć dostępnych w bazie danych i generowanie najbardziej prawdopodobnej wersji obrazu [5]. Inną sferą zastosowania sztucznej inteligencji jest obróbka zdjęć i identyfikacja poszczególnych elementów. Przykładem gotowej technologii opartej na AI jest aplikacja CellaVision DM9600, pozwalająca na rozpoznawanie elementów krwi obwodowej za pomocą analizy obrazu, co pozwala na szybkie diagnozowanie chorób hematologicznych [5]. Technologia ta może być zastosowana do oznaczania specyficznych struktur komórek mikroorganizmów (wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych), co pozwoli na określenie przynależności danego drobnoustroju do konkretnego gatunku czy też rodzaju. Warto też wymienić narzędzia takie jak DeepImageJ i ZeroCostDL4Mic, które można zastosować do analizy i obróbki zdjęć mikroskopowych [6, 7].

Tabela 1. Przykłady narzędzi AI przydatnych do analiz chromatograficznych i mikroskopowych [6-11].

Nazwa narzędzia	Wykonywana analiza
ID CNN	Przewidywanie czasu retencji na podstawie molekularnych „odcisków palców”
Algorytm ANFIS	Modelowanie i przewidywanie czasu retencji humaniny i jej pochodnych dla HPLC
CellaVision DM9600	Rozpoznanie elementów morfotycznych krwi obwodowej
DeepImageJ	Analiza i obróbka obrazów mikroskopowych
Maszyna wektorów nośnych (SVM)	Analiza danych w celu maksymalizacji lub minimalizacji odpowiedzi na drodze klasyfikacji lub analizy regresji
Optymalizacja roju cząstek (PSO)	Optymalizacja metaheurystyczna
Sieć neuronowa	Przewidywanie czasu retencji na podstawie bazy danych DnsID
	Określenie rozdzielczości na podstawie danych chromatograficznych
	Przewidywanie średniego procentu błędu i współczynnika korelacji dla analiz chromatograficznych
	Segmentacja obrazu mikroskopowego na podstawie rozpoznania różnych elementów, np. struktur komórkowych
ZeroCostDL4Mic	Analiza i obróbka obrazów mikroskopowych
Znakowanie cząstek	Rozpoznawanie poszczególnych struktur komórkowych

Podsumowanie: Sukces zastosowania AI (obejmującej uczenie maszynowe, w tym uczenie głębokie) w analizie struktury i funkcji biomolekuł, polega na prawidłowo napisanym algorytmie i poprawnie utworzonej bazie danych. Analizując rozwój AI oraz metod analitycznych (także tych stosowanych do analizy biomolekuł), wydaje się, że prawidłowo dobrane i ułożone bazy danych są ważniejsze, ze względu na możliwość stosowania już działających aplikacji. Obecnie AI pełni jedynie rolę narzędzia pomocniczego, które może zostać zastosowane przez specjalistów prowadzących liczne badania w celu stworzenia odpowiednich i rzetelnych baz danych. Bazując na obecnych trendach w coraz powszechniejszym wykorzystaniu AI, jest pewne, że w ciągu najbliższego czasu będzie ona stosowana w każdym aspekcie badań naukowych – od metod analitycznych (w tym analiz chromatograficznych i mikroskopowych) do diagnostyki chorób w czasie rzeczywistym. To pozwoli na powolne zastępowanie prowadzonych analiz między innymi składem biofilmów, w tym struktury EPS. Dodatkowo umożliwi bardziej efektywną i bezbłędną ocenę wielu struktur, co w znaczący sposób wpłynie na poprawę funkcjonowania wielu dziedzin nauki, głównie tych z zakresu nauk przyrodniczych.

Literatura:

1. R.M. Silverstein, F.X. Webster, D.J. Kiemle, *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2012.
2. T.R. Neu, U. Kuhlicke, *Microorganisms*, 5 (2017) 5.
3. M.K. Yadav, J.H. Song, R. Vasquez, J.S. Lee, I.H. Kim, D. Kang, *Foods*, 13 (2024) 3687.
4. E. Choi, W.J. Yoo, H.-Y. Jang, T.-Y. Kim, S.K. Lee, H.B. Oh, *J. Chromat. A* 1705 (2023) 464167.
5. H.E. Achi, J.D. Khoury, *Cancers*, 12 (2020) 797.
6. L. Chamier, R.F. Laine, J. Jukkala, C. Spahn, D. Krentzel i inni, *Nature Comm.* 12 (2021) 2276.
7. E. Gomez-de-Mariscal, C. Garcia-Lopez-de-Haro, W. Ouyang i inni, *Nature Meth.* 18 (2021) 1192.
8. Y.R. Singh, D.B. Shah, M. Kulkarni, S.R. Patel i inni, *Anal. Methods*, 15 (2023) 2785.
9. Y.R. Singh, D.B. Shah, D.G. Maheshwari, J.S. Shah, S. Shah, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 54 (2024) 3559.
10. J. Workman, *Column*, 20 (2024) 21.
11. L. von Chamier, R.F. Laine, R. Henriques, *Biochem. Soc. Trans.*, 47 (2019) 1029.

NOWOCZESNA ELEKTROCHEMICZNA METODA DETEKЦИИ ŚLADOWYCH IŁOŚCI EUROPU(III) PRZY UŻYCIU INNOWACYJNEGO SENSORA

E. WLAZŁOWSKA, M. GRABARCZYK, M. FIAŁEK, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Opisano procedurę oznaczania europu za pomocą adsorpcyjnej woltamperometrii strippingowej z wykorzystaniem elektrody skonstruowanej z mieszaniny wielościennych nanorurek węglowych (MWCNTs) oraz sferycznego proszku węgla szklanego (SGC), której powierzchnia dodatkowo była modyfikowana poprzez nałożenie filmu ołowiu. Metoda została zoptymalizowana pod kątem głównych parametrów elektrochemicznych, które wpływają na sygnał (elektrolit podstawowy, pH, stężenie kupferonu i jonów Pb(II), potencjał i czas tworzenia filmu ołowiu, potencjał i czas nagromadzenia). Krzywa kalibracyjna oznaczania jonów Eu(III) jest liniowa w zakresie stężeń od 5×10^{-9} do 5×10^{-7} mol L⁻¹ ze współczynnikiem korelacji 0,9993 dla czasu nagromadzenia 80 s. Granica wykrywalności europu(III) dla czasu nagromadzenia wynoszącego 80 s wyniosła $1,3 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. Aby potwierdzić zalety opracowanej procedury z wykorzystaniem elektrody MWCNTs/SGC, przeprowadzono również testy na elektrodzie z węgla szklanego (GCE) i porównano uzyskane rezultaty.

Wprowadzenie: Europ należy do grupy lantanowców pierwiastków ziem rzadkich (REE). Jest to jeden z najrzadszych pierwiastków ziem rzadkich, ponieważ średnie stężenie europu w skorupie ziemskiej wynosi około 2 ppm. Europ występuje w przyrodzie głównie w postaci związków mineralnych. Jednym z najważniejszych minerałów zawierających europ jest monacyt, minerał składający się z mieszaniny soli kwasu fosforanowego i metali ziem rzadkich. Monacyt zwykle zawiera kilka procent europu, a także innych lantanowców. Europ występuje również w innych minerałach, takich jak bastnazyt i ksenotym [1]. Wszystkie lantanowce występują na +III stopniu utlenienia, ale europ może również tworzyć stabilne związki na +II stopniu utlenienia, podobnie jak iterb i samar. Jest on dobrze znany ze swojej zdolności do fluorescencji, szczególnie w reakcjach, w których wykorzystywane jest promieniowanie ultrafioletowe. W rezultacie jest on wykorzystywany do produkcji lamp fluorescencyjnych i materiałów luminescencyjnych. Niektóre związki europu mają interesujące właściwości magnetyczne dzięki czemu są stosowane w niektórych technologiach magnetycznych. Europ jest również wykorzystywany w laserach do emitowania światła o określonej długości fali, co ma zastosowanie w różnych dziedzinach, w tym w medycynie i komunikacji. Ze względu na jego rosnące wykorzystanie istnieje ryzyko przedostania się europu do środowiska. Podobnie jak wiele chemikaliów, może mieć on pewne skutki toksyczne w wyniku nadmiernego narażenia lub interakcji z ciałem. W praktyce narażenie na europ w życiu codziennym jest zwykle minimalne, a ryzyko toksyczności dla ludzkiego jest niskie. Jednakże, mogą istnieć potencjalne zagrożenia dla zdrowia szczególnie pracowników zaangażowanych przy produkcji i przetwarzaniu substancji zawierających europ [2,3]. Z tego powodu konieczne jest opra-

cowanie skutecznych metod oznaczania zawartości śladowych stężeń europu w środowisku. W literaturze można odnaleźć kilka woltamperometrycznych procedur oznaczania tego pierwiastka w próbkach środowiskowych, jednak z naszych analiz wynika, że w tych procedurach często wykorzystywane są materiały elektrodowe o właściwościach toksycznych, co niekorzystanie wpływa na środowisko laboratoryjne. Toteż głównym celem jaki nam przysłał podczas opracowywania niniejszej procedury było to, aby była ona przydatna do oznaczania europu z wykorzystaniem czujnika elektrochemicznego przyjaznego dla środowiska laboratoryjnego [4].

Część eksperymentalna: Pomiar woltamperometryczny prowadzono za pomocą analizatora μ Autolab (Utrecht, Holandia) w układzie trójelektrodowym składającym się z elektrody pracującej, chlorosrebrowej elektrody odniesienia (Ag/AgCl) oraz elektrody pomocniczej, którą stanowił drucik platynowy. Elektroda pracującą w tym przypadku była elektroda skonstruowana z mieszaniny wielościennych nanorurek węglowych (MWCNTs) oraz sferycznego proszku węgla szklistego (SGC), której główną zaletą jest możliwość uzyskania wysokiej czułości oznaczeń porównywalnej a nawet przewyższającej czułość uzyskana za pomocą toksycznych elektrod rtęciowych. W celu wykonania pomiaru do naczynka woltamperometrycznego wprowadzano roztwór badanej próbki oraz elektrolit podstawowy, który składał się z 1 mL roztworu 1 mol L^{-1} buforu octanowego (pH 5,6), 500 μL roztworu $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ kupferronu i 250 μL roztworu 1 g L^{-1} Pb(II), a następnie dodawano wodę destylowaną do objętości 10 mL. W pierwszym etapie woltamperometrycznego pomiaru, podczas którego do elektrody pracującej przykładano potencjał -2,4 V przez 20 s następowało tworzenie film ołowiu na powierzchni elektrody pracującej. Następnie przy potencjale -0,6 V przez 60 s zachodziło nagromadzanie kompleksów Eu(III)-kupferron na utworzonym filmie ołowiu. Pomiar prowadzono z roztworu mieszanego za pomocą mieszadła magnetycznego. Po etapie nagromadzania mieszanie było zatrzymywane i po upływie 5 s rejestrowano woltamperogram przy zmianie potencjału od -0,55 V do -1,1 V. Intensywność uzyskiwanego na woltamperogramie sygnału była wprost proporcjonalna do zawartości jonów Eu(III) w roztworze.

Wyniki: W badaniach jako elektroda pracująca została wykorzystana elektroda z wielościennych nanorurek węglowych oraz sferycznego węgla szklistego (MWCNTs/SGC). Dodatkowo pomiary przeprowadzono przy użyciu elektrody z węgla szklistego (GCE) w celu oznaczania europu(III). Wykorzystanie dwóch elektrod pracujących miało na celu wykazanie zasadności stosowania elektrody MWCNTs/SGC. Aby zweryfikować skuteczność oznaczania europu przy użyciu elektrody MWCNTs/SGC, przeprowadzono optymalizację procedur pomiarowych dla obu elektrod. Pik europu na woltamperogramie pojawia się przy potencjale około -0,80 V dla elektrody GCE i przy potencjale około -0,87 V dla elektrody MWCNTs/SGC. Poniżej przedstawiono optymalizację poszczególnych składowych wpływających na sygnał europu dla elektrody MWCNTs/SGC. Skład elektrolitu podstawowego był jednym z pierwszych parametrów od którego rozpoczęto procedurę optymalizacji. Jako elektrolit wybrano bufor octanowy, dla którego zbadano wpływ pH oraz jego stężenie na wielkość piku odpowiadającego określonej stężeniu jonów europu w roztworze. Aby znaleźć optymalne pH buforu octanowego przeprowadzono serię pomiarów zmieniając jego wartość w zakresie od 3,6 do 6,4. Najwyższy sygnał został zarejestrowany dla pH 5,6. Stężenie buforu octanowego zmieniano w zakresie od 0,02 do 0,3 mol L^{-1} . Intensywność prądu piku Eu(III) wzrastała wraz ze wzrostem stężenia buforu

octanowego, najwyższy sygnał zarejestrowano przy stężeniu $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, powyżej którego sygnał zaczął maleć. Do dalszych pomiarów użyto buforu octanowego o stężeniu $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6). Wpływ stężenia kupferronu na prąd pikowy zbadano w zakresie stężeń czynnika kompleksującego od 6×10^{-5} do $7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Wyniki wykazały, że wysokość pików wzrasta wraz ze wzrostem stężenia kupferronu do $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, powyżej którego sygnał pikowy maleje. Dlatego też wybrano stężenie $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ jako optymalne stężenie czynnika kompleksującego. W tej procedurze tworzenie filmu ołowiu na powierzchni elektrody pracującej wykonano przy użyciu metody in situ. Pierwsze pomiary były rejestrowane bez obecności jonów Pb(II) i w tych pomiarach nie zarejestrowaliśmy żadnego sygnału od Eu(III) . Dlatego też stwierdzono, że kompleks $\text{Eu(III)}\text{--kupferron}$ nie nagromadza się bezpośrednio na powierzchni elektrody MWCNTs/SGC i należy jej poddać odpowiedniej modyfikacji. W naszym przypadku modyfikacja polegała na utworzeniu filmu ołowiu na powierzchni elektrody. Zakres stężeń jonów Pb(II) , które dodawano do analizowanego roztworu w celu utworzenia filmu wahał się od $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Zaobserwowano, że sygnał Eu(III) wzrastał wraz ze wzrostem stężenia Pb(II) aż do $1,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Następnie, powyżej tego stężenia ołowiu sygnał Eu(III) ustabilizował się i osiągnął stałą wartość. Kolejnym krokiem była optymalizacja potencjału i czasu tworzenia filmu ołowiu na powierzchni elektrody pracującej. Potencjał tworzenia filmu zmieniano w zakresie od $-2,6 \text{ V}$ do $-1,4 \text{ V}$, przy czasie 20 s , podczas gdy etap nagromadzania $\text{Eu(III)}\text{--kupferronu}$ przeprowadzano przy stałym potencjale $-0,6 \text{ V}$ przez 60 s . Najwyższy sygnał zarejestrowano przy potencjale tworzenia filmu ołowiu $-2,4 \text{ V}$. W zakresie potencjału od $-2,6$ do $-2,4 \text{ V}$ sygnał wzrastał, natomiast w zakresie od $-2,3 \text{ V}$ do $-1,4 \text{ V}$ sygnał malał. Czas generowania filmu ołowiu na MWCNTs/SGC również wpływał na sygnał pikowy. Czas tworzenia filmu zmieniano od 0 do 60 s z częstotliwością 5 s przy stałym potencjale $-2,4 \text{ V}$. Najwyższy sygnał zarejestrowano, gdy czas generowania filmu wynosił 20 s . Wydłużenie czasu generowania filmu nie zwiększało znacząco uzyskanego sygnału, więc 20 s wybrano jako optymalny czas tworzenia.

Potencjał i czas nagromadzania kompleksu $\text{Eu(III)}\text{--kupferron}$: Potencjał nagromadzania kompleksu $\text{Eu(III)}\text{--kupferron}$ zmieniano od $-1,5 \text{ V}$ do $-0,5 \text{ V}$, przy stałym czasie nagromadzania 60 s . Prąd pikowy Eu(III) nieznacznie wzrastał wraz ze zmianą potencjału od $-1,5 \text{ V}$ do $-0,9 \text{ V}$. Przy potencjale $-0,8 \text{ V}$ wartość prądu pikowego znacznie wzrosła, podczas gdy najwyższy sygnał obserwowano przy potencjale $-0,6 \text{ V}$. Sygnał nagle zmniejszył się gdy potencjał wzrósł do $-0,5 \text{ V}$. Czas nagromadzania kompleksu $\text{Eu(III)}\text{--kupferron}$ sprawdzano w zakresie od 0 s do 70 s , ze zmianą co 5 s . W miarę jak czas nagromadzania się zwiększał, sygnał pikowy wzrastał do 60 s , po czym następowało zmniejszenie sygnału. Dlatego warunki $-0,6 \text{ V}$ i 60 s wybrano jako optymalny potencjał i czas nagromadzania kompleksu $\text{Eu(III)}\text{--kupferron}$ w proponowanej procedurze.

Charakterystyka procedury analitycznej: Postępując zgodnie ze zoptymalizowanymi parametrami oznaczania Eu(III) przy użyciu dwóch różnych elektrod pracujących, przeprowadzono pomiary w celu określenia granic wykrywalności i zakresów liniowości. Krzywa kalibracji dla Eu(III) przy użyciu elektrody GCE przy czasie nagromadzania 60 s była liniowa między 5×10^{-8} a $5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ i odpowiadała równaniu $y = 7,854x + 0,535$, gdzie y i x to odpowiednio prąd (μA) i stężenie Eu(III) ($\mu\text{mol L}^{-1}$). Liniowość krzywej kalibracji wykonanej przy użyciu elektrody MWCNTs/SGC mieściła się w zakresie od 5×10^{-9} do $5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ i odpowiadała równaniu $y = 45,976x + 1,989$, gdzie y i x to odpowiednio prąd pikowy (μA) i stężenie Eu(III) ($\mu\text{mol L}^{-1}$). Względne odchylenia standardowe wynosiły $5,5 \%$ dla elektrody GC i $2,2 \%$ dla elektrody MWCNTs/SGC. Granica

wykrywalności europu wynosiła $1,3 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ dla elektrody MWCNTs/SGC i $1,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ dla elektrody GC. Przeprowadzone badania potwierdziły, że elektroda MWCNTs/SGC umożliwia uzyskanie niższej granicy wykrywalności, co wskazuje na jej lepszą czułość oznaczeń Eu(III) w porównaniu z elektrodą GC.

Wnioski: Elektroda MWCNTs/SGC może skutecznie poprawić czułość pomiaru oznaczania Eu(III) w porównaniu z użyciem elektrody GC. Aby poprawić wydajność elektroanalityczną proponowanej metody, zoptymalizowano kilka kluczowych parametrów operacyjnych, takich jak pH elektrolitu podstawowego, stężenie jonów kupferronu i ołowiu, potencjał i czas, w którym warstwa ołowiu tworzyła się na powierzchni elektrody oraz potencjał i czas, w którym kompleks Eu(III)-kupferron nagromadzał się na warstwie ołowiu. Proponowana zoptymalizowana procedura jest prosta i bardziej czuła niż inne istniejące metody woltamperometrii wykorzystujące elektrody niertęciowe. Zastosowanie MWCNTs/SGCE zmodyfikowanej warstwą ołowiu pozwala na uzyskanie niskiego limitu wykrywalności Eu(III) na poziomie $1,3 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. Porównując limity wykrywalności uzyskane dla elektrody MWCNTs/SGC i elektrody GC, można stwierdzić, że zastosowanie MWCNTs/SGC pozwala na obniżenie granicy wykrywalności o rząd wielkości.

Literatura:

1. A. Bielański, Podstawy chemii nieorganicznej, PWN, Warszawa, 2009.
2. M.M. Richter, A.J. Bard, Anal. Chem. 68 (1996) 2641.
3. C. Wang, L. Xu, X. Li, Q. Lin, ChemPhysChem 13 (2012) 3765.
4. E. Wlazłowska, M. Grabarczyk, M. Fiałek, J. Electrochem. Soc. 171 (2024) 087501.

NOWY BIOSENSOR ELEKTROCHEMICZNY DO OZNACZANIA ESTRADIOLU

H. WÓLCZYŃSKI¹, C. WARDAK¹, S. MALINOWSKI², ¹UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin, ²Politechnika Lubelska, Wydział Budownictwa i Architektury, Katedra Inżynierii Materiałów Budowlanych i Geoinżynierii, Ul. Nadbystrzycka 40, 20-618 Lublin

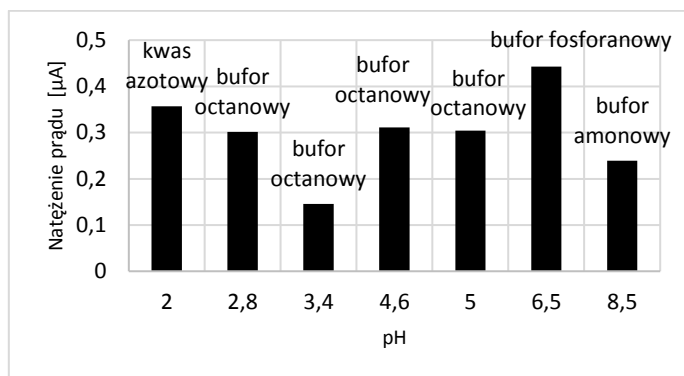
Abstrakt: Praca przedstawia nowy bioczułnik elektrochemiczny oparty na lakazie do oznaczania estradiolu. Czujnik otrzymano w wyniku immobilizacji enzymu lakaza na powierzchni elektrody z węgla szklistego za pomocą innowacyjnej i przyjaznej dla środowiska techniki zimnej plazmy (Soft Plasma Polymerization SPP). Technika SPP jest prosta i szybka, umożliwia efektywne unieruchomienie enzymu z zachowaniem jego aktywności katalitycznej. Zoptymalizowano warunki pomiaru, takie jak dobór elektrolitu podstawowego, elektrochemiczne parametry pomiarowe, wyznaczono parametry czujnika oraz jego selektywność. Opracowany czujnik cechuje się wysoką czułością i selektywnością i może być stosowany w analizie farmaceutycznej i środowiskowej.

Wprowadzenie: Estradiol jako jeden z głównych przedstawicieli grupy estrogenów odpowiada za regulację cyklu menstruacyjnego, rozwój narządów płciowych, zdrowie kości i układu sercowo-naczyniowego. Reprezentuje on grupę hormonów steroidowych, więc wpływa także na metabolizm. Mimo naturalnego pochodzenia wykazuje silne działanie biologiczne [1]. Obecność estradiolu w środowisku naturalnym, gdzie przedostaje się w wyniku działalności ludzkiej, stanowi coraz większy problem. Głównym źródłem estradiolu w środowisku są spływy rolnicze oraz ścieki. Woda skażona estradiolem stanowi również zagrożenie dla ludzi, szczególnie w przypadku jej spożycia [2. 3]. Z tego powodu konieczne jest monitorowanie jego poziomu. Tradycyjne metody analityczne takie jak HPLC-MS są kosztowne, dlatego coraz większą popularność zyskują szybsze i tańsze techniki elektrochemiczne [4]. Zastosowanie bioczułników stanowi kolejny krok milowy w tej dziedzinie. Biocząstki takie jak enzymy mogą zostać użyte do modyfikacji elektrod, co pozwala na selektywne oznaczanie bioanalitów, m.in. estradiolu nawet w bardzo niskich stężeniach. Dzięki tym rozwiązaniom elektrochemiczne czujniki mogą być stosowane w monitorowaniu jakości wody w czasie rzeczywistym [5]. Opracowany biosensor wykorzystuje lakazę unieruchomioną na elektrodzie dzięki technologii zimnej plazmy SPP, co zwiększa czułość pomiarów. Do analizy wykorzystano voltamperometrię różnicową, umożliwiającą precyzyjną detekcję estradiolu.

Część eksperymentalna: Elektrody z węgla szklistego wypolerowano za pomocą papieru ściernego, a następnie zwilżonego tlenku glinu Al_2O_3 . Oczyszczone w ten sposób elektrody przepłukane zostały wodą destylowaną i oczyszczone w łaźni ultradźwiękowej. Na tak przygotowane podłoże została nałożona aktywna warstwa receptorowa w postaci enzymu jakim jest lakaza. Proces ten polegał na przeniesieniu znebulizowanego roztworu lakazy w strumieniu gazu nośnego He do strefy reakcji plazmowej wyładowania koronowego o niskiej gęstości energii. Dzięki obecności aktywnych składników plazmy w postaci elektronów czy jonów obecnych w strefie reakcji doszło do polimeryzacji enzymu

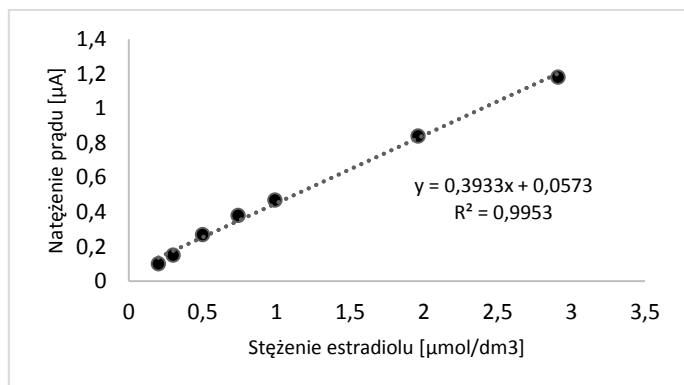
i usieciowania go na powierzchni elektrody z węgla szklistego. Warunki plazmowego osadzania enzymu były następujące: szybkość przepływu gazu plazmotwórczego 10 L/min, czas nanoszenia warstwy 30 sekund, szybkość przepływu wodno-alkoholowego roztworu lakazy 200 μ L/min, napięcie przykładane do elektrod 3 kV. Poszczególne parametry zostały zoptymalizowane we wcześniejszych badaniach [6]. Wzorcowy roztwór estradiolu o stężeniu 1×10^{-3} mol/dm³ powstał poprzez rozpuszczenie $8,172 \times 10^{-3}$ g hormonu w mieszaninie 10 ml wody i 10 ml alkoholu etylowego. W celu przygotowania roztworu estradiolu do oznaczenia w preparacie farmaceutycznym wybrano 10 tabletek leku Estrofem o zawartości 2 mg estradiolu każda i utarto w moździerzu. Następnie odważono ekwiwalent masowy 2 tabletek (0,16246 g) i rozpuszczono w mieszaninie 10 ml wody i 10 ml alkoholu etylowego. Ponadto w badaniach stosowano następujące roztwory buforowe: bufor octanowy o pH 2,8; 3,4; 4,6; 5,0; bufor fosforanowy o pH 6,5; bufor amonowy o pH 8,5 oraz kwas azotowy(V) o pH 2,0. Pomiarzy elektrochemiczne prowadzono stosując metodę woltamperometrii różnicowej (Differential Pulse Voltammetry DPV) z wykorzystaniem analizatora elektrochemicznego Autolab. Odbływały się one w naczynku elektrochemicznym o pojemności 10 mL w układzie trójelektrodowym, w którym badany biosensor stosowany był jako elektroda pracująca, elektrodę platynową wykorzystano jako elektrodę pomocniczą, natomiast w roli elektrody odniesienia użyto elektrody Ag|AgCl (3M KCl).

Wyniki: W celu optymalizacji procedury pomiarowej w pierwszej kolejności przetestowano serię buforów różniących się pH i przebadano zależność wysokości sygnału od rodzaju i pH buforu. W tym celu zbadano wielkość sygnału w roztworach estradiolu o stężeniu $1,5 \times 10^{-6}$ mol/dm³ w różnych buforach o stężeniu 0,02 mol/dm³. Otrzymane wyniki przedstawiono na rys. 1. Największy sygnał otrzymano dla buforu fosforanowego o pH 6,5, więc taki bufor wybrano do dalszych badań. Następnie w celu wyznaczenia optymalnego stężenia buforu przeprowadzono serię pomiarów z wykorzystaniem tego buforu o stężeniach 0,01; 0,02; 0,05 oraz 0,1 mol/dm³ i dodatku $1,5 \times 10^{-6}$ mol/dm³ estradiolu. Optymalnym stężeniem buforu fosforanowego okazało się stężenie 0,05 mol/dm³ i taki roztwór stosowano w dalszych badaniach jako elektrolit podstawowy. Optymalizacja warunków elektrochemicznych polegała na dobraniu odpowiednich wartości prędkości skanowania i skoku potencjału. W tym celu wykonane zostały dwie serie pomiarów w roztworze buforu fosforanowego (pH 6,5) oraz dodatku estradiolu ($C = 1,5 \times 10^{-6}$ mol/dm³) przy zastosowaniu różnych prędkości skanowania, a następnie różnych wielkości skoku potencjału. Analizując wpływ parametrów elektrochemicznych na rejestrowany sygnał estradiolu stwierdzono, że optymalną prędkością skanowania jest prędkość 100 mV/s. Jeśli chodzi o skok potencjału to wybrano wartość 50 mV. Co prawda dla wyższych wartości zarejestrowany sygnał estradiolu był nieco wyższy, ale kształt piku był mniej symetryczny i trudniejszy do interpretacji, dlatego do dalszych pomiarów wybrano wartość 50 mV.



Rys. 1. Zależność sygnału elektrochemicznego zarejestrowanego dla estradiolu w zależności od rodzaju i pH buforu.

Sprawdzono również wpływ etapu nagromadzenia na wielkość rejestrowanego sygnału. Na podstawie wyników badań eksperymentalnych, stwierdzono, że etap nagromadzenia nie ma wpływu na wielkość sygnału co wskazuje, że analit w tych warunkach nie ulega nagromadzeniu. Dla tak dobranych i zoptymalizowanych warunków elektrochemicznych oraz procedury pomiarowej wykonano krzywą kalibracyjną, którą przedstawiono na rys. 2. Z przedstawionych danych wynika, że opracowany bioczuJNIK wykazuje liniową zależność sygnału od stężenia estradiolu w zakresie stężeń 0,2-3,0 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ z dobrym współczynnikiem korelacji.



Rys. 2. Krzywa kalibracyjna czuJNIKA estradiolu wyznaczona w zoptymalizowanych warunkach.

Pomiar selektywności badanego biosensora polegał na porównaniu wielkości sygnału w roztworze estradiolu oraz w roztworze zawierającym estradiol i interferent w stosunku 1:1 oraz 1:5. W roli interferentów przebadano glicynę, laktozę, kwas glutarowy, glukozę, mannitol, chlorek sodu oraz kwas askorbinowy. Sygnały otrzymywane dla estradiolu w obecności potencjalnych interferentów są zbliżone dla sygnału uzyskanego dla estradiolu bez dodatków. Zarówno przy stosunku stężeń 1:1, jak i 1:5, zmiany natężenia prądu pozostają stosunkowo niewielkie (rzędu kilku procent). Nawet przy pięciokrotnie większej zawartości interferentów (1:5) nie obserwuje się drastycznych spadków/wzrostów sy-

gnału w porównaniu z próbką kontrolną. Świadczy to o dobrej stabilności sygnału biosensora i braku istotnego wpływu badanych substancji na rejestrowany sygnał. Testowane interferenty reprezentują różne grupy związków (aminokwasy, cukry proste i złożone, kwasy organiczne). Fakt, że żaden z nich nie zaburza istotnie sygnału estradiolu wskazuje na wysoki poziom selektywności biosensora wobec szerokiego spektrum potencjalnych zakłóceń. Opracowany bioczuJNIK zastosowano do oznaczania estradiolu w preparacie farmaceutycznym Estrofem. Oznaczenie wykonano metodą dodatku wzorca w zoptymalizowanych warunkach pomiarowych. Oznaczona zawartość substancji czynnej 2,08 mg/tabletkę jest zgodna z zawartością deklarowaną przez producenta co potwierdza poprawne działanie czujnika.

Wnioski: Opracowano prosty i tani biosensor do elektrochemicznego oznaczania estradiolu. Proponowany bioczuJNIK cechuje się wysoką czułością, selektywnością oraz stabilnością sygnału, co czyni go obiecującym narzędziem do monitoringu estradiolu w preparatach farmaceutycznych. Zastosowanie innowacyjnej metody unieruchomienia lakazy metodą zimnej plazmy SPP przyczynia się do uzyskania doskonałych parametrów detekcyjnych, a wydatnie skraca czas przygotowania czujnika. Wyniki badań selektywności potwierdzają, że biosensor działa poprawnie w obecności potencjalnych interferentów, co umożliwia jego zastosowanie w praktycznych analizach farmaceutycznych.

Literatura:

1. C. Baronti, R. Curini, G. D'Ascenzo, A. Di Corcia, A. Gentili, R. Samperi, *Environmental Science & Technology*, 34 (2000) 5059
2. B. Huang, B. Wang, D. Ren, W. Jin, J. Liu, J. Peng, X. Pan, *Environment International* 59 (2013) 262.
3. S. Combalbert, G. Hernandez-Raquet, *Appl Microbiol Biotechnol* 86 (2010) 1671.
4. K. Spychalska, D. Zając, J. Cabaj, *RSC Advances*, 10 (2020) 9079.
5. J. Baranwal, B. Barse, G. Gatto, G. Broncova, A. Kumar, *Chemosensors*, 10 (2022) 363
6. C. Wardak, K. Pietrzak, S. Malinowski, *Praca zbiorowa pod redakcją Z. Hubickiego; Nauka i Przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości* Wyd. UMCS Lublin, 2022.

ZASTOSOWANIE FUNKCJONALIZOWANYCH METAKRYLOWYCH MIKROSFER POLIMEROWYCH JAKO WYPEŁNIENIA CHROMATOGRAFICZNE W RP-HPLC

M. MACIEJEWSKA, M. GROCHOWICZ, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin

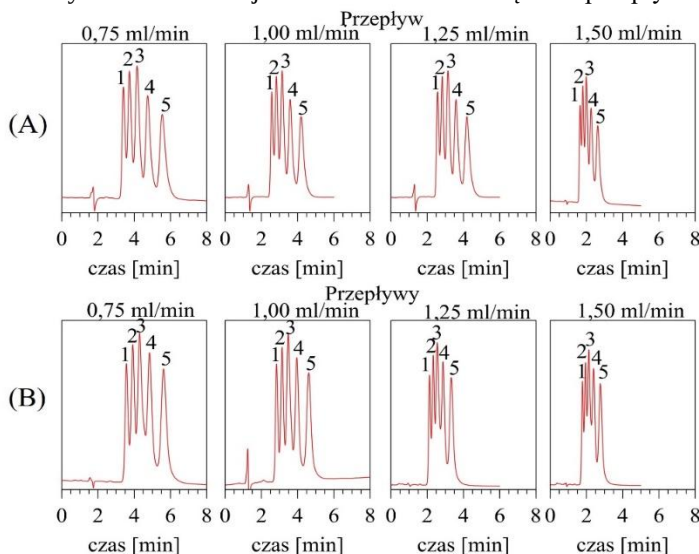
Abstrakt: Kopolimery na bazie trimetakrylanu trimetylopropanu (TRIM) oraz 1,4-dimetakryloiloksybenzenu (1,4DMB) funkcjonalizowano grupami tiolowymi pochodzącymi od kwasu tioglikolowego. Zastosowano je jako wypełnienie kolumn chromatograficznych i przetestowano w odwróconym układzie faz w wysokosprawnej chromatografii cieczowej (RP-HPLC).

Wprowadzenie: Mikrosfery polimerowe o dobrze rozwiniętej strukturze porowatej można wykorzystać jako adsorbenty w wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC). Mikrosfery polimerowe o wąskim rozkładzie wielkości cząstek można syntezować z wykorzystaniem polimeryzacji jednokrotnego spęszczania. Metoda ta umożliwia otrzymanie polimerów o wysokim stopniu usieciowania, który zapobiega ich rozpuszczaniu w rozpuszczalnikach organicznych, a także ogranicza ich zdolność do pęcznienia [1]. W pracy przedstawiono wykorzystanie mikrosfer polimerowych na bazie GMA i środków sieciujących: TRIM oraz 1,4DMB funkcjonalizowanych grupami tiolowymi jako wypełnienia kolumn do RP-HPLC.

Część eksperymentalna: Mikrosfery polimerowe poli(GMA-co-1,4DMB)-SH oraz poli(GMA-co-TRIM)-SH otrzymano poprzez funkcjonalizację mikrosfer polimerowych poli(GMA-co-1,4DMB) lub poli(GMA-co-TRIM) za pomocą kwasu tioglikolowego na drodze otwierania pierścienia oksiranowego według wcześniej opisanej procedury [2]. Mikrosfery poli(GMA-co-1,4DMB)-SH oraz poli(GMA-co-TRIM)-SH upakowano zawieszinowo do kolumny HPLC wykonanej ze stali nierdzewnej o długości i średnicy wewnętrznej odpowiednio 100 mm i 4,6 mm przy użyciu systemu Pack in a Box (SSI, USA) pod ciśnieniem 20 MPa zgodnie z procedurą opisaną wcześniej [1]. Badania chromatograficzne wykonano używając chromatografu cieczowego (Dionex Ultimate 3000; Dionex, USA) wyposażonego w detektor UV. Wykorzystując metodę RP-HPLC przeprowadzono rozdział mieszanin testowych: alkilobenzenów (benzen, toluen, etylobenzen, propylobenzen, butylobenzen), ketonów alkiloarylowych (1-fenylotanon, 1-fenylpropan-1-on, 1-fenylbutan-1-on, 1-fenylpentan-1-on, 1-fenylheksan-1-on, 1-fenylheptan-1-on), benzoesanów alkilowych (benzoesan metylu, benzoesan etylu, benzoesan propylu, benzoesan butylu, benzoesan pentylu), *N*-alkiloanilin (anilina, *N*-metyloanilina, *N*-etyloanilina, *N*-propyloanilina, *N*-butyloanilina, *N*-pentyloanilina) i eterów alkiloarylowych (metoksybenzen, etoksybenzen, butoksybenzen). Fazę ruchomą stanowiła mieszanina acetonitrylu - bufor fosforanowy (pH=7) (50/50 v/v). Chromatogramy rejestrowano przy użyciu detektora UV ($\lambda = 254$ nm) przy różnych objętościowych natężeniach przepływu od 0,75 do 1,50 ml/min. Parametry określające jakość rozdziału: rozdzielczość pików i liczbę pólk teoretycznych (TPN) oraz współczynniki retencji (I_x) określające charakter

oddziaływań pomiędzy fazą stacjonarną a substancjami testowymi, obliczono na podstawie konwencjonalnych wyrażeń [4].

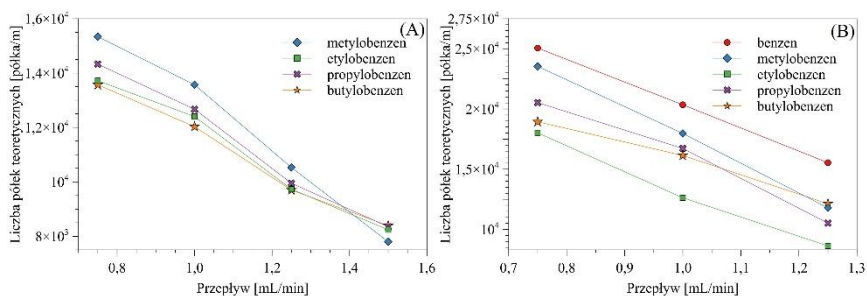
Wyniki: Parametry charakteryzujące sprawność badanych kolumn oceniono na podstawie rozdzielu alkilobenzenów. W tym celu przeprowadzono analizę chromatograficzną zmieniając objętościowe natężenia przepływu fazy ruchomej w zakresie 0,75 – 1,5 ml/min. Otrzymane chromatogramy przedstawiono na Rys. 1, a obliczone rozdzielczości przedstawiono w tabeli 1. Z przedstawionych danych wynika, że dwukrotny wzrost natężenia przepływu fazy ruchomej powoduje skrócenie czasu analizy z 7 do 3,5 min dla poli(GMA-co-1,4DMB)-SH oraz z 5,5 do 3,5 min dla poli(GMA-co-TRIM)-SH. Jednocześnie zdolność rozdzielcza badanych kolumn maleje wraz ze wzrostem natężenia przepływu.



Rys. 3. Chromatogramy rozdzielania alkilobenzenów uzyskane przy różnych objętościowych natężeniach przepływu na kolumnie wypełnionej (A) poli(GMA-co-1,4DMB)-SH oraz (B) poli(GMA-co-TRIM)-SH. Kolejność elucji: 1-benzen, 2-metylobenzen, 3-etylobenzen, 4-propylobenzen, 5-butylobenzen.

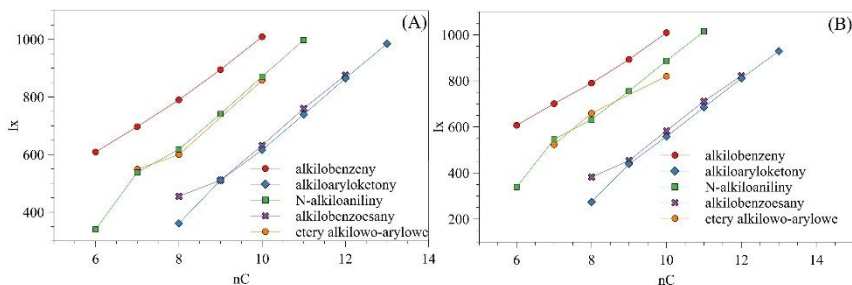
Tabela 4. Rozdzielczość obliczona na podstawie chromatogramów uzyskanych przy różnych objętościowych natężeniach przepływu. Kolejność elucji: 1, benzen; 2, toluen; 3, etylobenzen; 4, propylobenzen; 5. butylobenzen

	Przepływ (mL/min)	R(2/1)	R(3/2)	R(4/3)	R(5/4)
poli(GMA-co-1,4DMB)-SH	0,75	0,96	1,01	1,23	1,45
	1,00	0,90	0,97	1,17	1,36
	1,25	-	0,83	0,99	1,19
	1,50	-	0,72	0,89	1,08
poli(GMA-co-TRIM)-SH	0,75	1,15	1,03	1,32	1,64
	1,00	1,12	0,99	1,22	1,56
	1,25	0,84	0,72	0,90	1,23
	1,50	-	-	-	-



Rys. 4. Zależność TPN od objętościowego natężenia przepływu fazy ruchomej dla kolumny: (A) poli(GMA-co-1,4DMB)-SH; (B) poli(GMA-co-TRIM)-SH.

Wpływ objętościowego natężenia przepływu na TPN badanych kolumn przedstawiono na Rysunku 2. Dla poli(GMA-co-1,4DMB)-SH liczba pól teoretycznych wyznaczona dla alkilobenzenów mieści się między 8×10^3 – $1,6 \times 10^4$. Nastąpił spadek liczby pól teoretycznych wraz ze wzrostem szybkości przepływu fazy ruchomej. W przypadku kolumny wypełnionej poli(GMA-co-TRIM)-SH również obserwuje się, że wraz ze wzrostem natężenia przepływu następuje spadek liczby pól teoretycznych, który mieści się dla alkilobenzenów w przedziale $8,6 \times 10^3$ – $2,5 \times 10^4$. Optymalne parametry rozdzielu na obu kolumnach otrzymano przy zastosowaniu standardowego natężenia przepływu wynoszącego 1 ml/min.



Rys. 5. Zależność indeksów retencji od liczby atomów węgla w cząsteczkach związków mieszanin testowych dla kolumny: (A) poli(GMA-co-1,4DMB)-SH; (B) poli(GMA-co-TRIM)-SH.

Tabela 5. Indeksy retencji związków testowych na badanych kopolimerach.

	poli(GMA-co-1,4DMB)-SH		poli(GMA-co-TRIM)-SH	
	Skala indeksów			
Indeks retencji I _x	toluen	661	1024	654
	nitrobenzen	669	1031	548
	p-krezol	276	717	322
	2-fenylotetan-1-ol	88	562	394
	N-metyloanilina	539	926	499
				917

Badania selektywności otrzymanych nowych faz stacjonarnych oparto na metodzie zaproponowanej przez Smitha [3]. Metoda ta umożliwia charakterystykę różnych wypełnień kolumn HPLC przy użyciu indeksów retencji związków testowych wyznaczonych w odniesieniu do indeksów retencji alkiloaryloketonów. Jako związki testowe zastosowano

p-krezol, 2-fenylloetan-1-ol, toluen, nitrobenzen oraz *N*-metyloanilinę. Dodatkowo, selektywność kolumn porównano oceniając indeksy retencji związków należących do pięciu różnych szeregów homologicznych. W tabeli 2 przedstawiono indeksy retencji badanych związków testowych. Ze względu na występowanie oddziaływań pomiędzy cząsteczkami substancji bazowych, w odniesieniu do których ustala się *I*_x pozostałych substancji, a wypełnieniem kolumny, wartości *I*_x bazujące na skali alkiloaryloketonów są dużo większe niż spodziewane. Dlatego też jako skala porównawcza do wyznaczenia *I*_x substancji testowych lepiej sprawdza się skala alkilobenzenów. Na podstawie *I*_x można stwierdzić, że kolumna poli(GMA-co-1,4DMB)-SH najsilniej oddziałuje z nitrobenzenem i toluenem, które mogą oddziaływać z wypełnieniem kolumny na drodze oddziaływań π - π oraz dipolowych, a najsłabiej z 2-fenylloetan-1-olem, który wykazuje charakter donora wiązań wodorowych. Wartości *I*_x toluenu, nitrobenzenu i *N*-metyloaniliny na wypełnieniu poli(GMA-co-TRIM)-SH są niższe niż na wypełnieniu zawierającym mery pochodzące od 1,4DMB. Na tę różnicę wpływa brak układu aromatycznego w strukturze kopolimeru sieciowanego TRIM. Mimo tego, ten kopolimer również wykazuje najsilniejsze oddziaływania z toluenem i nitrobenzenem. Biorąc pod uwagę nachylenie i położenie krzywych na wykresie zależności *I*_x od liczby atomów węgla w cząsteczkach substancji należących do różnych szeregów homologicznych (Rys 3) można wnioskować, że siła oddziaływań mieszanin testowych z obydwoima badanymi kopolimerami maleje od alkilobenzenów do alkiloaryloketonów. Natomiast wykresy parami: dla eterów alkilowo-arylowych i *N*-alkilanilin oraz alkiloaryloketonów i alkilbenzoesanów są prawie równoległe.

Wnioski: Przeprowadzone badania sprawności kolumn wypełnionych kopolimerami posiadającymi ugrupowania tiolowe wykazały, że optymalny rozdział alkilobenzenów jest możliwy przy zastosowaniu standardowego natężenia przepływu 1 ml/min. Kopolimery, pomimo różnicy w budowie chemicznej podobnie oddziałują substancjami testowymi, co dowodzi że wykazują podobną selektywność.

Literatura:

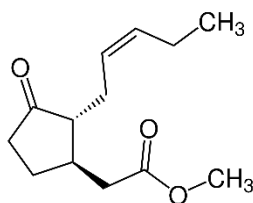
1. M. Grochowicz, *React. Funct. Polymers*, 137 (2019) 1.
2. M. Maciejewska, M. Grochowicz, *J. Therm. Anal. Calorim.* 148(2023) 4195.
3. B. Gawdzik, J. Gawdzik, U. Czerwińska-Bil, *Chromatographia*, 26 (1988) 399.
4. E. Unsual, S.T. Camil, T. Irmak, M. Tuncel, A. Tuncel, *Chromatographia*, 60 (2004) 553.

JASMONIAN METYLU – WŁAŚCIWOŚCI, WYSTĘPOWANIE, WOLTAMPEROMETRYCZNE PROCEDURY OZNACZANIA

K. STANIEC, K. TYSZCZUK-ROTKO, D. GORYLEWSKI, A. KELLER, UMCS,
Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii
Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: W poniższej pracy scharakteryzowano jasmonian metylu, który jest jednym z fitohormonów odpowiedzialnym za kontrolowanie procesów rozwoju roślin. Przedstawiono również informacje na temat możliwości modyfikacji powierzchni elektrody pracującej poprzez jej elektrochemiczną aktywację. Zostały również porównane procedury oznaczania jasmonianu metylu z wykorzystaniem m.in. metod woltamperometrycznych i klasycznych układów trójelektrodowych, w których stosowano różne modyfikacje powierzchni elektrody pracującej.

Wprowadzenie: Jasmonian metylu (MeJA), przedstawiony na rysunku 1, jest estrem metylowym kwasu jasmonowego (JA). Po raz pierwszy został wyodrębniony z olejku zapachowego kwiatu jaśminu i rozmarynu w 1962 roku. Zarówno JA jak i MeJA odpowiedzialne są za kontrolowanie procesów rozwoju roślin takich jak kiełkowanie, rozwój kwiatów, starzenie narządów [1]. MeJA jest hydrofobowym fitohormonem, który reguluje również aspekty fizjologii roślin związane z tolerancją stresu, może on modyfikować odpowiedzi na czynniki stresowe biotyczne (np. atak owadów) jak i abiotyczne (np. nadmiar Cu) [2]. Ze względu na swoją lotność MeJA łatwo przenika przez błony biologiczne i może pośredniczyć w komunikacji wewnątrz i między roślinami [3]. Dowiedziono, że jasmoniany biorą również udział w programowanej śmierci komórki [4]. MeJA znalazł również zastosowanie w medycynie. Istnieją badania potwierdzające, że fitohormony takie jak MeJA i jego pochodne mogą zmniejszać stan zapalny w przebiegu chorób jelit, w tym nieswoistych chorób zapalnych jelit (IBD) [5]. W literaturze opisano również potencjalne zastosowanie MeJA w terapii nowotworów takich jak nowotwór prostaty, piersi oraz neuroblastoma [4, 6]. MeJA wykazuje także działanie odstarszające komary *Culex quinquefasciatus*, znane jako komary domowe, które odpowiedzialne są za przenoszenie wirusów japońskiego zapalenia mózgu, wirusa Zachodniego Nilu czy wirusa zapalenia mózgu st. Louis [7].



Rys 1. Wzór strukturalny jasmonianu metylu.

Ze względu na fakt, że MeJA jest jednym z najważniejszych fitohormonów regulujących m.in. procesy starzenia, opracowano wiele metod oznaczania jego zawartości w różnych próbkach. Najwięcej opisanych procedur opiera się na metodach chromatograficznych takich jak chromatografia gazowa (GC) [8,9], chromatografia cieczowa (LC) [10,11] oraz wysokosprawną chromatografią cieczową [7]. Wśród metod instrumentalnych stosowanych do oznaczania ilościowego MeJA można również wyróżnić metody elektrochemiczne, takie jak woltamperometria [12-15]. Metody elektrochemiczne w porównaniu z metodami chromatograficznymi cechują się przede wszystkim niższym kosztem, szybszą analizą i mniejszym zużyciem odczynników. Poza tym wiele metod woltamperometrycznych wykazuje wysoką czułość, dzięki czemu można uzyskać niskie granice wykrywalności oraz oznaczalności. Większość woltamperometrycznych procedur oznaczania MeJA wykorzystuje w układach pomiarowych elektrody pracujące modyfikowane różnymi sposobami. Modyfikacje powierzchni elektrody można podzielić na dwa główne rodzaje. Najczęściej stosuje się modyfikację chemiczną poprzez naniesienie różnego rodzaju błonek na powierzchnię, np. błonek metalu. Modyfikatorem mogą być również różnego rodzaju substancje organiczne (np. nafion), materiały węglowe (np. nanorurki węglowe, nanowłókna) lub materiały kompozytowe łączące zalety różnych substancji [16]. Drugim sposobem modyfikacji powierzchni elektrody jest zastosowanie aktywacji elektrochemicznej. Wykorzystuje się do tego celu woltamperometrię cykliczną (CV). Proces aktywacji elektrochemicznej skutkuje utworzeniem nowych grup funkcyjnych na powierzchni elektrody. Obecność tych grup powoduje zwiększenie zdolności przenoszenia elektronów. Taka modyfikacja powierzchni elektrody zwiększa również powierzchnie aktywne czujników i usuwa zanieczyszczenia. Dzięki temu sygnały uzyskane na czujnikach aktywowanych są wyższe i lepiej ukształtowane [17,18].

Część eksperymentalna: Podczas badań wykorzystywano statyw elektrodowy oraz analizator elektrochemiczny. Pomiaru prowadzono w klasycznym naczynku elektrochemicznym o pojemności 10 mL. Jako układ pomiarowy wykorzystano klasyczny układ trójelektrodowy: elektroda chlorosrebrowa (Ag/AgCl) jako elektroda odniesienia, elektroda platynowa jako elektroda pomocnicza oraz elektroda z węgla szklanego (modyfikowana lub niemodyfikowana) jako elektroda pracująca.

Wyniki: Opracowano wiele metod analizy MeJA w wielu typach próbek za pomocą technik chromatograficznych [7,8] oraz woltamperometrycznych [12-15]. Porównanie wyników oznaczeń MeJA z wykorzystaniem różnych procedur woltamperometrycznych zestawiono w tabeli 1. Jako elektrolity podstawowe stosowano różne roztwory kwasów: kwas siarkowy (H_2SO_4) [13], kwas chlorowy(VII) ($HClO_4$) [12, 14-15]. W większości procedur woltamperometrycznych jako elektrodę pracującą stosowano elektrodę z węgla szklanego modyfikowaną różnymi modyfikatorami chemicznymi [12-14], w przypadku procedury opisanie w publikacji [15] jako elektrodę pracującą również stosowano elektrodę z węgla szklanego, jednak poddano ją modyfikacji poprzez zastosowanie aktywacji elektrochemicznej.

Tabela 1. Zestawienie woltamperometrycznych procedur oznaczania MeJA.

Metoda	Czujnik	LOD [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Analizowane próbki	Literatura
SWV	nano-MMT/GCE	0,50	Kłos pszenicy	[12]
DPV	GCE/SDS	20,0	-	[13]
SWV	Iron-porphyrin-DMF/GCE	0,050	Kwiatostan ryżu	[14]
SWV	aGCE	0,027	Ekstrakt z liści fasoli Piękny Jaś (<i>Phaseolus coccineus</i>)	[15]
Metody: SWV – woltamperometria fali prostokątnej, DPV – woltamperometria impulsowo różnicowa; Czujniki: nano-MMT/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana filmem nanomontmorylonitu, GCE/SDS – elektroda z węgla szklanego modyfikowana laurylosiarczanem sodu, iron-porphyrin-DMF/GCE – elektroda z węgla szklanego modyfikowana filmem żelaza i porfiryny, aGCE- elektroda z węgla szklanego aktywowana elektrochemicznie				

Opracowana procedura wykorzystująca aktywowany elektrochemicznie czujnik jest jedną z najczulszych opisanych dotychczas w literaturze. Podczas badań zoptymalizowano parametry takie jak: rodzaj elektrolitu podstawowego, jego pH oraz stężenie ($0,025 \text{ mol L}^{-1} \text{ HClO}_4$). Następnie zoptymalizowano parametry techniki takie jak częstotliwość (450 Hz), amplituda (100 mV) i krok potencjału (7 mV) [15].

Wnioski: W literaturze można odnaleźć procedury woltamperometryczne wykorzystywane do oznaczania MeJA w próbkach różnych roślin [12, 14, 15]. Najniższą granicę wykrywalności uzyskano przy zastosowaniu aktywowanej elektrochemicznie elektrody z węgla szklanego [15]. Wykazano w pracy [15], że woltamperometria fali prostokątnej jest czułą metodą analizy ilościowej MeJA.

Literatura:

1. R. Lone, N.Hassan, B. Bashir, G. K. Rohela, N. A. Malla, *Plant Stress*, 9 (2023) 100179
2. A. Hanaka, R. Nurzyńska-Wierdak, *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 18 (2019) 237.
3. M. Reyes-Díaz, T. Lobos, L. Cardemil, A. Nunes-Nesi, J. Retamales, L. Jaakola, M. Alberdi, A. Ribera-Fonseca, *Molecules*, 21 (2016) 567.
4. S. Cohen, E. Flescher, *Phytochemistry*, 70 (2009) 160.
5. J. Besson, C. de Carvalho Picoli, G. Mاتيoli, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 70 (2018) 178.
6. M. Zhang, M.W. Zhang, L. Zhang, L. Zhang, *Plant Signaling & Behavior*, 10 (2015) e1062199
7. J. Islam, S. Phukan, P. Chattopadhyay, *Heliyon*, 5 (2019) e01775
8. Z. Huang, Z. Wang, B. Shi, D. Wei, J. Chen, S. Wang, B. Gao, *International Journal of Analytical Chemistry*, 2015 698630
9. C. D’Onofrio, A. Cox, C. Davies, P. Boss, *Functional Plant Biology*, 36 (2009) 323.
10. X. Liu, Y. Yang, W. Lin, J. Tong, Z. Huang, L. Xiao, *Chinese Sci Bull.*, 55 (2010) 2231.
11. X. Pan, R. Welti, X. Wang, *Phytochemistry*, 69 (2008) 1773.
12. T. Gan, C. Hu, Z. Chen. S. Hu, *J. Agric Food Chem.* 58 (2010) 8942.
13. Y. Liao, F. Wang, Z. Chen, *Chinese Sci Bull.* 55 (2010) 2225.
14. Q. Liu , Y. Wu, *Sensor Letters*, 14 (2016) 171.
15. K. Tyszczyk-Rotko, K. Staniec, A. Hanaka, *Biosensors and Bioelectronics*, 274 (2025) 117217.
16. G. Narmaeva, S. Aronbaev, D. Aronbaev, *International Journal of Research –GRANTHAALAYAH*, 6 (2018) 368.
17. J. Kozak, K. Tyszczyk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, M. Rotko, *Materials*, 14 (2021) 4231.
18. K. Tyszczyk-Rotko, K. Staniec, D. Gorylewski, A. Keller, *Sensors*, 24 (2024) 1125.

WPLYW WYSOKOPOROWATEGO TLENKU CERU NA ROZKŁAD TERMICZNY ALKOHOLEWEGO ROZTWORU AZOTANU(V) KOBALTU(II)

J. LUPA¹, V. DUDZIK², D. STERNIK², A. KIERYŚ², ¹UMCS, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Weteranów 18, 20-400 Lublin, ²UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Znajomość przebiegu reakcji rozkładu termicznego $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ w obecności propano-1,2-diolu wprowadzonych do CeO_2 ma fundamentalne znaczenie dla opracowania efektywnej procedury syntezy katalizatora kobaltowego na nośniku CeO_2 . W niniejszej pracy zbadano proces termicznej degradacji w atmosferze powietrza syntetycznego z jednoczesną analizą gazowych produktów emitowanych podczas rozkładu metodą FTIR. Przeprowadzone badania procesu utleniania azotanu kobaltu w obecności propano-1,2-diolu wykazały, że w wyniku reakcji powstaje związek kompleksowy, który jest prekursorem nanocząstek Co_3O_4 . Jednocześnie stwierdzono, że dodatek CeO_2 do układu reakcyjnego uniemożliwia powstawanie kompleksu kobaltu.

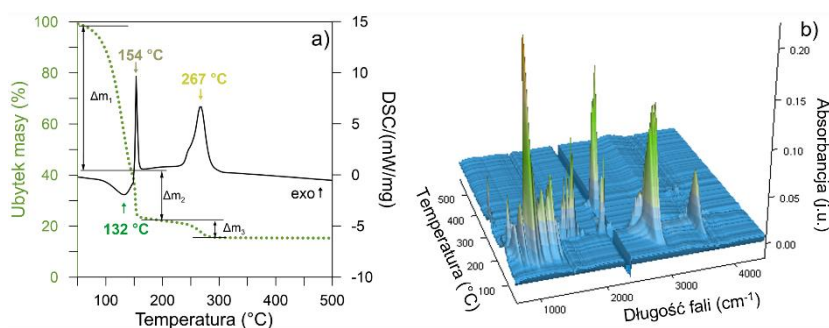
Wprowadzenie: Z uwagi na unikalne właściwości nanocząstek nieorganicznych, które znacząco odbiegają od właściwości tych samych substancji o rozmiarach makroskopowych, poszukuje się stale nowych i efektywnych metod ich wytwarzania. Jedną z ciekawych metod syntezy nanocząstek metali i tlenków metali jest metoda z wykorzystaniem związków wielowodorotlenowych (*ang.* polyol process) [1]. Doniesienia literaturowe wskazują, że utlenianie propano-1,2-diolu za pomocą $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ w atmosferze powietrza w podwyższonej temperaturze prowadzi do wytworzenia związku kompleksowego, ten zaś stanowi prekursor do otrzymywania nanocząstek Co_3O_4 w stosunkowo niskiej temperaturze [2]. Z uwagi na możliwość wytwarzania nanocząstek Co_3O_4 w tej reakcji wartym uwagi pomysłem wydaje się wykorzystanie tej metody do wprowadzenia nanocząstek Co_3O_4 jako fazy aktywnej na nośnik w celu wytworzenia materiału o właściwościach katalitycznych, które jak wiadomo znacząco zależą od wielkości i stopnia dyspersji fazy aktywnej [3].

Celem niniejszej pracy było zbadanie procesu termicznej degradacji roztworu uwodnionej soli kobaltu w propano-1,2-diolu w warunkach utleniających poszerzone o analizę gazów emitowanych podczas ogrzewania oraz porównanie przebiegu tego procesu w układzie, w którym obecny był CeO_2 . W niniejszej pracy jako nośnik zastosowano wysokoporowaty tlenek ceru wytworzony metodą twardej matrycy [4, 5], który znany jest z wysokiej efektywności w procesach utleniania sadzy [6].

Część eksperymentalna: Syntezę tlenku ceru przeprowadzono metodą twardej matrycy w oparciu o procedurę opisaną w literaturze [4, 5], przy czym jako rozpuszczalnik prekursora CeO_2 zastosowano propan-1-ol (Chempur, cz.d.a.). Z roztworu uwodnionej soli kobaltu $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck, 99%) w propano-1,2-diolu (Chempur, cz.d.a.) oraz CeO_2 przygotowano pastę. Analizie termicznej poddano zarówno pastę jak i sam roztwór soli kobaltu w propano-1,2-diolu. Analizę termiczną materiałów przeprowadzono przy użyciu

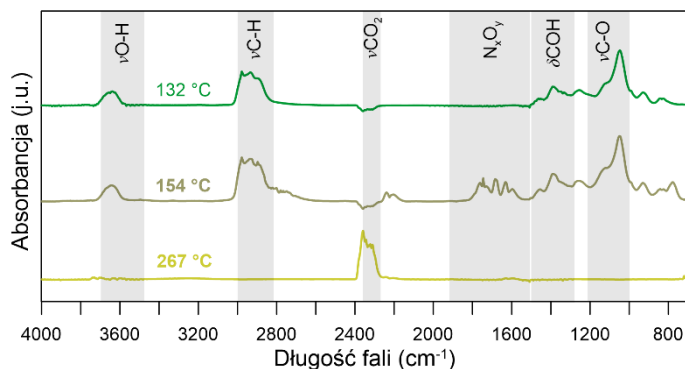
analizatora termicznego STA 449 Jupiter F1 (Netzsch, Niemcy) sprzężonego ze spektrometrem Tensor 27 (Brucker, Niemcy) z całą TGA-IR. Pomiary wykonano na próbkach o masie ($12,1 \pm 0,3$) mg, umieszczonych w otwartych tyglach aluminiowych. Analizę prowadzono w przepływie (50 ml/min) powietrza syntetycznego o czystości 6.0 (Air Liquide) z liniowym narostem temperatury $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ od 30 do $500\text{ }^{\circ}\text{C}$. Gazowe produkty rozkładu termicznego analizowano metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) w zakresie widmowym od 600 do 4000 cm^{-1} .

Wyniki: Wyniki z połączonych metod TG-DSC wraz z analizą *in situ* metodą FTIR gazowych produktów emitowanych podczas rozkładu termicznego roztworu uwodnionej soli kobaltu w propano-1,2-diolu w warunkach utleniających zamieszczono na rys. 1.



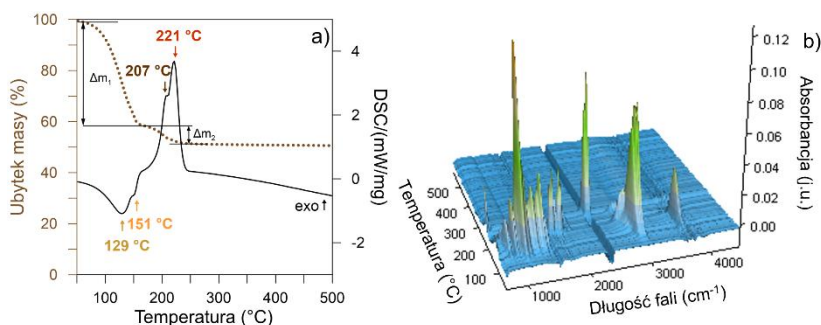
Rys. 1. Krzywe TG (linia przerywana) i DSC uzyskane dla roztworu uwodnionej soli kobaltu w propano-1,2-diolu (a) oraz wykres 3D z widmami FTIR wydzielonego gazu (b).

Przebieg krzywej TG wskazuje, że rozkład termiczny roztworu przebiega w trzech etapach, przy czym pierwszemu, niskotemperaturowemu etapowi ($35\text{--}146\text{ }^{\circ}\text{C}$) towarzyszą procesy endotermiczne. Ubytek masy w tym zakresie wynosi 59% i odpowiada desorpcji rozpuszczalnika. Taki scenariusz potwierdza widmo FTIR produktów gazowych wyemitowanych w temperaturze $132\text{ }^{\circ}\text{C}$ (rys. 2), ponieważ pojawiają się na nim charakterystyczne pasma absorpcji dla alkoholi [7]. Ogrzewanie roztworu soli kobaltu powyżej $146\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $165\text{ }^{\circ}\text{C}$ prowadzi do dalszej utraty masy ($\Delta m_2 = 18\%$). W tym zakresie na krzywej DSC widoczny jest intensywny pik egzotermiczny z maksimum w temperaturze $154\text{ }^{\circ}\text{C}$. Widmo FTIR gazowych produktów zebranych w tej temperaturze jest podobne do widma zebranego w $132\text{ }^{\circ}\text{C}$, przy czym pojawiają się na nim dodatkowe pasma absorpcyjne charakterystyczne dla tlenków azotu [8]. Stąd, można domniemywać, że podczas ogrzewania roztworu w zakresie temperatur $146\text{--}165\text{ }^{\circ}\text{C}$ zachodzi proces utleniania propano-1,2-diolu w obecności soli $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ do anionu mleczanowego ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^-$) [2]. Powstały w wyniku reakcji anion reaguje, a w konsekwencji powstaje związek kompleksowy kobaltu [2]. W oparciu o przeprowadzone badania autorzy wspomnianej pracy wnioskowali, że kompleks ten charakteryzuje się pseudooktaedryczną konfiguracją jonu kobaltu(II). Przebieg krzywej TG (rys. 1a) wskazuje, że powstały kompleks jest dość stabilny termicznie, ponieważ dopiero ogrzewanie powyżej $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ prowadzi do dalszej redukcji masy próbki o 6% (Δm_3).



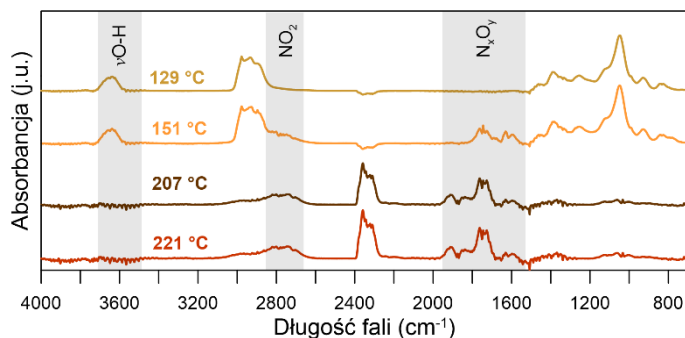
Rys. 2. Widma FTIR gazowych produktów emitowanych podczas rozkładu termicznego roztworu uwodnionej soli kobaltu w propano-1,2-diolu w wybranych temperaturach.

W zakresie 220–310 °C na krzywej DSC pojawia się egzotermiczny pik związany z emisją dwutlenku węgla (rys. 2) [9]. Można zatem stwierdzić, że powyżej 220 °C zachodzi rozpad kompleksu z wydzieleniem CO_2 , a produktem końcowym jest tlenek kobaltu, który nie ulega dalszym przemianom termicznym w badanym zakresie temperatur.



Rys. 3. Krzywe TG (linia przerywana) i DSC (a) uzyskane dla pasty oraz wykres 3D z widmami FTIR wydzielonego gazu.

Rozkład termiczny pasty ma zupełnie inny przebieg aniżeli rozkład termiczny roztworu bez CeO_2 (rys. 3). Przede wszystkim widać, że ogrzewanie powoduje spadek masy pasty o 41% (Δm_1). Towarzyszą temu efekty endotermiczne w zakresie temperatur 35–160 °C. Widma FTIR gazów wyemitowanych w 129 °C z pasty (rys. 4) i z roztworu w 132 °C (rys. 2) są podobne, stąd wniosek, że desorpcja rozpuszczalnika zachodzi też z pasty. Jednak już w 151 °C na widmie FTIR (rys. 4) pojawiają się dodatkowe pasma absorpcyjne charakterystyczne dla tlenków azotu [8]. Warto zaznaczyć, że redukcji masy w zakresie temperatur 160–250 °C ($\Delta m_2 = 8\%$) towarzyszą efekty egzotermiczne (z maksimami przy 207 °C i 221 °C). Uzyskane wyniki świadczą, że proces rozkładu termicznego pasty w warunkach utleniających jest bardzo złożony, przebiega dynamicznie i obejmuje szereg procesów, w tym utlenienie propano-1,2-diolu do anionu mleczanowego w obecności soli z wydzieleniem tlenków azotu, a następnie rozkład anionu do CO_2 z pozostawieniem tlenku kobaltu na CeO_2 .



Rys. 4. Widma FTIR gazowych produktów emitowanych podczas rozkładu termicznego pasty w wybranych temperaturach.

Wydaje się, że obecność CeO_2 w paście uniemożliwia powstawanie związku kompleksowego kobaltu. Alternatywnie, ilość powstającego kompleksu jest bardzo mała, stąd utrudniona jest możliwość jego detekcji. Niewykluczone też, że obecność CeO_2 , który znany jest ze swoich właściwości katalitycznych w dopalaniu sadzy [6], przyspiesza termiczny rozkład powstającego kompleksu kobaltu na CeO_2 .

Wnioski: Wyniki z połączonych metod TG-DSC wraz z analizą metodą FT-IR gazowych produktów emitowanych podczas rozkładu termicznego roztworu uwodnionej soli kobaltu w propano-1,2-diolu w warunkach utleniających wskazują, że proces ten ma inny przebieg w obecności wysokoporowatego tlenku ceru. Obecność CeO_2 obniża temperaturę rozkładu termicznego roztworu do tlenku kobaltu o niemal 60 °C. Na podstawie przeprowadzonych badań trudno jednoznacznie potwierdzić, że w trakcie ogrzewania roztworu z CeO_2 powstaje związek kompleksowy kobaltu.

Literatura:

1. F. Fiévet, S. Ammar-Merah, R. Brayner, F. Chau, M. Giraud, F. Mammeri, J. Peron, J.-Y. Piquemal, L. Sicard, G. Viau, *Chem. Soc. Rev.*, 47 (2018) 5187.
2. M. Niculescu, N. Vaszilcsin, M. Birzescu, P. Budrugaec and E. Segal, *J. Therm. Anal. Calorim*, 65 (2001) 881.
3. A. Y. Khodakov, *Braz. J. Phys.*, 39 (2009) 171.
4. A. Sienkiewicz, A. Kierys, *Micropor. Mesopor. Mat.*, 318 (2021) 111032.
5. J. Lupa, K. Morlo, R. Dobrowolski, P. Legutko, A. Sienkiewicz, A. Kierys, *Chem. Eng. J.*, 474 (2023) 145750.
6. G. Grzybek, P. Legutko, M. Greluk, G. Słowik, A. Sienkiewicz, A. Andrzej, A. Kotarba, *Molecules*, 30 (2025) 358.
7. R.H. Aguirresarobe, L. Irusta, M.J. Fernandez-Berridi, *Polym. Degrad. Stabil.*, 97 (2012) 1671.
8. M. Tsuji, M. Kawahara, K. Noda, S. Makoto, S. Hiroshi, K. Naohiro, K. Takashi, S. Khairul, *J. Hazard. Mater.*, 162 (2009) 1025.
9. S. W. Bruun, A. Kohler, I. Adt, G. D. Sockalingum, M. Manfait, H. Martens, *Appl. Spectrosc.*, 60 (2006) 1029.

STRUKTURA KRystaliczna I BADANIA FAZOWE ACYLOHYDRAZONÓW OTRZYMANYCH MECHANOCHEMICZNIE I ROZTWOROWO

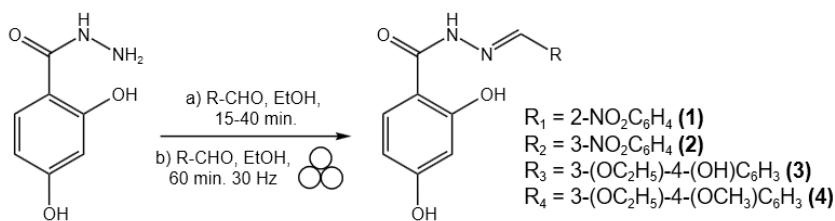
J. MISIUREK¹, L. POPIOLEK², L. MAZUR¹, ¹UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 2, 20-031 Lublin, ²UM, Wydział Farmacji, Katedra i Zakład Chemii Organicznej, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin

Abstrakt: Badania przeprowadzono na grupie czterech *N*-acylohydrazonów na bazie hydrazynu kwasu 2,4-dihydroksybenzoesowego oraz odpowiednich aldehydów. Związki otrzymano stosując techniki klasycznej syntezy roztworowej, a także wykorzystując metodę mielenia mechanochemicznego z dodatkiem katalitycznej ilości rozpuszczalnika (LAG). Produkty reakcji poddano rekryształizacji na drodze powolnego odparowania rozpuszczalnika z roztworu. Skład i strukturę otrzymanych faz ustalono za pomocą rentgenowskiej analizy strukturalnej monokryształów i dyfrakcji proszkowej, wspomaganych analizą widm spektroskopowych w podczerwieni. W przypadku dwóch związków badania potwierdziły występowanie odmian polimorficznych oraz wykazały możliwość sterowania warunkami syntezy w kierunku otrzymywania określonej fazy stałej.

Wprowadzenie: Obserwowany w ostatnich dekadach intensywny rozwój przemysłu farmaceutycznego ma ścisły związek z rozwojem chemii medycznej, biologii i biotechnologii. Nie bez znaczenia pozostają najnowsze osiągnięcia w dziedzinie inżynierii krystalicznej i chemii materiałowej. Szczególną uwagę skupia się na opracowaniu nowych aktywnych składników farmaceutycznych (APIs) o skonkretyzowanych właściwościach fizykochemicznych oraz na modyfikacji dostępnych na rynku substancji aktywnych pod kątem udoskonalania ich aktywności biologicznej. Istotną grupę związków o dużym potencjale farmakologicznym stanowią *N*-acylohydrazony, czyli związki chemiczne zawierające w swojej strukturze fragment funkcyjny $>C=N-NH-CO-$. Najczęściej są one otrzymywane w reakcji kondensacji hydrazydów kwasowych z aldehydami lub ketonami [1]. Acylohydrazony są szczególnie interesujące ze względu na udokumentowane działanie przeciwwirusowe i przeciwbakteryjne [2,3]. Jednym z bardziej znanych hydrazonów o działaniu przeciwbakteryjnym, powszechnie stosowanym w antybiotykoterapii, jest nifuroksazyd. Co więcej, istnieją doniesienia o działaniu przeciwnowotworowym, przeciwzapalnym czy przeciwdepresyjnym niektórych acylohydrazonów [3,4]. Potrzeba realizacji założeń zrównoważonego rozwoju i ochrony środowiska narzuca dodatkowe wymagania, dotyczące rozwoju nowych technologii stosowanych w przemyśle chemicznym i gałęziach pokrewnych [5]. Dlatego też poszukuje się bardziej ekonomicznych i ekologicznych metod syntezy chemicznej. Dobrym przykładem jest ostatnio obserwowany gwałtowny wzrost zainteresowania syntezą mechanochemiczną, która polega na reakcji wywołanej bezpośrednią absorpcją energii mechanicznej podczas mielenia lub ucierania substratów [6]. Syntezy metodą ucierania lub mielenia mechanochemicznego często charakteryzuje krótszy czas reakcji, większa wydajność, mniejsze zużycie (lub wykluczenie) rozpuszczalników, a także eliminacja katalizatorów [5].

Celem prezentowanych badań było sprawdzenie wpływu warunków syntezy (roz-tworowej i mechanochemicznej) na postać fazową wybranych acylohydrazonów (Schemat 1) o udokumentowanej aktywności przeciwbakteryjnej [7]. Do ustalenia składu i struktury otrzymywanych substancji wykorzystano rentgenowską analizę strukturalną monokrysztalów (SCXRD) i dyfrakcję proszkową (PXRD), wspomaganych wynikami spektroskopii podczerwieni (FT-IR).

Część eksperymentalna: W celu otrzymania acylohydrazonów metodą roz-tworową reakcji poddano równomolowe ilości hydrazynu kwasu 2,4-dihydroksybenzoesowego i aldehydu: 2-nitrobenzaldehydu (**1**), 3-nitrobenzaldehydu (**2**), 3-etoksy-4-hydroksybenzaldehydu (**3**) oraz 3-etoksy-4-metoksybenzaldehydu (**4**) w roz-tworze 96% alkoholu etylo-wego (Rys. 1). Syntezę mechanochemiczną wykonano z użyciem wibracyjnego młyna kulowego Retsch MM200. Wykorzystano metodę mielenia techniką LAG w naczyniach ze stali nierdzewnej, umieszczając w naczyniu równomolowe ilości substratów wraz z katalityczną ilością ($\eta = 0,5$) alkoholu etylo-wego. Mielenie prowadzono przez 60 minut przy częstotliwości drgań 30 Hz. Uzyskane w obu procesach związki poddano rekrytalizacji z roz-tworów w etanolu, acetonitrylu lub propan-2-olu metodą powolnego odparowania rozpuszczalnika z roz-tworu w temperaturze pokojowej.



Rys. 1. Schemat syntezy acylohydrazonów przeprowadzonej: a) metodą roz-tworową; b) mechanochemicznie z dodatkiem katalitycznej ilości rozpuszczalnika (LAG).

Pomiary dyfrakcji proszkowej wykonano z użyciem dyfraktometru rentgenowskiego EMPYREAN z detektorem rastrowym PIXcel^{3D}. Pomiary przeprowadzono z zastosowaniem promieniowania monochromatycznego CuK α w temperaturze pokojowej. Widma FT-IR otrzymanych związków zostały zarejestrowane w zakresie spektralnym 4000–600 cm⁻¹ z użyciem spektrometru FT-IR Nicolet 6700 z przystawką ATR z kryształem diamentu. Pomiary intensywności dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego na monokryształach przeprowadzono w 293 K za pomocą dyfraktometru monokrystalicznego SuperNova CCD z lampą miedziową. Do wykonania pomiarów i redukcji danych stosowano oprogramowanie CrysAlisPro. Do rozwiązania i udokładnienia struktur użyto pakietu SHELXTL. Wszystkie atomy niewodorowe udokładniano z anizotropowymi czynnikami przemieszczenia. Atomy wodoru połączone z atomami węgla zostały umieszczone w pozycjach zgodnych z konfiguracją i hybrydyzacją odpowiednich atomów niewodorowych, a podczas udokładnienia ich pozycje były zmieniane stosując tzw. „riding model”. Pozostałe atomy wodoru zostały znalezione z map różnicowych i, gdzie możliwe, ich pozycje były udokładniane izotropowo.

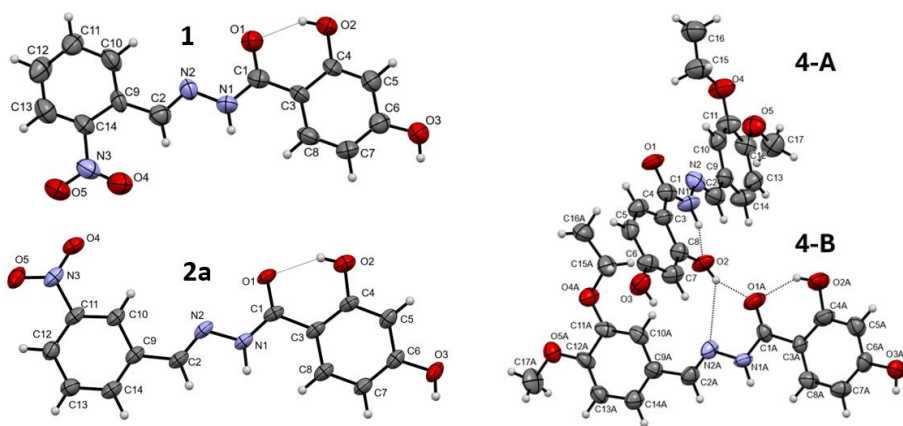
Dane krystalograficzne: (1) $Pna2_1$, $a = 13,586(2) \text{ \AA}$, $b = 22,383(4) \text{ \AA}$, $c = 4,368(1) \text{ \AA}$, $V = 1328,4(4) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $d_{\text{calc}} = 1,506 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $R_1 = 0,099$, $wR_2 = 0,229 [I > 2\sigma(I)]$, $(\Delta\rho)_{\text{min}}/(\Delta\rho)_{\text{max}} (\text{e}\cdot\text{\AA}^{-3})$: $-0,33/0,29$; (2a) $P2_1/n$, $a = 7,861(1) \text{ \AA}$, $b = 11,337(3) \text{ \AA}$, $c = 14,803(3) \text{ \AA}$, $\beta = 90,99(2)^\circ$, $V = 1319,1(5) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $d_{\text{calc}} = 1,514 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $R_1 = 0,077$, $wR_2 = 0,189 [I > 2\sigma(I)]$, $(\Delta\rho)_{\text{min}}/(\Delta\rho)_{\text{max}} (\text{e}\cdot\text{\AA}^{-3})$: $-0,32/0,37$; (2b) $Pbca$, $a = 15,891(1) \text{ \AA}$, $b = 7,054(1) \text{ \AA}$, $c = 24,027(1) \text{ \AA}$, $V = 2693,3(2) \text{ \AA}^3$, $Z = 8$, $d_{\text{calc}} = 1,486 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $R_1 = 0,054$, $wR_2 = 0,149 [I > 2\sigma(I)]$, $(\Delta\rho)_{\text{min}}/(\Delta\rho)_{\text{max}} (\text{e}\cdot\text{\AA}^{-3})$: $-0,22/0,21$; (2·etoh) $P2_1/n$, $a = 7,170(1) \text{ \AA}$, $b = 16,519(2) \text{ \AA}$, $c = 14,325(2) \text{ \AA}$, $\beta = 95,99(1)^\circ$, $V = 1687,4(3) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $d_{\text{calc}} = 1,367 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $R_1 = 0,088$, $wR_2 = 0,148 [I > 2\sigma(I)]$, $(\Delta\rho)_{\text{min}}/(\Delta\rho)_{\text{max}} (\text{e}\cdot\text{\AA}^{-3})$: $-0,16/0,39$; (4) $P-1$, $a = 7,958(2) \text{ \AA}$, $b = 10,486(3) \text{ \AA}$, $c = 19,977(4) \text{ \AA}$, $\alpha = 80,40(2)^\circ$, $\beta = 82,59(2)^\circ$, $\gamma = 77,94(2)^\circ$, $V = 1599,6(7) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $d_{\text{calc}} = 1,372 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $R_1 = 0,091$, $wR_2 = 0,132 [I > 2\sigma(I)]$, $(\Delta\rho)_{\text{min}}/(\Delta\rho)_{\text{max}} (\text{e}\cdot\text{\AA}^{-3})$: $-0,25/0,23$.

Wyniki: Zarówno synteza roztworowa, jak i mechanochemiczna pozwoliły otrzymać z dobrą wydajnością hydrazony **1-4** (Schemat 1). Uzyskane próbki miały postać proszków o barwie żółtej (**1, 2**) lub białej (**3, 4**). W dalszym kroku związki poddano rekrystalizacji z użyciem acetonitrylu, etanolu (96%) lub propan-2-olu, a produkty scharakteryzowano za pomocą dyfraktometrii proszkowej. Celem przeprowadzenia identyfikacji fazowej zarejestrowane dyfraktogramy proszkowe zestawiono z dyfraktogramami teoretycznymi, wygenerowanymi w oparciu o dane krystalograficzne. Użyte na potrzeby rentgenowskiej analizy strukturalnej monokryształy faz **1, 2a, 2b, 2·etoh i 4**, zostały wyizolowane z próbek po syntezie roztworowej lub rekrystalizacji. Wyniki analiz PXRD i SCXRD przedstawiono w Tabeli 1. Jak wynika z otrzymanych danych w przypadku związków **1 i 3** rodzaj syntezy, jak i warunki dalszej rekrystalizacji pozostają bez wpływu na skład i postać fazową próbek. W przypadku pochodnych **2 i 4**, dla których zaobserwowano występowanie odmian polimorficznych, a w przypadku pochodnej **2** również solwatu (**2·etoh**), wybór metody syntezy ma istotny wpływ na rodzaj otrzymywanych faz. Co więcej, wyniki wskazują, że zastosowanie mechanochemii umożliwia syntezę czystych fazowo produktów (**2a i 4a**), trudnych do otrzymania stosując tradycyjną syntezę roztworową i dalszą rekrystalizację.

Tabela 1. Wyniki syntezy roztworowej i mechanochemicznej hydrazonów **1-4** oraz rekrystalizacji otrzymanych po syntezie próbek.

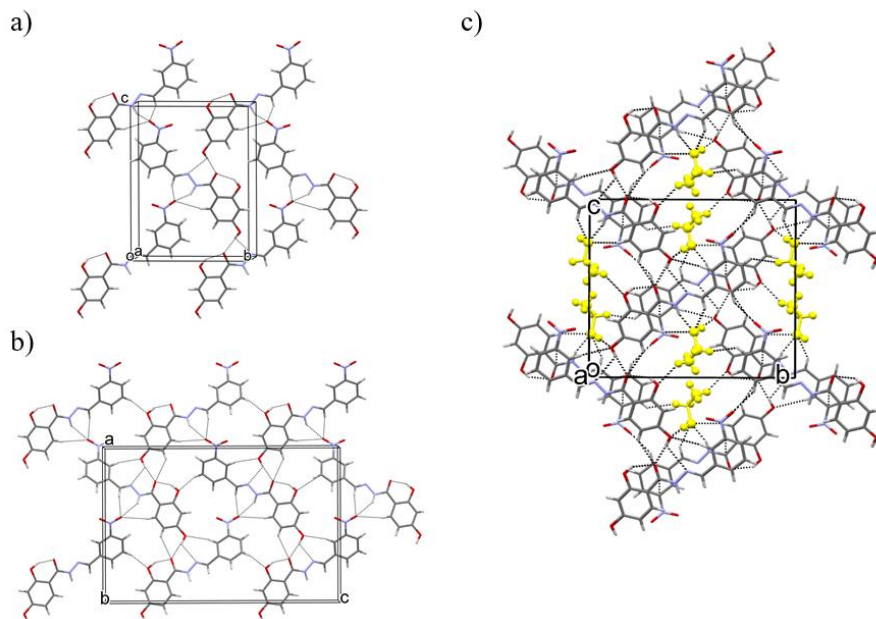
Związek	Synteza mechanochemiczna (etanol)	Synteza roztworowa (etanol)	Rekrystalizacja		
			acetonitryl	etanol	propan-2-ol
1	1	1	1	1	1
2	2a	2·etoh, 2a,	2a	2a, 2·etoh	2a, 2b
3	3	3	3	3	-
4	4a	4a, 4b	4a	4a, 4b	4a

Na podstawie rentgenowskiej analizy strukturalnej monokryształów ustalono, że fazy **1 i 2b** krystalizują w rombowych grupach przestrzennych $Pna2_1$ i $Pbca$, formy **2a i 2·etoh** w jednoskośnej grupie $P2_1/n$, a pochodna **4** w trójskośnej grupie $P-1$, przy czym w przypadku ostatniego kryształu część symetrycznie niezależną komórki elementarnej stanowią dwie różne konformacyjnie cząsteczki **4-A i 4-B** (Rys. 2).



Rys. 2. Widok perspektywiczny molekuł obecnych w kryształach **1**, **2a** i **4** wraz ze schematem numeracji atomów. Elipsoidy drgań termicznych wykreślono na poziomie prawdopodobieństwa 30%. Linia przerywaną zaznaczono wiązania wodorowe.

Cząsteczki analizowanych hydrazonów przyjmują konfigurację *trans* (*E*) wokół wiązania iminowego C2=N2 i *cis* (*Z*) fragmentu hydrazydowego. Dodatkowo obserwuje się względnie płaską konformację całej cząsteczki z zachowaniem liniowego ułożenia fragmentów funkcyjnych w centralnym łańcuchu alifatycznym. W kryształach polimorficznych **2a** i **2b** oraz solwacie **2·etoh** obserwuje się zbliżoną geometrię cząsteczek z niewielką różnicą kąta rotacji (poniżej 10°) wokół wiązań C1–C3 i C2–C9. Wspólną cechą strukturalną, z wyłączeniem konformera **4-A**, jest obecność wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego O2–H2O...O1 (Rys. 2). W cząsteczce **4-A** atomy O1 i O2 położone są *antyperiplanarnie*, przez co ww. motyw jest zastąpiony wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym N1–H1n...O2. Analiza geometrii cząsteczek w wyznaczonych strukturach wykazała istotne skrócenie wiązania C1–N1 wobec średnich wartości obserwowanych w grupach amidowych, co może być spowodowane silnymi efektami rezonansowymi i indukcyjnymi w całym fragmencie hydrazido-hydrazonowym. Obserwuje się również wydłużenie wiązania C=O wynikające prawdopodobnie z obecności wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego. Najistotniejszą rolę w stabilizacji kryształów pełnią mocne wiązania wodorowe typu O–H...O, O–H...N oraz N–H...O z udziałem fragmentu hydrazydowego oraz podstawników hydroksylowych i nitrowych. W kryształach odmian polimorficznych **2a** i **2b** obserwuje się zróżnicowany schemat oddziaływań międzycząsteczkowych i powstałych z ich udziałem syntonów supramolekularnych (Rys. 3). W kryształach solwatu **2·etoh** cząsteczki etanolu wypełniają kanały utworzone przez molekuły hydrazonu, pełniąc funkcję mostu supramolekularnego (Rys. 3c). Na zarejestrowanych widmach ATR-FTIR związków otrzymanych po syntezie roztworowej i mechanochemicznej oraz produktów rekrystalizacji obserwuje się niekiedy znaczne przesunięcia pasm pochodzących od drgań $\nu(\text{N-H})$, $\nu(\text{O-H})$, $\nu(\text{C=O})$ i $\nu(\text{C=N})$. Przesunięcia wynikają w dużej mierze ze zróżnicowanej geometrii i energii wiązań wodorowych, w jakie zaangażowane są grupy funkcyjne badanych związków.



Rys. 3. Rzut upakowania molekuł wizualizujący: a) fragment warstwy molekularnej (-101) w kryształ **2a** w projekcji wzdłuż osi x, b) fragment warstwy molekularnej (010) w kryształ **2b**, widzianej wzdłuż osi y, c) strukturę kanałową solwatu **2-ethol** w projekcji wzdłuż osi x. Liniami przerywanymi zaznaczono wiązania wodorowe.

Wnioski: Synteza mechanochemiczna z dodatkiem katalitycznej ilości rozpuszczalnika umożliwiła otrzymanie czystych fazowo pochodnych z grupy acylohydrazonów. Analiza dyfrakcyjna wykazała obecność modyfikacji polimorficznych w próbkach związków **2** i **4** otrzymanych po syntezie roztworowej i/lub rekrytalizacji. Analiza widm ATR-FTIR umożliwiła potwierdzenie struktury otrzymanych związków i identyfikację postaci fazowej próbek.

Literatura:

1. B. Levrant, W. Fieber, J.-M. Lehn, A. Herrmann, *Helv. Chim. Acta*, 90 (2007) 2281.
2. Ł. Popiołek, *Med. Chem. Res.*, 26 (2017) 287.
3. Ł. Popiołek, *Int. J. Mol. Sci.*, 22 (2021) 9389.
4. S. Rollas, Ş. G. Küçüküzümlü, *Molecules*, 12 (2007) 1910.
5. B. R. Naidu, T. Sruthi, R. Mitty, K. Vankateswarlu, *Green Chem.*, 25 (2023) 6120.
6. K. Horie, M. Barón, R. B. Fox, J. He, M. Hess, J. Kahovec, T. Kitayama, P. Kubisa, E. Maréchal, W. Mormann, *Pure Appl. Chem.*, 76 (2004) 889.
7. Ł. Popiołek, *Int. J. Mol. Sci.*, 24 (2023) 1.

AKTYWNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNA I PRZECIWCUKRZYCOWA EKSTRAKTÓW Z *HUMULUS LUPULUS*

A. RADZISZEWSKA, A. DOWBYSZ, M. SAMSONOWICZ, Politechnika Białostocka, Instytut Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45A, 15-351 Białystok

Abstrakt: Niektóre zioła wykazują potencjalne działanie przeciwcukrzycowe, obniżając poziom stresu oksydacyjnego i hamując działanie enzymów rozkładających cukry złożone, co pomaga obniżyć poziom hiperglikemii. W tej pracy badano wodne ekstrakty chmielu (*Humulus lupulus*) pod kątem aktywności antyoksydacyjnej (metoda DPPH i CUPRAC) oraz właściwości inhibitujące α -amylazę, określono rodzaj inhibicji wykorzystując wykresy Lineweavera-Burka. Aktywność antyoksydacyjna w przeliczeniu na stężenie troloxu metodą DPPH i CUPRAC wyniosła odpowiednio: $1,936 \pm 0,033$ i $63,336 \pm 0,101$ mmol troloxu/l dla stężenia 7,5 mg/ml. % inhibicji α -amylazy dla stężenia 50 mg/ml wyniósł $61,452 \pm 6,100\%$ i była to inhibicja akompetycyjna.

Wprowadzenie: Cukrzyca jest uważana za chorobę cywilizacyjną XXI wieku ze względu na rosnącą liczbę zachorowań, powodowaną szybkim rozwojem cywilizacyjnym, niewłaściwymi nawykami żywieniowymi i siedzącym trybem życia. Jest to choroba metaboliczna, wywołwana przewlekłą hiperglikemią, powodowaną dysfunkcją sekrecji insuliny, insulinoopornością lub degradacją komórek beta trzustki produkujących insulinę [1]. Cukrzyca typu II jest najbardziej powszechnym rodzajem tej choroby. Leczenie często zaczyna się od zmian behawioralnych, a następnie sięga się po preparaty farmakologiczne. Coraz częściej jednak stosuje się preparaty naturalnego pochodzenia, gdyż powodują one mniej poważnych skutków ubocznych i są mniej toksyczne dla organizmu [2]. Rośliny o potencjalnych właściwościach przeciwcukrzycowych bada się najczęściej pod kątem aktywności antyoksydacyjnej oraz zdolności inhibicji α -amylazy. Przewlekły stres oksydacyjny jest jedną z przyczyn rozwoju cukrzycy, gdyż wolne rodniki biorą udział w wielu reakcjach, pogłębiających poziom hiperglikemii [1]. Opóźnienie rozkładu skrobi przez α -amylazę oraz α -glukozydazę, obniża poziom glukozy we krwi, dzięki właściwościom inhibitującym roślin [3] zawierających takie związki jak: flawonoidy, kwasy fenolowe, chinony, terpeny, kumaryny [4]. Chmiel zwyczajny (*Humulus lupulus*) należy do rodziny konopiowatych. W branży medycznej wykorzystywany jest w leczeniu dolegliwości związanych ze stresem i bezsennością. Wykazuje działanie rozkurczowe, wzmacniające i przeciwbólowe [5]. Do bioaktywnych składników występujących w chmielu można zaliczyć: flawonoidy (ksantohumol), flawon-3-ole (katechina, proantocyjanidyny), flawony (kwercetyna, kemferol), kwasy fenolowe (kwas ferulowy). Związki te w badaniach wykazują potencjalne działanie przeciwcukrzycowe, gdyż redukują poziom stresu oksydacyjnego, podnosząc aktywność reduktazy glutationowej, oraz wspomagają regulację sekrecji insuliny i proliferacji komórek beta trzustki, wzmacniają działanie inkretyn i hamują aktywność enzymów rozkładających cukry złożone [6].

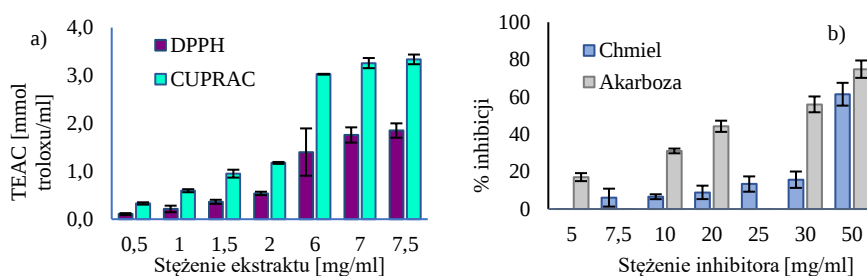


Rys. 1. Suche szyszki chmielu wykorzystane do badań.

Część eksperymentalna: Przygotowanie ekstraktów: materiał do badań pozyskano z firmy Agrest Sp. z o.o. (Lublin, Polska) w postaci suchych szyszek *Humulus lupulus* (Rys.1.). Szyszki zmielono i odważono 5 g, następnie zalano 50 ml wody destylowanej. Przeprowadzono trzykrotną ekstrakcję prostą w wytrząsarce (KS 4000 ic control, IKA) w temperaturze 60°C. Ekstrakt sączono na sączku z użyciem pompy próżniowej (Aga Labor). Przygotowano 3 ekstrakty rośliny. Zamrożone ekstrakty odparowywano w liofilizatorze (Beta 1-8 LSCplus, Christ) do uzyskania suchej masy, po czym przeniesiono do falkonów i przechowywano w eksykatorze. W celu przeprowadzenia analizy chromatograficznej GC/MS rozpuszczono 200 mg ekstraktu w 5 ml wody destylowanej i poddano trzykrotnej 15 minutowej ekstrakcji octanem etylu, używając 3 ml rozpuszczalnika. Ekstrakty osuszono, dodając bezwodnego siarczanu sodu i odparowano do sucha w temperaturze 35°C. Suchą pozostałość po ekstrakcji poddano procesowi derywatyzacji, dodając 250 μ l bezwodnej pirydyny i 50 μ l BSTFA, następnie mieszaninę ogrzewano w temperaturze 80°C przez 60 minut. Tak przygotowane roztwory analizowano przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas (Agilent GC/MS Triple Quad 7000C), wyposażonego w dozownik typu split/splitless i kolumnę kapilarną HP-5MS (polidimetylosiloksan z 5% udziałem grup fenolowych) o wymiarach 30 m x 0,25 mm grubości filmu 0,25 μ m. Analizę ilościową związków fenolowych przeprowadzono na podstawie równań kalibracyjnych, wyznaczonych dla substancji wzorcowych. Zawartość związków fenolowych ustalono metodą spektrofotometryczną z odczynnikiem Folina-Ciocalteu (F-C), w przeliczeniu na krzywą wzorcową kwasu galusowego, zgodnie z metodyką opisaną w [7]. Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH: przeprowadzono według procedury opisanej w pracy Samsonowicz i Regulskiej [7] Do oznaczenia wykorzystano roztwory ekstraktu o stężeniach: 0,5-7,5 mg/ml. Wyznaczono parametr IC_{50} określający stężenie ekstraktu, przy którym aktywność rodnika jest zahamowana w 50%. Przygotowano też krzywą wzorcową dla troloxu i wyniki przeliczono na równoważnik stężenia troloxu [TEAC, mmol troloxu/l]. Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej metodą CUPRAC przeprowadzono w następujący sposób, wykorzystując ekstrakty o stężeniach: 0,5-7,5 mg/ml. Do 3 ml roboczego roztworu CUPRAC dodano 0,2 ml ekstraktu. Inkubowano przez godzinę w ciemności, po czym zmierzono absorbancję prób przy $\lambda=450$ nm. Przygotowano krzywą wzorcową dla troloxu, na podstawie której wyniki oznaczeń prób badanych przedstawiono w postaci równoważnika stężenia troloxu [TEAC, mmol troloxu/l]. Kolejnym krokiem było wyznaczenie % inhibicji alfa-amylazy. Oznaczenie wykonano metodą z odczynnikiem DNS, stosując ekstrakty o stężeniach: 7,5-50 mg/ml. Do 200 μ l ekstraktu dodano 200 μ l roztworu α -amylazy (*Aspergillus oryzae*, Sigma-Aldrich) o aktywności 8,925 U/ml (roztwór przygotowano w 0,002M buforze

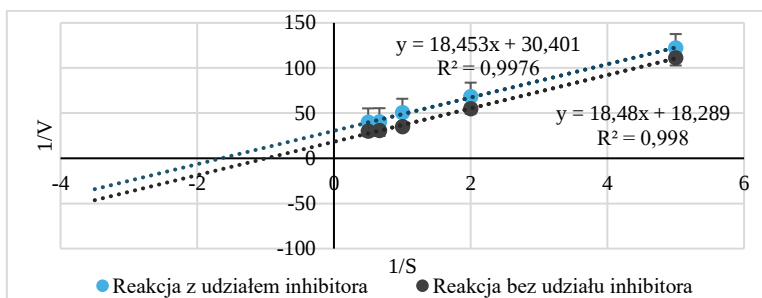
fosforanowym, pH=6,9, 0,006M NaCl) i inkubowano przez 10 minut w $T = 37^{\circ}\text{C}$. Następnie dodano 1 ml 2 % roztworu skrobi i ponownie inkubowano 10 minut w temperaturze 37°C , po czym dodano 1 ml roztworu DNS, w celu zatrzymania reakcji i przeniesiono próbkę do wrzącej łaźni wodnej na 10 minut. Probówki schłodzone i dopełniono wodą destylowaną do 10 ml. Próba kontrolna bez ekstraktu zawierała rozpuszczalnik (wodę destylowaną). Absorbancję prób mierzono przy $\lambda = 540 \text{ nm}$. Akarbozę użyto jako próbę pozytywną. Procent inhibicji enzymu obliczono na podstawie równania: $(\%) \text{inhibicji} = [(A_k - A_b) / A_k] \cdot 100\%$, (A_k - absorbancja próby kontrolnej niezawierającej inhibitora, A_b - absorbancja próby badanej. Do wyznaczenia parametrów kinetycznych reakcji oraz określenia rodzaju inhibicji enzymu przez ekstrakty wykorzystano metodę graficzną Lineweavera-Burka. Wszystkie oznaczenia zostały przeprowadzone w przynajmniej 3-krotnym powtórzeniu. Opracowanie statystyczne wykonano przy użyciu programu Excel. Wyniki przedstawiono w postaci średniej $\pm$ SD (odchylenie standardowe).

Wyniki: Na podstawie analizy chromatograficznej wyznaczono substancje o największej zawartości w ekstrakcie z chmielu: kwas (E)-p-kumarowy ($255,12 \pm 39,46 \mu\text{g}$), katechina ($298,19 \pm 33,80 \mu\text{g}$), kwercetyna ($740,07 \pm 54,78 \mu\text{g}$), kemferol ($162,32 \pm 30,36 \mu\text{g}$) w przeliczeniu na g ekstraktu. Również oznaczanie zawartości związków fenolowych metodą F-C potwierdziło obecność polifenoli w ekstraktach z chmielu ($12,113 \pm 0,578 \text{ mg}_{\text{GA}}/\text{g}_{\text{s.m.}}$). Na rysunku 2a przedstawiono porównanie wartości aktywności antyoksydacyjnej otrzymanych metodą DPPH i CUPRAC w przeliczeniu na odpowiednik stężenia troloxu. Największą aktywność antyoksydacyjną uzyskano dla stężenia ekstraktu 7,5 mg/ml metodą CUPRAC i wyniosła ona $3,336 \pm 0,101 \text{ mmol troloxu/l}$. IC_{50} (metoda DPPH) wyniósł $4,721 \pm 0,706 \text{ mg/ml}$. Keskin i inni, w badaniach metanolowych ekstraktów z chmielu uzyskali dużo niższy wynik: $0,78 \pm 0,01 \text{ mg/ml}$ [8]. % inhibicji α -amylazy przez ekstrakty z chmielu oraz roztwory akarbozy przedstawiono na rysunku 2b. Największą wartość inhibicji uzyskano dla stężenia 50 mg/ml - $61,452 \pm 6,100\%$, gdzie dla tego samego stężenia akarbozy % inhibicji wyniósł $74,864 \pm 4,655\%$.



Rys. 2. a) Średnie wartości aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów z chmielu o różnych stężeniach w przeliczeniu na trolox (TEAC) wyznaczonej metodą DPPH i CUPRAC; b) Średnie wartości % inhibicji α -amylazy ekstraktów z chmielu i akarbozy.

Na rysunku 3 przedstawiono wykres Lineweavera-Burka dla reakcji z ekstraktem z chmielu i reakcji bez ekstraktu. Równoległe ułożenie krzywych wskazuje na inhibicję akompetycyjną α -amylazy ekstraktu z chmielu.



Rys. 3. Wykresy Lineweavera-Biurka dla reakcji przebiegającej bez udziału ekstraktu z chmielu i z jego udziałem.

Wyznaczone parametry kinetyczne dla reakcji z inhibitorem $V_{\max}$ i K_m wyniosły odpowiednio: 0,033 i 0,607, natomiast dla reakcji bez inhibitora odpowiednio: 0,055 i 1,010. Otrzymane wyniki potwierdzają inhibicję akompetycyjną, przy której wartości $V_{\max}$ i K_m reakcji z inhibitorem powinny być niższe niż reakcji bez inhibitora.

Wnioski: W przeprowadzonych badaniach wykazano potencjalne działanie antyoksydacyjne oraz przeciwcukrzycowe wodnych ekstraktów z chmielu. Potwierdzono obecność związków aktywnych (kwercetyna, kemferol), odpowiedzialnych za obniżanie stresu oksydacyjnego oraz inhibicji α -amylazy. Wykazano, że ekstrakt wodny z chmielu działa jak inhibitor akompetycyjny wobec α -amylazy. Pomimo tego, że ekstrakty rozpuszczalników organicznych mogą wykazywać jeszcze lepsze właściwości przeciwcukrzycowe, wodne ekstrakty w formie naparów można stosować we wspomaganiu cukrzycy lub profilaktycznie.

Literatura:

1. M. A. Darenskaya, L. I. Kolesnikov, S. I. Kolesnikov, Bull. Exp Biol Med, 171(2) (2021) 179.
2. C.G. Yedjou, J. Grigsby, A. Mbemi, A. Nelson, B. Mildort, L. Latinwo, P.B. Tchounwou, Int J Mol Sci., 24(10) (2023) 9085.
3. G. Paun, E. Neagu, A. Alecu, C. Albu, A-M. Seciu-Grama, G. L. Radu, Molecules, 29(2) (2024) 326.
4. E. Studzińska-Sroka, I. Czapska-Pietrzak, W. Brylka, Acta Pol. Pharm.- Drug Res. 76(6) (2019) 1037
5. O. Szczepaniak, M. Dziedziński, J. Kobus-Cisowska, P. Szulc, D. Szymanowska, M. Sudyka, E. Goryńska-Goldmann, Technika Rolnicza Ogrodnicza Leśna, 3 (2019) 9.
6. P. Dostalek, M. Karabin, L. Jelinek, Molecules, 22(10) (2017) 1761.
7. M. Samsonowicz, E. Regulska, Chem. Pap. 70 (2016) 811.
8. S. Keskin, Y. Sirin, H. E. Cakir, M. Keskin, S Afr J Bot, 120 (2019) 173.

ANALIZA WPLYWU GRUP HYDROKSYLOWYCH NA ROZPUSZCZALNOŚĆ WYBRANYCH FLAWONOIDÓW

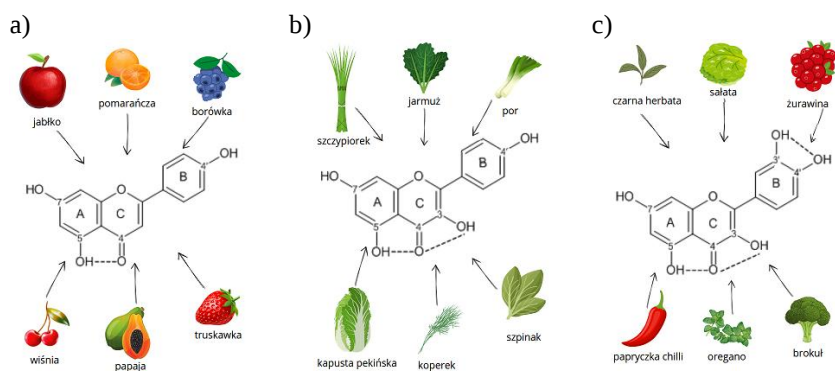
O. SIEWIERSKA¹, U. MACIOLEK², R. TYPEK³, M. GRABARCZYK¹, ¹UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin, ²UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Laboratorium Analityczne, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin, ³UMCS, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Katedra Chemii Chromatograficznej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: Celem pracy była analiza wpływu liczby grup hydroksylowych na rozpuszczalność wybranych flawonoidów: apigeniny, kemferolu oraz kwercetyny. Badania przeprowadzono w trzech rozpuszczalnikach o różnej polarności – wodzie, etanolu oraz dimetylosulfotlenku (DMSO). Do oznaczenia stężenia flawonoidów w roztworach nasyconych wykorzystano spektrofotometrię UV-Vis oraz chromatografię cieczową. Otrzymane dane mogą stanowić podstawę do dalszych badań nad poprawą biodostępności flawonoidów w środowiskach o różnej polarności.

Wprowadzenie: Flawonoidy należą do grupy polifenoli i charakteryzują się obecnością szkieletu flawanu, który składa się z 15-węglowego łańcucha C6-C3-C6. W ich strukturze znajdują się dwa pierścienie aromatyczne połączone heterocyklicznym pierścieniem piranowym [1]. Flawonoidy dzielą się na wiele podklas, między innymi: flawony, flawanole, flawanony oraz izoflawony. Jest to bardzo obszerna grupa związków, obecnie zidentyfikowano już ponad 5000 różnych flawonoidów [2]. Flawonoidy występują w owocach, warzywach, zbożach, ziołach oraz orzechach, są obecne również w napojach tj. kawie, herbacie oraz winie [1]. Flawonoidy zyskały obecnie miano kluczowego składnika w licznych zastosowaniach nutraceutycznych, farmaceutycznych, terapeutycznych oraz kosmetycznych. Ich popularność wynika przede wszystkim z ich prozdrowotnego działania, między innymi właściwości przeciwutleniających, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych [3]. Niska rozpuszczalność flawonoidów szczególnie w środowisku wodnym stanowi istotne ograniczenie ich biodostępności oraz skuteczności biologicznej [4] dlatego też celem naszych badań było zbadanie wpływu liczby grup hydroksylowych na rozpuszczalność wybranych flawonoidów. Do badań wytypowano trzy flawonoidy: apigeninę, kemferol oraz kwercetynę. Związki zostały wybrane ze względu na ich udokumentowane działanie przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne i kardioprotekcyjne. Na Rys. 1 przedstawiono struktury chemiczne wybranych do badań flawonoidów.

Rozpuszczalność substancji chemicznych, rozumiana jako maksymalna ilość związku, która może się rozpuścić w danym rozpuszczalniku w określonej temperaturze, stanowi jedną z podstawowych wielkości fizykochemicznych, istotnych zarówno w badaniach naukowych, jak i w zastosowaniach przemysłowych. Wyznaczanie rozpuszczalności może być przeprowadzane różnymi metodami, w zależności od charakteru badanego związku, typu rozpuszczalnika oraz dostępnych narzędzi analitycznych. Do najczęściej stosowanych metod oznaczania rozpuszczalności zaliczana jest spektrofotometria UV-VIS, oparta na zjawisku absorpcji promieniowania elektromagnetycznego (190–900 nm) przez sub-

stancję w roztworze. Mimo że technika ta jest szybka, ekonomiczna i relatywnie efektywna, charakteryzuje się istotnym ograniczeniem związanym z ryzykiem interferencji spektralnych. Zjawisko to wynika z nakładania się pasm absorpcyjnych analitu z pasmami pochodzącymi od innych składników matrycy, substancji interferujących lub współwystępujących związków chemicznych, co uniemożliwia selektywną detekcję. W celu wyeliminowania tego problemu rekomenduje się zastosowanie technik sprzężonych łączących etap separacji (np. chromatografii) z detekcją analityczną. Przykładem jest wysoko-sprawną chromatografię cieczową (HPLC) sprzężoną z detektorami UV-VIS/PDA (photodiode array) lub spektrometrem mas (MS). Takie podejście umożliwia fizyczne rozdzielanie składników próbki przed detekcją, co minimalizuje interferencje i pozwala na jednoczesną analizę jakościową oraz ilościową z wysoką wiarygodnością.



Rys. 1. Struktury chemiczne a) apigeniny, b) kemferolu i c) kwercetyny z zaznaczonymi wiązaniami wodorowymi oraz przykłady naturalnego występowania powyższych flawonoidów w roślinach [1].

Część eksperymentalna: Celem przeprowadzonych badań było wyznaczenie rozpuszczalności apigeniny, kemferolu oraz kwercetyny w różnych rozpuszczalnikach oraz określenie, jak liczba grup hydroksylowych wpływa na ich rozpuszczalność. Do badań wybrano flawonoidy różniące się liczbą grup hydroksylowych i ich rozmieszczeniem w pierścieniach aromatycznych. W celu dokładnego określenia rozpuszczalności badanych związków zastosowano dwie techniki analityczne: metodę spektrofotometryczną oraz chromatografię cieczową, co umożliwiło porównanie uzyskanych wyników oraz zwiększenie wiarygodności analiz. W celu oznaczenia stężenia nasyconych roztworów flawonoidów zastosowano spektrofotometrię UV-Vis. Każdy z badanych związków (apigenina, kemferol, kwercetyna) został rozpuszczony w nadmiarze w wodzie, etanolu oraz DMSO, a następnie roztwory te poddano wytrząsaniu przez 24 godziny w temperaturze pokojowej ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), celem uzyskania stanu nasycenia. Po zakończeniu wytrząsania, próbki zostały przefiltrowane przez sącze z mikroporami o średnicy $0,45 \mu\text{m}$. Otrzymane klarowne roztwory nasycone poddano analizie spektrofotometrycznej. Widma absorpcyjne badanych flawonoidów zostały uprzednio zarejestrowane w zakresie 200–500 nm na spektrofotometrze UV-VIS-NIR Jasco V-670 w celu wyznaczenia charakterystycznej długości fali (λ_{max}) dla każdego związku. Oznaczenia ilościowe wykonano przy użyciu długości fali odpowiadającej maksymalnej absorpcji danego związku. W celu wyznaczenia stężeń wykorzystano krzywe wzorcowe przygotowane na podstawie serii roztworów o znanych stę-

żeniach, dla każdego flawonoidu oddzielnie, rozpuszczonych w tych samych rozpuszczalnikach (etanol i DMSO). Krzywe kalibracyjne wykazywały dobrą liniowość w badanym zakresie stężeń. Na podstawie absorbancji zarejestrowanej dla roztworów nasyconych oraz krzywych wzorcowych obliczono rzeczywiste stężenia rozpuszczonych flawonoidów w poszczególnych rozpuszczalnikach.

Pomiary chromatograficzne przeprowadzono z wykorzystaniem systemu HPLC, składającego się z chromatografu UHPLC oraz detektora fotodiodowego PDA (UltiMate 3000, Dionex, Sunnyvale, CA, USA). We wszystkich analizach zastosowano kolumnę Kinetex Core-Shell C18 ($4,6 \times 100$ mm, $2,6 \mu\text{m}$) (Phenomenex, USA). Rozdział chromatograficzny prowadzono w trybie elucji izokratycznej, stosując fazę ruchomą składającą się z 39% wody Milli-Q zakwaszonej 25 mM kwasem mrówkowym oraz 61% acetonitrylu. Całkowity czas analizy wynosił 5 minut, przy przepływie fazy ruchomej równej $0,7 \text{ mL/min}$. Długość fali analitycznej detektora PDA dostosowano do charakterystyki absorpcyjnej poszczególnych związków: dla apigeniny stosowano długość fali $\lambda = 340 \text{ nm}$, natomiast dla kwercetyny i kemferolu $\lambda = 370 \text{ nm}$. W celu oznaczenia zawartości oraz rozpuszczalności badanych flawonoidów w wybranych rozpuszczalnikach, przygotowano serie roztworów wzorcowych, na podstawie których sporządzono krzywe kalibracyjne. Wyniki, zarówno dla serii kalibracyjnej, jak i dla badanych próbek, przedstawiono jako średnie z trzech niezależnych oznaczeń ($n = 3$). W badaniach rozpuszczalności zastosowano te same próbki, które wykorzystano wcześniej w analizach spektrofotometrycznych. W przypadku roztworów przygotowanych w etanolu oraz DMSO dokonano 10 000-krotnego rozcieńczenia, aby stężenia analitów mieściły się w zakresie liniowości krzywej kalibracyjnej.

Wyniki: W wyniku przeprowadzonych eksperymentów określono stężenia flawonoidów w ich roztworach nasyconych przygotowanych w wodzie, 96% etanolu oraz DMSO. Otrzymane wartości stężeń, wyznaczone zarówno metodą spektrofotometryczną, jak i chromatograficzną, przedstawiono odpowiednio w Tabelach 1 i 2. Analiza danych zawartych w tabelach wskazuje, że w przypadku polarnych, protycznych rozpuszczalników, takich jak woda i etanol, rozpuszczalność flawonoidów koreluje z liczbą grup hydroksylowych obecnych w ich strukturze. Wraz ze wzrostem liczby grup fenolowych obserwuje się zwiększenie rozpuszczalności danego związku. Natomiast w przypadku zastosowania DMSO – polarnego, aprotycznego rozpuszczalnika – nie stwierdzono jednoznacznej zależności pomiędzy liczbą grup $-\text{OH}$ a rozpuszczalnością flawonoidów. Taki charakter rozpuszczania może wynikać z sumarycznego oddziaływania sił dipol–dipol, oddziaływań van der Waalsa oraz interakcji hydrofobowych pomiędzy cząsteczkami flawonoidów a DMSO. Rozbieżności pomiędzy wynikami uzyskanymi metodą spektrofotometryczną i chromatograficzną dla danego flawonoidu w określonym rozpuszczalniku mogą być związane m.in. z występowaniem zjawisk takich jak: efekt batochromowy, solwatochromowy oraz asocjacja cząsteczek, które wpływają na widmo absorpcyjne i tym samym na dokładność oznaczeń spektrofotometrycznych.

Tabela 1. Wyniki rozpuszczalności flawonoidów uzyskane metodą spektrofotometryczną.

Flawonoid	Rozpuszczalność [ug/ml]		
	woda	etanol	DMSO
apigenina	0,634	8297,60	177664,14
kemferol	4,63	37916,00	166666,26
kwercetyna	7,70	109173,00	150626,31

Tabela 2. Wyniki rozpuszczalności flawonoidów uzyskane metodą chromatograficzną.

Flawonoid	Rozpuszczalność [ug/ml]		
	woda	etanol	DMSO
apigenina	0,46	1713,06	247041,74
kemferol	5,95	13517,08	201421,06
kwercetyna	6,14	17314,12	246847,21

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że zarówno technika spektrofotometryczna, jak i chromatograficzna umożliwiają wyznaczenie maksymalnej rozpuszczalności flawonoidów w wybranych rozpuszczalnikach. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem liczby grup hydroksylowych w cząsteczce flawonoidu, jego rozpuszczalność zwiększa się zarówno w wodzie, jak i w 96% etanolu. W przypadku DMSO uzyskane stężenia dla badanych związków były zbliżone i mieściły się w granicach błędu analitycznego lub nieznacznie go przekraczały. Różnice pomiędzy wynikami uzyskanymi za pomocą obu metod dla tego samego flawonoidu i typu rozpuszczalnika mogą wynikać z obecności zjawisk spektroskopowych oraz specyficznych procesów fizykochemicznych, które towarzyszą analizie spektrofotometrycznej. W przypadku układów dwuskładnikowych (analit–rozpuszczalnik), zastosowanie techniki spektrofotometrycznej jest w pełni uzasadnione – metoda ta jest prostsza i bardziej ekonomiczna. Jednakże w sytuacji, gdy badane są układy wieloskładnikowe oznaczenie spektrofotometryczne staje się niemożliwe ze względu na nakładanie się pasm absorpcyjnych poszczególnych analitów, co prowadzi do interferencji i uniemożliwia jednoznaczną identyfikację oraz ilościowe oznaczenie składników.

Literatura:

1. D. M. Kopustinskiene, V. Jakstas, A. Savickas, J. Bernatoniene, Flavonoids as anticancer agents, 12 (2020) 457.
2. S. L. Badshah, S. Faisal, A. Muhammad, B. G. Poulson, A. H. Emwas, M. Jaremko, Antiviral activities of flavonoids, 140 (2021) 111596.
3. A. N. Panche, A. D. Diwan, S. R. Chandra, Flavonoids: An overview, 5 (2016) e47.
4. S. Chen, X. Wang, Y. Cheng, H. Gao, X. Chen, A Review of Classification, Biosynthesis, Biological Activities and Potential Applications of Flavonoids, 28 (2023) 4982.

EKSTRAKCJA ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH Z WYTŁOKÓW Z JABŁEK NA DRODZE BIOKONWERSJI Z WYKORZYSTANIEM FERMENTACJI Z UDZIAŁEM BAKTERII LAB

M. ZAWADZKA, M. KALINOWSKA, G. ŚWIDERSKI, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45A, 15-351 Białystok

Abstrakt: Wytłoki jabłkowe to cenny odpad z przemysłu rolno-spożywczego. Bogate są m.in. w związki fenolowe, takie jak kwas galusowy, kwercetyna, katechina, kwas kawowy i chlorogenowy, które wykazują silne działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe. W ostatnich latach fermentacja z udziałem bakterii kwasu mlekowego (LAB, ang. lactic acid bacteria) zyskała zainteresowanie jako metoda wspomagająca ekstrakcję oraz zwiększająca biodostępność polifenoli. Mikroorganizmy te produkują enzymy, które mogą rozkładać wiązania glikozydowe i estrowe zwiększając stężenie wolnych polifenoli, a tym samym wzmacniając aktywność antyoksydacyjną ekstraktów i przyswajalność polifenoli. Fermentacja mlekowa może również stabilizować bioaktywne składniki i poprawiać wartość odżywczą produktów roślinnych. W niniejszej pracy omówiono znaczenie ekstrakcji wspomaganą fermentacją przy użyciu LAB do ekstrakcji związków bioaktywnych z wytlóków jabłkowych i innych wybranych surowców pochodzenia roślinnego. Szczególną uwagę poświęcono enzymatycznej biokonwersji polifenoli. Podsumowano także wybrane dotychczasowe badania dotyczące wpływu fermentacji na profil fenolowy różnych ekstraktów roślinnych, wskazując na korzyści tej metody ekstrakcji w kontekście zrównoważonego wykorzystania odpadów owocowych.

Wprowadzenie: Jabłka należą do najczęściej spożywanych owoców, a pozostałości po ich przetworstwie są jednym z najbardziej rozpowszechnionych produktów ubocznych na świecie [1]. Przemysł przetwórczy, którego celem jest pozyskanie wyrobów takich jak sok, cydr czy inne produkty generuje znaczne ilości odpadów w postaci wytlóków, które stanowią 25–30% masy owocu [2]. Tego typu odpady z jabłek są z powodzeniem wykorzystywane jako dodatki funkcjonalne do paszy i żywności, jednak znaczna ich część pozostaje niewykorzystana, co prowadzi zarówno do problemów środowiskowych jak i strat wielu cennych substancji bioaktywnych [1, 2, 3]. Wytłoki z jabłek stanowią bogate źródło związków o właściwościach prozdrowotnych, zwłaszcza związków fenolowych (np. kwercetyna, floretyna, katechina, kwas kawowy, kwas chlorogenowy), które wykazują działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe [1, 4, 5]. Roślinne polifenole występują w postaci wolnej oraz związanej ze składnikami strukturalnymi ściany komórkowej (m.in. celulozą, hemicelulozą, ligniną, pektyną, białkami, lipidami, kwasami organicznymi) poprzez szereg wiązań kowalencyjnych, co utrudnia ich ekstrakcję [6, 7, 8]. Wiele badań wskazuje na to, że proces fermentacji prowadzony przez różne szczepy mikroorganizmów, może zwiększać biodostępność polifenoli dzięki produkowanym przez nie enzymom (glukozydaza, amylaza, celulaza, tanaza lub lipaza), zdolnym do rozkładu/hydrolizy tych złożonych biocząsteczek [9, 10, 11, 12, 13, 14]. Na szczególną uwagę zasługują tu bakterie kwasu mlekowego (LAB) [15, 16, 17], które są naturalnym

składnikiem mikrobioty surowych warzyw i owoców oraz charakteryzują się zdolnością do metabolizowania związków roślinnych, w tym polifenoli [18].

Wyniki: Wyniki badań wskazują, że fermentacja mlekowa zwiększa stabilność i wartość odżywczą produktów roślinnych, jak wykazano m.in. w przypadku fermentacji wyłóków z jabłek i soku jabłkowego oraz wielu innych materiałów pochodzenia roślinnego (Tabela 1) [19, 20, 21, 22, 23, 24].

Tabela 1. Wpływ fermentacji z wykorzystaniem różnych szczepów *Lactobacillus* na zwiększenie właściwości antyoksydacyjnych wybranych ekstraktów roślinnych (użyte skróty: ABTS^{•+} - metoda oceny zdolności redukcji kationorodnika ABTS^{•+}; CUPRAC - metoda oceny zdolności redukcji jonów Cu²⁺ do Cu⁺ w obecności neoku-proiny; FRAP - metoda oceny zdolności redukcji kompleksu Fe³⁺-TPTZ do Fe²⁺-TPTZ; DPPH[•] - metoda oceny zdolności redukcji rodnika DPPH[•]; TPC – całkowita zawartość polifenoli; OH[•] - metoda oceny zdolności wychwytywania rodnika hydroksylowego LPIC - zdolność hamowania peroksydacji lipidów, ↑ - wzrost lub ↓ - spadek aktywności antyoksydacyjnej mierzonej danym testem w porównaniu do ekstrakcji klasycznej).

Materiał roślinny	Mikroorganizm	Wynik	Warunki fermentacji	Źródło
Wyłoki z jabłek	<i>L. plantarum</i> KKP 3182 <i>L. plantarum</i> KKP 1527	ABTS ^{•+} ↑, CUPRAC↑, FRAP↑, TPC [•] ↑	72 h w 25°C	[19]
Wyłoki z jabłek	<i>L. plantarum</i> <i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i>	DPPH [•] ↑, OH [•] ↑, TPC↑	7 dni w 37 °C, pH 6,0	[20]
Sok z jabłek	<i>L. plantarum</i> ATCC14917	DPPH [•] ↑, ABTS ^{•+} ↑, TPC↓	72 h w 37 °C, pH 6,2	[21]
Sok z morwy	<i>L. plantarum</i> ATCC SD5209 <i>L. acidophilus</i> ATCC SD5212 <i>L. paracasei</i> ATCC SD5275	DPPH [•] ↑, ABTS ^{•+} ↑	36 h w 37 °C	[17]
Wyłoki z borówek	<i>L. rhamnosus</i> GG <i>L. plantarum</i> -1 <i>L. plantarum</i> -2	TPC↑	24 h w 37 °C, pH 6,2	[22]
Acerola	<i>L. casei</i> L-26 <i>L. fermentum</i> 56 <i>L. paracasei</i> 106 <i>L. plantarum</i> 53	ABTS ^{•+} ↑, FRAP↑, TPC↑	120 h w 37°C	[23]
Gujawa	<i>L. casei</i> L-26 <i>L. fermentum</i> 56 <i>L. paracasei</i> 106 <i>L. plantarum</i> 53	ABTS ^{•+} ↑, FRAP↑, TPC↑	120 h w 37°C	[23]
Owoce mirtu	<i>L. plantarum</i> C2	ABTS ^{•+} ↑, DPPH [•] ↑, LPIC↑	48 h w 30 °C	[24]

Polifenole mogą być metabolizowane przez LAB na drodze hydrolizy, dekarboksylacji, redukcji i przekształcania w pochodne o zmienionej aktywności biologicznej [9, 11, 17]. Szczepy takie jak *Lactobacillus plantarum* czy *Lactobacillus rhamnosus* wykazują wysoką aktywność enzymatyczną, wytwarzając między innymi β-glukozydazy i dekarboksylazy, co umożliwia biokonwersję związków fenolowych do form o wyższej aktywności antyoksydacyjnej [9, 10, 11, 16, 24, 25]. Szczepy *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus casei* cechują się zdolnością do hydrolizy glikozydów polifenolowych [22]. Wykazano również, że szczepy *Lactobacillus acidophilus* oraz *Lactobacillus fermentum* powodują zwiększenie biodostępności kwasu ferulowego i kwercetyny w produktach roślinnych

[24]. β -glukozydaza jest kluczowym enzymem w procesie hydrolizy glikozydów fenolowych, którego produktami są aglikony o znacznie wyższej aktywności biologicznej [10]. Tanaza katalizuje reakcję hydrolizy wiązań estrowych i depsydowych w taninach, przekształcając je tym samym w wolne kwasy fenolowe, takie jak kwas galusowy [26]. Ponadto LAB produkują enzymy, które umożliwiają biotransformację między innymi garbników i innych substancji antyodżywczych zawartych w materiałach roślinnych [26]. Badania wykazują znaczące zmiany profilu fenolowego fermentowanych materiałów roślinnych oraz zwiększenie zawartości poszczególnych związków bioaktywnych (Tabela 2), w szczególności kwasu galusowego [19, 20, 21, 24]. W badaniach nad korzyściami fermentacji wyłoków jabłkowych szczególne znaczenie ma zatem selekcja szczepów LAB o wysokiej aktywności enzymatycznej [17].

Tabela 2. Wpływ fermentacji na zmianę profilu fenolowego wybranych surowców roślinnych (w porównaniu do ekstrakcji klasycznej).

Materiał roślinny	Mikroorganizm	Zmiany profilu fenolowego	Warunki fermentacji	Lit.
Wyłoki z jabłek	<i>L. plantarum</i> KKP 1527	kwas galusowy ↑, kwas chlorogenowy ↑, kwas protokatechowy ↑, procyanidyna B1 ↑, procyanidyna A2 ↑, epikatechina ↑, kwas kawowy ↓, rutyna ↓, kwercetyna ↓, florydzydina ↓	72 h w 25°C	[19]
Wyłoki z jabłek	<i>L. plantarum</i> <i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i>	kwas galusowy ↑, epikatechina ↑, kwas kawowy ↑, kwercetyna ↑, kwas ferulowy ↑, floretyna ↑	7 dni w 37 °C, pH 6,0	[20]
Sok z jabłek	<i>L. plantarum</i> ATCC14917	kwas galusowy ↑, kwas chlorogenowy ↑, kwercetyna ↑, floretyna ↑, epikatechina ↓, kwas kawowy ↓, kwas elagowy ↓, florydzydina ↓	72 h w 37 °C, pH 6,2	[21]
Sok z morwy	<i>L. plantarum</i> ATCC SD5209 <i>L. acidophilus</i> ATCC SD5212 <i>L. paracasei</i> ATCC SD5275	kwas galusowy ↑, kwas chlorogenowy ↑, kwercetyna ↑, kwas protokatechowy ↑, kwas kawowy ↑, rutyna ↑, kwas syringowy ↑, kwas ferulowy ↑, katechina ↑	36 h w 37 °C	[17]
Owoce mirtu	<i>L. plantarum</i> C2	kwas galusowy ↑, kwas syringowy ↑, kwas elagowy ↑, kwercetyna ↑, katechina ↑	48 h w 30 °C	[24]

Wnioski: Ekstrakcja wyłoków jabłkowych wspomagana fermentacją z udziałem bakterii kwasu mlekowego (LAB) jest skuteczną metodą zwiększania zawartości substancji bioaktywnych (w tym polifenoli) w ekstrakcie. Biokonwersja polifenoli przez niektóre szczepy bakterii zwiększa ich biodostępność oraz aktywność antyoksydacyjną ekstraktu, przyczyniając się do wydajniejszego odzysku cennych składników bioaktywnych zawartych w odpadach z przemysłu rolno-spożywczego. Dzięki enzymom takim jak β -glukozydaza i tanaza, LAB przekształcają związane formy polifenoli w ich biologicznie aktywne aglikony, co skutkuje wzrostem zawartości w ekstrakcie wolnych związków fenolowych. Kluczowym aspektem skuteczności tego procesu jest odpowiedni dobór szczepów LAB, które wykazują wysoką aktywność enzymatyczną. Fermentacja zwiększa potencjał antyoksydacyjny, a tym samym wpływa na wzrost właściwości prozdrowotnych

ekstraktów. Jako zrównoważona technika ekstrakcji znakomicie wpisuje się w ideę zrównoważonego rozwoju oraz gospodarki obiegu zamkniętego, powodując redukcję odpadów i umożliwiając ich wykorzystanie w produkcji suplementów diety, żywności funkcjonalnej oraz pasz dla zwierząt. W rezultacie ta biotechnologiczna metoda ekstrakcji może znaleźć szerokie zastosowanie w przemyśle rolno-spożywczym przyczyniając się do rozwoju innowacyjnych produktów o podwyższonej wartości prozdrowotnej.

Podziękowanie: Praca została wykonana w ramach zadań realizowanych w projekcie finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki nr 2021/43/B/NZ9/03102.

Literatura:

1. J.C.M. Barreira, A.A. Arraibi, I.C.F.R. Ferreira, *Trends Food Sci Technol*, 90 (2019) 76.
2. H.N. Rabetafika, B. Bchir, C. Blecker, A. Richel, *Trends Food Sci Technol*, 40 (2014) 99.
3. X. Wang, E. Kristo, G. LaPointe, *Food Hydrocoll*, 91 (2019) 83.
4. N.P. Bondonno, C.P. Bondonno, N.C. Ward, J.M. Hodgson, K.D. Croft, *Trends Food Sci Technol*, 69 (2017) 243.
5. P.A.R. Fernandes, C. Le Bourvellec, C.M.G.C. Renard, F.M. Coimbra, S.M. Cardoso, *Food Chem*, 294 (2019) 9.
6. J. Pérez-Jiménez, F. Saura-Calixto, *Food Res. Int.*, 111 (2018) 148.
7. G. Yadav, A. Singh, P. Bhattacharya, J. Yuvraj, R. Banerjee, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 36 (2013) 1563.
8. A. Cerda, M.E. Martínez, C. Soto, P. Poirrier, J.R. Perez-Correa, J.R. Vergara-Salinas, M.E. Zúñiga, *Food Chem*, 139 (2013) 138.
9. R. Muñoz, B. de las Rivas, F. López de Felipe, I. Reverón, L. Santamaría, M. Esteban-Torres, J.A. Curiel, H. Rodríguez, J.M. Landete, *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*, Elsevier, 2016.
10. F.V. Dulf, D.C. Vodnar, M.I. Toşa, E-H. Dulf, *Food Chem*, 310 (2020) 125927.
11. F.V. Dulf, D.C. Vodnar, C. Socaciu, *Food Chem*, 209 (2016) 27.
12. F.V. Dulf, D.C. Vodnar, E-H. Dulf, Z. Diaconeasa, C. Socaciu, *LWT*, 87 (2018) 241.
13. C. M. Ajila, F. Gassara, S.K. Brar, M. Verma, R. D. Tyagi, J. R. Valéro, *Food Bioprocess Technol.*, 5 (2012) 2697.
14. Y. Yan, F. Zhang, Z. Chai, M. Liu, M. Battino, X. Meng, *Food Chem Toxicol*, 131 (2019) 110541.
15. S.J. Hur, S.Y. Lee, I. Choi, G-B. Kim, *Food Chem*, 160 (2014) 346.
16. L.G.R. Rodríguez, V.M.Z. Gasga, M. Pescuma, C.V. Nieuwenhove, F. Mozzi, J.A.S. Burgos, *Food Res. Int.*, 140 (2021) 109854.
17. E. Kwaw, Y. Ma, W. Tchabo, M.T. Apaliya, M. Wu, A.S. Sackey, L. Xiao, H.E. Tahir, *Food Chem*, 250 (2018) 148.
18. H. Rodríguez, J.A. Curiel, J.M. Landete, B. de las Rivas, F.L. de Felipe, C. Gómez-Cordovés, J.M. Mancheño, R. Muñoz, *Int. J. Food Microbiol.*, 132 (2009) 79.
19. M. Kalinowska, E. Gołbiewska, M. Zawadzka, R. Choińska, K. Koronkiewicz, K. Piasecka-Jóźwiak, M. Bujak, *Sci. Rep.*, 13 (2023) 19310.
20. L. Liu, C. Zhang, H. Zhang, G. Qu, C. Li, L. Liu, *Foods*, 10 (2021) 1343.
21. Z. Li, J. Teng, Y. Lyu, X. Hu, Y. Zhao, M. Wang, *Molecules*, 24 (2019) 51.
22. Y. Yan, F. Zhang, Z. Chai, M. Liu, M. Battino, X. Meng, *Food Chem Toxicol*, 131 (2019) 110541.
23. S. Duarte de Oliveira, C. Mesquita Araújo, G. da Silva Campelo Borges, M. dos Santos Lima, V. Bordin Viera, E. Fernandes Garcia, E. Leite de Souza, M. E. Gomes de Oliveira, *LWT*, 134 (2020) 110200.
24. J.A. Curiel, D. Pinto, B. Marzani, P. Filannino, G.A. Farris, M. Gobbetti, C.G. Rizzello, *Microb. cell fact.*, 14 (2015) 67.
25. T. Li, T. Jiang, N. Liu, C. Wu, H. Xu, H. Lei, *Food Chem*, 339 (2021) 127859.
26. H. Rodríguez, J.A. Curiel, J.M. Landete, B. de las Rivas, F.L. de Felipe, C. Gómez-Cordovés, J.M. Mancheño, R. Muñoz, *Int. J. Food Microbiol.*, 132 (2009) 79.

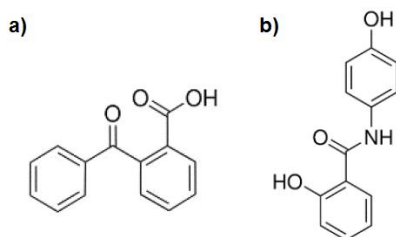
SYNTEZA, WŁAŚCIWOŚCI TERMICZNE I SPEKTROSKOPOWE N,O-DONOROWYCH ZASAD SCHIFFA OTRZYMANÝCH NA BAZIE DIETYLENOTRIAMINY

J. PLUTA, A. BARTYZEL, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Ogólnej, Koordynacyjnej i Krystalografii, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Abstrakt: Zasady Schiffa od wielu lat wzbudzają duże zainteresowanie ze względu na swoją wszechstronność. Znajdują one zastosowanie w medycynie, farmacji, chemii organicznej, nieorganicznej czy analitycznej. W pracy przedstawiono syntezę nowych zasad Schiffa otrzymanych w wyniku kondensacji dietylenotriaminy i aromatycznych związków karbonylowych. Do syntezy związków wykorzystano metodą bezpośrednią (tradycyjną „one pot”) i sonochemiczną, a następnie scharakteryzowano z wykorzystaniem analizy elementarnej, spektroskopowej (ATR/IR) oraz termicznej (TG-DSC, TG-FTIR).

Wprowadzenie: Zasady Schiffa są grupą związków organicznych powstających w wyniku kondensacji amin pierwszorzędowych z aldehydami lub ketonami. Związki charakteryzują się tym, że w ich budowie występuje ugrupowanie iminowe ($>C=N$), które pełni również rolę chromoforu powodując, że zasady Schiffa posiadają często barwę żółtą, pomarańczową lub czerwoną. Swoją wysoką reaktywność związki te zawdzięczają obecności wolnej pary elektronowej na atomie azotu. W zależności od wykorzystanych do syntezy substratów możemy otrzymać zasady Schiffa o różnych właściwościach i trwałości, np. zasady otrzymane z alifatycznych związków karbonylowych są mniej trwałe i często ulegają polimeryzacji niż te otrzymane z aromatycznych aldehydów czy ketonów, które wykazują większą trwałość. Ponadto obecność dodatkowych podstawników w pierścieniu aromatycznym czy azometinowym węgla pozwala na modyfikację ich właściwości fizykochemicznych, a tym samym ich praktycznego zastosowania [1]. Warto również wspomnieć, że zasady Schiffa, otrzymane z pierwszorzędowych diamin i pochodnych fenolu, cieszą się szczególnym zainteresowaniem. W tego typu zasadach, otrzymanych z *o*-hydroksy karbonylowych pochodnych, obserwuje się zjawisko tautomerii ketonowo-enolowej, wynikającej z przeniesienia atomu wodoru z tlenu grupy fenowej na azometinowy azot. W wyniku takiego procesu *o*-hydroksy Zasady Schiffa mogą istnieć w dwóch formach tautomerycznych (tj. keto-aminowej lub enolowo-iminowej) oraz jako jon obojna czy ($N^+ - H \cdots O^-$), co znajduje zastosowanie w nowoczesnych technologiach, z uwagi na fakt, że takie związki często wykazują solwato-, foto- i termochromizm [2]. Niezwykle ważną cechą zasad Schiffa jest także ich zdolność do tworzenia kompleksów z jonami metali, w których pełnią rolę ligandów Lewisa (posiadających wolną parę elektronów). Kompleksy takie powstają w wyniku koordynacji jonu metalu przez elektrodonorowy atom azotu liganda, następnie następuje modyfikacja sterycznego i elektronowego otoczenia metalu, co prowadzi do stabilizacji i regulacji reaktywności jonu metalu [3].

Część eksperymentalna: Do syntezy zasad Schiffa wykorzystano dietylenotriaminę oraz aromatyczne związki karbonylowe: kwas 2-benzoilobenzoowy i oksafenamid (p-hydroksyfenylosalicylamid), których schematy przedstawiono na rysunku 1. Reakcje syntezy zasad prowadzone były w stosunku stechiometrycznym keton:amina 2:1, w roztworze metanolu metodą bezpośrednią i sonochemiczną. W metodzie bezpośredniej do gorących roztworów związków karbonylowych dodano odpowiednią ilość dietylenotriaminy. Otrzymane roztwory ogrzewano przez 30 minut, a następnie pozostawiono je do powolnej krystalizacji. W przypadku syntezy metodą sonochemiczną, odważone związki karbonylowe rozpuszczono w niewielkiej ilości metanolu (25 cm³) i ogrzewano w łaźni ultradźwiękowej Polsonic przez 15 minut. Następnie dodano dietylenotriaminę i w ogrzewano łaźni przez kolejne 20 minut. Podobnie jak w metodzie bezpośredniej, otrzymane roztwory pozostawiono w celu powolnej rekrystalizacji. Po kilku dniach otrzymano polikrystaliczne ciała stałe (Tabela 1). Procentową zawartość C, H, N w zasadach Schiffa wyznaczono na analizatorze CHN FTIR Perkin Elmer. Widma FTIR związków zarejestrowano w zakresie 4000-500 cm⁻¹ na spektrofotometrze Nicolet 6700 FTIR techniką ATR. Analizę termiczną TG-DSC przeprowadzono na termowadze Setsys 16/18. Próbkę ogrzewano w tyglach ceramicznych z szybkością grzania 10°C min⁻¹ w zakresie temperatur 30-800°C. Pomiary TG-FTIR wykonano na termowadze Q5000 TGA sprzężonej z spektrofotometrem Nicolet 6700. Analizy prowadzone były w dynamicznej atmosferze azotu (v = 20 ml min⁻¹) w otwartych tyglach. Związki ogrzewano z szybkością 20°C min⁻¹ do temperatury 700°C.



Rys. 1. Schematy związków karbonylowych wykorzystanych w syntezie zasad Schiffa: a) kwas 2-benzoilobenzoowy, b) p-hydroksyfenylosalicylamid.

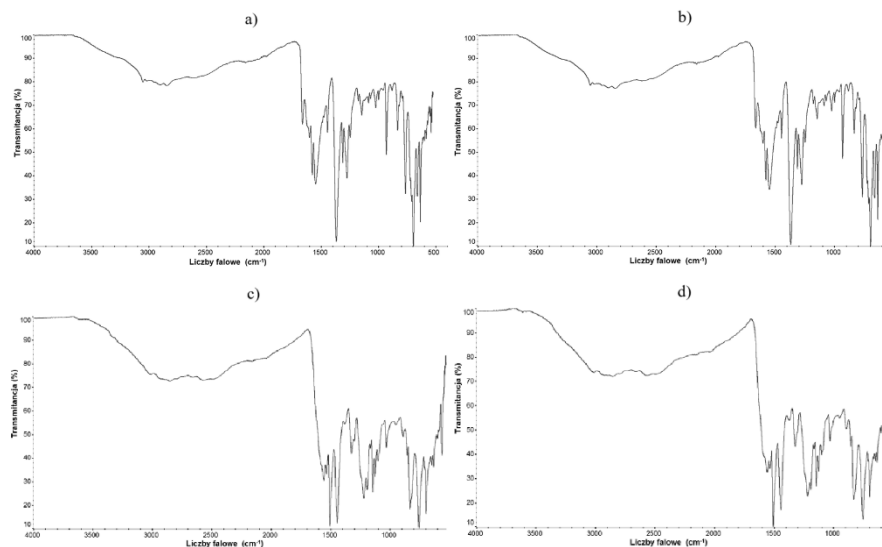
Tabela 1. Podstawowe informacje o związkach.

Związek	Reagent użyty do syntezy	Charakterystyka związku	Masa osadu [g]
1mb	kwas 2-benzoilobenzoowy	żółte ciało stałe	0,2376
1mson	kwas 2-benzoilobenzoowy	żółte ciało stałe	0,1995
2mb	p-hydroksyfenylosalicylamid	pomarańczowe ciało stałe	0,2289
2mson	p-hydroksyfenylosalicylamid	pomarańczowe ciało stałe	0,2014

mb – metoda tradycyjna (bezpośrednia), mson – metoda soniczna

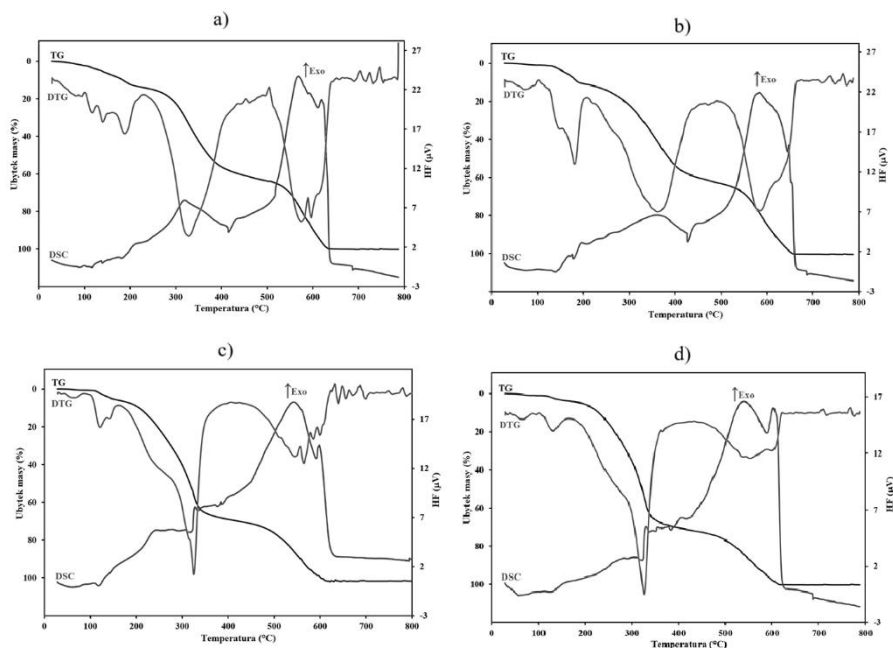
Wyniki: Na podstawie analizy widm FTIR reagentów oraz otrzymanych związków można stwierdzić, że zaszedł proces kondensacji z utworzeniem wiązania azometinowego. W widmach FTIR zasad Schiffa pojawiło się charakterystyczne pasmo drgań rozciągających grupy azometinowej $\nu(\text{C}=\text{N})$ odpowiednio przy 1602 cm⁻¹ (1mb i 1mson) oraz 1558 cm⁻¹ (2mb i 2mson). Otrzymane związki są solwatami, o czym świadczy obecność na widmie szerokich pasm w zakresie 3500-2500 cm⁻¹, charakterystycznych dla

drgań rozciągających $\nu(\text{OH})$ (Rys. 2) oraz analiza krzywych rozkładu termicznego TG-DSC (Rys. 3).



Rys. 2. Widma FTIR: a) 1mb, b) 1mson, c) 2mb, d) 2mson.

Zasady Schiffa są trwałe w zakresie temperatury 29-47 C. Ogrzane powyżej tej temperatury na początku ulegają procesowi desolvatacji, co potwierdzone zostało analizą TG-FTIR. W widmie gazowych produktów rozkładu pojawiają się pasma charakterystyczne dla metanolu ($3750\text{--}3600$, $3150\text{--}2750$ i $1100\text{--}950\text{ cm}^{-1}$) lub/i wody ($4000\text{--}3450\text{ cm}^{-1}$ i $1950\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$). W kolejnym etapie następuje defragmentacja i spopielanie matrycy organicznej, co potwierdzają egzoenergetyczne efekty zarejestrowane na krzywych DSC (Rys. 3). Proces rozkładu zasad Schiffa w atmosferze azotu związany jest między innymi z uwalnianiem wody, tlenku węgla(IV), tlenku węgla(II), amoniaku oraz kwasu benzoesowego i toluenu (1mb, 1mson) czy fenolu, aniliny, etylenodiaminy i benzeny (2mb, 2mson).



Rys. 3. Krzywe rozkładu termicznego TG, DTG i DSC: (a) 1mb, (b) 1mson, (c) 2mb, (d) 2mson.

Wnioski: W wyniku reakcji kondensacji dietylenotriaminy i związków karbonylowych otrzymano cztery zasady Schiffa wykorzystując metodę tradycyjną (bezpośrednią) i sonochemiczną. Na podstawie przeprowadzonych analiz (elementarnej, spektroskopowej i termicznej) zaproponowano sumaryczne wzory otrzymanych związków: 1mb – $C_{50}H_{48}N_6O_5 \cdot H_2O$, 1mson – $C_{50}H_{48}N_6O_5 \cdot (H_2O)_{0,5}$, 2mb – $C_{30}H_{31}N_5O_5 \cdot (H_2O)_{0,25} \cdot CH_3OH$, 2mson – $C_{30}H_{31}N_5O_5 \cdot (H_2O)_{0,5} \cdot (CH_3OH)_{0,5}$. Jak można zauważyć metoda syntezy wpłynęła na stopień solwatacji otrzymanych zasad, przy czym rodzaj cząsteczek rozpuszczalnika pozostaje dla poszczególnych związków taki sam. Ponadto podczas pirolizy związków zauważono, że zawartość popiołów po analizie jest większa w przypadku zasad Schiffa otrzymanych z wykorzystaniem ultradźwięków.

Literatura:

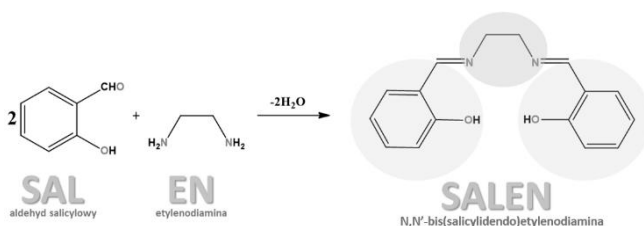
1. I. Mushtaq, M. Ahmad, M. Saleem, A. Ahmed, *Futur. J. Pharm. Sci.* 10 (2024) 1.
2. S.A. Dalia, Md. S.Hossaim, Md. N. Khan, CM Zakaria, Md. K. E. Zahan, Md. M. Ali, *Int. J. Chem. Stud.* 6 (2018) 2859.
3. P. B. Rudnicki-Velasquez, K. Krzymiński, *Technical Issues* 2 (2017) 23.

BADANIE WPŁYWU MODYFIKACJI LIGANDÓW TYPU ZASADY SCHIFFA NA KOORDYNACJĘ JONÓW METALI

J. BARAŃSKA, M.T. KACZMAREK, K. KORONIAK-SZEJN, M. ZABISZAK, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, Zakład Chemii Koordynacyjnej, ul Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: Zsyntetyzowano ligand - *N,N'*-bis(3-bromo-5-chlorosalicylideno)-2-hydroksy-1,3-propanodiamina (H_3L), dla którego wyznaczono stałe trwałości kompleksów powstających w reakcjach otrzymanego liganda z jonem Eu(III).

Wprowadzenie: Ligandy salenowe wywodzą się z klasy związków organicznych znanych jako zasady Schiffa, odkrytych przez niemieckiego chemika Hugo Schiffa w 1864 roku. Zasady Schiffa są wynikiem kondensacji cząsteczek aldehydów lub ketonów z cząsteczkami pierwszorzędowych amin, co prowadzi do powstania imin, czyli związków zawierających charakterystyczne podwójne wiązanie $C=N$. Nazwa salen określa czterokoordynacyjny ligand otrzymany w wyniku reakcji kondensacji aldehydu salicylowego (sal) i etylenodiaminy (en) (Rys. 1.) [1].

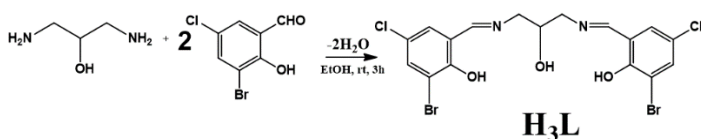


Rys. 1. Schemat syntezy najprostszego ligandu salenowego i ujęcie pochodzenia nazwy zwyczajowej salen.

W ciągu ostatnich kilku dekad, projektowanie i synteza kompleksów typu salenu przyciągnęły uwagę ze względu na ich różnorodne struktury i szerokie zastosowania w magazynowaniu gazów [2, 3], elektrochemii [4], fotoluminescencji [5] i wymianie jonowej [6]. Jednak kontrola budowy kompleksów jonów metali o pożądanej strukturze i właściwościach pozostaje dużym wyzwaniem, ponieważ na powstałe struktury często wpływa wiele czynników [7, 8]. Najczęściej metalosaleny mają zastosowanie jako katalizatory w procesach katalitycznych ze względu na charakterystyczną, płaską budowę związku dającą możliwość przyłączenia się cząsteczek substratów katalizowanej reakcji, a także ze względu na możliwość całkowitego odzyskania katalizatora po reakcji i ponownego jego wykorzystania. Stosunkowo proste wprowadzenie w pobliżu centrum metalicznego kompleksu, stereogenicznego atomu węgla, powoduje ciągłe i stale rosnące zainteresowanie zastosowaniem tych związków w katalizie asymetrycznej [9]. Ze względu na właściwości fotofizyczne oraz ogólnie dobrą trwałość i biokompatybilność, ligandy i kompleksy salenowe są badane również pod kątem wykrywania i bioobrazowania [10], monitorowania

w żywych komórkach [11], barwienia komórek i organelli [12] oraz wykrywania biologicznie istotnych substratów i farmaceutyków [13]. Ligandy typu salenu wykorzystane są również jako sondy optyczne do wykrywania jonów metali. Jony Zn^{2+} , Mg^{2+} i Al^{3+} często wzmacniają fluorescencję, podczas gdy jony Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} czy Pd^{2+} zazwyczaj wygaszają fluorescencję ligandu salenowego [14].

Część eksperymentalna: Zsyntetyzowano ligand *N,N'*-bis(3-bromo-5-chlorosalicylideno)-2-hydroksy-1,3-propanodiamina (H_3L) w reakcji kondensacji 3-bromo-5-chloro-2-hydroksybenzaldehydu i 1,3-diamino-2-hydroksypropanu w stosunku molowym reagentów 2:1. Reakcję prowadzono przez 3 h w temperaturze pokojowej w 40 ml EtOH (Rys. 1.). Następnie rozpuszczalnik odparowano do 3 ml na wyparce wolnoobrotowej otrzymując ligand H_3L w postaci żółtego proszku. Badania potencjometryczne przeprowadzono w układzie Eu(III)/ H_3L w DMSO/ H_2O w ściśle określonych warunkach temperatury, przy stałej sile jonowej oraz w obecności gazu obojętnego. Każdą serię miareczkowań poprzedzono kalibracją pH-metru wykorzystując dwa roztwory buforowe: wodoroftalan potasu (pH=4,002) oraz boraks (pH=9,225). Pierwszy etap badań obejmował wyznaczenie stałych protonacji liganda H_3L . W tym celu przygotowano serię próbek, w których stężenie liganda wynosiło 0,001 mol/dm³. W kolejnym etapie przygotowano serię próbek dla badanego układu, gdzie stężenie metalu i liganda w przygotowanych próbkach wynosiło 0,001 mol/dm³, a stosunek molowy metalu do liganda wynosił 1:1. Próbki miareczkowano za pomocą roztworu NaOH o stężeniu 0,1988 mol/dm³, w zakresie pH od 2,5 do 11,0. Otrzymane wyniki poddano analizie komputerowej z wykorzystaniem programu Hyperquad2008.



Rys. 1. Reakcja syntezy liganda H_3L - *N,N'*-bis(3-bromo-5-chlorosalicylideno)-2-hydroksy-1,3-propanodiaminy.

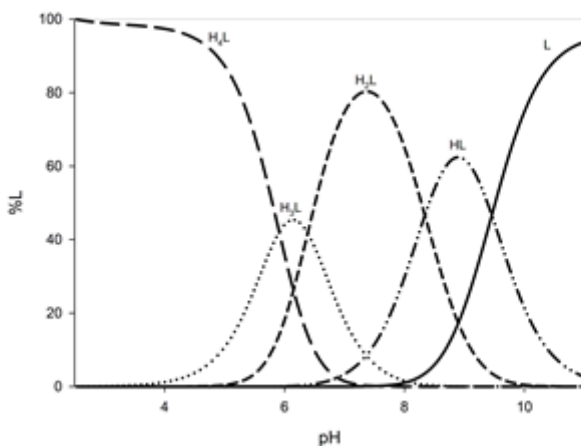
Wyniki: Analiza danych uzyskanych z badań potencjometrycznych potwierdziła występowanie w układach następujących form kompleksowych: EuL , $EuLH_x$ ($x=1-3$) oraz $EuL(OH)_x$ ($x=1-3$). Dla tworzących się związków kompleksowych wyznaczono ogólne stałe trwałości ($\log\beta$) oraz stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_e$), a także zaproponowano ich reakcje tworzenia (Tabela 1).

Tabela 1. Ogólne stałe trwałości ($\log\beta$), stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_e$) oraz reakcje tworzenia kompleksów w badanych układach.

Kompleks	$\log\beta$	$\log K_e$	Reakcja
EuL	10,49(3)	10,50	$Eu^{3+} + L \rightleftharpoons EuL$
$EuLH$	17,16(4)	7,77	$Eu^{3+} + HL \rightleftharpoons EuLH$
$EuLH_2$	22,31(1)	4,78	$Eu^{3+} + H_2L \rightleftharpoons EuLH_2$

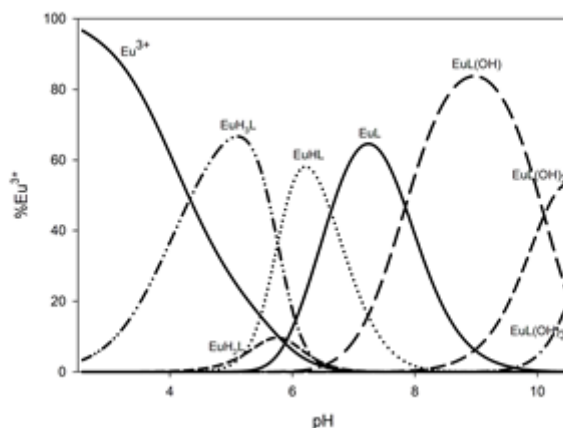
EuLH ₃	28,65(4)	4,86	$\text{Eu}^{3+} + \text{H}_3\text{L} \rightleftharpoons \text{EuH}_3\text{L}$
EuL(OH)	2,65(4)	17,15	$\text{EuL} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{EuL(OH)} + \text{H}^+$
EuL(OH) ₂	-7,46(5)	4,39	$\text{EuL(OH)} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{EuL(OH)}_2 + \text{H}^+$
EuL(OH) ₃	-18,39(7)	3,57	$\text{EuL(OH)}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{EuL(OH)}_3 + \text{H}^+$

Na podstawie komputerowej analizy danych potencjometrycznych wyznaczono pięć stałych protonacji liganda *N,N'*-bis(3-bromo-5-chlorosalicylideno)-2-hydroksy-1,3-propandiaminy (H₃L) (Rys. 2.). Pierwszą formą protonacji jest forma H₃L, która dominuje w zakresie pH 2,5-4 i której udział procentowy maleje w zakresie pH 4-7. Forma H₃L, której tworzenie rozpoczyna się od wartości pH = 4, ale jej maksymalny udział - 45% zawartości liganda występuje w zakresie pH 5,9-6,5. Trzecią formą jest częściowo protonowana forma H₂L, której tworzenie rozpoczyna się od pH 5, a dominuje w pH = 7,3 w 80% zawartości liganda. Kolejną formą dominującą w zakresie pH 8,6-9,2 jest forma HL osiągając 62% liganda. Natomiast ostatnią formą dominującą jest całkowicie deprotonowany ligand L, który obserwuje się od wartości pH = 8.



Rys. 2. Krzywa dystrybucji protonacji liganda H₃L

Na krzywej dystrybucji (Rys. 3.) form kompleksowych jonów europu(III) i liganda H₃L można zaobserwować, że najbardziej dominującą formą kompleksu jest forma EuL(OH) w zakresie pH 6,2-10,5 wiążąc 84% jonów Eu³⁺. Kolejnymi formami, które osiągają podobną zawartość jonów ujętych Eu³⁺ są formy kompleksowe z: protonowanym trzykrotnie ligandem i częściowo zdeprotonowanym ligandem, jedna forma z całkowicie zdeprotonowaną formą liganda L i jedna forma z dwiema grupami -OH w strukturze. Najmniej dominującymi formami są formy EuH₂L i EuL(OH)₃.



Rys. 3. Krzywa dystrybucji układu Eu(III)/L (1:1).

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań potencjometrycznych i analizie otrzymanych wyników określono formy kompleksowe występujące w badanych układach. Wykazano istnienie form kompleksowych typu EuLH_x ($x = 1-3$), EuL i EuL(OH)_x ($x = 1-3$). Wyznaczono ogólne stałe trwałości ($\log\beta$) oraz stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_e$). Dla badanych układów wykreślono krzywe dystrybucji form, na podstawie których określono procentową zawartość jonów europu(III) dla każdej z tworzących się form kompleksowych. Na podstawie przeprowadzanych badań stwierdzono, że ligand *N,N'*-bis(3-bromo-5-chlorosalicylideno)-2-hydroksy-1,3-propanodiamina (H_3L) tworzy z jonem Eu(III) jednordzeniowe kompleksy, a forma tworzącego je liganda zależy od wartości pH.

Literatura:

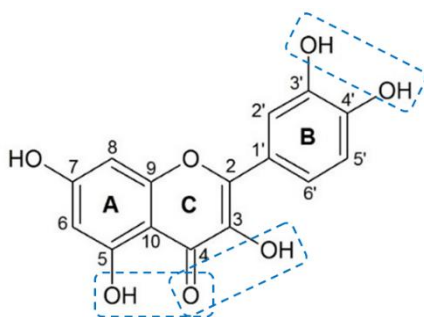
1. Ashish K. Asatkar, Mamta Tripathi and Deepali Asatkar. Salen and Related Ligands, Stability of Coordination Compounds, (2020).
2. J. Sun, M. Zhang, A. Wang, Z. Cai, Crystals 7 (2017) 370.
3. S.G. Surya, S. Bhanoth, S.M. Majhi, Y.D. More, V.M. Teja, K.N. Chappanda, CrystEngComm 21 (2019) 7303.
4. E.V. Caemelbecke, T. Phan, W.R. Osterloh, K.M. Kadish, Coord. Chem. Rev. 434 (2021) 213706.
5. F. Ortú, S. Randall, D.J. Moulding, A.W. Woodward, A. Kerridge, K. Meyer, H.S. L. Pierre, L.S. Natrajan, J. Am. Chem. Soc. 143 (2021) 13184.
6. H. Li, Y. Wang, Y. He, Z. Xu, X. Zhao, Y. Han, New J. Chem. 41 (2017) 1046.
7. D. Ejarque, T. Calvet, M. Font-Bardia, J. Pons, J. Mol. Struct. 1277 (2023) 134896.
8. D. Ejarque, T. Calvet, M. Font-Bardia, J. Pons, CrystEngComm 24 (2024) 2808.
9. X Andrea Erxleben, , Inorg. Chim. Acta, 472 (2018) 40.
10. Y. Xu, J. Meng, L. Meng, Y. Dong, Y. Cheng, C. Chengjian, Chem. Eur. J. 16 (2010) 12898.
11. H. Sharma, N. Kaur, T. Pandiyan, N. Singh, Sens. Actuators B 166–167 (2012) 467.
12. x J. Cheng, F. Gou, X. Zhang, G. Shen, X. Zhou, H. Xiang, Inorg. Chem. 55 (2016) 9221.
13. T. Mizuno, M. Massayuki, S. Shinkai, Tetrahedron 55 (1999) 9455.
14. L. Zhou, P. Cai, Y. Feng, J. Cheng, H. Xiang, J. Liu, Anal. Chim. Acta 735 (2012) 96.

KOMPLEKSY KWERCETYNY Z JONAMI Zn(II) – SYNTEZA, SKŁAD W ROZTWORZE ORAZ AKTYWNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNA

E. GOŁĘBIEWSKA, M. KALINOWSKA, Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok

Abstrakt: W pracy przeprowadzono syntezę kompleksu kwercetyny (Q) z jonami Zn(II) (Q-Zn(II)) w ciele stałym oraz na podstawie widm FT-IR_{KBr} potwierdzono poprawność syntezy i określono sposób koordynacji jonu metalu. Zastosowano metodę Yoe-Jonesa w celu określenia składu kompleksu w roztworze (Tris-HCl; pH=7,4) oraz dyskutowano sposób koordynacji jonu metalu w roztworze. Potwierdzenie tworzenia się kompleksu Q-Zn(II) w roztworze dało podstawę do porównania aktywności antyoksydacyjnej kompleksu i wolnego ligandu (za pomocą spektroskopowej metody z rodnikiem DPPH[•]). Kompleks Q-Zn(II) charakteryzował się wyższą aktywnością antyoksydacyjną niż ligand.

Wprowadzenie: Kwercetyna (3,3',4',5,7-pentahydroksyflawon) jest jednym z najpowszechniej występujących flawonoidów w przyrodzie, intensywnie badanym ze względu na swoje liczne właściwości biologiczne i farmakologiczne. Wykazuje ona silne działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne oraz przeciwdrobnoustrojowe. Kluczowe elementy strukturalne Q, które odpowiadają za te właściwości, obejmują: (1) obecność grupy katecholowej (ugrupowania o-dihydroksy) w pierścieniu B; (2) występowanie podwójnego wiązania pomiędzy atomami węgla C2 i C3 w pierścieniu C, sprzężonego z grupą ketonową w pozycji C4, co umożliwia delokalizację niesparowanego elektronu rodnika flawonoidowego; oraz (3) obecność grup hydroksylowych w pozycjach C3, C5 i C7 (w pierścieniach C i A), które pełnią funkcje potencjalnych akceptorów wolnych rodników (Rys. 1) [1,2].



Rys. 1. Struktura kwercetyny z numeracją oraz potencjalnymi miejscami koordynacji kationów metali.

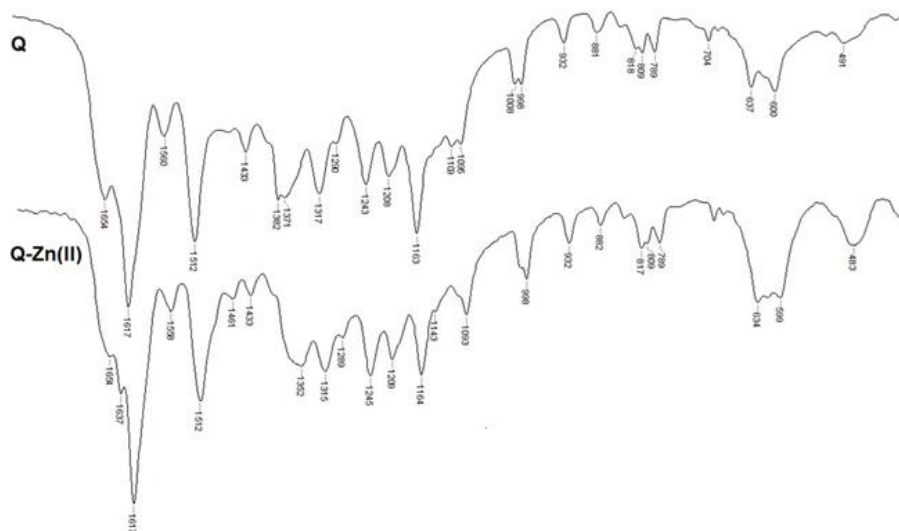
Flawonoidy, w tym Q, posiadają zdolność do wiązania jonów metali, tworząc kompleksy chelatowe. Z uwagi na obecność trzech różnych miejsc koordynacji kationów metali, kompleksy Q zazwyczaj charakteryzują się stosunkiem molowym ligand:metal (L:M) wyno-

szącym 1:1, 1:2 lub 2:1 [3]. W zależności od warunków syntezy, Q może tworzyć kompleksy z jednym kationem metalu o różnym stosunku stechiometrycznym L:M, przy udziale różnych grup wiążących. Typ wiązania L:M wpływa na lokalne zmiany w rozkładzie ładunku elektronowego kompleksu w porównaniu z wyjściowym ligandem. Zmiany te prowadzą do globalnych modyfikacji właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych związku. Liczne badania wykazały, że kompleksy Q-M często charakteryzują się lepszymi właściwościami biologicznymi niż sam ligand. Na przykład, kompleksy Q z Mg(II), Ca(II) [4] oraz Fe(II) [5] wykazują większą aktywność biologiczną niż sam ligand. Istnieją też doniesienia, że kompleksy Q z metalami mogą mieć mniejsze właściwości antyoksydacyjne, np. Q- Tb(III) [6] czy Q-Pb(II) [7]. Celem niniejszej pracy było ustalenie składu kompleksów kwercetyny z jonami Zn(II) w roztworze oraz analiza wpływu tych metali na właściwości antyoksydacyjne Q.

Część eksperymentalna: Naważkę Q oraz ZnCl_2 w stosunku molowym L:M=2:1 rozpuszczono na gorąco w 10 ml EtOH. Następnie do mieszaniny dodano 100 ml roztworu Tris-HCl (pH=7,4) i wytrząsano w temp. 80°C przez 4 godziny. Po usunięciu rozpuszczalnika metodą filtracji próżniowej, osad przemyto trzykrotnie mieszaniną EtOH/ H_2O (v:v; 1:3), a następnie kilkakrotnie wodą destylowaną w celu usunięcia nieprzereagowanych reagentów. Otrzymany kompleks suszono w suszarce próżniowej przez 12 godzin (P=0,06 MPa, T=40°C). Analiza elementarna i termiczna wykazała, że utworzony kompleks był uwodniony, a jego wzór sumaryczny to $(\text{C}_{30}\text{H}_{17}\text{O}_{14}\text{Zn}) \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$ ($C_{\text{dośw}} = 48,66\%$, $H_{\text{dośw}} = 3,65\%$, $C_{\text{obl}} = 49,37\%$, $H_{\text{obl}} = 3,04\%$). Widma FT-IR zarejestrowano przy użyciu spektrofotometru Alfa-Eco firmy Bruker (Billerica, Massachusetts, USA). Próbkę substancji stałych przygotowano do analizy metodą prasowania preparatów w pastylkach z bromkiem potasu. Widma próbek zarejestrowano w skali transmitancji w zakresie liczb falowych 1800-400 cm^{-1} , stosując rozdzielczość 4 cm^{-1} . Wyznaczenie składu kompleksu w roztworze przeprowadzono używając 14 kolbek miarowych o pojemności 10 ml, do których dodawano po 1 ml metanolowego roztworu Q o stężeniu 10^{-3} M. Następnie dodawano odpowiednie ilości roztworu ZnCl_2 o stężeniu 0,01 M, po czym uzupełniano kolby buforem Tris-HCl (pH=7,4) do kreski. Po upływie 1 godziny rejestrowano widma UV/Vis uzyskanych roztworów w kuwetach kwarcowych w zakresie 200-550 nm przy użyciu spektrofotometru Carry 5000 firmy Agilent Technologies (Santa Clara, Kalifornia, USA). W teście DPPH, 100 μL próbki zmieszano ze 200 μL 60 μM metanolowego roztworu DPPH w 96-dołkowych płytkach. Absorbancję mierzono przy $\lambda = 516$ nm, wykorzystując czytnik mikropłytek Tecan Infinite 200 PRO (Tecan, Männedorf, Szwajcaria). Procent inhibicji rodnika DPPH• (%I) określono na podstawie wzoru: $\%I = ((A_{\text{kontrola}}/A_{\text{próba}})/A_{\text{kontrola}}) \cdot 100\%$. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Wyniki opracowano w programie Microsoft Excel 2013.

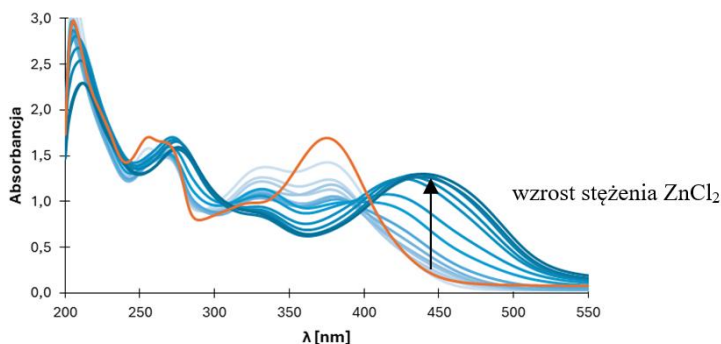
Wyniki: Na Rys. 2. przedstawiono widma FT-IR_{KBr} kwercetyny i jej kompleksu z cynkiem. Zmiany w położeniu odpowiadających sobie pasm w widmach FT-IR w porównaniu do widma Q świadczą o utworzeniu kompleksu. Szczególnie dotyczy to pasm związanych z drganiami grupy katecholowej (C-OH). W środowisku alkalicznym, Q wykazuje tendencję do koordynacji kationów metali przez ugrupowanie katecholowe pięścienia B (3',4'-OH; Rys. 1). Potwierdzeniem tego są przesunięcia pasm drgań grupy katecholowej, tj. $\beta(\text{C-OH})$; Q: 1353 cm^{-1} , Q-Zn(II): 1379 cm^{-1} oraz pojawienie się nowych pasm przy 1407 i 1445 cm^{-1} , przypisanych drganiom rozciągającym $\nu(\text{C-O})$. Nastąpiła także zmiana

częstotliwości drgań C-O-C z 1242 cm^{-1} na widmie Q do 1252 cm^{-1} na widmie Q-Zn(II). Taki wynik sugeruje, że (1) atom tlenu w grupie karbonylowej, ale nie w pierścieniu C (Rys. 1) brał udział w koniugacji metalu i (2) jon metalu był chelatowany pomiędzy karbonyłowymi atomami tlenu (C4=O) i hydroksylowymi atomami tlenu (C3-OH i/lub C5-OH). Ponadto pasmo przy 445 cm^{-1} obecne tylko na widmie Q-Zn(II) pochodzi od wiązania Zn-O i świadczy o koordynacji jonu metalu przez tlen.



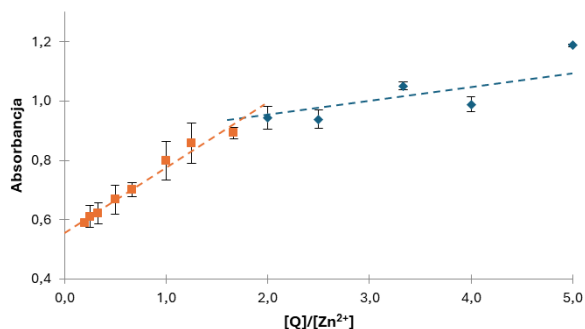
Rys. 2. Widma FT-IR_{KBR} Q oraz Q-Zn(II) zarejestrowane w zakresie liczb falowych $400\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$.

Zbadano również zdolność kwercetyny do tworzenia kompleksów z Zn(II) w roztworze na podstawie zarejestrowanych widm UV/Vis (Rys. 3). Q posiada dwa charakterystyczne maksima absorpcji przy długości fal $\lambda_1 = 371\text{ nm}$ (pasmo I) oraz $\lambda_2 = 256\text{ nm}$ (pasmo II). Pasmo I związane jest z absorpcją za pośrednictwem układu cynamoilowego (pierścienie B i C), a pasmo II z absorpcją z udziałem układu benzoilowego (pierścienie A i C) (Rys. 1). Widma te wynikają z przejść elektronowych typu $\pi \rightarrow \pi^*$ w aromatycznym układzie trójpierścieniowym cząsteczki Q. Pasma absorpcji I i II obserwowane w widmie Q, w kompleksach z Zn(II), uległo przesunięciu w kierunku dłuższych fal (przesunięcie batochromowe). Na widmach kompleksów zaobserwowano również pojawienie się nowych pasm przy długości fali $\lambda = 436\text{ nm}$, przypisywanych reakcji tworzenia kompleksów, gdyż ani ligand, ani chlorek metalu nie absorbują światła o tej konkretnej długości fali.



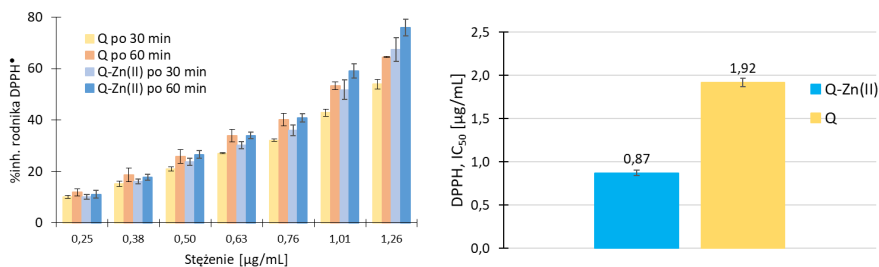
Rys. 3. Widma kwercetyny ($C=10^{-3}$ mol/dm³) – pomarańczowa linia - oraz kompleksów kwercetyny z Zn(II) – niebieska linia (stężenie chlorku cynku 10⁻² mol/dm³).

W celu określenia stosunku L:M w roztworze zastosowano metodę stosunków molowych Yoego i Jonesa. Uzyskane wyniki wskazują, że w roztworze Tris-HCl o pH=7,4, Q tworzy z jonami Zn(II) kompleksy w stosunku molowym L:M=2:1, co sugeruje koordynację dwóch cząsteczek Q do jednego jonu metalu (Rys. 4). Wyniki są zbieżne z danymi literaturowymi [8].



Rys. 4. Wyznaczanie składu kompleksu Q-Zn(II) w buforze Tris-HCl (pH= 7.4).

Badania aktywności antyoksydacyjnej (w teście DPPH) wykazały, że kompleks Q- Zn(II) wykazał wyższą skuteczność w zmiataniu rodnika DPPH[•] niż sam ligand. Wzrost aktywności zmiatania rodników dla obu związków był zależny od stężenia i czasu reakcji (Rys. 5). Wyznaczony parametr IC₅₀ wynosił odpowiednio 1,92 µg/ml dla Q oraz 0,87 µg/ml dla Q-Zn(II).



Rys. 5. Aktywność antyoksydacyjna Q oraz Q-Zn(II) zmierzona za pomocą testu DPPH.

Wnioski: Analiza widm FT-IR potwierdziła poprawność syntezy Q-Zn(II) w cieple stałym. Kwercetyna w roztworze Tris-HCl o pH= 7,4 tworzy kompleksy z jonami Zn(II) w stosunku molowym L:M=2:1. Otrzymany kompleks charakteryzował się wyższą aktywnością antyoksydacyjną niż ligand.

Podziękowanie: Projekt został sfinansowany z subwencji badawczej Politechniki Białostockiej „Projekt doktorski” (Nr: W/WB-IIŚ/8/2024).

Literatura:

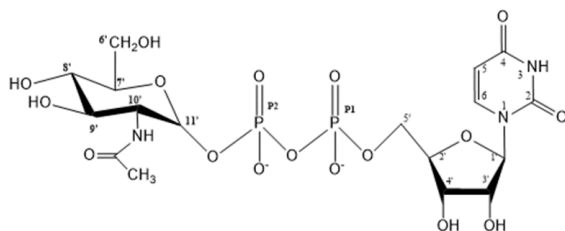
1. A. Saija, M. Scalese, M. Lanza, D. Marzullo, F. Bonina, F. Castelli. *Free Radic. Biol. Med.* 19 (1995), 481.
2. E. Trunova, M. Artamonov, T. Makotryk. *Ukr. Chem. J.* 87 (2021) 90.
3. A. Šcibior. *Antioxidants* 11 (2022) 790.
4. E.M. Altundağ, C. Özbilenler, S. Ustürk, N.R. Kerküklü, M. Afshani, E. Yilmaz. *J. Mol. Struct.* 1245 (2021) 131107.
5. A. Raza, X. Xu, L. Xia, C. Xia, J. Tang, Z. Ouyang. *J. Fluoresc.* 26 (2016) 2023.
6. J. Ezzati Nazhad Dolatabadi, A. Mokhtarzadeh, S.M. Ghareghoran, G. Dehghan. *Adv Pharm Bull.* 4 (2014) 101.
7. R. Ravichandran, M. Rajendran, D. Devapiriam. *J. Coord. Chem.* 67 (2014) 1449.
8. L. Malacaria, J. Bijlsma, R. Hilgers, W. J.C. de Bruijn, J. P. Vincken, E. Furia. *J. Mol. Liq.* 369 (2023) 120840.

ZWIĄZKI KOMPLEKSOWE URYDINO-5'-DIFOSFO-N-ACETYLOGLUKOZAMINY Z WYBRANYMI JONAMI METALI - BADANIA POTENCJOMETRYCZNE I SPEKTROSKOPOWE

K. STACHOWIAK, M. ZABISZAK, R. JASTRZĄB, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, Zakład Chemii Koordynacyjnej, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: Zbadano proces kompleksowania w układach zawierających wybrane jony metali (Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+}) z urydino-5'-difosfo-N-acetyloglukozaminą w stosunkach moliowych 1:1 i 1:2. Na podstawie wyników uzyskanych z badań potencjometrycznych wyznaczono ogólne stałe trwałości ($\log \beta$) oraz stałe równowag tworzenia ($\log K_e$), a także sporządzono diagramy dystrybucji dla każdego z badanych układów. Przeprowadzone badania spektroskopowe (EPR, UV-Vis) pozwoliły na określenie sposobu koordynacji w badanych układach.

Wprowadzenie: W organizmie człowieka występuje dziewięć podstawowych cukrowych pochodnych urydino-5'-difosforanu, m.in.: urydino-5'-difosfo-N-acetyloglukozamina (UDP-GlcNAc) (Rys. 1) [1]. Związek ten jest niezbędnym metabolitem w wielu procesach komórkowych. Stanowi prekursor chityny, glikoprotein, glikolipidów oraz proteoglikanów i peptydoglikanów [2-4]. W wyniku odpowiednich procesów może być przekształcany do urydino-5'-difosfo-N-acetylogalaktozaminy (UDP-GalNAc) [3]. Obecność tego związku w organizmie powiązana jest z występowaniem niektórych stanów chorobowych, np.: kardiomiopatią cukrzycową oraz insulinoopornością [4]. Jony miedzi(II), kobaltu(II), niklu(II), a także żelaza(II), żelaza(III) oraz cynku są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka. Są składnikami wielu enzymów i białek, m.in.; witaminy B_{12} , peroksydazy, oksydazy cytochromowej C. Jony kobaltu(II) odgrywają istotną rolę w syntezie neuroprzekaźników [5-7]. Związki metali bloku d, głównie miedzi, cynku, srebra i złota wykazują właściwości przeciwdrobnoustrojowe oraz przeciwnowotworowe. Mogą być wykorzystywane do zwalczania takich patogenów jak: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, czy *Pseudomonas aeruginosa* [8]. Zaburzenie stężenia tych jonów w organizmie może przyczyniać się do występowania wielu schorzeń, np.: anemii, alergii i chorób skóry, chorób autoimmunologicznych, choroby Alzheimera, cukrzycy, a także chorób nowotworowych [6,7,9].



Rys. 1. Wzór strukturalny urydino-5'-difosfo-N-acetyloglukozaminy (UDP - GlcNAc).

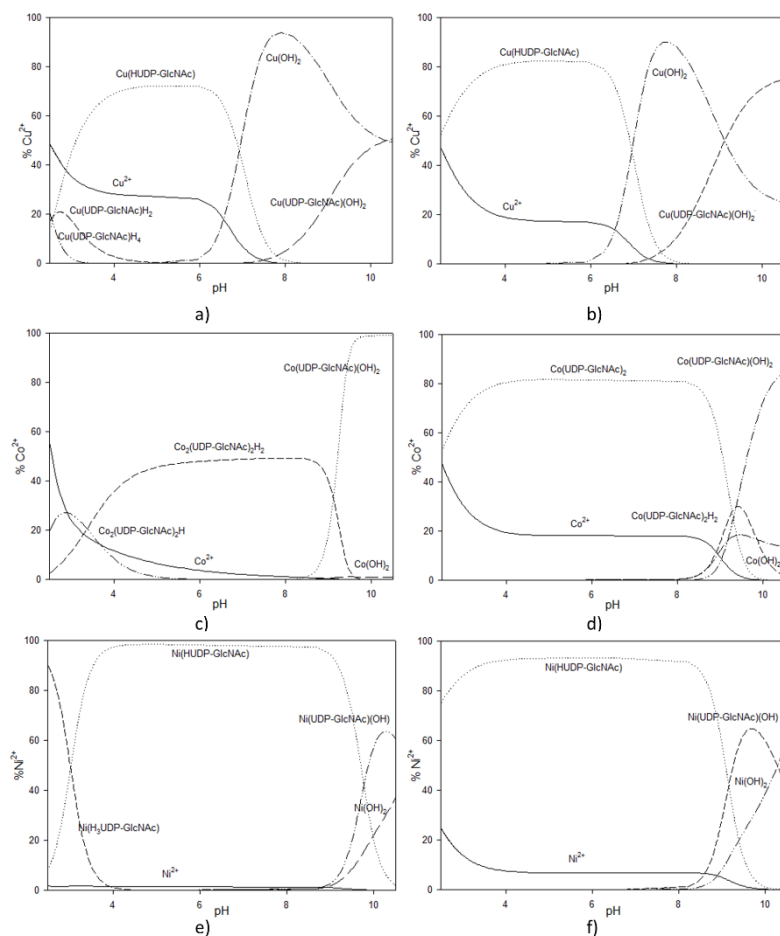
Część eksperymentalna: Przeprowadzono badania potencjometryczne w układzie jon metalu(II)/urydyno-5'-N-acetylglukozamina w ściśle określonych warunkach temperatury i siły jonowej oraz w atmosferze gazu obojętnego. Serię przeprowadzanych badań poprzedzano kalibracją aparatury oraz elektrody. Badania rozpoczęto od wyznaczenia stałych protonacji liganda, poprzez miareczkowanie serii próbek, w których stężenie liganda wynosiło 0,0005 mol/dm³. Następnie wykonano badania dla analizowanego układu w dwóch stosunkach molowych 1:1 i 1:2, przy stężeniu metalu 0,0005 mol/dm³. Próbkę miareczkowano w zakresie pH od 2,5 do 10,5 za pomocą roztworu wodorotlenku sodu. Wyniki analizowano z wykorzystaniem programu HyperQuad2008. W celu określenia sposobu koordynacji w analizowanym układzie przeprowadzono badania spektroskopowe UV-Vis oraz EPR.

Wyniki: Analiza danych uzyskanych z badań potencjometrycznych potwierdziła występowanie w układach form: $M(H_xL)$, $ML(OH)_x$ oraz form dimerycznych. Wyznaczono ogólne stałe trwałości ($\log\beta$) oraz stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_e$), a także zaproponowano reakcje tworzenia poszczególnych form kompleksowych (Tabela 1)

Tabela 1. Ogólne stałe trwałości ($\log\beta$), stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_e$) oraz reakcje tworzenia kompleksów w badanych układach.

M	Forma kompleksu	$\log\beta$	$\log K_e$	Równanie reakcji
Cu ²⁺	M(H ₄ L)	21,59(8)	3,41	$M^{2+} + H_4L \rightleftharpoons M(H_4L)$
	M(H ₂ L)	16,51(9)	3,74	$M^{2+} + H_2L \rightleftharpoons M(H_2L)$
	M(HL)	13,91(2)	4,30	$M^{2+} + HL \rightleftharpoons MHL$
	ML(OH) ₂	-9,45(4)	3,96	$M(OH)_2 + L \rightleftharpoons ML(OH)_2$
Co ²⁺	ML(OH) ₂	-12,09(7)	5,80	$M(OH)_2 + L \rightleftharpoons ML(OH)_2$
	ML ₂	8,88(9)	8,88	$M + 2 L \rightleftharpoons ML_2$
	ML ₂ H ₂	27,44(7)	8,21	$M + 2 HL \rightleftharpoons ML_2H_2$
	M ₂ L ₂ H	28,53(8)	18,92	$2 M^{2+} + (HL) + L \rightleftharpoons M_2L_2H$
	M ₂ L ₂ H ₂	31,91(8)	3,37	$M_2L_2H + H^+ \rightleftharpoons M_2L_2H_2$
	M ₂ L ₂ (OH) ₂	-5,55(11)	12,34	$M(OH)_2 + M^{2+} + 2 L \rightleftharpoons M_2L_2(OH)_2$
Ni ²⁺	M(H ₃ L)	22,33(9)	9,55	$M^{2+} + (H_2L) + H^+ \rightleftharpoons M(H_3L)$
	M(HL)	15,17(8)	5,55	$M^{2+} + HL \rightleftharpoons M(HL)$
	ML(OH)	-3,77(11)	9,99	$M^{2+} + L + H_2O \rightleftharpoons ML(OH)$

Na podstawie otrzymanych widm dystrybucji form powstających w analizowanych układach określono pH dominacji oraz procentową zawartość jonów metali dla każdej z wyznaczonych form kompleksowych. Proces kompleksowania w układach równomolowych oraz z nadmiarową ilością liganda zaczyna się przy pH poniżej 2,5 (Rys. 2). W układach 1:1 formy Cu(H₄L) oraz Ni(H₃L) dominują w układzie przy pH około 2,5 i wiążą odpowiednio 20% i 90% jonów metali (Rys. 2a i 2e). W układzie z jonami kobaltu(II) pierwszą powstającą formą jest Co₂L₂H, która dominuje przy pH około 3,5 i wiąże blisko 30% jonów Co(II) (Rys. 2c). W układach z nadmiarem liganda kompleks typu M(HL) dominuje w analizowanych układach do pH około 6,0 dla kompleksu Cu(HL) oraz do pH około 8,0 dla kompleksu Ni(HL) (Rys. 2b i 2f). Kompleks CoL₂ dominuje w układzie w zakresie pH od 4,0 do 9,0, wiążąc około 80% jonów kobaltu(II) (Rys. 2d). Przy wyższych wartościach pH w obu analizowanych stosunkach molowy dominują hydroksokompleksy, które wiążą od 55-100% jonów metali. W układach zawierających jony miedzi(II) przy pH około 8,0 dominuje wodorotlenek miedzi(II) wiążąc blisko 90% jonów Cu(II) obecnych w roztworze (Rys. 2a i 2b).



Rys. 2. Krzywe dystrybucji form w układach: a) Cu(II)/UDP- GlcNAc 1:1, b) Cu(II)/UDP- GlcNAc 1:2, c) Co(II)/UDP- GlcNAc 1:1, d) Co(II)/UDP- GlcNAc 1:2, e) Ni(II)/UDP- GlcNAc 1:1, f) Ni(II)/UDP- GlcNAc 1:2

Przeprowadzone badania spektroskopowe UV-Vis oraz EPR pozwoliły na określenie składu wewnętrznej sfery koordynacyjnej analizowanych związków. W niskich wartościach pH w wewnętrznej sferze koordynacyjnej analizowanych jonów metali obecne są atomy tlenu reszt fosforanowych $-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}$. Wzrost pH prowadzi do deprotonacji atomu azotu $-\text{N}(3)\text{H}$ z pierścienia urydyny, co pozwala na włączenie tego atomu do wewnętrznej sfery koordynacyjnej atomu centralnego.

Wnioski: Przeprowadzone badania oraz otrzymane wyniki pozwoliły na pełną charakterystykę badanych układów. Dzięki analizie uzyskanych danych określono formy kompleksowe, które występują w badanych układach: $\text{M}(\text{H}_x\text{L})$ oraz $\text{ML}(\text{OH})_x$. Wykazano również występowanie form typu $\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_x$ oraz ML_2H_x dla układów z jonami kobaltu(II). Dla wszystkich uzyskanych form kompleksowych wyznaczono ogólne stałe trwałości ($\log\beta$) oraz stałe równowag reakcji tworzenia ($\log K_e$), a na podstawie przygotowanych krzywych dystrybucji określono pH dominacji kompleksów oraz procentową zawartość

jonów metali w ich strukturach. Skład wewnętrznej sfery koordynacyjnej analizowanych form kompleksowych określono z wykorzystaniem metod spektroskopowych UV-Vis oraz EPR. W wewnętrznej sferze koordynacyjnej analizowanych jonów metali znajdują się atomy tlenu reszt fosforanowych oraz atom azotu z pierścienia nukleotydu.

Literatura:

1. M., Qiao, B., Li, Y., Ji, L., Lin, R., Linhardt, X., Zhang, Critical Reviews in Biotechnology, (2020) 2.
2. D., Maryuama, Y., Nishitani, T., Nonaka, A., Kita, T., A., Fukami, T., Mio, H., Yamada-Okabe, T., Yamada-Okabe, K., Miki, The Journal of Biological Chemistry, 282 (2007) 17221.
3. R., Lehmann, M., Huber, A., Beck, T., Schindera, T., Rinkler, B., Houdali, C., Weigert, H.,-U., Haring, W., Voelter, E., W., Schleicher, Electrophoresis, 21 (2000) 3010.
4. J., A., Wyllie, M., V., McKay, A., S., Barrow, T., P., Soares da Costa, IUBMB Life, 74 (2022) 1232.
5. M., A., Zoroddu, J., Aaseth, G., Crisponi, S., Medici, M., Peana, V., M., Nurchi, Journal of Inorganic Biochemistry, 195 (2019) 120.
6. K., Czarnek, S., Terpiłowska, A., K., Słwicky, Central European Journal of Immunology, 40 (2015) 236.
7. A., Horodyjewska, Ł., Popiołek, J., Kocot, Biometals, 2014, 27, 611-621
8. S., Mittapally, R., Taranum, S., Parveen, Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 8 (2018) 411.
9. B., Zambelli, S., Cciurli, Met. Ions life Sci., 13 (2013) 321.

WYKORZYSTANIE GLICEROLU I SYNTETYCZNEGO HYDROLIZATU LIGNOCELULOZOWEGO W PRODUKCJI WODORU I KWASU KAPRONOWEGO W PROCESACH FERMENTACYJNYCH

D. SOBOCIŃSKI, R. ZAGRODNIK, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, Zakład Technologii Chemicznej, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: Hydrolizat lignocelulozowy oraz glicerol odpadowy stanowią tani oraz zrównoważony surowiec do produkcji biopaliw i biochemikaliów w procesach fermentacyjnych. W naszym badaniu porównano system jedno- i dwuetapowy produkcji biowodoru i kwasu kapronowego wobec tego typu kosubstratu. Badania te dowiodły, że zarówno pH jak i konfiguracja reaktorów mają kluczowy wpływ na produkcję tych substancji. Najwyższą produkcję uzyskano w systemie dwuetapowym przy pH 7.0 jednocześnie wykazując, że glicerol ulega redukcji do propano-1,3-diolu, a mieszana kultura bakteryjna nie jest zdolna do produkcji etanolu w tych warunkach.

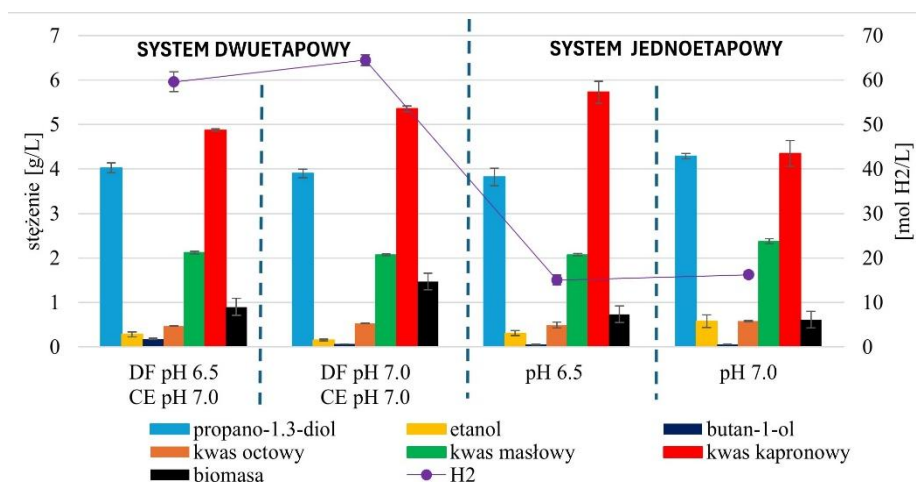
Wprowadzenie: Zarówno sektor energetyczny jak i przemysłowy uzależnione są od zasobów paliw kopalnych. Na skutek ich spalania do środowiska uwolnione zostają stałe i gazowe zanieczyszczenia stwarzając poważny problem środowiskowy jakim jest m.in. globalne ocieplenie [1]. Aby temu przeciwdziałać Unia Europejska do 2050 roku planuje zredukować emisję gazów cieplarnianych o 80-95% [2]. Substytutem dla tradycyjnych paliw mogą być biopaliwa i biochemikalia pozyskiwane z zasobów odnawialnych. Przykładem tego jest biowodór, otrzymywany na drodze procesu ciemnej fermentacji z biomasy lignocelulozowej. Surowiec ten jest tani i przyjazny do środowiska, jednak jego złożona budowa wymaga stosowania odpowiedniej obróbki wstępnej [1]. Powstający w jej trakcie hydrolizat stanowi mieszaninę cukrów prostych tj. glukoza, ksyloza czy arabinoza [3]. Związki te w czasie fermentacji przekształcane są przez mikroorganizmy do biowodoru oraz octanu (C2) i maślanu (C4) jako produktów ubocznych. Oprócz biomasy duże zainteresowanie w procesie ciemnej fermentacji wzbudza również glicerol, uznawany za odpad przemysłowy produkcji biodiesla. Dzieje się tak, ponieważ popyt na odpadowy glicerol jest znacznie mniejszy niż podaż, przez co jest tani i ma wysokie chemiczne zapotrzebowanie na tlen kształtujące się na poziomie 1260 g/L [4]. Co ciekawe zanieczyszczenia obecne w odpadowym glicerolu nie mają negatywnego wpływu na wydajność procesu [5]. Zaś sam rozkład glicerolu możliwy jest na skutek przemian redukcyjnych lub oksydacyjnych. W przypadku tych ostatnich produkowany może być m.in. etanol [6]. Jest on wykorzystywany przez *C. kluyveri* jako donor elektronów do produkcji kwasu kapronowego (C6) przy jednoczesnej utylizacji C2 i C4 w odwrotnej β -oksydacji. C6 z racji swoich właściwości stosowany jest do produkcji smarów, barwników, substancji zapachowych oraz dodatków do pasz [4]. Celem przeprowadzonych badań było porównanie wpływu pH na produkcję biowodoru i kwasu kapronowego w jedno- i dwuetapowym systemie ciągłym. Dodatkowo badanie to miało określić możliwość rozkładu glicerolu do etanolu wobec mieszanej kultury bakteryjnej.

Część eksperymentalna: Badania przeprowadzono w butelkach szklanych, pełniących rolę reaktorów typu CSTR. System jednoetapowy składał się z pojedynczego reaktora (HYB) o objętości roboczej 600 mL. Natomiast system dwuetapowy zbudowany był z dwóch odrębnych reaktorów. W pierwszym reaktorze o objętości roboczej 150 mL prowadzono proces ciemnej fermentacji (DF), natomiast w drugim (CE) o objętości roboczej 600 mL wydłużanie łańcucha krótkołańcuchowych kwasów karboksylowych, powstających w reaktorze DF. Ciągła praca obu systemów zapewniona została przez synchroniczne działanie pomp perystaltycznych. Pożywka dostarczana do reaktora DF oraz HYB zawierała 10g/L glicerolu, syntetyczny hydrolizat lignocelulozowy (SHL) (4 g/L glukozy, 2,5 g/L ksylozy, 2,5 g/L arabinozy, 1 g/L celobiozy) oraz makro- i mikroelementy w tym również ekstrakt drożdżowy i pepton. Dodatkowo do reaktora CE oraz HYB dostarczano etanol 5 g/L. Stabilizację pH (Tab. 1) w reaktorach osiągnięto za pomocą elektrod ELMETRON EPP-1 i sterowników kontrolujących dozowanie 4M NaOH do reaktorów. Reaktory termostатовane były w łaźni wodnej w temperaturze 35°C, przy 80 rpm. Procesy fermentacyjne prowadzono w warunkach beztlenowych wobec mieszanej kultury bakteryjnej [7] oraz czystego szczepu *C. kluyveri*. W systemie dwuetapowym kultury te zaszczerpiono do odrębnych reaktorów (DF – mieszana kultura, CE – *C. kluyveri*) zaś w systemie jednoetapowym połączono obie kultury w ramach jednego reaktora. Produkcję biowodoru mierzono metodą wyporu cieczy po absorpcji CO₂. Natomiast skład ciekłych metabolitów metodą HPLC, wspomagana metodą GC. Przyrost biomasy określono poprzez pomiar gęstości optycznej metodą spektrofotometryczną przy $\lambda = 600 \text{ nm}$ [7].

Tabela 1. Warunki pH i HRT utrzymywane w reaktorach w badaniach.

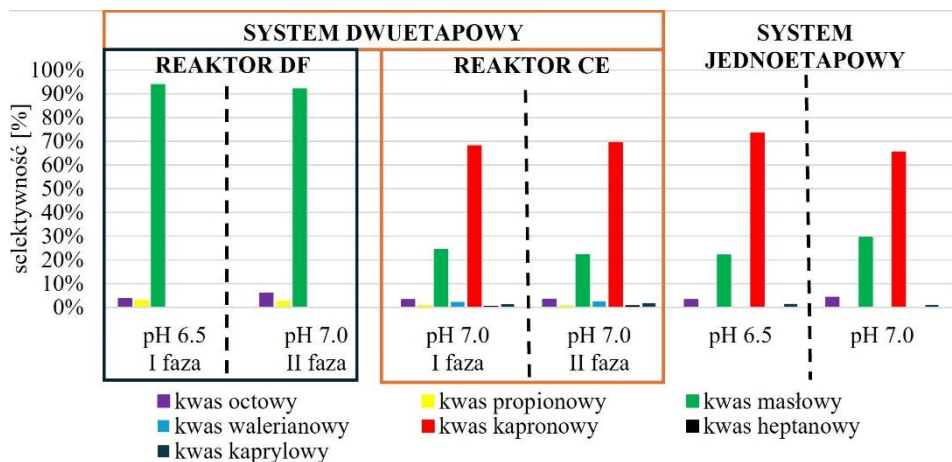
FAZA BADAŃ	SYSTEM JEDNOETA- POWY (HRT 8 dni)	SYSTEM DWUETAPOWY	
		Reaktor DF (HRT 2 dni)	Reaktor CE (HRT 8 dni)
I faza	7.00	6.50	7.00
II faza`	6.50	7.00	7.00

Wyniki: Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że biowodór był produkowany w obu systemach. Zaś modyfikacja pH z 6.5 na 7.0 w reaktorze DF spowodowała 1.78-krotny wzrost produkcji biowodoru w reaktorze CE. Największą sumaryczną produkcję biowodoru wynoszącą $64.47 \pm 1.19 \text{ mmolH}_2/\text{L}$ (rys. 1) zaobserwowano w systemie dwuetapowym w drugiej fazie badań. Przy czym blisko 98% biowodoru zostało wygenerowane w reaktorze DF. Tym samym badanie to wykazało, że biowodór produkowany w reaktorze CE jest produktem śladowym. Wysoka produkcja biowodoru spowodowana była znacznym przyrostem biomasy w reaktorach, której łączne stężenie wynosiło 1.47 g/L. Porównując oba systemy zauważono, że HYB odznaczał się kilkukrotnie niższą produkcją biowodoru niż system dwuetapowy. Regulacja pH w HYB na poziomie 6.5 oraz 7.0 nie wpływa na produkcję biowodoru. W efekcie, w obu badanych pH produkcja biowodoru była na podobnym poziomie osiągając $16.23 \pm 0.78 \text{ mmolH}_2/\text{L}$ dla pH 7.00.



Rys. 1. Produkcja biowodoru, biomasy oraz niektórych metabolitów w poszczególnych systemach.

Analiza składu ciekłych metabolitów wykazała śladowe ilości nieprzereagowanych substratów oraz wysokie stężenie kwasów karboksylowych C2-C6. W reaktorach stwierdzono również niewielkie stężenie kwasu heptanowego, kaprylowego oraz butanolu. W reaktorze DF dominującymi produktami organicznymi przy pH 7.0 był kwas masłowy (selektywność 93.68%) (rys.2) oraz kwas octowy ich stężenie wynosiło odpowiednio 5.33 ± 0.07 g/L i 0.58 ± 0.03 g/L. Integracja reaktora DF z reaktorem CE pozwoliła na obniżenie stężenia kwasu C4 o blisko 60% przy jednoczesnym wzroście produkcji kwasów C6-C8, osiągając maksymalne stężenie kwasu kapronowego 5.35 ± 0.64 g/L przy pH 7.0 dla reaktora DF. Dzienna produkcja C6 w tych warunkach wynosiła 0.67 g/L.d. Natomiast stopień przereagowania etanolu był równy 96.93%. Porównując system jednoetapowy z systemem dwuetapowym należy zauważyć, że HYB cechował się wyższą produkcją C6 przy pH 6.5 osiągając stężenie 5.73 ± 0.25 g/L, przy dziennej produkcji 0.72 g/L.d i stopniu przereagowania etanolu 93.80%. Dodatkowo w obu systemach stwierdzono obecność propoano-1,3-diolu (1,3-PD), którego stężenie niezależnie od warunków pH wynosiło ok. 4 g/L. Związek ten jest produktem redukującego rozkładu glicerolu [6]. Potwierdzają to również nasze badania, ponieważ związek ten nie został zaobserwowany w naszych innych eksperymentach, w których źródłem węgla była wyłącznie mieszanina cukrów [7]. Obecność 1,3-PD w reaktorze DF wskazuje, że związek ten został wytworzony na drodze procesów fermentacyjnych prowadzonych przez mieszaną kulturę bakteryjną. Z kolei stała wartość stężenia potwierdza, że jednoczesna koferementacja glicerolu i SHL sprzyja produkcji 1,3-PD [3]. Produkcja kwasu kapronowego w reaktorze CE wobec 1,3-PD wskazuje, że związek ten nie jest inhibitorem produkcji C6. Jednocześnie brak zmian stężenia w CE dowodzi to, że substancja ta nie jest dalej metabolizowana przez *C. kluyveri* w procesie wydłużania łańcucha krótkołańcuchowych kwasów karboksylowych tj. C2 i C4.



Rys. 2. Selektowność produkcji kwasów organicznych w systemie jedno- i dwuetapowym.

Analizując selektowność produkcji poszczególnych kwasów (rys. 2) w obu systemach można zauważyć, że najwyższą selektownością na tle pozostałych kwasów karboksylowych odznaczał się kwas kapronowy oraz kwas masłowy. W systemie jednoetapowym selektowność produkcji kwasu kapronowego wynosiła 73.37% przy pH 6.5. Zwiększenie pH do 7.0 w tym systemie spowodowało obniżenie selektowności produkcji kwasu kapronowego do 65.35% skutkując jednocześnie wzrostem udziału kwasu masłowego w odcieku do 29.42%. Natomiast w systemie dwuetapowym selektowność produkcji kwasu kapronowego była na poziomie około 69% w obu badanych warunkach pH.

Wnioski: Podsumowując, badania wykazały, że możliwe jest wykorzystanie glicerolu oraz SHL do produkcji biowodoru i kwasu kapronowego w systemie ciągłym. Przy zachowaniu pH 7.0 w obu reaktorach w systemie dwuetapowym odnotowano najwyższą jednoczesną produkcję tych substancji, co stanowi istotną korzyść. Nie pozwala na to system jednoetapowy, w którym uzysk biowodoru jest niewielki w porównaniu z produkcją kwasu kapronowego. W przypadku tego systemu zachowanie pH 6.5 prowadzi do uzyskania nieznacznie wyższej produkcji kwasu kapronowego niż w optymalnych warunkach w systemie dwuetapowym. Wyniki te zachęcają do dalszych badań w kierunku zastąpienia SHL odpadami spożywczymi.

Podziękowanie: Badania zrealizowano w ramach projektu o nr 102/13/SNŚ/0018 finansowanego w programie „Inicjatywa Doskonałości-Uczelnia Badawcza”

Literatura:

1. N. Nirmala, G. Praveen, S. AmitKumar, et al., Science of The Total Environment 896 (2023) 165143.
2. S. Mehariya, A. Signorini, A. Marone, S. Rosa, Energies 16 (2023) 4490.
3. B. Xin, Y. Wang, F. Tao, L. Li, C. Ma, P. Xu, Sci Rep 6 (2016) 19044.
4. R.I. Dams, M.B. Viana, A.A. Guilherme, et al., Biomass and Bioenergy 118 (2018) 1.
5. J. Kazimierowicz, M. Dębowski, M. Zieliński, S. Kasiński, J. Cruz Sanchez, Energies 17 (2024) 338.
6. MdE. Khalil, A. Jain, K.L. Yang, G. Rajagopalan, International Journal of Hydrogen Energy 48 (2023) 33810.
7. R. Zagrodnik, D. Sobociński, International Journal of Hydrogen Energy 52 (2024) 378.

ANALIZA ADSORPCJI ANTOCYJANÓW NA POWIERZCHNI BENTONITU

K. TABOR², V. PAIENTKO^{1,2}, E. DEMIANENKO¹, O. FILONENKO¹, A. GREBENYUK¹, O. YESYPCHUK³, A. GŁADYSZ-PLASKA², ¹Instytut Chemii Powierzchni Chuiko, NAS Ukrainy, Kijów, Ukraina; ²UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Nieorganicznej, pl. M.C. Skłodowskiej 20-031 Lublin, Polska; ³Klinika Medycyny Personalizowanej NATUREL, Zielona 10/29, 05-500 Piaseczno, Polska

Abstrakt: Ostatnio szerokie zastosowanie w przemyśle, technologiach ochrony środowiska, przetwórstwie żywności oraz farmacji znalazły naturalne warstwowe krzemiany, a wśród nich główny składnik glin bentonitowych, czyli montmorylonit o wzorze chemicznym $(\text{Na,Ca})_{0,3}(\text{Al,Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Wynika to z połączenia szeregu jego właściwości fizykochemicznych, takich jak wysoka zdolność adsorpcyjna, odporność termiczna, aktywność katalityczna, wysoka pojemność wymiany kationowej oraz zdolność zatrzymywania wilgoci przy niskim koszcie materiału i wygodzie użytkowania. Materiały kompozytowe na bazie bentonitu i surowców roślinnych, mają duży potencjał w tworzeniu kosmetyków przeciwdziałających glikacji skóry i wspierających jej nawilżenie. Możliwe jest to dzięki zawartości składników aktywnych, takich jak na przykład antocyjany. Celem niniejszej pracy było wykonanie obliczeń kwantowo-chemicznych i ustalenie struktury zaadsorbowanych na bentonicie antocyjanów, czyli roślinnych składników aktywnych. Szczególną uwagę skupiono na cząsteczce cyjaniny ulokowanej na powierzchni bentonitu.

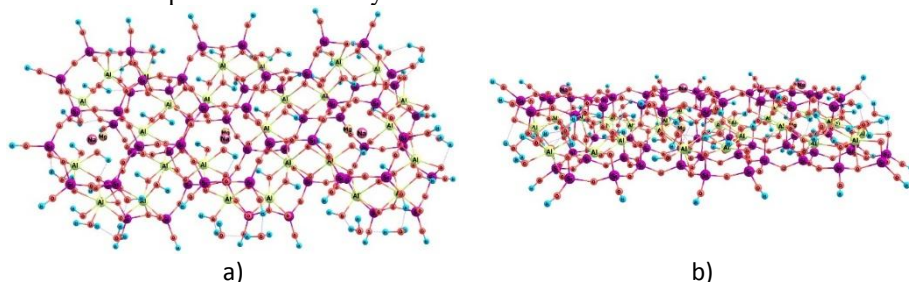
Wprowadzenie: Podstawowym składnikiem bentonitu jest minerał montmorylonit. W jego strukturze występują tetraedryczne warstwy krzemianowe, oddzielone przestrzeniami międzywarstwowymi wypełnionymi cząsteczkami wody i wymiennymi kationami. Warstwy krzemianowe są połączone z oktaedrami glinowo-magnezowymi. W montmorylonicie w warstwie oktaedrycznej jony Mg^{2+} zastępują w określonych pozycjach jony Al^{3+} . Te substytucje zazwyczaj prowadzą do powstania ujemnie naładowanej warstwy, której neutralność jest zapewniana przez kationy jednowartościowe (Na^+ , K^+ , Li^+) lub dwuwartościowe (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+}). Bentonit oprócz montmorylonitu zawiera jeszcze inne minerały. Może to być kaolinit, który wpływa na plastyczność, illit, który zmniejsza zdolność pęcznienia, czy zanieczyszczenia takie jak kwarc i skalenie. Na podstawie dominujących kationów międzywarstwowych wyróżnia się kilka rodzajów bentonitu. Bentonit sodowy (Na-bentonit), cechuje go wysoka zdolność do pęcznienia a w kontakcie z wodą tworzy żel. Ma zastosowanie jako uszczelniacz, środek zagęszczający i adsorbent. Bentonit wapniowy (Ca-bentonit) ma mniejszą zdolność do pęcznienia w porównaniu z bentonitem sodowym, jest używany w przemyśle odlewniczym i wiertnictwie jako środek wiążący, poprzez aktywację sodową można go przekształcić w bentonit sodowy. Bentonit potasowy i magnezowy są rzadszymi odmianami o pośrednich właściwościach do bentonitu sodowego i wapniowego. Największe złoża bentonitu występują w USA, Turcji, Grecji, Indii i Chinach. W Polsce występują niewielkie pokłady bentonitu, głównie w Sudetach i Pieninach.

Cyjanina jest organicznym barwnikiem, który należy do grupy polimetinów. Budują ją dwa układy heterocykliczne połączone mostkiem polimetynowym. Cechuje ją intensywne

zabarwienie, zdolność do absorpcji i fluorescencji w zakresie widzialnym i bliskiej podczerwieni. Dobrze rozpuszcza się w wodzie, zwłaszcza w postaci soli oraz ma wysoką stabilność chemiczną. Cyjanina znalazła zastosowanie w biotechnologii i medycynie, fotochemii i technologii optycznej oraz w przewodnictwie organicznym.

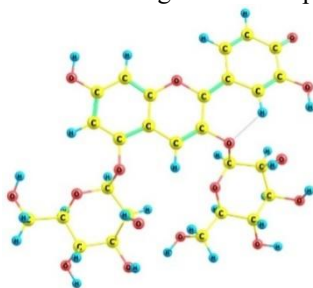
Część eksperymentalna: Przygotowano kompozyty, do których użyto: jako glinki- bentonitu, jako krzemionek: diatomitu, krzemionki A300 oraz krzemionki Chempur, jako roślin: azyminy, akepii, berberysu niebieskiego, jarzębiny granatnej i brasilonemy. Na wadze analitycznej w naczynku wagowym odważono 6,7 g bentonitu, 0,3 g krzemionki oraz 3 g rośliny. Zawartość próbek mielono przez 5 minut przy pomocy młynka elektrycznego w celu uzyskania jednorodnych kompozytów.

Wyniki: Model Na-montmorylonitu został zbudowany na podstawie stechiometrycznej objętościowej struktury pirofilitytu $\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{10}$. W warstwie oktaedrycznej klastra, który modeluje pirofilityt o składzie $15(\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{10}) \cdot 32\text{H}_2\text{O}$, trzy atomy Al zostały zastąpione atomami Mg. W celu uzyskania ładunku obojętnego wprowadzono trzy atomy Na, które początkowo były rozmieszczone nad heksagonalnymi pierścieniami krzemowo-tlenowymi. Nienasycone wartościowości na obrzeżach klastra zostały zneutralizowane poprzez dodanie atomów wodoru i cząsteczek wody. Stechiometryczny wzór utworzonego klastra Na-montmorylonitu to $\text{Na}_3\text{Mg}_3\text{Al}_{27}\text{Si}_{60}\text{H}_{94}\text{O}_{212}$, a jego równowagowa struktura przestrzenna została przedstawiona na rys.1.



Rys. 1. Równowagowa struktura przestrzenna klastra Na-montmorylonitu: a – powierzchnia bazowa, b – powierzchnia wierzchołkowa (boczna), $\text{Na}_3\text{Mg}_3\text{Al}_{27}\text{Si}_{60}\text{H}_{94}\text{O}_{212}$.

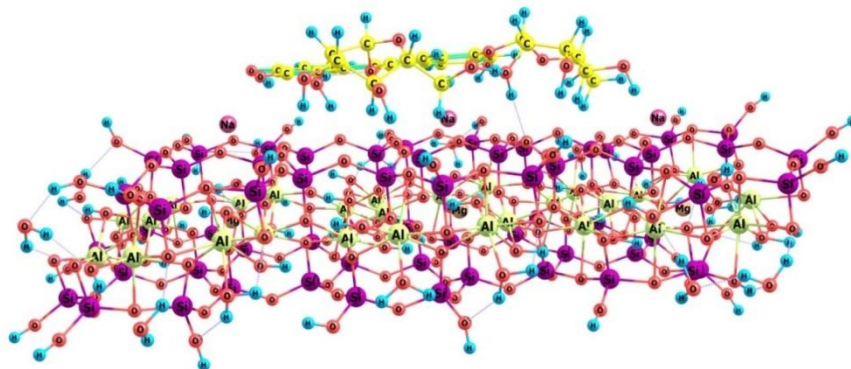
Do badania kompleksów antocyjanów wybrano niejonizowaną formę cząsteczki cyjaniny o wzorze sumarycznym $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$, ponieważ, jak wiadomo z literatury, dominuje ona przy pH = 5–8. Taka wartość pH jest najbardziej pożądana w przypadku produktów chemii kosmetycznej. Jej struktura równowagowa została przedstawiona na rysunku 2.



Rys. 2. Równowagowa struktura niejonizowanej formy cząsteczki cyjaniny.

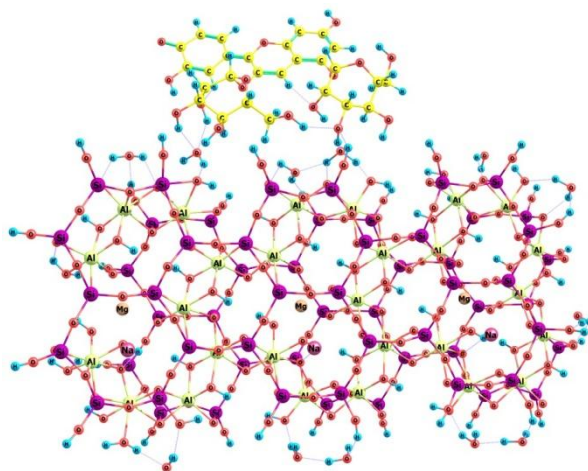
Obliczenia przeprowadzono półempiryczną metodą PM6-D3H4, która uwzględnia oddziaływania kowalencyjne, wodorowe oraz dyspersyjne [1], z wykorzystaniem programu MOPAC 2016 [2]. W pracy zastosowano podejście klastrowe.

Wnioski: Analiza wyników obliczeń kwantowo-chemicznych wykazała, że energetycznie najkorzystniejsze jest powstanie kompleksu, w którym cząsteczka cyjaniny adsorbuje się na siloksanowej powierzchni. Enthalpia adsorpcji (ΔH 298K) wynosi -285 kJ/mol, co oznacza, że proces jest egzotermiczny. Równowagowa struktura tego kompleksu adsorpcyjnego została przedstawiona na rys. 3. Jak wynika z rysunku, cząsteczka adsorbatu jest ułożona praktycznie równolegle do powierzchni siloksanowej. Oprócz wiązań wodorowych, powstających między atomami tlenu w mostkach Si-O-Si powierzchni montmorylonitu a grupami -OH cząsteczki adsorbowanej, główny wkład w energię oddziaływania wnoszą siły elektrostatyczne.



Rys. 3. Równowagowa struktura kompleksu powstałego w wyniku adsorpcji cząsteczki cyjaniny na powierzchni klastra montmorylonitu.

Okolo 25% całkowitej powierzchni stanowi powierzchnia zewnętrzna. Charakteryzuje się ona bardziej złożoną strukturą, obejmującą grupy hydroksylowe oraz zaadsorbowane cząsteczki wody, a także obecnością atomów glinu o koordynacji sześciokrotnej i pięciokrotnej. Kompleks adsorpcyjny tworzy się dzięki wiązaniami wodorowym pomiędzy grupami Al-OH i Si-OH powierzchni a grupami OH adsorbowanej cząsteczki cyjaniny. Wartość entalpii $\Delta H_{298} = -283$ kJ/mol, jest o 2 kJ/mol mniejsza w porównaniu do wartości ΔH odpowiadającej adsorpcji na wewnętrznej powierzchni modelu adsorbentu.



Rys. 4. Równowagowa struktura kompleksu powstałego w wyniku adsorpcji cząsteczki cyjaniny na wewnętrznej powierzchni klastra montmorylonitu.

Wyniki teoretycznego modelowania wskazują na preferencyjną adsorpcję cząsteczek cyjaniny na wewnętrznej powierzchni montmorylonitu, co jest spowodowane dominującymi oddziaływaniami elektrostatycznymi.

Podziękowanie: Project Visegrad Scholarship ID 52410142 "Effective processing of brewery waste into final cosmetic products" 01.09.2024 - 30.06.2025.

Literatura:

1. J. Řezáč, P. Hobza, *Journal of Chemical Theory and Computation* 8 (2011) 141.
2. J.P. James, P. Stewart, *Stewart Computational Chemistry*, Colorado Springs, CO, USA, 2016, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net).
3. S. Praetorius, B. Schoßer, *Bentonite Handbook: Lubrication for Pipe Jacking*, 2017.
4. R.B. Williams, *Bentonite, Kaolin, and Selected Clay Minerals*, 2005.
5. Z. Adamis, R.B. Williams, *Bentonite, Kaolin, and Selected Clay Minerals*, 2005.
6. K. Ryłko, et al., *Wpływ procesu aktywacji na właściwości bentonitów*, 2023.
7. J. Wyszomirski, B. Lewicka, *Bentonity jako uniwersalny surowiec wielu dziedzin przemysłu*, 2005.
8. D. Zimmerman, *Cyanine Dyes: Structure, Uses and Performance*, 2020.
9. F.M. Hamer, *The Cyanine Dyes and Related Compounds*, 2009.

PEKTYNAZY – WŁAŚCIWOŚCI I PRZEMYSŁOWE ZASTOSOWANIE

I. TSYBULSKI, S. PANASEVICH, A. DOWBYSZ, M. SAMSONOWICZ, Politechnika Białostocka, Instytut Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Chemii, Biologii i Biotechnologii ul. Wiejska 45A, 15-351 Białystok

Abstrakt: Pektynazy to grupa enzymów odpowiedzialnych za hydrolizę pektyn – polisacharydów obecnych w ścianach komórkowych roślin. Obecnie ich produkcja zajmuje wiodącą pozycję wśród wszystkich komercyjnie produkowanych enzymów przemysłowych. Pektynazy jako przyjazne dla środowiska narzędzia pochodzenia naturalnego znalazły zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, między innymi w przetwórstwie spożywczym i owocowo-warzywnym, w przemyśle winiarskim, papierniczo-celulozowym, tekstylnym. Enzymy pektynolityczne odgrywają również ważną rolę w mniej oczywistych zastosowaniach, takich jak produkcja kawy, herbaty, ekstrakcja olejów roślinnych czy produkcja pasz dla zwierząt. Użycie pektynaz jako specyficznych katalizatorów chemicznych pozwala też na zastosowanie mniej agresywnych i oszczędnych energetycznie technologii. W niniejszym przeglądzie omówiono zastosowanie pektynaz w różnych procesach przemysłowych oraz perspektywy dalszych badań nad ich wykorzystaniem.

Wprowadzenie: Pektynazy to grupa enzymów, które odgrywają kluczową rolę w procesach degradacji pektyn – polisacharydów obecnych w ścianach komórkowych roślin. Pektyny są złożonymi strukturami polisacharydowymi, które pełnią funkcję spajającą komórki roślinne, zapewniając im stabilność i wytrzymałość. Enzymy degradujące pektyny ze względu na ich działania katalityczne dzielą się na trzy główne grupy: protopektynazy (PP), pektynesterazy (PE) i depolimerazy. PP przekształcają nierozpuszczalną protopektynę w rozpuszczalną formę pektyny. Do (PE) należą metylo- i acetyloesterazy pektynowe (PME i PAE), które powodują deestryfikację pektyn, usuwając reszty metoksyłowe i acetylowe z pektyny w wyniku czego powstaje kwas poligalakturnowy. Do trzeciej grupy należą poligalakturnazy (PG), pektolazy i pektyn liazы (PL), które rozkładają wiązania α -1,4-glikozydowe w pektynie poprzez hydrolizę czy transeliminację, przekształcając ją w prostsze związki, takie jak kwas galakturonowy, galaktoza czy metanol [1]. Zainteresowanie pektynazami gwałtownie wzrosło w ostatnich dekadach ze względu na ich szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. W ciągu ostatnich 10 lat ukazało się wiele prac naukowych dotyczących optymalizacji warunków produkcji oraz procesów przemysłowych, w których biorą udział enzymy z tej grupy. Wizualizacja sieci bibliograficznej oparta na danych z biblioteki cytowań Scopus pod względem współwystępowania wybranych słów kluczowych została przedstawiona na rysunku 1. Okręgi i rozmiary etykiet wizualizują wagi współwystępowania słów kluczowych „pektynazy”, „zastosowanie”, „przemysł”. Rysunek 1 wskazuje, że najwięcej uwagi poświęca się waloryzacji, czyli odzyskowi substancji cennych z odpadów i ścieków różnego pochodzenia z zastosowaniem pektynaz i optymalizacji procesów z udziałem tych enzymów. Dużo uwagi poświęca się również procesom immobilizacji pektynaz z zastosowaniem różnych nośników w celu podwyższenia ich stabilności operacyjnej w trudnych warunkach przemysłowych.

Pektynazy mogą pochodzić z różnych źródeł: bakterii, grzybów i drożdży. Bakterie (np. *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*) produkują pektynazy neutralne lub zasadowe, stabilne w szerokim zakresie pH, wykorzystywane głównie w procesach przemysłowych. Grzyby, zwłaszcza *Aspergillus sp.* i *Penicillium notatum*, są źródłem kwaśnych pektynaz, często stosowanych w przemyśle spożywczym. Drożdże, takie jak *Saccharomyces cerevisiae* i *Metschnikowia pulcherrima*, wykazują aktywność poligalakturnazową i znajdują zastosowanie w fermentacji kawy oraz poprawie jakości wina [2]. W tabeli 1 przedstawiono przykłady zastosowań przemysłowych różnych grup pektynaz wraz ze wskazaniem źródła ich pozyskiwania.

Typ enzymu	Źródło enzymu	Zastosowanie	Lit.
PME	Bakterie: <i>Bacillus sp</i>, <i>Enterobacter spp.</i> Grzyby: <i>Aspergillus niger</i> ZJ5, <i>Aspergillus foetidus</i> Drożdże: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain KNU18Y12 i KNU18Y13)	Spożywczy: Klarowanie „przezroczystych” soków (np. jabłkowych, gruszkowych), redukcja lepkości, kontrola aktywności endogennych PME, ograniczenie metanolu w napojach fermentowanych. Produkcja dżemów i galaretek o niskiej zawartości cukru dzięki modyfikacji stopnia estyfikacji pektyn. Biomasa: Degradacja ścian komórkowych roślin, zwiększenie wydajności ekstrakcji pektyny, poprawa sacharyfikacji biomasy, współdziałanie z innymi enzymami pektolitycznymi. Wydobywanie olejów roślinnych (np. oliwy, oleju kokosowego) z wykorzystaniem enzymatycznej degradacji ścian komórkowych. Tekstylny i papierniczy: Ekologiczne przygotowanie surowców (odgumowanie, oczyszczanie), redukcja zużycia energii i chemikaliów. Inne zastosowania: Ekstrakcja olejów roślinnych z nasion (np. kokos, słonecznik), enzymatyczne obieranie delikatnych owoców (np. pomarańcze), zwiększenie odporności roślin na patogeny (np. poprzez regulację metabolizmu pektyn w ścianach komórkowych).	[3], [4], [5], [6], [7].

PG	Bakterie: <i>Bacillus firmus</i>, <i>Erwinia carotovora</i> Grzyby: <i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>Lentinus edodes</i>, <i>Trichoderma harzianum</i> Drożdże: <i>Wickerhamomyces anomalous</i>	Spożywczy: Ekstrakcja i klarowanie soków – redukcja lepkości, zwiększenie wydajności ekstrakcji, poprawa stabilności i przejrzystości soków. Produkcja kwasów oligogalakturnowych (OG) o działaniu prozdrowotnym-immunomodulacyjnym, antibakteryjnym i antynowotworowym. Paszowy: Ułatwienie trawienia pektyn w paszach dla zwierząt, poprawa przyswajania składników odżywczych, regulacja mikroflory jelitowej i zwiększenie biodostępności składników pokarmowych. Tekstylny: Bioscouring włókien bawełnianych – ekologiczne oczyszczanie tkanin, poprawa chłonności wody, zwiększenie wytrzymałości tkanin oraz ograniczenie stosowania szkodliwych substancji chemicznych. Papierniczy: Zwiększenie jakości papieru poprzez degradację pektyn w masie papierniczej, zmniejszenie ilości kationów w procesie bielenia alkalicznego i poprawa właściwości retencyjnych pulpy.	[3], [4], [5], [8].
PL	Bakterie: <i>Bacillus</i> sp. GIR 621. Grzyby: <i>Schizophyllum commune</i>, <i>Penicillium paxilli</i>	Tekstylny: Stosowane w bioscouringu bawełny i degumowaniu ramii. Usuwa pektyny i tłuszcze, poprawiając jakość włókien, zwiększając zwilżalność, zmniejszając zużycie wody i chemikaliów oraz ograniczając emisję ścieków. Oczyszczanie ścieków: Degradują pektyny w ściekach z przemysłu spożywczego, szczególnie w przetwórstwie cytrusów i warzyw. Bakterie alkalofilne (np. <i>Bacillus</i> sp. GIR 621), obniżają zawartość pektyn w ściekach nawet o 91%. Ekstrakcja oleju: Ułatwiają separację oleju z miazgi oliwnej, zwiększając wydajność ekstrakcji. Spożywczy: Używane do klarowania w produkcji „mętnych” soków (np. pomidorowych, nektarów). Przemysł papierniczy: Zwiększają efektywność filtracji i obróbki masy celulozowej poprzez rozkład pektyn.	[3], [4], [5], [9].

Pektynazy odgrywają kluczową rolę w wielu gałęziach przemysłu. W przemyśle spożywczym stosuje się je głównie do klarowania i filtracji soków owocowych, co poprawia ich jakość i stabilność [7]. Używane są także w produkcji wina, gdzie wpływają na klarowność i barwę trunku [5]. W procesie ekstrakcji olejów, np. oliwy z oliwek, zwiększają wydajność i poprawiają jakość oleju [9]. W przemyśle tekstylnym pektynazy stosuje się w biooczyszczaniu bawełny (bio-scouring) i usuwaniu substancji kleistych z włókien bast (degumming), co umożliwia ekologiczne przygotowanie tkanin [9]. W przemyśle papierniczym poprawiają jakość masy papierniczej, zmniejszając zużycie chemikaliów podczas bielenia [8]. W ochronie środowiska znajdują zastosowanie w oczyszczaniu ścieków zawierających pektyny, ułatwiając ich biologiczny rozkład [9]. W produkcji herbaty i kawy wspomagają procesy fermentacji, poprawiają smak, klarowność naparu oraz usuwają warstwę mucylaginy z ziaren kawy, co przyspiesza fermentację [3, 10]. W produkcji pasz pektynazy poprawiają strawność włókien roślinnych, zwiększają przyswajalność składników odżywczych i redukują lepkość pasz, co pozytywnie wpływa na zdrowie zwierząt i zmniejsza ilość odchodów [3, 8].

Wnioski: Pektynazy odgrywają coraz większą rolę w różnych gałęziach przemysłu, zwłaszcza w przemyśle spożywczym, tekstylnym, papierniczym oraz ochronie środowiska. W przemyśle spożywczym znalazły szerokie zastosowanie w zwiększaniu wydajności i klarowności soków owocowych oraz w produkcji wina, co znacząco poprawia jakość produktów końcowych [10]. Ich wykorzystanie w przemyśle tekstylnym i papierniczym pozwala na zastąpienie szkodliwych środków chemicznych, co czyni te procesy bardziej przyjaznymi dla środowiska [10]. Jednym z głównych wyzwań w zastosowaniach przemysłowych pozostaje jednak niska stabilność pektynaz w trudnych warunkach, takich jak wysokie temperatury, zmienne pH czy obecność rozpuszczalników organicznych. Badania nad inżynierią białek mogą umożliwić uzyskanie bardziej odpornych i wszechstronnych enzymów [4]. Obiecującym kierunkiem jest również zastosowanie enzymów termostabilnych, które mogą zredukować koszty związane z kontrolą temperatury podczas dużych procesów fermentacyjnych [4].

Dalsze badania powinny koncentrować się na optymalizacji procesów produkcji poprzez wykorzystanie nowych szczepów mikroorganizmów oraz technik inżynierii genetycznej, co pozwoli na stworzenie enzymów bardziej efektywnych i ekonomicznych [10, 4]. Istotnym krokiem jest również rozwój technologii immobilizacji pektynaz, co umożliwi ich wielokrotne wykorzystanie i dodatkowe obniżenie kosztów produkcji [4]. Dzięki rozwojowi biologii molekularnej oraz technik przesiewowych możliwe jest projektowanie nowych, wydajniejszych enzymów dostosowanych do specyficznych potrzeb przemysłowych, co otwiera drzwi do jeszcze szerszego wykorzystania pektynaz [4]. Wszystkie te działania przyczynią się do zwiększenia znaczenia tych enzymów jako kluczowego elementu zrównoważonej produkcji w wielu gałęziach przemysłu.

Literatura:

1. A. R. Tapre, R. K. Jain, *Int. Food Res. J.*, 21 (2014) 447.
2. S. Shrestha, M. S. Rahman, W. Qin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 105 (2021) 9069.
3. N. Sharma, M. Rathore, M. Sharma, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 12 (2012) 45.
4. S. Haile, A. Ayele, *Sci. World J.*, 2022 (2022) 1.
5. C. Sieiro, B. García-Fraga, J. López-Seijas, A. F. Da Silva, T. G. Villa, *Food Ind. Proc. Method Equip.*, 2 (2012) 202.
6. R. Kumar, G. K. Meghwanshi, D. Marciano, S. F. Ullah, V. Bulone, S. L. Toffolatti, V. Srivastava, *Int. J. Biol. Macromol.*, 244 (2023) 125385.
7. P. Kohli, M. Kalia, R. Gupta, *J. Bioprocess. Biotech.*, 5 (2015) 1.
8. L. Siyi, T. Linfang, C. Yuting, S. Qianqian, W. Lianshun, L. Yanan, W. Li, Y. Guojun, *Carbohydr. Res.*, 528 (2023) 108816.
9. W. Pan, Y. Shihui, Z. Zhichun, Z. Guimin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 104 (2020) 7247.
10. A.R. Shet, S.V. Desai, S. Achappa, *RJLBPCS*, 4 (2018) 337.

PROBLEMATYKA PRZETWARZANIA ODPADÓW Z GUMY DO ŻUCIA

E. KĄDZIELAWA¹, A. ROSIŃSKA², J. CZAKAJ³, ^{1,2}Politechnika Częstochowska, Wydział Infrastruktury i Środowiska, Dąbrowskiego 69, 42-202, Częstochowa, ³Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Abstrakt: Globalna produkcja gumy do żucia wiąże się z generowaniem znacznych ilości odpadów poprodukcyjnych. Ze względu na trudną biodegradowalność gumy oraz jej długotrwałą obecność w środowisku, poszukiwanie efektywnych metod utylizacji i recyklingu stanowi istotne wyzwanie. W artykule omówiono wpływ gumy do żucia na środowisko, możliwości jej przetwarzania oraz potencjalne zastosowania odpadów gumowych w gospodarce cyrkulacyjnej (GOZ). Przedstawiono także innowacyjne podejścia do recyklingu, w tym wykorzystanie odpadów z gumy do żucia do produkcji mas uszczelniających. Wdrażanie nowoczesnych metod zagospodarowania odpadów z gumy do żucia może przyczynić się do redukcji ich negatywnego wpływu na środowisko oraz wspierać zrównoważony rozwój.

Wprowadzenie: Guma do żucia to produkt spożywczy o długiej historii, której początki sięgają czasów starożytnych. Mimo, że pierwsze formy gumy do żucia były znane już w przeszłości, jej komercjalizacja nastąpiła dopiero w XIX wieku [1]. Wraz z rozwojem technologii produkcji skład oraz forma gumy do żucia ulegały modyfikacjom, jednak jej podstawowa funkcja pozostała niezmienna – wspomaga utrzymanie świeżego oddechu [1]. Guma do żucia znajduje również zastosowanie w medycynie, gdzie pełni rolę nośnika substancji leczniczych oraz w terapiach uzależnień [1-3]. Żucie gumy może wpływać na funkcje poznawcze oraz redukować poziom stresu [4]. Pomimo korzyści wynikających ze spożywania gumy do żucia, jej nadmierne stosowanie może prowadzić do niekorzystnych skutków zdrowotnych, jak przeciążenia mechaniczne żuchwy, próchnica i biegunki [5]. Guma do żucia to elastyczna i rozciągliwa masa, której głównym składnikiem jest baza gumowa [6]. Najczęściej składa się ona z poliizobutyleny lub lateksu, a jej właściwości fizykochemiczne są modyfikowane poprzez dodatki spożywcze jak np. substancje słodzące i, aromaty [2,3,5]. Guma do żucia składa się z dwóch podstawowych frakcji: rozpuszczalnej w wodzie, obejmującej m.in. substancje słodzące i aromatyczne oraz nierozpuszczalnej, którą stanowi przede wszystkim baza gumowa [2,3,7]. Udział bazy gumowej w całkowitym składzie produktu zazwyczaj nie przekracza 50 % [7]. Guma do żucia jest szeroko rozpowszechnionym produktem spożywczym, wytwarzanym przez wiodące przedsiębiorstwa z branży słodczy i przekąsek, takie jak Mondelēz International (marki: Trident, Stimorol, Dentyne, Stride), Perfetti Van Melle Polska (Mentos Gum, Big Babol, Vivident) oraz Mars Wrigley (Orbit, Extra, Winterfresh, Hubba Bubba, Spearmint). Według dostępnych danych, poznańska fabryka firmy Mars Wrigley w 2021 deklarowała produkując na poziomie 2,7 mln drażetek gumy do żucia co godzinę, co odpowiada 65 milionom drażetek dziennie. Oznacza to, że w ciągu jednej minuty zakład był w stanie wyprodukować około 400 opakowań gumy do żucia [8]. Produkcja ta nie ograniczała się

jedynie do rynku polskiego – wyroby poznańskiej fabryki trafiały do 37 krajów. Przy założeniu, że średnia masa pojedynczej drażetki wynosiła 1,4 g, dzienna produkcja w zakładzie osiągała około 91 ton. Szacując tę wartość na cały rok, z pominięciem weekendów i dni świątecznych, roczna produkcja wynosiła około 22 750 ton. Należy podkreślić, że dane te dotyczą jedynie jednej fabryki, a całkowita globalna produkcja gumy do żucia osiąga znacząco wyższe wartości. Szacuje się, że w Polsce rocznie sprzedaje się 222 miliony opakowań gumy do żucia, co daje średnio 608 tysięcy sztuk dziennie [9]. Odpady związane z gumą do żucia można podzielić na dwie główne kategorie: odpady poprodukcyjne, powstające w trakcie procesu wytwarzania oraz odpady powstające po spożyciu gumy do żucia. Odpady poprodukcyjne stanowią produkt uboczny procesu produkcyjnego i można je sklasyfikować jako odpady składające się wyłącznie z bazy gumowej oraz odpady zawierające zarówno bazę gumową, jak i dodatki, takie jak substancje słodzące, aromaty i plastyfikatory. Obecnie brak jest powszechnie dostępnych danych dotyczących ilości odpadów generowanych w procesie produkcji gumy do żucia. Niemniej jednak, biorąc pod uwagę skalę globalnej produkcji tego produktu, szacuje się, że ich ilość jest znaczna [10]. Literatura wskazuje, że, wyrzucone gumy do żucia generują rocznie ponad 10^5 ton odpadów [11]. Utylizacja tych odpadów stanowi istotne wyzwanie ze względu na ich trudną biodegradowalność, co skutkuje tym, że znaczna ich część jest poddawana procesowi spalania [10]. Poszukiwanie optymalnych metod utylizacji i recyklingu odpadów pochodzących z gumy do żucia pozostaje przedmiotem badań, który wciąż nie został dostatecznie zgłębiony. Istnieje wiele luk w badaniach dotyczących tego zagadnienia, a rozwiązania w tym zakresie wciąż są w fazie rozwoju. Dotychczasowe analizy wykazały, że odpady poprodukcyjne mogą być skutecznie wykorzystywane w procesach biotechnologicznych, takich jak produkcja biowodoru oraz bioetanolu [11,12]. Gummy do żucia składają się głównie z syntetycznych elastomerów polimerowych, które nadają im odpowiednią konsystencję oraz właściwości mechaniczne umożliwiające długotrwałe żucie. Elastomery stosowane w bazach gumowych wykazują właściwości hydrofobowe, co sprawia, że silnie przywierają do powierzchni zawierających składniki o podobnym charakterze [13]. Takie gumy charakteryzują się znaczną trwałością, co sprawia, że wyrzucona na powierzchnię drogową lub inną przestrzeń publiczną guma do żucia może pozostawać w środowisku nawet przez 90–100 lat, chociaż podaje się, że proces biodegradacji gumy do żucia to jedynie 5 lat [11,14]. Brak skutecznych systemów segregacji i utylizacji gumy do żucia prowadzi do znacznego zanieczyszczenia przestrzeni publicznych, zwłaszcza chodników w miejscach o dużym natężeniu ruchu pieszego. Konsekwencją tego są wysokie koszty usuwania tych zanieczyszczeń z obiektów publicznych i prywatnych. W odpowiedzi na ten problem powstał przemysł produkujący środki i urządzenia do usuwania gumy do żucia oraz firmy specjalizujące się w jej eliminacji [5,13].

Wyniki: GOZ to model gospodarki cyrkulacyjnej, który ma istotne znaczenie również w kontekście odpadów z gumy do żucia. GOZ koncentruje się na minimalizacji odpadów, ponownym wykorzystaniu produktów oraz zrównoważonym zarządzaniu zasobami, co przyczynia się do ograniczenia negatywnego wpływu na środowisko [15]. Zgodnie z koncepcją GOZ, należy zmienić podejście do procesów produkcyjnych i usługowych, uwzględniając nie tylko produkcję, ale także etapy pozyskiwania surowców, użytkowania produktów przez konsumentów oraz ich późniejszą utylizację lub recykling. W kontekście gumy do żucia, która jest odpadem trudnym do biodegradacji, wdrożenie GOZ może przyczynić się do opracowania innowacyjnych technologii pozwalających na odzyskiwanie

surowców zawartych w gumie, co wpłynie na zmniejszenie jej obecności w środowisku oraz konieczność składowania odpadów. GOZ w tym przypadku może również wpłynąć na zmniejszenie kosztów związanych z usuwaniem gumy do żucia, ponieważ wdrażanie technologii recyklingu umożliwiłoby ponowne wykorzystanie surowców [16,17]. Firma Gumdrop Ltd wyspecjalizowała się w recyklingu zużytej gumy do żucia, opracowując dedykowane rozwiązania umożliwiające jej efektywne zbieranie i ponowne wykorzystanie. W tym celu przedsiębiorstwo wdrożyło system specjalistycznych pojemników przeznaczonych wyłącznie do utylizacji zużytej gumy, obejmujący zarówno duże pojemniki montowane na ulicach, jak i kompaktowe, podręczne wersje przeznaczone do indywidualnego użytku. Z zebranych odpadów firma wytwarza szeroki wachlarz produktów, takich jak obuwie, kubki czy linijki. Ponadto Gumdrop Ltd zajmuje się przetwarzaniem odpadów poprodukcyjnych pochodzących z przemysłu gumy do żucia [14]. Dodatkowo firma Orakel opracowała technologię przetwarzania zużytej gumy do żucia na żetony, co stanowi kolejne zastosowanie w ramach koncepcji GOZ. W kontekście badań nad bardziej ekologicznymi alternatywami dla konwencjonalnych baz gumowych prowadzone są prace nad opracowaniem gumy opartej na amfifilowych polimerach, która wykazuje lepszą biodegradowalność i mniejszy wpływ na środowisko. Przykładem takiego rozwiązania jest guma oparta na polimerach Rev7, składająca się z poliizoprenu oraz tlenu etylenu, co zwiększa jej podatność na degradację i ułatwia eliminację tego rodzaju odpadów ze środowiska [11,18]. Odpadowa baza gumy do żucia pod względem składu chemicznego wykazuje znaczące podobieństwo do baz stosowanych w produkcji mas uszczelniających. Jej główne komponenty obejmują poliizobutylen, estry kalafonii, talk oraz węglan wapnia. Ze względu na trudności związane z utylizacją poprodukcyjnych odpadów gumowych, ich potencjalne wykorzystanie jako surowca do produkcji mas uszczelniających może stanowić ekonomiczne i ekologiczne rozwiązanie. Tworzywa polimerowe znalazły szerokie zastosowanie jako materiały uszczelniające ze względu na ich wysoką odporność na oddziaływanie czynników atmosferycznych. Uszczelnienia elastomerowe są powszechnie wykorzystywane w systemach hydraulicznych, urządzeniach elektrycznych, środkach transportu lądowego oraz w sektorze budowlanym [19]. Dzięki swojej plastyczności oraz łatwości obróbki, uszczelnienia wykonane z tego typu materiału charakteryzują się wysoką zdolnością adaptacyjną do uszczelnianych powierzchni [20]. Duże zapotrzebowanie na masy uszczelniające, w połączeniu z dążeniem do optymalizacji kosztów produkcji, czyni odpady gumowe potencjalnie cennym surowcem. Dotychczas brak jest doniesień naukowych wskazujących na ich wykorzystanie w tym obszarze, co czyni tę koncepcję innowacyjną. Istotnym wyzwaniem w recyklingu gumy do żucia są odpady poprodukcyjne zawierające dodatki do żywności, zwłaszcza cukry. Szacuje się, że zawartość dodatków w tych odpadach wynosi około 10%, co stanowi wystarczającą ilość do stymulacji rozwoju niepożądanego mikroflory. Proces produkcji mas polimerowych wymaga temperatur w zakresie eliminującym mikroorganizmy, w tym pleśń, jednak nadal pozostaje problem obecności substancji odżywczych, które mogą stanowić pożywkę dla mikroflory w warunkach użytkowych. Wysoka wilgotność, charakterystyczna dla wielu środowisk stosowania mas uszczelniających, może dodatkowo intensyfikować to zjawisko. Struktura gumy sprzyja adsorpcji oraz retencji bakterii, co stanowi dodatkowe wyzwanie w kontekście zapewnienia trwałości i bezpieczeństwa stosowania produktów [11]. Przetworzenie odpadów z gumy do żucia w kierunku ich wykorzystania w produkcji mas uszczelniających wykazuje duży potencjał, jednak wymaga przeprowadzenia szczegółowych badań.

Konieczne jest opracowanie technologii inhibicji wzrostu mikroflory w warunkach użytkowych. Dalsze prace badawcze mogą przyczynić się do wdrożenia innowacyjnych rozwiązań w zakresie recyklingu i GOZ

Wnioski: Stosowanie powszechnej gumy do żucia, wiąże się z poważnymi problemami ekologicznymi, szczególnie w kontekście jej odpadów. Odpady gumy do żucia, wykazują trudną biodegradowalność, co prowadzi do ich długotrwałego zalegania w środowisku. Ponadto, procesy recyklingu i utylizacji gumy do żucia są wciąż niedostatecznie rozwinięte, a odpady mogą zawierać składniki sprzyjające rozwojowi niepożądaney mikroflory. Istnieje również wyzwanie związane z opracowaniem technologii, które zapewnią skuteczne usuwanie mikroorganizmów z odpadów gumowych, a także z wykorzystaniem tych odpadów w innych gałęziach przemysłu. Mimo obiecujących rozwiązań w zakresie GOZ, wciąż konieczne są dalsze badania, które pozwolą na skuteczne przetwarzanie odpadów gumy do żucia.

Literatura:

1. S. W. Wessel, et al., Expert opinion on drug delivery, 13 (2016) 1421.
2. I. Palabiyik, et al., Food Structure, 26 (2020) 100155.
3. N. Konar, et al., Trends in food science & technology, 55 (2016) 29.
4. A. P. Smith, Stress and Health, 25 (2009) 445.
5. D. E. Milov, et al., Pediatrics, 102 (1998) e22.
6. E. Valduga, et al., Journal of Food Process Engineering, 35 (2012) 37.
7. T. Imfeld, Critical reviews in oral biology & medicine, 10 (1999) 405.
8. Anonim, <https://www.mars.com/pl-pl/news-and-stories/articles/27-mln-drazetek-gumy-na-godzine-25-lat-mars-wrigley-w-poznaniu?utm>, (2021), Dostęp 31 stycznia 2025.
9. Anonim, <https://www.mars.com/pl-pl/news-and-stories/articles/dzis-swiatowy-dzien-gumy-do-zucia-dowiedz-sie-o-niej-wiecej?utm>, (2023), Dostęp 31 stycznia 2025.
10. K. Seifert, et al., Renewable Energy, 122 (2018) 526.
11. A. S. Roy, Current World Environment, 16 (2021) 916.
12. D. Yüceşen Serbest, et al., Indian Chemical Engineer, 66 (2024) 152.
13. T. M. Farber, et al., Food and chemical toxicology, 48 (2010) 831.
14. Anonim, <https://www.greatcentralplastics.com/eco/gumtec-sustainable-material>, Dostęp 5 lutego 2025
15. E. Jastrzębska, Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu, 491 (2017) 220.
16. M. Rutkowska i in., Studia i prace WNEIZ US, 47 (2017) 119.
17. J. Kulczycka, Wydawnictwo IGSMiE PAN, Kraków, 2019.
18. F. Saberi, et al., Journal of Polymers and the Environment, 26 (2018) 3889.
19. J. Czakaj i M. Rajkiewicz, Przetwórstwo Tworzyw, 22 (2016) 216.
20. J. Czakaj i M. Rajkiewicz, PRZEMYSŁ CHEMICZNY 97 (2018) 1962.

FILTRY UV-RÓŻNICE REGULACYJNE MIĘDZY USA I UE

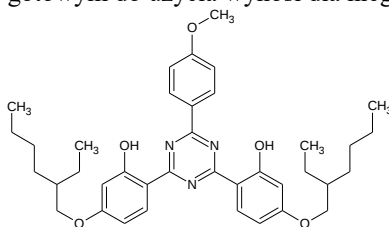
K. CHABERSKA¹, A. GUMIENICZEK², ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Chemii Leków, Studenckie Koło Naukowe, ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin, ²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Chemii Leków, ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin

Abstrakt: Różnice w przepisach dotyczących filtrów przeciwsłonecznych pomiędzy USA a UE decydują o ich odpowiednio różnych procesach zatwierdzania i wprowadzania na rynek. W USA filtry UV są regulowane jako leki dostępne bez recepty czyli OTC (*ang. Over The Counter Drugs*) i podlegają odpowiednim standardom bezpieczeństwa Amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków (FDA). W UE filtry UV są regulowane jako składniki produktów kosmetycznych i podlegają regulacjom dotyczącym kosmetyków. W USA zatwierdzenie początkowo opierało się na przepisach z 1978 r. Zatwierdzono wtedy 21 filtrów UV, z których tylko kilka przetrwało próbę czasu. W 1999 r. FDA wydała monografię dotyczącą filtrów przeciwsłonecznych, zatwierdzając stosowanie 16 filtrów UV. W roku 2021 FDA wydała zarządzenie administracyjne, w którym zaproponowała klasyfikację filtrów w oparciu o poziom bezpieczeństwa i regułę GRASE (*ang. Generally Recognized As Safe*). Wtedy filtry UV zostały sklasyfikowane jako uznane za bezpieczne i skuteczne (GRASE) oraz jako nie GRASE (ze względu na kwestie bezpieczeństwa lub potrzebę dodatkowych badań dotyczących bezpieczeństwa).

Wprowadzenie: Amerykańskie zarządzenie z roku 2021 standaryzuje wymagania dotyczące zbierania danych o bezpieczeństwie substancji, które mają być określone jako GRASE, w tym niekliniczne badania na zwierzętach (np. w kierunku rakotwórczości, genotoksyczności, toksyczności rozwojowej i reprodukcyjnej oraz toksykokinetyki) i badania kliniczne na ludziach (np. podrażnienie, uczulenie, fotobezpieczeństwo, wchłanianie, badanie maksymalnego użytkowania, dane pediatryczne, rakotwórczość, toksyczność i toksykokinetyka). Natomiast filtry przeciwsłoneczne w UE są klasyfikowane jako produkty kosmetyczne i są regulowane przez Rozporządzenie (EC) 1223/2009 wraz z modyfikacjami [1]. W Unii Europejskiej „Human Data” nie są wymagane, ale są poddawane przeglądowi. Bezpieczeństwo jest oceniane głównie na podstawie profili fizykochemicznych i toksykologicznych dostępnych w literaturze. Dane te, wraz ze spektrum absorpcji UV danej substancji i jej opisaną stabilnością w trakcie przechowywania, są oceniane przez ekspertów SCCSNFP (*ang. Scientific Committee on Consumer Safety of Non Food Products*) czyli Komitetu Naukowego UE ds. Bezpieczeństwa Konsumentów. Kolejne produkty kosmetyczne mogą wykorzystywać dowolny zatwierdzony filtr przeciwsłoneczny, pod warunkiem, że zostanie złożony raport o bezpieczeństwie produktu i jego ocena ze szczegółowym opisem składu chemicznego, stabilności w okresie przechowywania oraz marginesu bezpieczeństwa dla ogólnego narażenia ogólnoustrojowego na każdy składnik kosmetyku [1, 2]. Amerykańskie i unijne przepisy dotyczące filtrów przeciwsłonecznych różnią się pod względem wymagań dotyczących pokrycia odpowiednich zakresów widma promieniowania, a także oznakowania. W Stanach Zjednoczonych ochrona przed oparzeniami słonecznymi, głównie spowodowanymi promieniowaniem UVB, jest oceniana za pomocą standardu FDA, który porównuje działanie wzorcowego

roztworu padimate O i oksybenzonu z działaniem filtra przeciwsłonecznego będącego przedmiotem zainteresowania, u co najmniej 10 osób, w celu obliczenia współczynnika ochrony przeciwsłonecznej (SPF) na podstawie minimalnej dawki rumienia niechronionej skóry każdego uczestnika. UE ocenia SPF za pomocą standardu Międzynarodowej Organizacji Normalizacyjnej, gdzie wymagany jest proces oceny minimalnej dawki rumienia dla skóry niechronionej. Oba standardy (FDA i UE) skutkują podobnymi wartościami SPF dla testowanych filtrów przeciwsłonecznych. Główną różnicą w testach ochrony przed promieniowaniem UV między USA i UE jest pokrycie widma w zakresie UVA. W 2011 r. FDA zaleciła testowanie metodami *in vitro* przy krytycznej długości fali (370 nm) jako wymóg dla oznakowania filtrów przeciwsłonecznych jako filtrów o „szerokim spektrum” [3, 4]. Normy europejskie wymagają, aby ochrona przed promieniowaniem UVA wynosiła co najmniej jedną trzecią SPF produktu na każdym poziomie SPF. Przykładowo, jeżeli produkt ma deklarowaną wartość SPF 30 to ochrona przeciwko UVA będzie wynosiła 10 lub więcej. Jeżeli producent chce, może podać dokładną, deklarowaną ochronę przed promieniami UVA, jednak do tego służy inne oznaczenie zwane PPD (ang. *persistent pigment darkening*). PPD jest to liczba wskazująca, ile razy mniejsza jest dawka promieniowania UVA docierająca do skóry pokrytej filtrem przeciwsłonecznym w porównaniu do skóry niechronionej [5]. UE wymaga, aby produkt promieniochronny posiadał na opakowaniu szereg istotnych informacji, w tym zalecenia dotyczące użytkowania, takie jak ponowna aplikacja po poceniu się, pływaniu lub kąpieli, oraz ostrzeżenia wyjaśniające, że filtr przeciwsłoneczny nie może zapewnić 100% ochrony przed promieniowaniem UV. Podobnie, amerykańskie filtry przeciwsłoneczne wymagają etykietowania, które ujawnia sposób użycia, wskazówki i ostrzeżenia z pewnymi konkretnymi sformułowaniami dostarczonymi przez FDA. Na produktach z wartością SPF 15 lub wyższym może pojawić się informacja, że zmniejszają ryzyko raka skóry i przedwczesnego starzenia się skóry pod wpływem światła. Dodatkowo SPF jest różnie oznaczane, w USA SPF jest drukowany numerycznie, podczas gdy w UE SPF jest podzielony na poziomy z dodatkowym oznaczeniem jakościowym: niski (SPF 6, 10), średni (SPF 15, 20, 25), wysoki (SPF 30, 50) lub bardzo wysoka ochrona (SPF 50+) [6]. Rosnąca wiedza na temat roli promieniowania UV w zjawisku fotostarzenia i fotokarcynogenezy zaowocowała zaleceniami dotyczącymi codziennego stosowania filtrów przeciwsłonecznych i regularnego ich ponownego nakładania. Ponadto organiczne filtry UV są obecne w wielu produktach do pielęgnacji ciała, a także w tworzywach sztucznych i opakowaniach żywności. Ta wszechobecna ekspozycja została wykazana w badaniu National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2004, w którym wykryto oksybenzon w 96,8% z ponad 2.500 próbek moczu pobranych od konsumentów. Co więcej, benzofenony zostały zidentyfikowane w próbkach płynu owodniowego i mleka matek karmiących. Aby dokładniej zbadać ogólnoustrojowe wchłanianie aktywnych składników filtrów przeciwsłonecznych, w 2019 r. FDA przeprowadziła badania MUsT (Maximal Usage Trials) czterech organicznych filtrów UV (awobenzonu, oksybenzonu, oktokrylenu i stosowanego wcześniej ecamsule), stwierdzając, że poziomy we krwi większe niż ustalony próg bezpieczeństwa 0,5 ng/ml zostały osiągnięte po czterech aplikacjach w ciągu jednego dnia. W 2020 r. w kolejnym badaniu FDA oceniła 6 filtrów organicznych (awobenzon, oksybenzon, oktokrylen, homosalat, oktizalan i oktino-kstat) i stwierdziła, że wszystkie z nich osiągnęły stężenia ogólnoustrojowe powyżej progu już po jednym zastosowaniu. FDA podsumowała obydwa badania, podkreślając, że chociaż istotne ogólnoustrojowe wchłanianie filtrów UV oznacza potrzebę dalszej oceny bez-

pieczeństwa, wyniki nie wskazują, że należy unikać stosowania filtrów przeciwsłonecznych. Jak dotąd nie ma dowodów na szkodliwość stosowania filtrów przeciwsłonecznych u ludzi [7-10]. Oczywiście, bardzo istotne jest stałe monitorowanie bezpieczeństwa takich produktów, ze względu na różne problemy technologiczne. W 2021 r. niezależna firma (Valisure) odkryła, że w niektórych produktach do opalania, głównie filtrach przeciwsłonecznych w sprayu i żelu, stężenie benzenu przekraczało 2 ppm (maksymalne dopuszczalne stężenie przez FDA). Benzen jest znanym czynnikiem rakotwórczym o ugruntowanym związku z nowotworami hematologicznymi. Doprowadziło to do dobrowolnego wycofania niektórych filtrów przeciwsłonecznych, a w grudniu 2021 r. FDA zażądała wzmożonego nadzoru pod kątem zanieczyszczenia benzenem [11]. W roku 2022 r. bemotrizinol (BEMT) czyli 2,2'-[6-(4-metoksyfenylo)-1,3,5-triazyno-2,4-diylo]bis[5-[(2-etyloheksylo)oksy]-fenol] (Rys. 1) nie został zatwierdzony przez amerykańską agencję FDA do stosowania w kremach przeciwsłonecznych, chociaż wcześniej został zatwierdzony w Unii Europejskiej w 2000 r. i niektórych innych częściach świata, w tym w Australii [12,13]. Bemotrizinol znajduje się w wykazie substancji promieniochronnych dozwolonych w produktach kosmetycznych (załącznik VI do Rozporządzenia Parlamentu i Rady (WE) nr 1223/2009 dotyczącego produktów kosmetycznych). Maksymalne dopuszczalne stężenie w preparacie gotowym do użycia wynosi dla niego 10% [14].



Rys. 1. Budowa chemiczna bemotrizinolu (BEMT).

W dniu 1 października 2024 roku firma DSM-Firmenich ogłosiła zgłoszenie dla BEMT pierwszego w historii filtrów wniosku o wpis do monografii dotyczącej filtrów OMOR Tier 1 (US-FDA Over-The-Counter Monograph Order Request). To wydarzenie uruchomiło 17,5-miesięczny proces oceny przez FDA, mający na celu ustalenie, czy BEMT zostanie uznany za ogólnie bezpieczny i skuteczny (GRASE) i włączony do monografii OTC dotyczącej filtrów w USA. Zebrane wyniki potwierdzają bezpieczeństwo stosowania BEMT w maksymalnym stężeniu 6% w formułach kosmetycznych. Jego niewątpliwą zaletą jest wysoka fotostabilność. Ponadto pomaga zapobiegać fotodegradacji innych aktywnych filtrów UV, takich jak awobenzon. Jest to najskuteczniejszy dostępny filtr UV mierzony za pomocą wskaźnika SPF, w oparciu o maksymalne stężenie dozwolone przez europejskie przepisy [15].

Wnioski: W regulacji zaproponowanej przez FDA w 2021 r. dozwolone 16 filtrów podzielono na trzy kategorie: kategoria I czyli GRASE (ogólnie uznane za bezpieczne i skuteczne), kategoria II czyli nie GRASE oraz kategoria III (niewystarczające dane dotyczące bezpieczeństwa, aby określić status GRASE). Obecnie FDA poszukuje dodatkowych da-

nych dotyczących bezpieczeństwa 12 filtrów kategorii III, choć nie uważa ich za niebezpieczne. Warto zauważyć, że kwas p-aminobenzoesowy (PABA) i salicylan trolaminy są dwoma nie GRASE filtrami UV i nie są już stosowane w amerykańskich kosmetykach przeciwsłonecznych, natomiast są dozwolone do stosowania w UE.

Literatura:

1. M.N. Pantelic, N. Wong, M. Kwa, H.W. Lim. *J. Am. Acad., Dermatol.*, 88 (2023) 632.
2. H.W. Lim, T.F. Mohammad, S.Q. Wang. *J. Am. Acad., Dermatol.*, 86 (2022) 83.
3. R.M. Sayre, J.C. Dowdy, D.L. Lott, E. Marlowe. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, 24 (2008) 218.
4. K. Hedayat, S.A. Nasrollahi, A. Firooz, J. Cosmet. *Dermatol.*, 18 (2019) 1617.
5. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:02009R1223-20190813>
6. S. Narla, H.W. Lim, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 19 (2020) 66.
7. E. Scheuer, E. Warshaw. *Dermatitis*, 17 (2006) 3.
8. E. Warshaw, M. Wang, H.I. Maibach, D.V. Belsito, K.A. Zug, J.S. Taylor, C.G. Mathias, D. Sasseville, M.J. Zirwas, J.F. Jr Fowler, J.G. DeKoven, A.F. Fransway, V.A. DeLeo, J.G. Jr Marks, M.D. Pratt, D. Sasseville, F.J. Storrs, J.S. Taylor, C.G. Mathias, V.A. Deleo, R.L. Rietschel, J. Marks. *Dermatitis*, 24 (2013) 176.
9. N. Wendee. *Environ. Health Perspect.*, 130 (2022) 54002.
10. S.A. Azim, L. Bainvoll, N. Vecerek, V. DeLeo. *J. Am. Acad., Dermatol.*, May (2024) 19:S0190-9622(24)00785-0.
11. C. Couteau, M. Pommier, E. Paparis, L.J. Coiffard. *Pharmazie*, 62 (2007) 449.
12. D.E. Que, X. Wang, S. Nilsson, I. Zammit, D.C.G. Muir, C. Rauert, L.L. Toms, P. Prasad, R.G. Shiels, G. Eaglesham, P. Hobson, D. Langguth. *J.F. Mueller. Environ. Sci. Technol.*, 58 (2024) 19960.
13. G. Vielhaber, S. Grether-Beck, O. Koch, W. Johncock, J. Krutmann. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 5 (2006) 275.
14. J.R. Plautz, R. Shuetz, C. Sanabria, J. Hammonds, C. Erato, J. Klock, J. Vollhardt, S. Mesaros. *Regul. Toxic. Pharm.*, 139 (2023) 105344.
15. E. Chatelain, B. Gabard. *Photochem. Photobiol.*, 74 (2001) 401.

AGROBIOTECHNOLOGIA – MIT CZY PRZYSZŁOŚĆ ROLNICTWA?

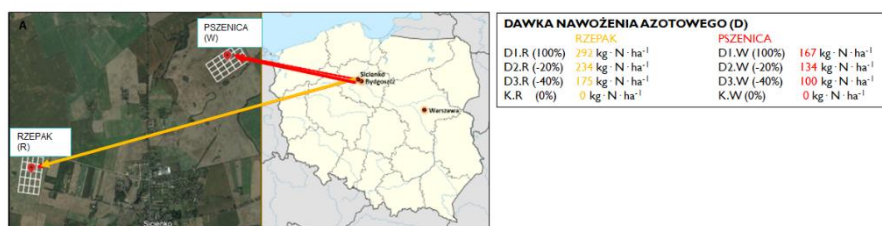
K. KAGAN, A. WOLIŃSKA, A. KRUCZYŃSKA A. KUŹNIAR, KUL, Wydział Medyczny, Katedra Mikrobiologii i Medycyny Translacyjnej, ul Konstantynów 1i, 20-708 Lublin

Abstrakt: Badania środowiska glebowego, w tym długoterminowe obserwacje, odgrywają kluczową rolę w ocenie wpływu praktyk rolniczych na bioróżnorodność mikrobiologiczną. W niniejszej pracy analizowano wpływ redukcji nawożenia azotowego o 20% na mikrobiom glebowy spod upraw rzepaku i pszenicy. Zastosowanie technologii sekwencjonowania nowej generacji (NGS) pozwoliło na dokładną identyfikację dominujących typów bakterii, do których należały: Proteobacteria, Actinobacteriota, Bacteroidota, Gemmatimonadota, Acidobacteriota oraz Verrucomicrobiota. Wyniki badań wykazały, że redukcja nawożenia nie doprowadziła do utraty bioróżnorodności glebowej, co więcej analiza funkcjonalna wykazała szerokie spektrum potencjalnych zastosowań mikroorganizmów glebowych.

Wprowadzenie: W obliczu rosnących wyzwań związanych z wyżywieniem światowej populacji, zmianami klimatycznymi i degradacją środowiska naturalnego, nowoczesne technologie rolnicze zyskują coraz większe znaczenie [1]. Agrobiotechnologia, obejmująca m.in. inżynierię genetyczną, biotechnologię molekularną oraz nowoczesne metody hodowli roślin i zwierząt, budzi wiele kontrowersji. Zwolennicy podkreślają jej potencjał w zwiększaniu plonów, redukcji stosowania środków ochrony roślin i dostosowywaniu upraw do zmieniających się warunków klimatycznych. Przeciwnicy natomiast wskazują na zagrożenia związane z ingerencją w genom organizmów, potencjalne skutki zdrowotne oraz negatywny wpływ na bioróżnorodność [2]. W Unii Europejskiej agrobiotechnologia podlega ścisłym regulacjom, które mają na celu zapewnienie bezpieczeństwa żywnościowego i ochrony środowiska. Jednym z kluczowych dokumentów kształtujących politykę rolną UE jest strategia „Od pola do stołu”, będąca częścią Europejskiego Zielonego Ładu. Jej celem jest ograniczenie stosowania pestycydów i nawozów chemicznych, zwiększenie powierzchni upraw ekologicznych oraz promowanie zrównoważonych systemów żywnościowych [3]. W kontekście tych wytycznych zrealizowano projekt „Innowacyjny system zarządzania produkcją roślinną ze szczególnym uwzględnieniem optymalizacji pracy maszyn, nawożenia oraz ochrony bioróżnorodności gleb eksploatowanych rolniczo”, którego konsorcjum tworzyły CGFP w Wojnowie, KUL oraz GSOC Sp. z o.o. Dwuletnia obserwacja wpływu zredukowanego nawożenia azotowego o 20%, zgodnie z unijnymi wytycznymi, pozwoliła na uzyskanie obiektywnej, popartej badaniami laboratoryjnymi opinii, że zmniejszenie dawek nawozów nie prowadzi do katastrofalnych skutków w uprawie rzepaku i pszenicy. Wręcz przeciwnie – wpłynęło pozytywnie na różnorodność mikrobiologiczną. Przeprowadzona analiza funkcjonalna mikrobiomu glebowego pod uprawami rzepaku i pszenicy, pozwoliła na identyfikację poszczególnych przedstawicieli rang taksonomicznych oraz na określenie ich charakterystycznych cech, co stanowi potencjalne zainteresowanie agrobiotechnologiczne, stwarzając możliwość wykorzystania tych organi-

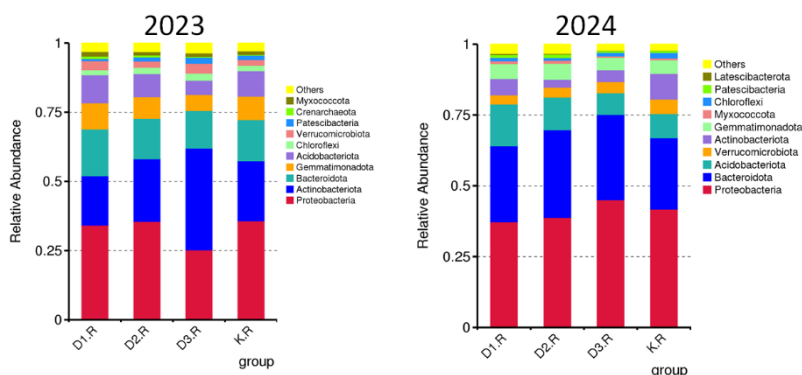
zmów w przyszłości do poprawy zarówno praktyk rolniczych, jak i ogólnego funkcjonowania ekosystemów otwierając możliwości ich wykorzystania w celu poprawy warunków środowiskowych [4,5,6].

Część eksperymentalna: Eksperyment polowy został przeprowadzony w latach 2023 i 2024 na gruntach ornych należących do CGFP Sp. z o.o., zlokalizowanych w Sicienku (53°12'32.2"N, 17°46'45.4"E – rzepak oraz 53°13'11"N, 17°48'45"E – pszenica) w województwie kujawsko-pomorskim (Rys. 1). Badane grunty były uprawiane z wykorzystaniem technologii *strip-till*, która polega na spulchnianiu jedynie wąskich pasów gleby w miejscu wysiewu roślin, przy jednoczesnym zachowaniu nienaruszonej struktury pozostałej części pola. W ramach projektu zastosowano trzypoziomowe nawożenie azotowe: zgodnie z zaleceniami producenta (100%-D1), zredukowane o 20 (D2), 40% (D3) od względem zaleceń producenta, a za próbę kontrolną przyjęto glebę z pola nienawożonego (0%-K) (Rys. 1). Próby gleby pobrano z dwóch pól o powierzchni 10 ha każde – jedno przeznaczone pod uprawę rzepaku (R), drugie pod pszenicę (W). Pobór próbek przeprowadzono zgodnie z normą PN-R-04031:1997. W celu izolacji DNA bakterii wykorzystano zestaw DNeasy®PowerLyzer® PowerSoil®Kit, a uzyskane izolaty DNA zostały przesłane do Sekwencjonowania Nowej Generacji (NGS) firmie zewnętrznej.

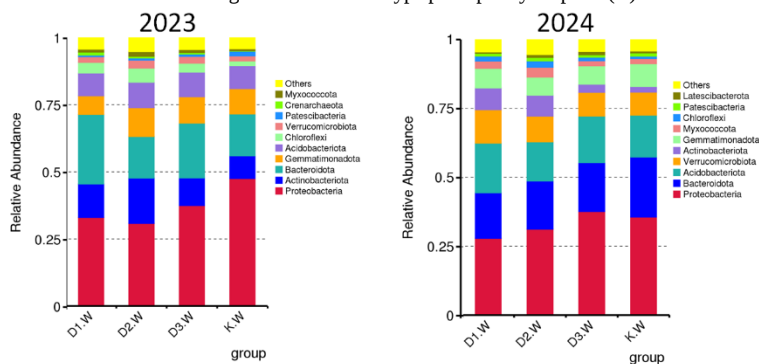


Rys. 1. Mapa badanego regionu z oznakowanymi polami rzepaku (R) i pszenicy (W) wraz ze strategią nawożenia (D).

Wyniki: Redukcja nawożenia azotowego o 20% (D2R) w glebach spod uprawy rzepaku spowodowała przyrost udziału przedstawicieli typów Proteobacteria i Actinobacteriota oraz spadek udziału w strukturze mikrobiomu dla przedstawicieli Bacteroidota, Gemmatimonadota oraz Acidobacteriota względem wyników uzyskanych dla maksymalnej dawki nawożenia azotowego (D1R). Po roku udział Proteobacteria, Bacteroidota oraz Gemmatimonadota wzrósł, natomiast zmalał udział Acidobacteriota oraz Actinobacteriota (Rys. 1). Porównując strukturę mikrobiomu glebowego spod uprawy pszenicy w próbach o zredukowanej dawce nawożenia azotowego o 20% (D2W) względem dawki maksymalnej (D1W) w roku 2023 odnotowano wzrost udziału Actinobacteriota, Gemmatimonadota, Acidobacteriota, Chloroflexi oraz Verrucomicrobiota, natomiast spadł udział Proteobacteria i Bacteroidota. Redukcja nawożenia o 20% względem dawki maksymalnej (D1W) przyczyniła się do wzrostu udziału Proteobacteria, Myxococcota, Patescibacteria, Latescibacteriota oraz Bacteroidota, natomiast spadkowi uległ udział Verrucomicrobiota, Chloroflexi, Gemmatimonadota, Actinobacteriota oraz Acidobacteriota (Rys. 2).

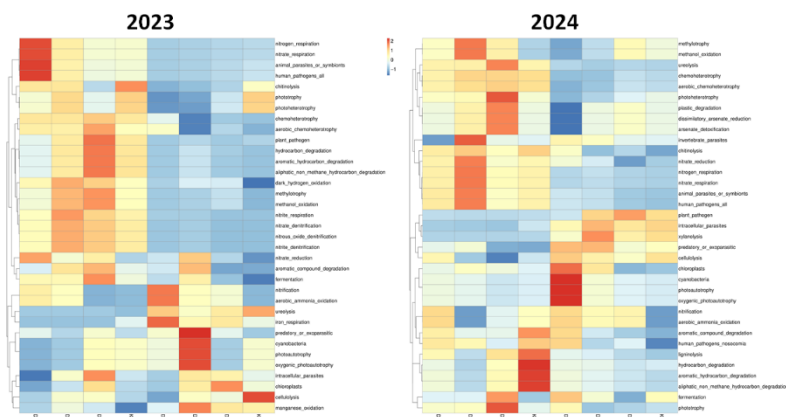


Rys. 2. Struktura bakterii – ranga taksonomiczna typ spod uprawy rzepaku (R) w 2023 i 2024 roku.



Rys. 3. Struktura bakterii – ranga taksonomiczna typ spod uprawy pszenicy (W) w 2023 i 2024 roku.

Analiza funkcjonalna bakterii spod uprawy rzepaku (Rys. 4) wykazała obecność bakterii mających szerokie zdolności metaboliczne, obejmujące aktywność fotoautotroficzną, chitynolityczną, chemotroficzną oraz zdolność do respiracji azotynowej i metylotrofii. Redukcja nawożenia sprzyjała również zwiększeniu udziału mikroorganizmów zdolnych do przyswajania makro- i mikroelementów alternatywnymi szlakami metabolicznymi (np. ureoliza, symbioza ektomykoryzowa). W przypadku gleby spod uprawy pszenicy mikrobiom zachował wysoką aktywność celulolityczną, ureolityczną i nityfikacyjną. Brak destabilizacji mikrobiomu oraz zróżnicowanie jego funkcji wskazują, że ograniczenie nawożenia azotowego może wspierać rozwój mikroorganizmów kluczowych dla żyzności gleby, zwiększając jej zdolność do efektywnego obiegu składników odżywczych (Rys. 4). Przeprowadzone badania umożliwiają określenie potencjalnych zastosowań mikroorganizmów, np. w bioremediacji - oczyszczenie środowiska glebowego z ropochodnych oraz metali ciężkich, jako biofertilizery - cyjanobakterie, mogą pełnić rolę naturalnych nawozów, zwiększając dostępność azotu w glebie i zmniejszając potrzebę stosowania nawozów syntetycznych, w produkcji biopaliw - mikroorganizmy celulolityczne mogą wspierać biotechnologiczne wytwarzanie biogazu i biopaliw jako odnawialnych źródeł energii. Tak zróżnicowany potencjał mikrobiologiczny podkreśla znaczenie agrobiotechnologii, która łączy teorię z praktyką, umożliwiając odkrywanie i wdrażanie nowych rozwiązań opartych na naturalnych zdolnościach mikroorganizmów.



Rys. 4. Analiza funkcjonalna mikrobiomu glebowego spod uprawy rzepaku (R) oraz pszenicy (W) w latach 2023 i 2024.

Wnioski: Zastosowanie zredukowanego nawożenia o 20% zgodnie z rekomendacją UE nie spowodowały destabilizacji struktury mikrobiomu bakteryjnego. Dominującymi typami w strukturze mikrobiomu spod obu upraw w były: Proteobacteria, Actinobacteriota, Bacteroidota, Gemmatimonadota, Acidobacteriota, Verrucomicrobiota (Rys. 2, Rys. 3). Analiza funkcjonalna mikrobiomu glebowego wykazała zróżnicowany charakter i zdolności mikroorganizmów wyizolowanych z materiału glebowego spod uprawy rzepaku i pszenicy:

- mikrobiom glebowy spod uprawy rzepaku złożony jest z licznej grupy bakterii o charakterze: fotoautotroficznym, chitynolitycznym i chemotroficznym oraz z bakterii zdolnych do respiracji azotynowej, metylo-, chemo- i fototrofii;
- mikrobiom glebowy spod uprawy pszenicy cechuje się obecnością bakterii celulolitycznych, ureolitycznych, nityfikacyjnych oraz fototroficznych.

Agrobiotechnologiczne badania mikrobiomu glebowego umożliwiają nie tylko poprawę kondycji gleby, ale także identyfikację organizmów o wysokim potencjale, co w przyszłości może przyczynić się do ich wykorzystania w celu optymalizacji funkcjonowania całego ekosystemu.

Literatura:

1. E. Walling, C. Vaneekhaute, Nitrate Handbook: Environmental, Agricultural and Health Effects, CRC Press, Boca Raton, 2022.
2. W. Lacy et al., Encyclopedia of industrial biotechnology: Bioprocess, bioseparation, and cell technology, John Wiley & Sons, New York, 2009.
3. G. Billen et al., Foods 9 (2020) 732.
4. S. Yang et al., Microb Biotechnol 7 (2014) 611.
5. D. Chittora et al., Biochem Biophys Rep 22 (2020) 100737.
6. S.Chang et al. The complete genome sequence of the cold adapted crude-oil degrader: *Pedobacter steynii* DX4. *Stand in Genomic Sci* 12 (2017) 1.

ANALIZA ZMIENNOŚCI PRZESTRZENNEJ STĘŻENIA CHLOROFILU W ZBIORNIKACH WODNYCH: WSTĘP DO PROJEKTU APLIKACJI ZDALNEGO MONITORINGU JAKOŚCI WÓD

M. PIEJAK¹, J. NOWOSAD¹, A. BARTKOWSKA-BEKASIEWICZ², W. PŁASKA².

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, Studenckie Koło Naukowe Hydrobiologii i Ochrony Środowiska, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin, ²Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin

Abstrakt: W ramach przygotowań do projektu aplikacji do zdalnego monitoringu jakości wód, przeprowadzono analizę wpływu wariacji stężenia chlorofilu w obrębie zbiornika na ocenę jakości wód na podstawie obrazowań satelitarnych Sentinel-2. Badanie wykazało, że zmienność przestrzenna parametrów nie była zależna od terminu pozyskania danych, lecz od specyfiki zbiorników. W większości przypadków współczynnik zmienności (CV%) nie przekraczał 8%, co sugeruje, że pojedyncze pobieranie prób może być wystarczające do reprezentatywnej oceny parametrów jakości wód. Wyniki wskazują, że zakładane podejście metodyczne, przy odpowiednich założeniach i po dokładniejszym zbadaniu specyfiki poszczególnych zbiorników, może zostać skutecznie wykorzystane w planowanym projekcie.

Wprowadzenie: Jednym z największych zagrożeń dla ekosystemów wód stojących jest nadmierna ilość związków biogenych trafiających do zbiorników wodnych. Pochodzą one ze spływów powierzchniowych z obszarów rolniczych, ścieków odprowadzanych do rzek. Skutkiem nadmiaru biogenów jest proces eutrofizacji czyli zwiększenia żywności zbiornika który prowadzi do wielu zmian ekosystemowych, między innymi do zwiększenia stężenia chlorofilu a, zmniejszenia przejrzystości oraz większego zagrożenia zakwitami sinic [1]. Może to prowadzić do degradacji ekosystemu wodnego, obniżenia wartości użytkowej i rekreacyjnej, oraz zagrożenia zdrowia ludzi. Stężenie chlorofilu w toni wodnej jest wskaźnikiem stanu ekologicznego [2]. Monitoring chlorofilu oraz innych parametrów jakości wód pozwala obserwować kierunek, tempo zmian i jest podstawą w zarządzaniu zasobami wód oraz w ochronie środowiska. Tradycyjne metody monitoringu parametrów fizykochemicznych wód wymagają regularnych pomiarów, obejmujących wszystkie obiekty zainteresowania, co sprawia że jest to proces pracochłonny. Jednym z rozwiązań mogących znacznie usprawnić i zwiększyć jakość monitoringu jest wykorzystanie nowoczesnych narzędzi takich jak teledetekcja satelitarna [3]. Teledetekcja to pozyskiwanie informacji o powierzchni ziemi bez obecności w miejscu pomiaru. Obecnie istnieje wiele misji satelitarnych które nieustannie zbierają informacje o globie wykorzystując różnego rodzaju sensory [4]. Metody teledetekcyjne wykazują potencjał wykorzystania w monitoringu jakości wód. Pozwalają na monitoring w skali czasowej i przestrzennej niemożliwej do osiągnięcia metodami terenowymi. Ograniczeniami w wykorzystaniu danych satelitarnych są warunki pogodowe [5]. Zachmurzenie i mgła uniemożliwiają po-

miar, co szczególnie ogranicza dostępność danych w niektórych okresach. Mimo to tele-detekcyjne dane satelitarne są wykorzystywane do badania jakości wód od ponad 50 lat [6]. Niniejsza praca jest wstępem do projektu mającego na celu opracowanie aplikacji opartej na zobrazeniach satelitarnych, umożliwiającej zdalny monitoring parametrów jakości wód. Aby móc skutecznie szacować wartości parametrów metodami zdalnymi ważne jest określenie odpowiedniej metodologii. Planowany projekt zakłada szacowanie wartości parametrów fizykochemicznych jezior na podstawie wartości w danym punkcie pomiarowym, zastosowanym do kalibracji. Wymagana jest jednak weryfikacja czy wartość parametrów w punkcie pomiarowym będzie reprezentatywna dla całego zbiornika. Celem pracy jest więc zbadanie zmienności przestrzennej stężenia chlorofilu w obszarze zbiornika wodnego, dla 10 przykładowych zbiorników Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego. Pozwoli to ocenić, czy przestrzenna wariancja parametrów jakości wody jest na tyle niska, aby uzyskane pomiary były reprezentatywne dla całego zbiornika wodnego.

Część eksperymentalna: Do analizy wybrano 10 zbiorników wodnych Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego. Dla wybranych zbiorników, przy użyciu oprogramowania QGIS, zaznaczono obszary podlegające analizie wariancji. Delimitacji obszarów dokonano ręcznie tak aby w zminimalizować wpływ litoralu i płytkiego dna, które mogą wpływać na niewłaściwe wartości odbicia promieniowania elektromagnetycznego w kluczowych pasmach spektralnych. Wykorzystano dane Europejskiej Agencji Kosmicznej - satelity Sentinel-2 (produkt poziomu 2A). Wybrano 3 terminy obserwacji – 13 maja 2024, 9 lipca 2024, 26 sierpnia 2024. 3 terminy pozwoliły na określenie jak zmienność przestrzenna prezentuje się w różnych terminach w trakcie sezonu wegetacyjnego. Do określenia stężenia chlorofilu wykorzystano skrypt Se2WaQ [7], oparty na wzorze:

$$CHL = 4,26 * (B03/B01)^{3,94}$$

Gdzie B03 i B01 oznaczają współczynniki odbicia odpowiednio w pasmach zielonym (560 nm) oraz niebieskim (443 nm). Obliczeń na pasmach spektralnych dokonano w środowisku Google Earth Engine, wykorzystując autorski skrypt Java. Obliczono średnią wartość CHL dla 10 wymienionych zbiorników oraz wartości wariancji. Wyniki pobrano w postaci CSV. Analizy statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania R. Na podstawie uzyskanych wartości średniej oraz wariancji obliczono współczynnik zmienności który wyraża względną miarę zróżnicowania w obrębie zbiornika (w procentach) [8]:

$$CV_{CHL} = \sqrt{CHL_{WAR} / CHL_{\bar{SR}}} * 100\%$$

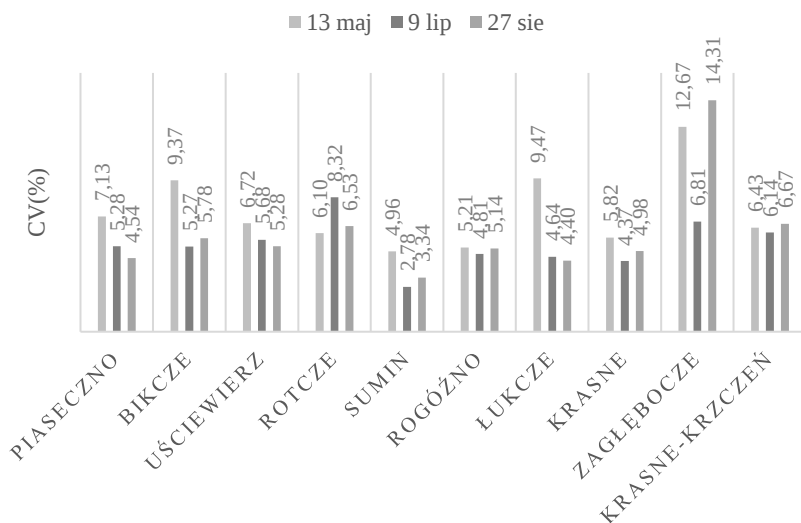
Gdzie:

CHL_{WAR} - wariancja wartości CHL w obrębie zbiornika.

$CHL_{\bar{SR}}$ - średnia wartość wskaźnika CHL dla zbiornika

Wyniki: Wartości średniego stężenia chlorofilu dla wybranych zbiorników były zbliżone do siebie. W terminie 13 maja mieściły się w zakresie 4,6-6,0 mg/m³, z wyjątkiem Krasne-Krzczęń gdzie wartość wyniosła 9,62 mg/m³. Dla 9 lipca zakres wartości wynosił 3,9-5,4 mg/m³, z wyjątkiem Krasne-Krzczęń z wartością 13,2 mg/m³ oraz Krasne z wartością 8,63 mg/m³. 27 Sierpnia zakres wynosił 4,0-6,6 mg/m³, również w tym terminie zbiornik

Krasne-Krzczęń charakteryzował się bardzo wysoką wartością równą 11,6 mg/m³. Wskaźnik zmienności CV (Rys.1.) nie przekroczył 15% dla żadnej z prób. W większości analizowanych zbiorników wartości wskaźnika zmienności nie ulegały istotnym zmianom w czasie, utrzymując stabilny trend. Niewielki spadek CV obserwowano w jeziorach Piaseczno, Uściewierz i Sumin, gdzie wartości systematycznie malały, osiągając finalnie poziom około 4,5–5%. Podobny schemat wystąpił również w jeziorze Łukcze, jednak początkowa wartość wskaźnika była względnie wysoka. Jezioro Biczko w maju wykazywało relatywnie wysoki poziom zmienności (9,37%), który następnie uległ wyraźnemu obniżeniu i ustabilizował się na poziomie około 5,5%. W jeziorze Rotcze wartości wskaźnika początkowo wzrastały, osiągając maksimum w lipcu, po czym spadły do wartości z pierwszego terminu. W jeziorze Krasne zaobserwowano odwrotną tendencję – początkowy spadek w lipcu został skompensowany lekkim wzrostem w sierpniu. Największą niestabilność wykazywało jezioro Zagłębockie, gdzie CV% w maju osiągnęło 12,67%, następnie spadło niemal o połowę w lipcu, by w kolejnym terminie wzrosnąć do 14,31%. W jeziorach Rogóźno oraz Krasne-Krzczęń zmienność wartości pozostawała niezmienna w czasie, nie wykazując istotnych fluktuacji.



Rys. 1. Współczynnik zmienności (CV%) stężenia chlorofilu w wybranych zbiornikach wodnych w trzech terminach.

Wnioski: Analiza zmienności przestrzennej stężenia chlorofilu w wybranych zbiornikach Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego wykazała, że wartości wskaźnika zmienności pozostawały względnie stabilne w czasie. Nie zaobserwowano wyraźnej zależności między zmiennością wartości chlorofilu a terminem pozyskania obrazów satelitarnych. Oznacza to, że zmiany te wynikają z czynników specyficznych dla poszczególnych zbiorników, a nie z ogólnych trendów sezonowych. Zmienność wartości chlorofilu w obrębie poszczególnych jezior nie przekroczyła 15%, a w dominującej części przypadków mieściła się poniżej 8%. Oznacza to, że zastosowanie pojedynczego punktu pomiarowego w planowa-

nym projekcie, opartym na analizie zobrażeń satelitarnych, powinno zapewnić reprezentatywność uzyskanych wartości w odniesieniu do całego zbiornika. Szczególną uwagę zwraca przypadek jeziora Zagłębcze, które wyróżniało się znacznie wyższym poziomem zmienności przestrzennej w porównaniu do pozostałych zbiorników. Tak duża fluktuacja wskazuje, że w niektórych zbiornikach zmienność przestrzenna parametrów jakości wód może wymagać dodatkowych badań oraz wyznaczenia większej liczby stanowisk pomiarowych.

Podziękowanie: Badania finansowane z projektu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego, projekt nr. Rej.: SKN/SP/632076/2025, w ramach Programu „Studenckie koła naukowe tworzą innowacje” „Opracowanie narzędzia do zdalnego monitoringu kluczowych parametrów fizykochemicznych zbiorników wodnych w województwie lubelskim.”

Literatura:

1. M.N. Khan, F. Mohammad, Eutrophication: Causes, Consequences and Control, Springer, Dordrecht 2014.
2. N. Mineeva, Chlorophyll and Its Role in Freshwater Ecosystem on the Example of the Volga River Reservoirs, IntechOpen, London 2022.
3. U. Ahmed, R. Mumtaz, H. Anwar, S. Mumtaz, A.M. Qamar, Water Supply, 20 (2019) 28.
4. K. Dörnhöfer, N. Oppelt, Ecol Indic., 64 (2016) 22.
5. M. Govedarica, F. Alvarez-Taboada, G. Jakovljević, Remote Sensing and Artificial Intelligence in Inland Waters Monitoring, MDPI (2024) 64.
6. K. Osińska-Skotak, Metodyka wykorzystania super- i hiperspektralnych danych satelitarnych w analizie jakości wód śródlądowych, Pr Nauk Politech Warsz Geod., 47 (2010) 3-153.
7. K. Toming, T. Kutser, A. Laas, M. Sepp, B. Paavel, T. Nõges, Remote Sens., 8 (2016) 640.
8. L. Håkanson, J.M. Malmäus, U. Bodemer, V. Gerhardt, Ecol Model., 169 (2003) 179.

SEZONOWA DYNAMIKA ZMIAN WŁAŚCIWOŚCI FIZYKO-CHEMICZNYCH WODY TORFOWISKA PRZEJŚCIOWEGO

J. NOWOSAD¹, M. PIEJAK¹, A. GRYBOŚ¹, A. MIECZNIKOWSKA-ZIÓLEK¹, W. PŁASKA², A. BARTKOWSKA-BEKASIEWICZ², ¹SKN Hydrobiologii i Ochrony Środowiska, ²UP Lublin, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin

Abstrakt: Z najnowszego raportu dotyczącego globalnego ocieplenia wynika, że modele zmian klimatycznych zmieniają się intensywniej niż przewidywano. Wzrost temperatury może powodować ekstremalne zjawiska pogodowe takie jak: susza lub fala upałów. Informacje te są szczególnie niepokojące w przypadku torfowisk, które należą do jednych z najszybciej zanikających ekosystemów w Europie. Dlatego też celem podjętych badań była analiza sezonowej dynamiki zmian właściwości fizycznych oraz chemicznych wody pozyskanej z torfowiska przejściowego. Próby wody pobierane były raz w miesiącu od maja do listopada. Każdorazowo analizowano następujące parametry: temperatura, przewodnictwo elektrolityczne, pH, stężenie tlenu, chlorofil *a*, TN, N-NH₄, N-NO₃, P-PO₄³⁻, TP, TOC, DOC oraz materię organiczną. Przeprowadzone badania wykazały, że parametry fizyczne oraz chemiczne wody z torfowiska przejściowego ulegają najintensywniejszym wahaniom w sezonie letnim, natomiast najmniej istotne różnice występują w sezonie jesiennym.

Wprowadzenie: Na terenie Poleskiego Parku Narodowego znajdują się trzy duże kompleksy torfowiskowe. Każde z tych torfowisk jest unikalne pod względem bioróżnorodności, a także pełni istotne funkcje ekologiczne. Do szczególnie istotnych elementów Poleskiego Parku Narodowego należy torfowisko przejściowe – Orłowskie [1]. Ten typ mokradła jest zasilany zarówno wodami opadowymi jak i wodami pochodzącymi ze spływów powierzchniowych, wód podziemnych, bądź wolno przepływających wód gruntowych. Powstaje w pośrednich warunkach hydrologicznych, pomiędzy torfowiskiem wysokim i niskim. Bywa stadium pośrednim, prowadzącym do powstania torfowiska wysokiego [2]. Torfowisko Orłowskie tworzone jest przez kożuch roślinności bagiennej, który powstał w procesie zarastania jeziora. Stanowi miejsce występowania między innymi mięsożernych pływaczy (*Utricularia vulgaris*) oraz brzozy niskiej (*Betula humilis*) i omszonej (*Betula pubescens*), turzyc (np. dzióbkwatej (*Carex rostrata*), kruszyny pospolitej (*Frangula alnus*), żurawiny błotnej (*Oxycoccus palustris*), a także skrzypu bagiennego (*Equisetum fluviatile*) [3]. Jak wynika z najnowszych badań (IPCC), szczególnym zagrożeniem dla fauny oraz flory (również torfowisk) są globalne zmiany klimatu, w tym również zmiany temperatury [4]. Z tego powodu celem badań była sezonowa analiza parametrów fizycznych oraz chemicznych wody pozyskanej z torfowiska przejściowego, mająca na celu zobrazowanie warunków środowiskowych tego terenu.

Część eksperymentalna: Celem badań była analiza wody powierzchniowej torfowiska przejściowego pod względem wpływu zmian sezonowych na tego typu ekosystemy, znaj-

dujące się na terenie Poleskiego Parku Narodowego. Wyznaczone zostało stanowisko reprezentacyjne w pobliżu jeziora Łukie, z którego raz w miesiącu (od maja do listopada), pobierano wodę do badań. Numeracja prób odpowiada kolejnym analizowanym miesiącom. Materiał badawczy był wstępnie badany w terenie (pierwszy pomiar miernikiem wraz z pomiarem temperatury wody), pobierany do plastikowych pojemników, szczelnie zamykany i transportowany do laboratorium Katedry Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, gdzie przeprowadzono jego analizę fizykochemiczną. Do pomiaru temperatury, przewodnictwa elektrolitycznego, pH, chlorofilu *a* oraz stężenia tlenu rozpuszczonego (DO) użyty został miernik wieloparametrowy YSI 556MPS. Stężenie biogenów oznaczono metodą spektrofotometryczną, przy czym fosforany (P-PO_4^{3-}) określono kolorymetrycznie, a jony amonowe (N-NH_4^+) analizowano za pomocą analizatora przepływowego FIA. Całkowitą zawartość węgla organicznego oznaczono metodą utleniania nadsiarczaniem potasu przy użyciu analizatora TOC O/I Corporation Model 700. Uzyskane wyniki były systematycznie gromadzone w celu dokładnej analizy i zestawienia porównawczego.

Wyniki: Analiza parametrów fizycznych i chemicznych wykazała, że najwyższą wartość temperatury odnotowano w lipcu ($17,5^\circ\text{C}$), a najniższą w listopadzie ($4,3^\circ\text{C}$). Odczyn wody był zbliżony do odczynu obojętnego i ulegał niewielkim wahaniom (pH od 5,99 do 7,65), podobnie jak przewodnictwo elektrolityczne, którego wartości występowały pomiędzy $208\ \mu\text{S cm}^{-1}$ a $281\ \mu\text{S cm}^{-1}$. Gwałtowne zmiany zaobserwowano zaś w przypadku wartości tlenu rozpuszczonego. Wartość tego parametru z bliskiej zera w maju ($0,87\ \text{mg L}^{-1}$) wzrosła gwałtownie w czerwcu do $10,88\ \text{mg L}^{-1}$, a następnie stopniowo spadła i do końca okresu badań była niska (od $4,98\ \text{mg L}^{-1}$ do $0,69\ \text{mg L}^{-1}$). Stężenie azotu (N_{tot}) było wyższe od stężenia fosforu (P_{tot}) przez wszystkie badane miesiące i wynosiło średnio $2,14\ \text{mg L}^{-1}$, z najwyższą wartością w lipcu ($3,476\ \text{mg L}^{-1}$). Zawartość chlorofilu *a* (Chl *a*) osiągała najwyższe wartości wiosną i latem (od 23,2 do $74,4\ \text{mg L}^{-1}$), a niższe jesienią (od 20,3 do $29,5\ \text{mg L}^{-1}$). Biologiczne (BZT) i chemiczne zapotrzebowanie na tlen (ChZT) wykazały wysoce zbliżony przebieg zmian w poszczególnych sezonach, jednak wartości ChZT konsekwentnie utrzymywały się na wyższym poziomie ($70,5 - 44,0\ \text{mg L}^{-1}$) w porównaniu do BZT ($41,0 - 28,2\ \text{mg L}^{-1}$). W obu przypadkach najwyższe wartości zaobserwowano w maju, po czym wyraźnie spadło ono w czerwcu i utrzymywało się na względnie stabilnym poziomie do listopada. Zawiesina rozproszona (TSS) osiągała wartości w przedziale od $103\ \text{mg L}^{-1}$ pod koniec lata do $168\ \text{mg L}^{-1}$ wiosną. Całkowity węgiel organiczny (TOC) utrzymywał się na podobnym poziomie przez cały okres badań i również osiągnął wartość maksymalną w maju ($30,5\ \text{mg L}^{-1}$). Szczegółowe wyniki zawarte są w Tabeli 1.

Tabela 1. Właściwości fizyczne oraz chemiczne wody torfowiskowej, w poszczególnych miesiącach badawczych (V-maj, VI-czerwiec, VII- lipiec, VIII-sierpień, IX- wrzesień, X- październik, XI- listopad) wraz z wyszczególnieniem wysokości wartości danego parametru (ciemniejsze tło komórki – wyższa wartość) oraz średnią.

Miesiąc badawczy Parametry ↓	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	Średnia
T ($^\circ\text{C}$)	9,0	14,5	17,5	15,1	15,9	7,9	4,3	12,03
pH	6,71	7,20	5,99	6,28	6,23	7,65	7,30	6,77

Przewodnictwo elektrolityczne ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	220	234	208	256	281	213	209	231,57
O_2 (mg L^{-1})	0,87	10,88	4,98	0,69	2,18	3,40	2,80	3,69
$\text{O}_2\%$	7,90	106,80	62,50	7,40	22,20	30,20	26,45	37,64
N_{tot} (mg L^{-1})	1,96	2,21	3,48	1,72	2,15	1,68	1,77	2,14
N-NO_3^- (mg L^{-1})	< 0,01	0,13	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,03
N-NH_4^+ (mg L^{-1})	< 0,01	0,12	2,20	0,14	0,20	0,04	0,21	< 0,42
P-PO_4^{3-} (mg L^{-1})	0,01	0,02	0,11	0,03	0,09	0,02	0,06	0,05
P_{tot} (mg L^{-1})	0,05	0,04	0,19	0,09	0,24	0,09	0,10	0,11
Chl <i>a</i> (mg L^{-1})	74,40	51,34	23,20	48,65	27,30	20,30	29,50	39,24
ChZT (mg L^{-1})	70,5	50,0	44,0	44,0	45,0	46,0	46,5	49,43
BZT (mg L^{-1})	41,0	34,0	28,6	28,2	28,8	30,5	30,2	31,61
TSS (mg L^{-1})	168	110	129	115	103	137	109	124,43
SUR (mg L^{-1})	20,2	18,6	19,8	18,0	18,0	21,2	19,6	19,34
TOC (mg L^{-1})	30,5	25,6	22,0	21,6	21,8	23,4	23,0	23,99

Wnioski: Jak wynika z najnowszych modeli zmian klimatycznych (IPCC), w najbliższych trzech dekadach temperatura powietrza może potencjalnie wzrosnąć od 2°C do nawet 4°C [4]. Dodatkowo globalne ocieplenie może wpłynąć na funkcjonowanie ekosystemów torfowiskowych, które należą do jednych z najszybciej zanikających i najbardziej zagrożonych w Europie [5]. Sezonowa analiza parametrów fizycznych oraz chemicznych wody umożliwi monitorowanie środowiska, które stanowi siedlisko występowania licznych gatunków roślin oraz zwierząt, w dużej mierze charakterystycznych dla tego typu siedliska, rzadkich lub zagrożonych. Jedną z istotnych zmiennych w badaniach była temperatura wody. To ona w dużym stopniu tworzy sezonowość przez wpływ na aktywność procesów metabolicznych organizmów wodnych czy żyzność siedliska. Tym samym oddziałuje na inne mierzone parametry przez cały okres badania [6]. W przedstawionych badaniach wykazano, że przewodnictwo elektrolityczne przyjmowało najwyższe wartości na przełomie lata oraz jesieni. Ponadto w naszych badaniach zaobserwowano wzrost przewodnictwa elektrolitycznego oraz chlorofilu *a* przy obniżeniu stężenia tlenu. Etapy tymczasowego obniżania zawartości tlenu w środowisku mogą stanowić procesy naturalne, natomiast, jak wykazują badania prowadzone przez Diaz i Rossenberg (2008), proces ten może być powodowany działalnością antropogeniczną [7]. Nasze badania wykazały również wzrost odczynu siedliska oraz przewodnictwa elektrolitycznego, któremu towarzyszył wzrost stężenia biogenów. Podobne zależności zaobserwowali Lundin i in. (2017) w szwedzkich

ekosystemach torfowiskowych. Stwierdzili oni, że wzrost odczynu siedliska oraz przewodnictwa elektrolitycznego i stężenie azotu oraz fosforu jest powiązane, a także może być powodowane antropogenicznym przekształceniem ekosystemu [8]. Jest to zgodne z naszymi obserwacjami, ponieważ torfowisko Orłowskie należy do siedlisk żyznych. Ponadto istotnie wyższe stężenia związków biogenych zostały odnotowane w sezonie letnim. Badania prowadzone przez Siwek i Żelaznego (2005) również wykazały, że w sezonach letnich stężenie związków biogenych przyjmuje wyższe wartości [9]. Temperatura wykazuje istotny wpływ na różnicowanie parametrów fizycznych oraz chemicznych wody pozyskanej z torfowiska przejściowego w poszczególnych miesiącach badawczych. Dlatego też zmiany klimatu, w tym również wzrost temperatury może mieć bezpośredni wpływ na ekosystemy torfowiskowe [10, 11]. Ponadto, torfowisko Orłowskie znajduje się w bliskim sąsiedztwie terenów działalności antropogenicznej. Również te działania mogą być istotnym czynnikiem, stanowiącym potencjalne zagrożenie dla ekosystemów mokradłowych (między innymi poprzez zaburzenie hydrologii torfowisk) [12]. Dlatego też bardzo ważne jest kontynuowanie rozpoczętych badań, w celu zaobserwowania długoterminowych zmian oraz określenia potencjalnych czynników wpływających negatywnie na te ekosystemy.

Literatura:

1. Zarządzenie Ministra Leśnictwa i Przemysłu Drzewnego z dnia 12 października 1982 r. (MP. nr 25, poz. 234).
2. M. Herbichowa, W: J. Herbich (red.). Wody słodkie i torfowiska, Poradniki ochrony siedlisk i gatunków Natura 2000. T. 2., Ministerstwo Środowiska, Warszawa 2004.
3. M. Pogorzelec, U. Bronowicka-Mielniczuk, B. Bnach, A. Szczurowska, A. Serafin, Appl. Ecol. Environ. Res., 12 (2014) 441.
4. IPCC, 2023: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 35.
5. T.M. Robson, V.A. Pancotto, A.L. Scopel, S.D. Flint, M.M. Caldwell, Soil Biol. Biochem., 37 (2005) 2205.
6. H. Joosten, F. Tanneberger, A. Moen (eds.), Mire diversity in Europe: mire and peatland types. Mires and Peatlands of Europe: Status, Distribution and Conservation. Schweizerbart Science Publishers, Stuttgart 2017.
7. R. Diaz, R. Rosenberg, Science, 321 (2008) 926.
8. L. Lundin, T. Nilsson, S. Jordan E. Lode, M. Strömgren, Wetlands Ecol. Manage., 25 (2017) 405.
9. J. Siwek, M. Żelazny, W: K. Krzemień, J. Trepńska, A. Bokwa (red.), Rola stacji terenowych w badaniach geograficznych, Instytut Geografii i Gospodarki Przestrzennej Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2005.
10. R.D. Bardgett; D.A. Wardle, Aboveground-Belowground Linkages. Biotic Interactions, Ecosystem Processes, and Global Change, Oxford University Press, Oxford 2010.
11. H. Flessa, U. Wild, M. Klemisch, J. Pfadenhauer, Eur. J. Soil Sci., 49 (1998) 327.
12. K. Gorczyca (red.), Polesie czy Powęgle? Jaka przyszłość Polesia? Górnictwo, przyroda, zrównoważony rozwój, Towarzystwo dla Natury i Człowieka, Lublin 2023.

ASFALT DROGOWY I METODY JEGO MODYFIKACJI SIARKĄ POLIMEROWĄ

M. ROMANUK, P. PĄCZKOWSKI, B. GAWDZIK, UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Polimerów, ul. Gliniana 33, 20-614 Lublin

Abstrakt: Niniejszy artykuł omawia modyfikację asfaltów drogowych przy użyciu siarki polimerowej oraz jej wpływ na właściwości otrzymanego asfaltu. Przedstawiono także wyniki badań penetracji oraz temperatury mięknięcia materiału bitumicznego.

Wprowadzenie: Bitumen jest to mieszanina węglowodorów pochodzenia naturalnego lub pirolitycznego [1]. Jest on całkowicie rozpuszczalny w siarczku węgla. Występuje jako materiał stały lub półstały o właściwościach cementujących, a pod wpływem podgrzewania stopniowo staje się płynny. Bitumen składa się głównie z bitumów pochodzących ze źródeł naturalnych lub otrzymywanych z przetworzonej ropy naftowej. Można uzyskać go poprzez frakcjonowaną destylację ropy naftowej w rafineriach, ale występuje również w środowisku naturalnym w postaci złóż. Skład bitumu jest zróżnicowany, z zawartością węgla w zakresie od 80 do 88% masy i wodoru od 8 do 11% masy. Składa się z licznych związków chemicznych takich jak: siarczki, tiole, sulfoksydy (sulfotlenki), ketony, fenole lub kwasy karboksylowe oraz węglowodory alifatyczne i aromatyczne [1]. W zależności od składu i wymagań materiałowych, asfalt znajduje szerokie zastosowanie, w tym na nawierzchniach drogowych, mostach, torach kolejowych i pasach startowych. Jednakże tradycyjny bitum wykazuje ograniczoną odporność na zmienne temperatury i intensywne obciążenia ruchu drogowego powodujące koleinowanie. Jednym z podejść do poprawy tych właściwości jest modyfikacja asfaltu. Drogi asfaltowe wykazują temperaturowe ograniczenia, przejawiając pękanie przy niskich temperaturach i mięknięcie przy wysokich temperaturach. Dodatkowo, duży ciężar ładunku i intensywny ruch drogowy powodują szybsze niszczenie dróg i konieczność ponoszenia wysokich kosztów związanych z ich naprawami i konserwacją. Aby zapobiec przedwczesnemu uszkodzeniu asfaltu, można stosować różnego rodzaju modyfikatory. Na rynku dostępne są liczne dodatki do asfaltu [2,3]. Korzyści z zastosowania zmodyfikowanego asfaltowego mogą być zrealizowane jedynie poprzez rozważny dobór modyfikatorów, nie wszystkie modyfikatory są odpowiednie do wszystkich późniejszych zastosowań asfaltu. Ogólnie rzecz biorąc, asfalt powinien być poddawany modyfikacji w celu osiągnięcia:

- obniżenia sztywności (lub lepkości) w wysokich temperaturach związanych z procesem konstrukcyjnym – ułatwia pompowanie płynnego spoiwa asfaltowego oraz mieszanie i zagęszczanie mieszanki mineralno-asfaltowej;
- zwiększenia sztywności w wysokich temperaturach eksploatacji – zapobiega powstawaniu kolein i deformacji;
- obniżenia sztywności i uzyskania szybszych właściwości relaksacji w niskich temperaturach eksploatacji – zapobiega pękaniu spowodowanemu działaniem niskich temperatur;
- zwiększenia adhezji między spoiwem asfaltowym a kruszywem w obecności wilgoci – zapobiega rozwarstwianiu.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu siarki polimerowej na właściwości asfaltu. W prezentowanej pracy, użyto jako jednego z modyfikatorów asfaltu, kopolimer blokowy styren-butadien-styren (SBS). SBS jest syntetycznym kauczukiem otrzymywanym z butadienu i styrenu. Materiał ten jest termoplastycznym elastomerem, który wykazuje doskonałą odporność na starzenie i ścieranie, gdy jest domieszany do asfaltu, co czyni go idealnym modyfikatorem do osiągnięcia zimowej elastyczności i właściwości sprężystych. SBS ma zdolność do zachowania kształtu po rozciągnięciu i dlatego szeroko stosuje się go w modyfikowanym asfalcie do pokryć dachowych, powłok, uszczelniaczy i nawierzchni drogowych. Kolejnym modyfikatorem była mączka z gumy ze zużytych opon, co jest bardzo korzystne z punktu widzenia ich recyklingu. Użycie gumy przynosi liczne korzyści dla nawierzchni asfaltowych. Siarka polimerowa, znana jako „μ-sulfur”, powstaje w wyniku topnienia siarki elementarnej w temperaturze powyżej 160 °C. W tych warunkach następuje otwieranie pierścieni cyklo-oktasiarki (S₈) i tworzenie długich łańcuchów polimerowych [4]. Otrzymanie jej możliwe jest poprzez szybkie chłodzenie stopionej, ciekłej siarki w ciekłym azocie.

Część eksperymentalna: Do modyfikacji asfaltu użyto trójściżynowego reaktora szklanego o pojemności 1 l, wyposażonego w mieszadło mechaniczne. Umieszczono w nim komercyjnie dostępny asfalt 50/70 firmy ORLEN Asfalt (600 g), mączkę o średnicy 0-0,6 mm z gumy ze zużytych opon firmy Orzeł (60 g) i parafinę (3 g). Zawartość reaktora ogrzano do temperatury 190 °C a następnie dodano SBS (6 g), otrzymaną wcześniej siarkę polimerową (145 g) i ogrzewano w tej temperaturze przez 40 godzin do całkowitego rozтворzenia SBS i gumy w roztworze asfaltu. Próbkę asfaltu poddano badaniom penetracji i temperatury mięknięcia. Uzyskane wyniki porównano z parametrami asfaltu przed modyfikacją oraz dla komercyjnego asfaltu modyfikowanego ORBITON PMB 10/40-65 firmy ORLEN Asfalt [5].

Wyniki: Modyfikacja chemiczna bitumenu wpływa na jego właściwości (Tabela 1). Zauważono, że asfalt modyfikowany siarką polimerową, SBS i gumą pochodzącej z recyklingu opon, wykazywał znacznie mniejszą penetrację w temperaturze 25 °C. Wartość tego parametru uległa redukcji z 51-53 mm dla asfaltu niemodyfikowanego do około 7-9 mm dla modyfikowanego. Oznacza to, że zmodyfikowany asfalt stał się odporny na odkształcenia. Natomiast temperatura mięknięcia wzrosła wraz z modyfikacją z 51 do 84 °C co świadczy o tym, że asfalt po modyfikacji stał się bardziej odporny na działanie wysokich temperatur. Dla określenia wpływu modyfikacji, wyniki porównano z danymi dla asfaltu ORBITON PMB 10/40-65 – najtwardszego asfaltu modyfikowanego i produkowanego przez ORLEN Asfalt. Otrzymany w prezentowanej pracy asfalt wykazuje znacznie lepsze właściwości penetracji i temperatury mięknięcia w stosunku do materiału handlowego.

Tabela 1. Porównanie właściwości asfaltów.

Właściwości	Asfalt niemodyfikowany	Asfalt modyfikowany	ORBITON PMB 10/40-65
Penetracja w 25 °C, mm	51 - 53	6,7 – 8,7	10 - 40
Temperatura mięknięcia, °C	51	84	≥ 65

Wnioski: Metoda modyfikacji asfaltu z użyciem SBS i gumy pochodzącej z recyklingu ma bezpośredni wpływ na poprawę jego właściwości. Zastosowanie odpadowej gumy, jako zamiennika polimerów syntetycznych, pozwala na obniżenie kosztów otrzymywania bitumu modyfikowanego polimerami. Materiał gumowy poprawia odporność na koleinowanie, pękanie zmęczeniowe oraz zwiększa trwałość dróg. Ze względu na obecność mostków siarkowych, tworzących trójwymiarową sieć w lepisczu asfaltowym łańcuchy siarki polimerowej mają bezpośredni wpływ na poprawę właściwości asfaltu. Polepszone właściwości mechaniczne i termiczne wpływają na zmniejszenie koleinowania i pękania nawierzchni. Badania potwierdziły, że modyfikacja asfaltu siarką polimerową znacząco poprawia jego właściwości mechaniczne. Otrzymany asfalt jest bardziej odporny na deformacje i może być stosowany w miejscach narażonych na intensywny ruch, takich jak skrzyżowania czy parkingi. Dalsze badania powinny skupić się na optymalizacji procesu syntezy siarki polimerowej oraz analizie długoterminowej trwałości asfaltu w warunkach rzeczywistych.

Literatura:

1. M. Porto, P. Caputo, V. Loise, S. Eskandarsefat, B. Teltayev, C. Oliviero Rossi, Appl. Sci., 9 (2019) 742.
2. B. Gawdzik, T. Matynia, K. Błażejowski, Materials, 13 (2020) 4864.
3. J. Zhu, B. Birgisson, N. Kringos, Eur. Polym. J., 54 (2014) 18.
4. R. Steudel, B. Eckert, Chapter 1: Solid Sulfur Allotropes, Springer, Berlin, Heidelberg, 2003.
5. K. Błażejowski, J. Olszacki, H. Peciakowski, ORLEN Poradnik Asfaltowy, ORLEN Asfalt Sp. z o.o., Płock 2014.

POLKI W NAUCE - KOBIETY, KTÓRE ZMIENIŁY ŚWIAT

S. JARZYNA, D. GUGAŁA-FEKNER, UMCS, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Chemii Analitycznej Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: W pracy poruszony został temat działalności kobiet na drodze badawczo-naukowej i trudności, jakie towarzyszyły im w procesie zdobywania oraz rozpowszechniania wiedzy. Przedstawiono problem dyskryminacji płci wraz z ograniczającą rolą stereotypów w sferze naukowej. Opisano opresję, którym podlegały Polki mimo, iż kobiety te przyczyniły się do polepszenia standardów życia człowieka oraz rozwoju różnych dziedzin nauki.

Wprowadzenie: Od XIX wieku obserwowany jest wzrost udziału kobiet w różnych przestrzeniach życia społecznego, a szczególnie w świecie nauki. Dzięki procesowi emancypacji kobiet zniesiono większość ograniczeń w ich edukacji, co przyczyniło się do zwiększenia liczby uczennic w szkołach średnich oraz wyższych. Możliwa okazała się kontynuacja kształcenia na poziomie akademickim, a także podążanie wybraną ścieżką kariery. Jednak pomimo szerzonego w społeczeństwie stanowiska o równości płci wciąż powszechne były stereotypowe poglądy. Kobiety, które znalazły zatrudnienie, otrzymywały niższe pensje niż mężczyźni na podobnych stanowiskach, a ich prace naukowe oceniano z większą krytyką. Zakorzenione w myśli społeczeństwa przekonanie o naukowej supremacji mężczyzn sprawiło, że udział kobiet naukowców w odkryciach często był pomijany. Ich badania nie były tak popularyzowane, jak te opracowane przez badaczy o takim samym poziomie kwalifikacji. W Polsce niechęć ogółu do kobiet na wyższych stanowiskach była jednakowo obecna. Studentki, które pragnęły poszerzyć swoją wiedzę, nieraz były zmuszone opuścić ojczyznę i rozpocząć naukę na zagranicznych uniwersytetach. Mimo to wiele wybitnych Polek wynalazców, odkrywców i badaczy kontynuowało pracę na rzecz społeczeństwa polskiego. W większości ich nazwiska nie są powszechnie znane, a osiągnięcia nie zawsze spotkały się z należyтым wynagrodzeniem. Jednak niezaprzeczalnie można stwierdzić, że kobiety te przyczyniły się do rozwoju różnych dziedzin nauki, a nawet polepszenia warunków życia codziennego ludzi z całego świata.

Maria Skłodowska-Curie (Rys.1.) to jedna z najbardziej znanych uczonych na świecie. Z represją z powodu swojej płci spotykała się na każdym etapie swojego życia. Od wczesnych lat łaknęła wiedzy wykraczającej poza edukację kobiet w kontrolowanej przez zaborcę Polskę. Zmuszona była kontynuować kształcenie na Uniwersytecie Łatającym - instytucji, która zajmowała się potajemnym nauczaniem. Maria otwarcie mogła poszerzać swoją wiedzę dopiero po opuszczeniu kraju. Jednak jej badania wciąż otrzymywały dużo krytyki ze strony uczonych. Nauka uważana była za domenę mężczyzn, przez co z niechęcią akceptowano odkrycia Polki. Z początku nie uwzględniono jej w wyborze laureatów do Nagrody Nobla. Ostatecznie za badania nad promieniotwórczością oraz za odkrycie polonu i radu Marii dwa razy przyznano tę nagrodę. Uczyniło to ją pierwszą kobietą, która została noblistką. Otrzymała również miano profesora na paryskiej Sorbonie, co znów sprawiło, że stała się pierwszą wśród kobiet z tytułem wyższym we Francji. Pomimo to jej dokonania były niewystarczające, aby pokonać przekonania członków Francuskiej Akademii Nauk, którzy nie chcieli przyjąć kobiety do swojego grona.



Rys.1. Maria Skłodowska - Curie (7).

Maria Goeppert-Mayer to kolejna polska noblistka w dziedzinie fizyki, która przez długi okres swojej działalności nie uzyskiwała poparcia. Po ślubie przeniosła się do Stanów Zjednoczonych, gdzie szczególnie dotknęła ją dyskryminacja ze względu na płeć. Nauki ścisłe uznawano za specjalizację mężczyzn, przez co Maria nie mogła znaleźć zatrudnienia. Udział w większym projekcie na Uniwersytecie Columbia przyznano jej dopiero w nagrodę za osiągnięcia w pracy nad separacją izotopów uranu, które wykorzystano przy kreacji bomby atomowej. W trakcie II Wojny Światowej pracowała również nad projektem Manhattan. Po wojnie Maria zajęła się badaniem struktury atomów, a jej praca naukowa poskutkowała utworzeniem modelu powłokowego. Osiągnięcia Polki uhonorowano Nagrodą Nobla i w końcu dzięki swojemu zaangażowaniu w rozwój fizyki jądrowej doczekała się aprobaty. Jej postać była dowodem, że kobiety również mogą pogodzić badania naukowe z życiem rodzinnym.

Pierwszą polską lekarką, która ukończyła studia z dyplomem była Anna Tomaszewicz-Dobrska (Rys.2.). Studia lekarskie rozpoczęła w Zurychu, gdyż na terenie okupowanej Polski medycyna była dziedziną przeznaczoną jedynie dla mężczyzn. Na ambitne kobiety chcące uczyć się ochrony zdrowia patrzono z pogardą. Umiejętności Anny rozpoznano dopiero w trakcie epidemii gorączki połogowej, kiedy to dzięki jej wybitnym umiejętnościom śmiertelność nowych matek spadła do 1 procenta. Polka nie tylko poświęcała się ratowaniu życia, ale też sama kształtowała kolejne pokolenia kobiet lekarzy.



Rys.2. Anna Tomaszewicz – Dobrska (9).

Inną pionierką wśród kobiet w świecie nauki jest Maria Czaplicka, która zafascynowana szamanizmem i ludami Syberii studiowała w nielegalnych polskich szkołach. Dzięki swojemu powodzeniu w nauce otrzymała stypendium, co pozwoliło jej dalej kształcić się w Wielkiej Brytanii, gdzie ukończyła studia na Oksfordzie. Po swojej podróży na Syberię i publikacji książki Maria jako pierwsza kobieta w historii otrzymała propozycję prowadzenia Katedry Antropologii na Uniwersytecie Oksfordzkim. Mimo posiadanych kompetencji Polka wciąż spotykała się z dyskryminacją z powodu swojej płci. W życiu Marii trudnością nie okazał się surowy klimat Syberii, a znalezienie stałego zatrudnienia. Wpłynęło to na działalność uczoney, która otwarcie mówiła o równości płci oraz wspierała ruchy niepodległościowe w Polsce. Jednak ciągle represje przyczyniły się do załamania psychicznego antropolożki, a w końcu i jej samobójstwa.

Prekursorką wśród kobiet w Europie, która zdobyła doktorat z matematyki była Zofia Kowalewska. Polka, aby kontynuować naukę na uniwersytecie zmuszona była opuścić kraj. Niestety wyjazd samotnych kobiet był zakazany, dlatego koniecznym dla Zofii było wstąpienie w zaaranżowane małżeństwo. Późniejsza praca doktorancka Polki poruszała trzy różne tematy, a każdy z osobna zapewniłyby jej uzyskanie tytułu, gdyby była mężczyzną. Mimo swojej posady profesora na uniwersytecie w Sztokholmie Zofię spotkała fala krytyki. Jej wygląd i małżeństwo okazało się ważniejsze dla społeczeństwa niż tytuły naukowe.

Współcześnie osiągnięcia naukowe kobiet ciągle nie są tak samo nagłaśniane, jak te dokonane przez mężczyzn. Przykładem może być przenośny aparat do badania akcji serca płodu (Rys.3.), który stosowany jest przez przyszłe mamy na całym świecie. Precyzyjny odczyt, którego można dokonać w domowych warunkach, pozwala na szybką interwencję lekarzy i tym samym przyczynił się on do zmniejszenia umieralności nienarodzonych dzieci. Jednak niewiele osób wie, że urządzenie to zostało wynalezione przez dwie Polki - Annę Skotny i Patrycję Wizińską-Socha.



Rys.3. Aparat do badania akcji serca płodu (3).

Wnioski: Kobiety w nauce do niedawna spotykały się z dużą dezaprobatą ze strony społeczeństwa. Ich udział w badaniach oraz odkrycia często lekceważono tylko z uwagi na ich płeć. W celu uzyskania wyższego wykształcenia wiele Polek zmuszonych było opuścić ojczyznę. Niestety przekonanie o jedynej roli kobiety jako matki było głęboko zakorzenione w poglądach uczonych z całego świata, przez co nawet na renomowanych uczelniach studentki napotykały liczne trudności. Dalsze kształcenie uznawano za przywilej mężczyzn, a krzywdzące uwagi na temat odczytanych kobiet powszechnie akceptowano. Jednak z upływem lat ta dyskryminacja stopniowo malała. Polki mogły kontynuować edukację w ojczyźnie, gdzie też otrzymywały tytuły naukowe. Kobiety udowodniły, że posiadają potrzebne kompetencje i mogą pogodzić zyskiwanie wykształcenia z założeniem rodziny. Jednak zanik opresji i głośnej krytyki okazuje się niewystarczający. Wciąż istnieje bariera, która sprawia, że Polki nie spotykają się z należyтым rozgłosem, a działalność organizacji wspierających pozycję kobiet w świecie badawczo-naukowym nadal jest konieczna.

Literatura:

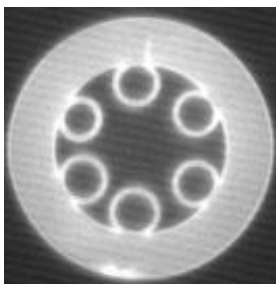
1. T. Rożek, Akademia Superbohaterów, Fundacja Nauka. To Lubię, Gliwice 2023.
2. A. Zygierewicz, Kobiety w nauce w Polsce, Analizy BAS, 04 (2015) 1.
3. A. Fedorowicz, I. Fedorowicz, 25 polskich wynalazców i odkrywców, którzy zmienili świat, Fronda, Warszawa 2017.
4. A. Knapieńska, Kobiety w technonauce. Biografie zawodowe profesorek, Ośrodek Przetwarzania Informacji – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa 2022.
5. A. Dziedziczak-Foltyn, Równość płci w szkolnictwie wyższym i nauce – teoria i praktyka, Przegląd Socjologiczny, Vol.59 No.3 (2010) 87.
6. M. Szwed-Sztuka, Kobieta i jej znaczenie w nauce, Res Politicae, Vol.8 (2016) 161.
7. www.mmsc.waw.pl/postac-patronki/ (dostęp 25.02.2025 r.).
8. Nauka.tvp.pl/65086955/anna-tomaszewiczdobrska-18541918, (dostęp 25.02.2025 r.).

OPTIMALIZACJA PARAMETRU PRZESUNIĘCIA MIEJSCA GRZANIA PRZY POŁĄCZENIU ŚWIATŁOWODU STANDARDOWEGO ZE ŚWIATŁOWODEM HOLLOW-CORE

M. JÓZWICKI, P. MERGO, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Pracownia Technologii Światłowodów, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 3, 20-031 Lublin

Abstrakt: W pracy przedstawiono wyniki optymalizacji przesunięcia miejsca ogrzewania światłowodu standardowego oraz włókna hollow-core w trakcie procesu ich trwałego łączenia (spawania). Po przeprowadzonym procesie spawania połączenie umieszczono w module badającym wytrzymałość mechaniczną połączeń, gdzie zmierzono wartość siły rozciągania, przy której nastąpiło zerwanie połączenia pomiędzy światłowodem standardowym, a światłowodem hollow-core. Z przeprowadzonych badań wynika że optymalnym miejscem grzania w procesie łączenia badanych światłowodów jest brak przesunięcia w stronę spawanych światłowodów.

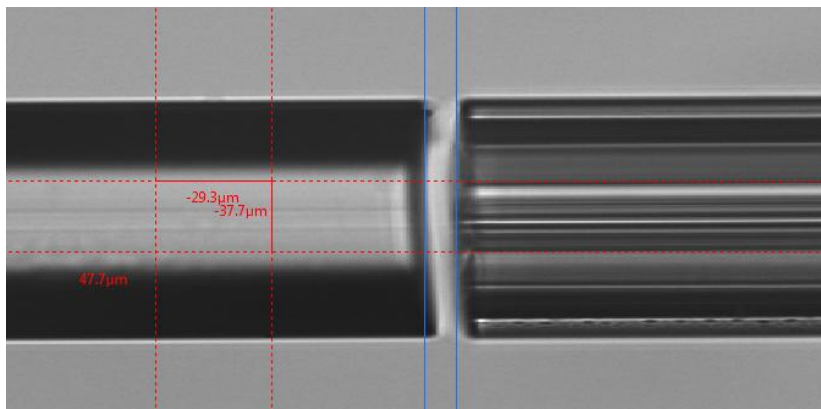
Wprowadzenie: Światłowodów hollow-core są światłowodami które prowadzą światło wykorzystując efekt antyrezonansowego odbicia od cienkich ścianek kapilar. Ich konstrukcja wewnętrzna znacznie odbiega od dobrze znanych standardowych światłowodów jednomodowych. Połączenie a w tym zespawanie takich światłowodów stanowi obecnie dość duże wyzwanie związane przede wszystkim z koniecznością zachowania struktury wewnętrznej włókna hollow-core w trakcie procesu spawania. Wykonanie połączenia z zaburzoną strukturą wewnętrzną skutkuje przesunięciem zakresu spektralnego prowadzonego światła w pustym rdzeniu światłowodu lub w drastycznym przypadku zanikiem propagacji. Światłowodów hollow-core wykorzystywane mogą być przy konstrukcjach czujników światłowodowych, mogących mierzyć np. ciśnienie lub stężenie gazów po pokryciu jego powierzchni metaliczną powłoką. Natomiast połączenie go ze światłowodem standardowym umożliwia podłączenie światłowodu do aparatury nadawczo-odbiorczej.



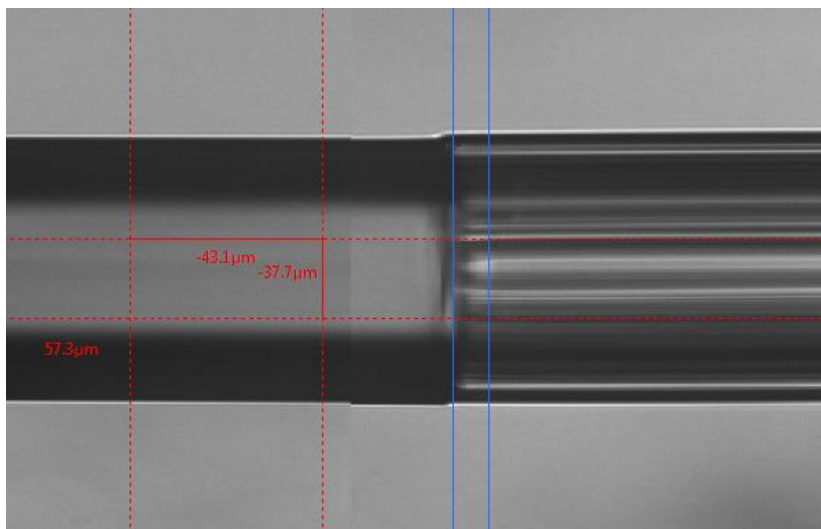
Rys. 1. Światłowod hollow-core wyciągnięty w Pracowni Technologii Światłowodów, Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.

Część eksperymentalna: Proces spawania przeprowadzono wykorzystując spawarkę światłowodową Vytran FFS2000. W trakcie badań zmieniano miejsce grzania od -200 do

200 μm w stosunku do światłowodu standardowego. Wytrzymałość spawów została zmierzona przy pomocy modułu do badania wytrzymałości połączeń znajdującym się w wyżej wymienionej spawarce poprzez pomiar siły rozciągania połączonych światłowodów. Pomiar i ocena nienaruszenia struktury wewnętrznej światłowodu hollow-core wykonana została poprzez analizę zdjęć wykonanych na podglądzie dostępnym w spawarce światłowodowej przed procesem łączenia światłowodu standardowego ze światłowodem hollow-core. Na rysunku 2 oraz 3 pokazano zdjęcia światłowodów przed oraz po procesie łączenia dla przesunięcia miejsca grzania wynoszącego 0 μm .



Rys. 2. Zdjęcie z podglądu spawarki przed procesem łączenia.

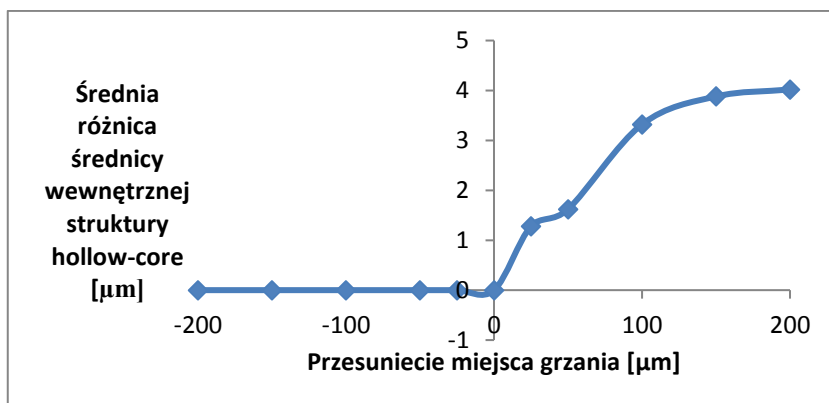


Rys. 3. Zdjęcie z podglądu spawarki po procesie łączenia.

Wyniki: Analizując zdjęcia przed i po procesie spawania zrobione za pomocą podglądu miejsca spawania w spawarce wykonano wykres różnicy średnicy wewnętrznej struktury światłowodu hollow-core. Wyniki tę pokazano w tabeli 1 oraz na wykresie z rysunku 4.

Tab.1 Wyniki pomiarów różnicy średnicy wewnętrznej struktury światłowodu hollow-core dla poszczególnych połączeń

Lp.	- 200	- 150	- 100	-50	-25	0	25	50	100	150	200
1	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	1,30μ m	1,50μ m	3,40μ m	3,90μ m	3,90μ m
2	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	1,30μ m	1,50μ m	3,20μ m	3,60μ m	4,10μ m
3	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	1,10μ m	1,80μ m	3,40μ m	3,90μ m	4,10μ m
4	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	1,40μ m	1,50μ m	3,60μ m	4,10μ m	3,90μ m
5	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	1,30μ m	1,80μ m	3,00μ m	3,90μ m	4,10μ m
Średnia:	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	0μ m	1,28μ m	1,62μ m	3,32μ m	3,88μ m	4,02μ m

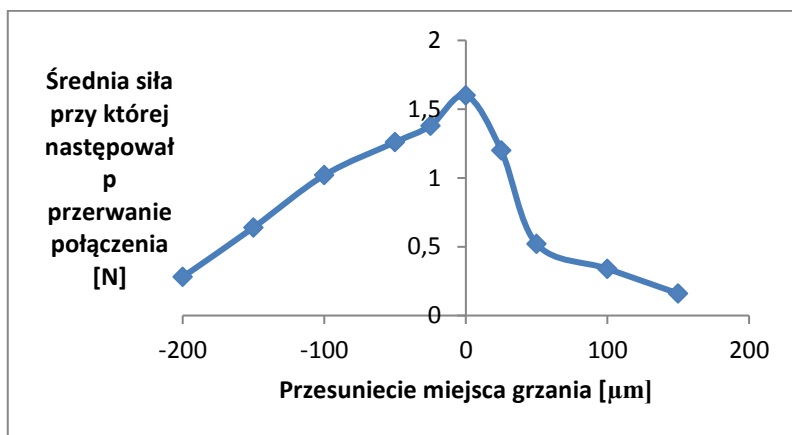


Rys. 4. Wykres różnicy średnicy wewnętrznej struktury światłowodu hollow-core.

Natomiast wyniki pomiarów z modułu wytrzymałościowego w spawarce Vytran FFS2000 zamieszczono w tabeli 2 oraz na wykresie z rysunku 5.

Tab. 2 Wyniki pomiarów wytrzymałości mechanicznej połączeń pomiędzy światłowodem hollow-core a światłowodem standardowym przy przesunięciu 200μm brak wyników połączenie przerywało się w trakcie przenoszenia do modułu wytrzymałościowego..

Lp.	-200	-150	-100	-50	-25	0	25	50	100	150
1	0,30N	0,80N	1,10N	1,20N	1,40N	1,60N	1,10N	0,60N	0,40N	0,20N
2	0,20N	0,60N	1,00N	1,30N	1,30N	1,60N	1,20N	0,50N	0,30N	0,20N
3	0,30N	0,50N	1,10N	1,30N	1,40N	1,70N	1,30N	0,50N	0,30N	0,10N
4	0,40N	0,70N	0,90N	1,20N	1,40N	1,50N	1,20N	0,30N	0,40N	0,10N
5	0,20N	0,60N	1,00N	1,30N	1,40N	1,60N	1,20N	0,70N	0,30N	0,20N
Średnia:	0,28N	0,64N	1,02N	1,26N	1,38N	1,60N	1,20N	0,52N	0,34N	0,16N



Rys. 5. Wykres siły naciągu przy którym nastąpiło przerwanie połączenia światłowodu standardowego ze światłowodem hollow-core.

Wnioski: Na podstawie wyników przedstawionych na wykresach z rysunków 4 oraz 5 wynika że optymalną wartością parametru przesunięcia miejsca grzania w trakcie procesu łączenia światłowodu standardowego ze światłowodem hollow-core jest $0\ \mu\text{m}$ a więc brak przesunięcia w kierunku konkretnego spawanego światłowodu

Literatura:

1. A. D. Yablon, Optical Fiber Fusion Splicing, Springer Berlin, Heidelberg, 2005.
- 2.M.. Józwicki, P. Mergo, „Optymalizacja połączenia trwałego pomiędzy światłowodem standardowym a światłowodem mikrostrukturalnym”, w Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie, Wydawnictwo UMCS, Lublin 2022, s. 91.
- 3.M. Józwicki, W. Józwicka P. Mergo, „Optymalizacja procesu wytwarzania połączenia trwałego pomiędzy światłowodem standardowym a światłowodem z otworem powietrznym”, w Nauka i przemysł – lubelskie spotkania studenckie, Wydawnictwo UMCS, Lublin 2024, s. 25.

CZY ŚLIMAKI MORSKIE MOGĄ LECZYĆ?

M. PAWŁASZEK¹, A. GUMIENICZEK², ¹Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Chemii Leków, Studenckie Koło Naukowe, ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin, ²Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Chemii Leków, ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin

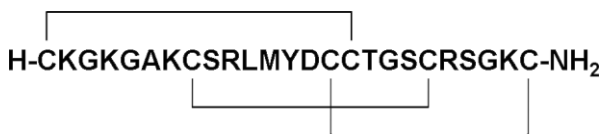
Abstrakt: Ślimaki morskie z rodzaju *Conus* należą do grupy zwierząt jadowitych pochodzących z wód subtropikalnych i tropikalnych. W ich jadzie znajdują się niepowtarzalne neurotoksyny o budowie polipeptydów zawierających cysteinę. Ogólnie rzecz biorąc, są to małe polipeptydy zawierające najczęściej od 10 do 40 reszt aminokwasowych. Nazywane są konopeptydami lub konotoksynami i potencjalnie posiadają cenne właściwości lecznicze. Badania nad konopeptydami doprowadziły do otrzymania kilku nowych leków, np. przeciwbólowego leku zykonotydu.

Wprowadzenie: Konopeptydy uzyskane z jadu *Conus flavidus* oraz innych gatunków, na przykład *Conus omaria*, wykazują interesującą aktywność biologiczną. Białka z nadrodziny A wpływają na kanały jonowe bramkowane napięciem, co potencjalnie można wykorzystać do leczenia zaburzeń związanych z układem nerwowym (padaczka, schizofrenia, choroba Parkinsona, choroba Alzheimera). Peptydy z nadrodziny B1 wykazują powinowactwo do receptora NMDA, dzięki czemu pojawia się możliwość leczenia bólu oraz padaczki. Do nadrodziny M przypisano 12 peptydów. Wpływają one na kanały potasowe i sodowe, łączą się również z receptorem nikotynowym cholinergicznym. Prawdopodobnie będzie to można wykorzystać do leczenia bólu, padaczki i udaru mózgu. Peptydy z nadrodziny O1 działają na kanały wapniowe, sodowe, potasowe oraz receptory nikotynowe cholinergiczne, uśmierzając ból, obniżając podwyższone ciśnienie tętnicze oraz lecząc różne zaburzenia neurologiczne. Do nadrodziny O2 zaliczono 12 peptydów, które wykazują istotny wpływ na kanały wapniowe, co będzie można wykorzystać do leczenia arytmii, nadciśnienia tętniczego, padaczki oraz bólu. Zidentyfikowano również dwa peptydy należące do nadrodziny S, które łączą się z receptorami serotoninowymi oraz nikotynowymi i które mogą być pomocne w leczeniu bólu neuropatycznego. 23 peptydy z nadrodziny T oddziałują na receptor somatostatyny-3, transporter noradrenaliny (NET) oraz kanały sodowe i wapniowe. Potencjalnie można to wykorzystać do leczenia nadciśnienia, padaczki, udaru oraz bólu. Rodzina I1 zawiera tylko jeden peptyd, który wpływa na działanie kanału sodowego, dzięki czemu może znaleźć zastosowanie w terapii bólu i niewydolności serca. Nie można również zapomnieć o białkach z nadrodziny Conkunitzyn, które odpowiadają za pracę kanałów potasowych, co stwarza możliwość wykorzystania ich do leczenia zaburzeń neurologicznych [1-3]. W jadzie ślimaka morskiego wykryto także fragmenty peptydowe insuliny, co może świadczyć o jego działaniu hipoglikemicznym. Ślimaki morskie uwalniają to specyficzne białko w wodzie, aby zaatakować swoją ofiarę i zdobyć pożywienie. Na przykład, jad *Conus geographus* powoduje obniżenie poziomu glukozy we krwi i wywołuje wstrząs hipoglikemiczny u jego ofiar. Wykazuje taką aktywność ponieważ zawiera peptyd podobny do insuliny (Con-Ins-G1). W badaniach wykazano, że ten specyficzny związek pobudza także ludzki receptor insulinowy. Podobne wła-

ściwości odkrywając jady innych ślimaków stożkowych, tj. *Conus tulipa* i *Conus kinoshita*. Być może umożliwi to stworzenie nowych szybko działających analogów insuliny posiadających zwiększone powinowactwo do ludzkiego receptora insulinowego [4]. Otrzymywanie konopeptydów jest możliwe poprzez wykorzystanie ekstrakcji z materiału naturalnego, syntezy chemicznej oraz biosyntezy. Ekstrakcja służy do bezpośredniego wyizolowania jadu z przewodów jadowych ślimaków. Używana jest do wstępnych etapów badań oraz określania nowych gatunków ślimaków morskich. Synteza chemiczna wykorzystywana jest do otrzymywania krótkich peptydów. Polega ona na syntezie peptydów w fazie stałej. Z kolei biosynteza rekombinowana umożliwia produkcję specyficznych konopeptydów w systemach ekspresyjnych *Escherichia coli*, *Pichia pastoris* oraz w systemie bakulowirusy/komórki owadzie. Jednocześnie synteza chemiczna oraz biosynteza pozwalają na zmiany w budowie peptydu, co umożliwia tworzenie konopeptydów o większej wartości oraz przydatności, na przykład o większej stabilności czy wyższej aktywności biologicznej. W ten sposób pojawiają się możliwości ukierunkowanego tworzenia wiązań disiarczkowych czy włączenia dodatkowych grup funkcyjnych [5]. Peptyd Mr1A zaliczany do α -konotoksyn został znaleziony w jadzie *Conus marmoreus*. Potwierdzono dla niego selektywne hamowanie wychwytu zwrotnego noradrenaliny poprzez wpływ na transporter NET. Hamowanie tego transportera podnosi poziom noradrenaliny w rdzeniu kręgowym, zapobiegając przedostawianiu się sygnałów bólowych do mózgu. Z kolei Xen2174 należy do grupy syntetycznych peptydów wzorowanych na Mr1A, złożonym z 13 aminokwasów i trwalszym chemicznie od Mr1A. Trwają badania pod kątem wykorzystania go do leczenia bólu o nasileniu od umiarkowanego do silnego (po podaniu dooponowym, ponieważ nie przenika przez barierę krew-mózg) [6,7]. Podczas tych badań ustalono, że Xen2174, podobnie jak Mr1A, łączy się z transporterem NET, prowadząc do selektywnego hamowania wychwytu noradrenaliny, a następnie rdzeniowej aktywacji receptorów α_2 -adrenergicznych. Xen-2174 działa więc w kierunku przywrócenia równowagi nocyceptywnej poprzez promowanie aktywacji hamujących szlaków bólowych. Skutkami ubocznymi podania Xen2174 mogą być drgawki oraz napady padaczkowe spowodowane podaniem zbyt dużej dawki [6, 7]. RgIA jest α -konotoksyną wyizolowaną z gatunku *Conus regius*. Jest to silny, a także specyficzny inhibitor podtypu $\alpha 9\alpha 10$ nikotynowego receptora cholinergicznego. Wykazano, że tego typu selektywne blokery zmniejszają neuropatyczną nadwrażliwość w zwierzęcych modelach uszkodzenia nerwów i bólu neuropatycznego. RgIA oraz inne konotoksyny pochodzące od *Conus regius* są obecnie badane w kierunku kolejnych potencjalnych zastosowań, głównie w leczeniu bólu, ale także zaburzeń poznawczych, uzależnienia od narkotyków i raka. Z drugiej strony problemem może być brak stabilności otrzymanych pochodnych, co stwarza potrzebę wprowadzenia dodatkowych modyfikacji strukturalnych, przy zachowaniu odpowiednio wysokiej aktywności biologicznej. W literaturze opisano szereg analogów RgIA, na przykład RgIA4, gdzie zmieniono 5 z 13 naturalnie występujących aminokwasów, co zaowocowało nawet wyższą aktywnością w stosunku do receptorów cholinergiczych niż naturalny związek. RgIA4 nie jest jednak idealnym kandydatem na lek ze względu na wysoką degradację *in vivo*. Postuluje się, że stosunkowo prostą metodą zmniejszenia podatności na działanie proteaz może być wprowadzenie nowych reszt aminokwasowych, takich jak D-aminokwasy. Na przykład, podstawienie reszt argininy RgIA przez D-argininę skutkuje wzrostem oporności proteolitycznej, oraz dodatkowo, wzrostem aktywności w stosunku do ludzkiego nikotynowego receptora cholinergicznego $\alpha 9\alpha 10$. Z kolei tworzenie wiązań

poprzecznych między łańcuchami bocznymi aminokwasów można wykorzystać do stabilizacji struktury przestrzennej otrzymanych białek i peptydów, co także może pomóc w zmniejszeniu degradacji proteolitycznej, a jednocześnie zwiększeniu aktywności biologicznej [8].

Kolejna α -konotoksyna Vc1.1 jest przyporządkowana do grupy elewenin. Są one zbudowane z 17-19 reszt aminokwasowych połączonych pojedynczym wiązaniem disiarczkowym. Elewenina Vc1.1 wyizolowana została z jadu ślimaka *Conus victoriae*. Wykazano, że syntetyczny odpowiednik Vc1.1, antagonistą neuronalnych nikotynowych receptorów cholinergicznym, łagodzi ból neuropatyczny w trzech szczurzych modelach ludzkiego bólu neuropatycznego i przyspiesza regenerację czynnościową uszkodzonych neuronów. Jako środek przeciwbólowy, Vc1.1 okazał się bardziej aktywny niż inna aktywna biologicznie ω -konotoksyna MVIIA (oznaczana również jako SNX-111), która jest peptydem znalezionym w jadzie ślimaka morskiego *Conus magus*. Jej syntetyczną wersją jest zykonytyd, nieopiodowy lek przeciwbólowy wprowadzony do leczenia w roku 2004 [9, 10]. Zykonytyd, którego budowę przedstawiono na Rys. 1, należy do grupy wyjątkowych leków przeciwbólowych, ponieważ podawany jest podpajęczynówkowo. Ten sposób podania zykonytydu został zatwierdzony przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) oraz Europejską Agencję Oceny Produktów Leczniczych (EMA) [11]. Zykonytyd wykazuje zdolność selektywnego blokowania kanału wapniowego bramkowanego napięciem typu N. Prowadzi to do zahamowania presynaptycznego uwalniania neuroprzekazników oraz neuropeptydów z neuronów czuciowych i w efekcie działania antynocycetywnego [12].



Rys. 1. Budowa chemiczna zykonytydu.

W Europie zykonytyd jest stosowany do leczenia bólu nocyceptywnego, neuropatycznego czy też mieszanego, który występuje w chorobach nowotworowych lub bólach pooperyacyjnych w obrębie kręgosłupa. Jednak dość często ze względu na wysoki koszt jest on zastępowany morfiną czy innymi lekami opioidowymi. Dopiero w sytuacji gdy u pacjenta występują zbyt silne działania niepożądane po podaniu leków opioidowych czy w przypadku występowania bezdechu sennego, a także ciężkiej depresji oddechowej wywołanej przez środki opioidowe, rekomenduje się zastosować zykonytyd jako lek pierwszego rzutu. Do często występujących działań niepożądanych zykonytydu zalicza się zawroty głowy, nudności, wymioty, zaburzenia widzenia, zatrzymanie moczu, nieprawidłowy chód, senność i dezorientację [13].

Wnioski: Tylko niewielka część z tysięcy odkrytych do tej pory konotoksyn została scharakteryzowana przez ich działanie biologiczne i farmakologiczne, ale już można potwierdzić, że wykazują one potencjalne zastosowania w kierunkach wykraczających daleko

poza dziedzinę leczenia bólu. Wyniki tych badań są gromadzone w bazie danych Cono-Server prowadzonej przez University of Queensland w Brisbane (Australia). Wiele konopeptydów jest również wykorzystywane jako narzędzia w badaniach podstawowych, szczególnie aby lepiej poznać funkcjonowanie różnych receptorów i kanałów jonowych. Według Oliviera Baldomero, powszechnie uznawanego za pioniera w badaniach nad konotoksynami, „nawet te peptydy *Conus*, które nie zostaną wykorzystane do terapii różnych chorób mogą być niezwykle cenne w identyfikacji potencjalnych celów molekularnych dla innych nowych leków”.

Literatura:

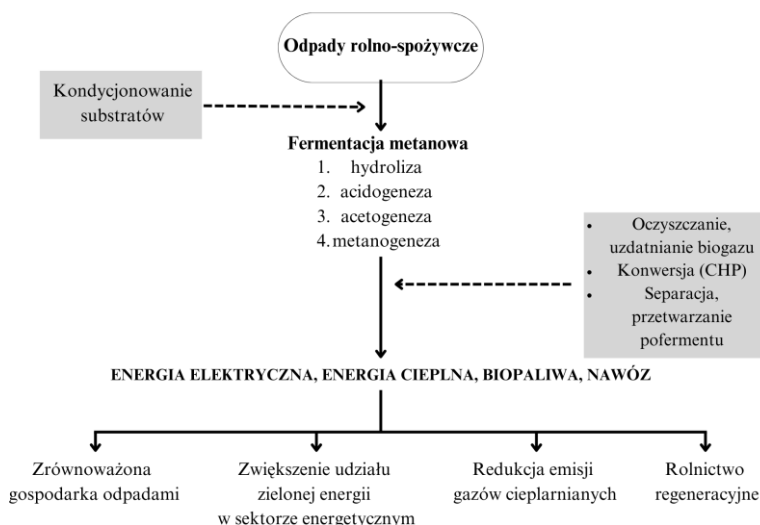
1. M.O. Germoush, M. Fouda, H. Aly, I. Saber, B.M. Alrashdi, D. Massoud, S. Alzwain, A.E. Altyar, M.M. Abdel-Daim, M. Sarhan. *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, 22 (2024) 100375.
2. Y. Zhao, A. Antunes, *Mar. Drugs*, 20 (2022) 105.
3. C.J. Armishaw, J. Banerjee, M.L. Ganno, K.J. Reilley, S.O. Eans, E. Mizrachi, R. Gyanda, M. Hoot, R.A. Houghten, J.P. McLaughlin, P. Jay, *ASC Comb. Sci.*, 15 (2013) 153.
4. C. Lin, H. Qin, Y. Liao, J. Chen, B. Gao, *Molecules*, 29 (2024) 2846.
5. K.B. Akondi, M. Muttenthaler, S. Dutertre, Q. Kaas, D.J. Craik, R.J. Lewis, P.F. Alewood, *Chem. Rev.*, 114 (2014) 5815.
6. S.W.A. Himaya, R.J. Lewis, *Int. J. Mol. Sci.*, 19 (2018) 788.
7. P. Okkerse, J.L. Hay, E. Sitsen, A. Dahan, E. Klaassen, W. Houghton, G.J. Groeneveld, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 83 (2017) 751.
8. M. Ellison, C. Haberlandt, M.E. Gomez-Casati, M. Watkins, A. BelénElgoyhen, J.M. McIntosh, B.M. Olivera, *Biochemistry*, 45 (2006) 1511.
9. B.K. PunnepalSunanda, J. Seow, H. Tae, S.D. Robinson, A. Belgi, A.J. Robinson, H. Safavi-Hemami, D.J. Adams, R.S. Norton, *Mar. Drugs*, 21 (2023) 81.
10. R.J. Clark, H. Fischer, S.T. Nevin, D.J. Adams, D.J. Craik, *J. Biol. Chem.*, 32 (2006) 23254.
11. H.G. Kress, K.H. Simpson, P. Marchettini, A. VerDonck, G. Varrassi, *Pain Practice*, 9 (2009) 338.
12. R.L. Rauck, M.S. Wallace, A.W. Burton, L. Kapural, J.M. North, *Pain Practice*, 9 (2009) 327.
13. L. Kapural, K. Lokey, M.S. Leong, S. Fiekowsky, M. Stanton-Hicks, A.J. Sapienza-Crawford, L.R. Webster, *Pain Practice*, 9 (2009) 296.

WYBRANE METODY KONDYCJONOWANIA ODPADÓW ROLNO-SPOŻYWCZYCH W BIOGAZOWNIACH

D. SŁAWCZYK, B. BIEŃ, A. GROBELAK, Politechnika Częstochowska, Wydział Inżynierii i Środowiska, Katedra Inżynierii Środowiska i Biotechnologii, ul. Brzeźnicka 60a, 42-201 Częstochowa

Abstrakt: Obecnie wyzwaniem dla sektora energetyki jest dążenie do zrealizowania założeń transformacji energetycznej poprzez zastąpienie nieodnawialnych źródeł energii odnawialnymi alternatywami. Obiecującą i wciąż rozwijającą się w Polsce i na świecie technologią jest proces fermentacji metanowej wykorzystywany w biogazowniach. Instalacje te zyskują na znaczeniu nie tylko ze względu na przemysł energetyczny, ale także gospodarkę odpadami. W rozdziale szczególną uwagę poświęcono odpadom rolno-spożywczym jako substratom stosowanym do konwersji na biogaz. Omówiono wybrane technologie kondycjonowania stosowane w celu zwiększenia wydajności produkcji biogazu oraz pofermentu, w tym obróbkę wstępną mechaniczną oraz biologiczną.

Wprowadzenie: W Polsce z roku na rok obserwuje się wzrost liczby elektrociepłowni biogazowych (ang. Combined Heat and Power Plant, CHP). Tak dynamicznie rozwijający się rynek biogazu ma swoje źródło w wysokim zapotrzebowaniu na odnawialne źródła energii, które są zarówno alternatywą dla paliw kopalnych, jak i redukują negatywny wpływ sektora energii na środowisko [1]. Ponadto zwiększenie skali produkcji biogazu może przyczynić się do poprawy bezpieczeństwa oraz niezależności energetycznej kraju [2]. Efektywność fermentacji beztlenowej, będącej podstawą przetwarzania odpadów na biogazowniach, jest jednak zależna od kilku czynników. Wśród nich wymienić można zawartość związków organicznych w substracie, rodzaj zastosowanej technologii fermentacji oraz kondycjonowania, jak również parametry operacyjne, w tym czas i ładunek obciążenia organicznego [3]. Zwiększenie ilości wytworzonego biogazu, oraz co ważniejsze, jego wydajności, jest jednym z kluczowych celów, do których dąży się w celu optymalizacji procesu i wzrostu zysku ekonomicznego. Powszechnie stosowanymi substratami w ciągu technologicznym instalacji biogazowych są biomasa roślinna, substraty pochodzenia zwierzęcego oraz odpady rolne i spożywcze. Ostatnia grupa obejmuje między innymi wywar pogorzelniany, pozostałości z owoców i warzyw, wysłodki buraczane oraz żywność po upływie terminu ważności [1]. Wiele argumentów przemawia za wykorzystaniem odpadów rolno-spożywczych jako wsadu do biogazowni. Przykładowo, ich konwersja na biogaz, ze względu na wysoką zawartość cząstek biodostępnych [3], może przyczynić się do wzrostu ilości wytwarzanego ciepła, energii elektrycznej oraz pofermentu, jednocześnie ograniczając negatywny wpływ składowania omawianych substratów na wysypiskach lub ich spalania. Jest to istotne między innymi ze względu na ryzyko emisji gazów cieplarnianych do atmosfery, w tym na emisję metanu [4,5]. W celu poprawy wydajności produkcji biogazu z odpadów często implementowane są technologie ich kondycjonowania. Wśród głównych metod obróbki wstępnej wsadów przed procesem fermentacji metanowej wymienia się metody mechaniczne, biologiczne, chemiczne oraz termiczne [6]. Schematyczne przedstawienie konwersji odpadów rolno-spożywczych na biogaz oraz wynikające z niej korzyści zostały przedstawione na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat przetwarzania odpadów rolno-spożywczych z uwzględnieniem wpływu procesu fermentacji metanowej na środowisko

Kondycjonowanie mechaniczne odpadów prowadzone jest poprzez obróbkę wstępną mechaniczną substratów. Ma to na celu skrócenie czasu hydrolizy złożonych związków organicznych poprzez redukcję wielkości cząstek wsadów oraz zwiększenie dostępności ich powierzchni dla mikroorganizmów. Jest to osiągalne dzięki stosowaniu między innymi technologii rozdrabniania, promieniowania mikrofalowego, ultradźwięków oraz mielenia (Tabela 1) [7]. Dezintegracja złożonych struktur obejmuje również depolimeryzację biomasy lignocelulozowej oraz poprawę rozpuszczalności celulozy [8]. Przetwarzanie mechaniczne jest kluczowe, ponieważ ułatwia także wprowadzanie odpadów do reaktorów. Niemniej jednak kondycjonowanie oparte o procesy fizyczne często uznawane jest za niewystarczające i energochłonne [5].

Tabela 1. Mielenie jako metoda mechanicznego kondycjonowania odpadów rolno-spożywczych

Substrat	Metoda	Efektywność kondycjonowania	Literatura
Odpady spożywcze (pozostałości po posiłkach)	Ultradrobne mielenie na mokro z wykorzystaniem mieszalnika kulowego	Najwyższa wartość produkcji metanu (406,75 ml/g VS) dla prób poddanych mieleniu 4-godzinnemu	[7]
Odpady spożywcze (w tym warzywa, owoce, mięso, ryby, zboża)	Mielenie w młynie kulowym	Maksymalna całkowita produkcja metanu (500 ml/g VS) przy prędkościach 300 obr./min i czasie mielenia 30 minut	[9]
Słoma pszeniczna	Rozdrabnianie w młynie nożowym	Wzrost średniego uzysku metanu do 250,6 Nm ³ tVS ⁻¹ w porównaniu do wsadu niepoddanego obróbce wstępnej	[10]

Kondycjonowanie biologiczne odpadów charakteryzuje się znacznym potencjałem wdrożeniowym ze względu na wysoką skuteczność procesu biodegradacji odpadów, w tym wsadów o wysokiej zawartości lignocelulozy [11]. Główny podział metod biologicznych obejmuje wstępne przetwarzanie mikrobiologiczne, z wykorzystaniem bakterii i grzybów (Tabela 2), przetwarzanie enzymatyczne oraz bioaugmentację, czyli wzbogacanie medium odpowiednio dobranymi szczepami mikroorganizmów [5]. Niemniej jednak metody biologiczne mają pewne ograniczenia. Między innymi wynikają one z dłuższego czasu wymaganego do obróbki wstępnej w porównaniu z pozostałymi technologiami kondycjonowania, szczególnie gdy metoda biologiczna opiera się na zastosowaniu grzybów. Innym wyzwaniem jest dobór optymalnych warunków obróbki, jak i gatunków mikroorganizmów dla danego rodzaju wsadu [12].

Tabela 2. Wstępne przetwarzanie biologiczne odpadów rolnych i spożywczych z wykorzystaniem grzybów.

Substrat	Metoda	Efektywność kondycjonowania	Literatura
Pozostałości rolnicze (strąki fasoli zwykłej <i>Phaseolus vulgaris</i>)	Obróbka mikrobiologiczna z zastosowaniem grzybów białej zgnilizny (<i>Trametes versicolor</i>)	Wzrost wydajności biogazu do maksymalnie 75,5% w zestawieniu z substratem nieprzetworzonym	[11]
Słoma ryżowa	Obróbka mikrobiologiczna z wykorzystaniem grzybów (<i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Trichoderma reesei</i>)	Maksymalny wzrost wydajności metanu o 120% w porównaniu do próby kontrolnej, równy 263 l/kg VS po obróbce z zastosowaniem <i>P.ostreatus</i>	[13]
Rolnicze odpady lignocelulozowe (w tym słoma kukurydziana i pszeniczna oraz wióry wierzbowe)	Obróbka mikrobiologiczna z zastosowaniem grzybów nitkowatych (<i>Aspergillus nidulans</i> , <i>Trichoderma reesei</i> , <i>Rhizomucor miehei</i> , <i>Gilbertella persicaria</i>)	Zwiększona produkcja metanu w każdej próbie poddanej obróbce wstępnej. Najlepsze wyniki uzyskano po kondycjonowaniu z <i>A.nidulans</i> – wzrost o 84% w stosunku do próby kontrolnej	[12]

Wnioski: Sprostanie obecnym wyzwaniom energetycznym i ekologicznym wymaga podjęcia świadomych działań skoncentrowanych na wydajnych technologiach. Wśród nich wymienić można technologie produkcji energii elektrycznej i nawozu organicznego z odpadów rolno-spożywczych. Podstawą funkcjonowania biogazowni jest proces fermentacji metanowej. Jednakże jego efektywność zależna jest w dużym stopniu od obciążenia organicznego reaktora i czasu przebywania w nim wsadów, szczególnie podczas etapu hydrolizy. Wstępna obróbka odpadów jest powszechnie stosowanym rozwiązaniem, korzystnym zarówno pod względem ekonomicznym jak i jakościowym. Obróbka wstępna zwiększa efektywność procesu produkcji biogazu, w tym zawartość metanu w biogazie, która z kolei decyduje o potencjale dalszego wykorzystania tego produktu fermentacji metanowej. Znanych jest kilka typów kondycjonowania, wśród których wymienić można przetwarzanie mechaniczne i biologiczne. Pierwsze z nich jest stosunkowo dobrze poznane i stosowane na szeroką skalę, choć wiąże się z kosztami energetycznymi i często nie jest tak wydajne, jak kondycjonowanie biologiczne. Procesy przemysłowe, w których wyko-

rzystuje się mikroorganizmy i preparaty enzymatyczne mimo iż wykazują wysoki potencjał do aplikacji, są jednak wciąż rzadko stosowane. Wynika to z braku kompleksowej wiedzy na temat wpływu określonych szczepów drobnoustrojów i warunków przetwarzania na konkretne rodzaje substratów. Istnieje zatem potrzeba prowadzenia dalszych badań ukierunkowanych na poszukiwanie i wdrażanie wydajnych systemów kondycjonowania odpadów rolno-spożywczych.

Literatura:

1. J. Holewa-Rattaj, E. Kukulska-Zajac, *Nafta-Gaz*, 12 (2022) 3.
2. M. Niekurzak, *Nauka-Technika-Technologia*, 2 (2022) 135.
3. A. Neri, B. Bernardi, G. Zimbalatti, S. Benalia, *Energies*, 16 (2023) 1.
4. K.R. Chew, H.Y. Leong, K.S. Khoo, D.V.N. Vo, H. Anjum, C.K. Chang, P.L. Show, *Chem. Lett.*, 19 (2021) 2921.
5. H. Zafar, N. Peleato, D. Roberts, *Environ. Technol. Rev.*, 11 (2022) 72.
6. A.A. Pilarska, T. Kulupa, A. Kubiak, A. Wolna-Maruwka, K. Pilarski, A. Niewiadomska, *Energies*, 16 (2023) 10.
7. Z. Li, X. Jiang, W. Shi, D. Yang, Y. Zhao, T. Zhou, *Sustainability*, 16 (2024) 2.
8. A. Antosz, *Nafta-Gaz*, 9 (2024) 581.
9. Y.M. Gu, S.Y. Park, J.Y. Park, B.I. Sang, B.S. Jeon, H. Kim, J.H. Lee, *Energies*, 14 (2021) 2.
10. P.P. Dell'Omo, S. La Froscia, *Meas. & Control C Energetics Chem. Earth Environ. Biomed. Probl.*, 79 (2018) 127.
11. E. Caroca, M. Elorrieta, C. Palma, D. Navia, R. Lebrero, A. Carvajal, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 97 (2022) 1575.
12. C. Szűcs, E. Kovács, Z. Bagí, G. Rákhely, K.L. Kovács, *Biol. Futura*, 72 (2021) 341.
13. A.M. Mustafa, T.G. Poulsen, K. Sheng, *Appl. Energy*, 180 (2016) 661.

CO Z TĄ RTĘCIĄ?

M. SZPONDER¹, D. GUGAŁA-FEKNER², ¹UMCS, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin

Wprowadzenie: Rtęć to pierwiastek chemiczny o wyjątkowych właściwościach fizykochemicznych, wyróżniający się toksycznością oraz zdolnością do bioakumulacji. Stanowi to istotne zagrożenie dla zdrowia ludzi i stabilności ekosystemów mimo jego niewielkiej zawartości w skorupie ziemskiej. Występuje w środowisku w różnych formach, m.in. jako Hg^0 , Hg^{2+} i metylortęć (MeHg), z których ta ostatnia jest najbardziej niebezpieczna dla organizmów żywych. Rtęć przenika do ekosystemów wodnych, glebowych i atmosferycznych głównie w wyniku działalności przemysłowej, spalania paliw kopalnych oraz naturalnych procesów geochemicznych. Szczególnie wysokie stężenia rtęci obserwuje się w rejonach historycznych kopalni oraz obszarach przemysłowych. W organizmach żywych pierwiastek ten oddziałuje na układ nerwowy, krążeniowy i kostny, a jego toksyczność manifestuje się w postaci zaburzeń neurologicznych, deformacji roślin oraz uszkodzeń DNA. Ze względu na długotrwałą obecność rtęci w środowisku oraz jej globalny transport w atmosferze, stanowi ona istotne zagrożenie ekologiczne i zdrowotne. Rtęć należy do grupy 12 oraz okresu 6 układu okresowego, oznaczany symbolem Hg. Liczba atomowa (Z) tego pierwiastka wynosi 80, a jego średnia liczba masowa to około 201 u. Skrócona konfiguracja elektronowa rtęci przedstawia się jako $4f^{14}5d^{10}6s^2$. Wśród pierwiastków wyróżnia się wyjątkowymi właściwościami fizykochemicznymi, w tym wysoką aktywnością chemiczną i biologiczną, a także zmiennością stanów skupienia. Jest jedynym pierwiastkiem występującym w stanie ciekłym w standardowych warunkach temperatury i ciśnienia. Rtęć należy do grupy najbardziej toksycznych pierwiastków w przyrodzie. Jej zawartość w skorupie ziemskiej jest niewielka (zajmuje 77. miejsce pod względem rozpowszechnienia) [1]. Rtęć jest pierwiastkiem silnie rozproszonym w środowisku, a jej ilość w skałach wynosi od setnych do dziesiątych części ppm. Najczęściej występuje jako HgS (cynober), przedstawiony na rys.1. Naturalne stężenia rtęci w glebie nie przekraczają zwykle 1 ppm.

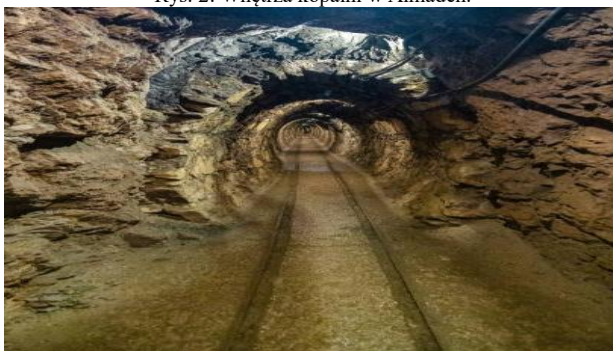


Rys. 1. Cynober – popularna nazwa minerału, jakim jest siarczek rtęci(I).

Większe stężenia rtęci występują w rejonach dawnych kopalni, np. Almadén (Hiszpania) i Idrija (Słowenia), przedstawione na rys. 2 i 3. Były one przez wieki głównymi źródłami wydobycia rtęci w Europie. Zanieczyszczenia gleb mogą pochodzić również z obszarów przemysłowych oraz terenów wydobycia złota[2].



Rys. 2: Wnętrze kopalni w Almadén.



Rys. 3: Kopalnia rtęci w Idriji.

Występowanie rtęci w wodzie: Średnie stężenie rtęci w wodach oceanicznych wynosi 30 ng/l, przy czym wartości te są zróżnicowane w zależności od odległości od lądu. Najwyższe koncentracje rtęci występują w wodach przybrzeżnych i zatokowych, szczególnie w osadach dennych i wodach zanieczyszczonych przemysłowo. Rtęć w wodzie występuje głównie w formie jonowej (Hg^0 , Hg^+ , Hg^{2+}), a jej obecność jest wynikiem zrzutów ścieków przemysłowych, opadów atmosferycznych i spływów wód gruntowych. Na rozproszenie rtęci w wodzie mają również spływy zanieczyszczeń z gleb, szczególnie w okolicach terenów przemysłowych i obszarach dawnego wydobywania tego pierwiastka.

Metylortęć (MeHg) to najbardziej toksyczna pochodna rtęci – powstaje w wodach w wyniku działania mikroorganizmów na skutek biometylacji nieorganicznych form rtęci. Jest to kation organiczny, który łatwo wiąże się z białkami, przez co bardzo łatwo przenika przez błony biologiczne. Ryby drapieżne, takie jak tuńczyki, rekiny czy szczupaki, oraz owoce morza akumulują metylortęć, co zwiększa ryzyko zatrucia u ludzi.

Występowanie rtęci w powietrzu: Rtęć w atmosferze cechuje się dużą lotnością, a jej obecność może być dobrym wskaźnikiem stopnia skażenia terenu. Stężenie rtęci w powietrzu zależy od źródła emisji. Elektrownie węglowe generują rtęć, której stężenie osiąga od 200 do około 1700 ng/m³. Większe stężenia produkuje przemysł chemiczny, sięgający wartości 60-1000 ng/m³. Największe zanieczyszczenia generują wulkany i ich aktywność. Są to wielkości rzędu nawet do 40 000 ng/m³. Rtęć utrzymuje się w atmosferze przez kilka miesięcy, co sprzyja jej transportowi na duże odległości.[3]

Wpływ rtęci na organizmy żywe: Rtęć dostaje się do organizmu drogą oddechową, pokarmową i przez skórę, przenikając przez barierę krew-mózg i krew-łożysko. Najbardziej wrażliwy na jej działanie jest układ nerwowy, gdzie powoduje uszkodzenia komórek mózgowych. Metylortęć uszkadza neurony, prowadząc do zaburzeń ruchowych i mutacji

DNA. Rtęć wpływa również na układ krążenia, powodując nadciśnienie i miażdżycę. W układzie kostnym pierwiastek zastępuje jony wapnia, osłabiając strukturę kości. W nerkach, które oczyszczają organizm z toksyn, kumuluje się najwięcej metali ciężkich.

Rtęć nie pełni istotnych funkcji w organizmach roślinnych. Może być pobierana z gleby i powietrza, a jej toksyczność prowadzi do chloroz, deformacji korzeni i liści oraz zahamowania wzrostu.

Toksyczność rtęci i jej formy: Rtęć występuje w postaci pierwiastkowej (Hg^0), jonowej (Hg^{2+}) oraz związków organicznych, z których najgroźniejsza jest metylortęć. Jej toksyczność wynika z łatwego wchłaniania przez organizm oraz zdolności do akumulacji w tkankach. Pary rtęci atakują głównie płuca, a związki organiczne mogą powodować uszkodzenia układu nerwowego, nerek i serca.

Rtęć nieorganiczna pod postacią soli rtęci, obecna w przyrodzie w różnych formach, między innymi jako chlorek rtęci(I) (kalomel) czy chlorek rtęci(II) będący sublimatem korozyjnym. Sole te mogą powodować silne zatrucia układu pokarmowego. Kumulują się w nerkach, prowadząc do ich niewydolności.

Etylortęć jest substancją występującą głównie jako składnik tiomersalu, który był dawniej stosowany w szczepionkach. Jest to mniej toksyczna forma rtęci od metylortęci, ze względu na szybsze usuwanie jej z organizmu. W wysokich stężeniach może wywoływać działanie neurotoksyczne.

Literatura:

1. A. Kabata-Pendias, H. Pendias "Pierwiastki śladowe w środowisku biologicznym", Wydawnictwa Geologiczne, Warszawa 1973
2. A. Kabata-Pendias, B. Szeke "Pierwiastki śladowe w geo i biosferze", Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Puławy, 2012
3. B. Gworek, W. Dmuchowski, O. Bemowska, K. Kucharczak, J. Wrzosek-Jakubowska, J. Borzyszkowski „Rtęć w środowisku. Monografia.”, Instytut Ochrony Środowiska, 2013.
4. K. Kot , D. Kosik-Bogacka, N. Łanocha-Arendarczyk, Ż. Ciosek „Wpływ związków rtęci na organizmy”.

SPIS AUTORÓW

A

Antoniak-Jurak K. 25
Antosz D. 74

B

Barańska J. 286,
Bartkowska-Bekasiewicz A. 323, 327
Bartyzel A. 282
Bień B. 346
Bujanowska E. 151

C

Chaberska K. 315
Charmas B. 37
Chochowska N. 147
Choińska R. 106, 163
Czakaj J. 311
Czemierska M. 242

D

Dacka M. 70
Dawidek K. 74
Demianenko E. 303
Dobrowolski R. 17
Dobrzyńska J. 17
Dowbysz A. 86, 110, 270, 307
Drewniak M. 238
Dudzik V. 261
Dziuba K. 74

F

Fiałek M. 246
Fila D. 13, 70
Filonenko O. 303
Flieger J. 62

G

Gawdzik B. 331
Gęca I. 223
Gieroba B. 187
Gładysz-Płaska A. 303
Głogowska M. 25
Godlewska-Żyłkiewicz B. 122
Gołębiowska E. 290,
Gołębiowska K. 66,
Gorylewski D. 183, 199, 203, 258
Grabarczyk M. 246, 274

Grabias-Blicharz E. 62
Grebenyuk A. 303
Grobelak A. 346
Grochowicz M. 82, 195, 254
Grochowicz O. 90
Gruszkiewicz N. 167, 171
Gryboś A. 327
Grządka E. 66
Grześkowiak A. 155
Gugała-Fekner D. 334, 350
Gumieniczek A. 315, 342
Gustaw S. 58

H

Hryniewicka M. 234
Hubicki Z. 13, 54

J

Jarosz-Wiłołazka A. 242
Jarzyna S. 334
Jastrząb R. 295
Jastrzębski A. 195
Jaśkowski K. 187
Jedynak K. 37
Józwicki M. 338
Jurak M. 118, 130, 159

K

Kaczmarek M.T. 286
Kagan K. 319
Kalinowska M. 106, 163, 278, 290
Kamińska M. 207
Kapelewska J. 50
Karasiewicz J. 46
Karpińska J. 21
Kądziaława E. 311
Keller A. 183, 199, 258
Keller R. 238
Kidaj D. 114, 191
Kierys A. 25, 261
Kiszkiet-Taudul I. 147
Klapiszewski Ł. 41
Klekotka U. 21
Kołodzyńska D. 58, 70, 102, 207, 238
Komaniecka I. 191
Korneluk J. 242
Koroniak-Szejn K. 286
Korpysz M. 167

Kotowska U. 50
Kowalczyk B. 118, 130, 159
Kowalewska A. 163
Kowalska K. 98
Kozłowska A. 171, 175
Kozłowski F. 175
Krawczyk J. 46
Kruczyńska A. 319
Kryska A. 187
Krystkiewicz M. 106
Krzyszczak-Turczyn A. 195
Kukfisz B. 86
Kutkowska J. 155
Kutyla M. 142
Kóźniar A. 319

L

Leśniewska B. 147, 234
Liwak A. 183, 203
Lupa J. 261

Ł

Łyszczek R. 273

M

Maciejewska M. 254
Maciołek U. 274
Majewska M. 126
Malinowska P. 207
Malinowski S. 250
Matejczuk P. 211
Matejczyk M. 151
Maziarz M. 215
Mazur L. 265
Mazur W. 78
Mergo P. 338
Michalska K. 25
Miecznikowska-Ziółek A. 327
Misiurek J. 265
Morawska K. 219
Morlo K. 17
Mrózek P. 223

N

Natorska-Chomicka D. 179
Niewczas A. 134, 167, 171, 179
Nieszporek J. 211
Nosal-Wiercińska A. 230
Nowicki P. 29
Nowosad J. 323, 327

O

Omiotek G. 138

Ożga K. 226

P

Paientko V. 303

Palusińska-Szys M. 118, 130, 159

Panasevich S. 110, 307

Pastuszek K. 118, 130, 159

Pawlak A.N. 230

Pawłaszek M. 342

Pączkowski P. 331

Piejak M. 323, 327

Pluta J. 282

Płaska B. 167

Płaska W. 323, 327

Podkościelna B. 33, 41, 78

Pogorzelec K. 134, 167, 171, 179

Polański K. 134

Popiołek Ł. 175, 265

Protaziuk J. 114

Pudzianowska Z. 187

R

Radziszewska A. 270

Romanuk M. 331

Rosińska A. 311

Ryza I. 21

S

Sado P. 82

Sadok I. 195, 226

Sagan A. 191

Sajkowska S. 234

Samborska D. 138

Samsonowicz M. 86, 110, 270, 307

Sarna-Boś K. 90

Sasimowski E. 82

Satławski J. 90

Sawic M. 187

Sawko K. 238

Siewierska O. 274

Skwarek E. 94, 98

Sławczyk D. 346

Słotwińska W. 134

Smyk M. 25

Sobociński D. 299

Sofińska-Chmiel W. 207, 238

Stachowiak K. 295

Staniec K. 183, 199, 258

Sternik D. 261

Styk K. 118, 159

Swatek A. 191

Szapowicz A.C. 94

Szeliga M. 238

Szponder M. 350

Szwed K. 134, 167, 171, 179

Ś

Świdorski G. 151, 278

T

Tabor K. 303

Tarasiuk B. 33

Tarasiuk J. 118, 130, 159

Tokarska K. 29

Trojanowska A. 13

Trytek M. 142

Tsybulski I. 110, 307

Turska-Szewczuk A. 138, 199,

Typek R. 274

Tyszczyk-Rotko K. 183, 203, 258

Tyszko M. 126,

W

Wardak C. 219, 250,

Wawrzaszek B. 37,

Wawrzekiewicz M. 41, 78,

Wawrzczak A. 102,

Wępa U. 41,

Wiśniewska M. 29,

Wlazłowska E. 246,

Wojdat K. 46,

Wolińska A. 319,

Wójcik G. 54,

Wólczyński H. 250,

Wołowicz A. 41, 78,

Wrześniewska K. 155,

Y

Yesypchuk O. 303,

Z

Zabielska-Konopka M. 122,

Zabiszak M. 286, 295,

Zacharczuk J. 33,

Zambrzycka-Szelewa E. 122,

Zamłyńska K. 191,

Zagozdon A. 187,

Zagrobnik R. 299,

Zawada J. 142,

Zawadzka M. 278,

Zawiślak P. 50,

Zinchenko Y. 242,

Zienkiewicz-Strzałka M. 215,

Zinkowska K. 54,

Ż

Żuk N. 62

SARTORIUS

Choć Sartorius jest dobrze znany jako wiodący międzynarodowy dostawca sprzętu farmaceutycznego i laboratoryjnego, w rzeczywistości współpracuje z szerokim zakresem klientów praktycznie w każdej branży. Dzięki innowacyjnym i intuicyjnym produktom oraz rozwiązaniom pomagamy zwiększać efektywność i produktywność, zarówno w rutynowych, jak i skomplikowanych procesach laboratoryjnych, czy też w specyficznych dla konkretnej dziedziny zastosowaniach.

Możesz liczyć na nasze wsparcie w różnorodnych zastosowaniach w szerokim zakresie branż intensywnie wykorzystujących technologie, takich jak nauka - badania i rozwój, przemysł spożywczy i napojowy, motoryzacyjny, chemiczny, badania środowiskowe, urządzenia medyczne, przemysł powłok malarskich.

Poznaj nas i pozwól nam poznać Ciebie, odwiedź stronę **Sartorius.com**



Ważenie laboratoryjne



Pipetowanie



Woda laboratoryjna



Filtracja laboratoryjna



Analiza mikrobiologiczna



Serwis

Sartorius Poland Sp. z o.o.

ul. Wrzesińska 70

62-025 Kostrzyn

tel. 61 647 38 30

fax. 61 647 38 39

e-mail: info.pl@sartorius.com

